I847977

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I847977 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 07 月 11 日

(21)申請案號：108105175 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 02 月 15 日

(51)Int. Cl.： *A61K39/395 (2006.01)* *C07K16/28 (2006.01)*
C07K16/30 (2006.01) *C07K16/32 (2006.01)*
C07K16/44 (2006.01)

(30)優先權：2018/02/15 美國 62/631,043
2018/09/28 美國 62/738,632

(71)申請人：美商宏觀基因股份有限公司 (美國) MACROGENICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：波維尼 愛利歐 BONVINI, EZIO (US)；黃 玲 HUANG, LING (US)；郭家穎 KAO, LAM CHIA-YING (TW)；齊齊李 古蘭那達 瑞迪 CHICHILI, GURUNADH REDDY (IN)；安德森 瑞夫佛曼 ALDERSON, RALPH FROMAN (US)；摩爾 保羅 MOORE, PAUL A. (GB)；強生 萊斯利 JOHNSON, LESLIE S. (US)

(74)代理人：李文賢；盧建川

(56)參考文獻：
WO 2012/162067A2

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：36 共 590 頁

(54)名稱

變體ＣＤ３-結合結構域及其在用於治療疾病的組合療法中的用途

(57)摘要

本發明涉及包含 vCD3-結合結構域的 **DA x CD3 結合分子**，所述 vCD3-結合結構域包括 CDR_H1 結構域、CDR_H2 結構域、CDR_H3 結構域、CDR_L1 結構域、CDR_L2 結構域和 CDR_L3 結構域，其中至少一個在氨基酸序列上區別於 rCD3-結合結構域的對應 CDR 的氨基酸序列，其中包含這種 vCD3-結合結構域的 DA x CD3 結合分子相對於包含這種 rCD3-結合結構域的 DA x CD3 結合分子展示對 CD3 改變的親和力。本發明具體涉及這種包含 vCD3-結合結構域的 **DA x CD3 結合分子**，其相對於包含 rCD3-結合結構域的 DA x CD3 結合分子展示對 CD3 降低的親和力，並且能夠介導表達 DA 的靶細胞的重定向殺傷並且展示較低水準的細胞因數釋放。本發明具體涉及包含 vCD3-結合結構域的 **DA x CD3 結合分子**在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包含這種分子（一種或多種）的藥物組合物。

The present invention is directed to**DA x CD3 Binding Molecules**comprising a vCD3-Binding Domain, which comprises a CDR_H1 Domain, a CDR_H2 Domain, a CDR_H3 Domain, a CDR_L1 Domain, a CDR_L2 Domain, and a CDR_L3 Domain, at least one of which differs in amino acid sequence from the amino acid sequence of the corresponding CDR of a rCD3-Binding Domain, wherein the DA x CD3 Binding Molecule comprising such vCD3-Binding Domain exhibits an altered affinity for CD3, relative to a**DA x CD3 Binding Molecule**comprising such rCD3-Binding Domain. The invention particularly concerns to such**DA x CD3 Binding Molecules**comprising a vCD3-Binding Domain which exhibit reduced affinity for CD3 and are

capable of mediating redirected killing of target cells expressing a DA and exhibit lower levels of cytokine release relative to a DA x CD3 Binding Molecule comprising a rCD3-Binding Domain. The invention particularly concerns the use of**DA x CD3 Binding Molecules**comprising a vCD3-Binding Domain in the treatment of cancer and pathogen-associated diseases. The present invention is also directed to pharmaceutical compositions that comprise such molecule(s).

指定代表圖：

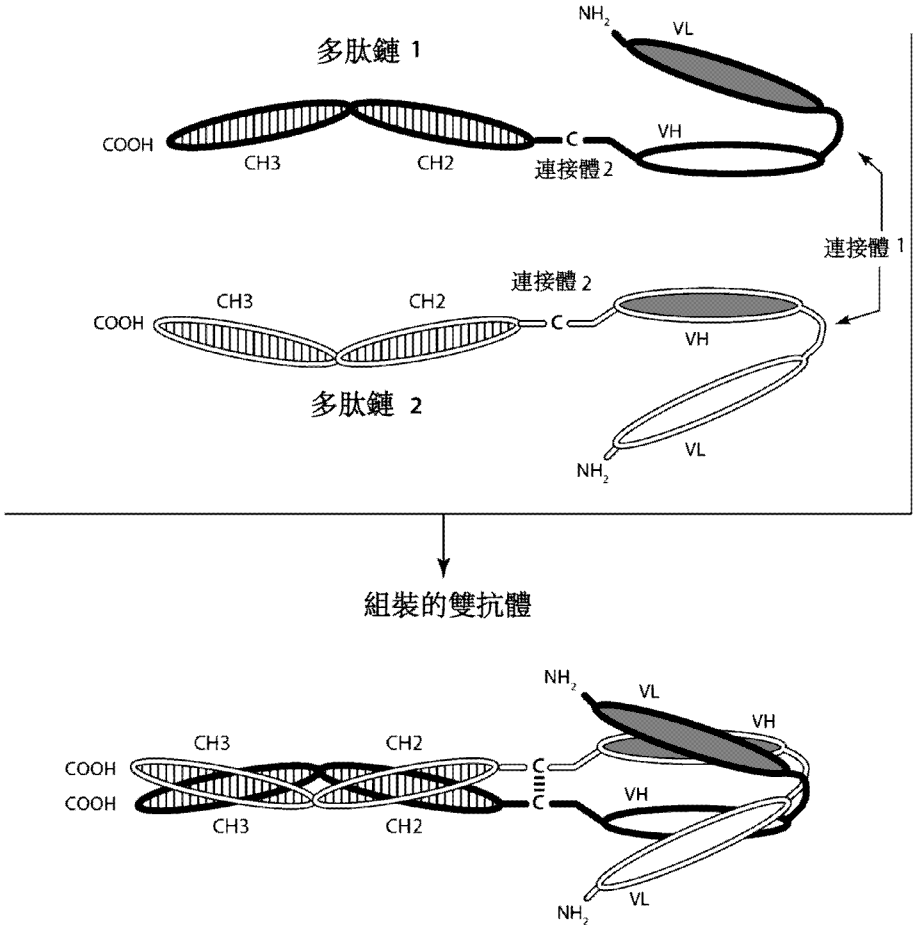


圖2

專利案號：108105175

公告本

I847977

【發明摘要】

【中文發明名稱】　變體CD3-結合結構域及其在用於治療疾病的組合療法中的用途

【英文發明名稱】　Variant CD3-Binding Domains and Their Use in Combination Therapies for the Treatment of Disease

【中文】

本發明涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，所述vCD3-結合結構域包括CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，其中至少一個在氨基酸序列上區別於rCD3-結合結構域的對應CDR的氨基酸序列，其中包含這種vCD3-結合結構域的DA x CD3結合分子相對於包含這種rCD3-結合結構域的DA x CD3結合分子展示對CD3改變的親和力。本發明具體涉及這種包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其相對於包含rCD3-結合結構域的DA x CD3結合分子展示對CD3降低的親和力，並且能夠介導表達DA的靶細胞的重定向殺傷並且展示較低水準的細胞因數釋放。本發明具體涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包含這種分子（一種或多種）的藥物組合物。

【英文】

The present invention is directed to **DA x CD3 Binding Molecules** comprising a vCD3-Binding Domain, which comprises a CDR_H1 Domain, a CDR_H2 Domain, a CDR_H3 Domain, a CDR_L1 Domain, a CDR_L2 Domain, and a CDR_L3 Domain, at least one of which differs in amino acid sequence from the amino acid sequence of the

corresponding CDR of a rCD3-Binding Domain, wherein the DA x CD3 Binding Molecule comprising such vCD3-Binding Domain exhibits an altered affinity for CD3, relative to a **DA x CD3 Binding Molecule** comprising such rCD3-Binding Domain. The invention particularly concerns to such **DA x CD3 Binding Molecules** comprising a vCD3-Binding Domain which exhibit reduced affinity for CD3 and are capable of mediating redirected killing of target cells expressing a DA and exhibit lower levels of cytokine release relative to a DA x CD3 Binding Molecule comprising a rCD3-Binding Domain. The invention particularly concerns the use of **DA x CD3 Binding Molecules** comprising a vCD3-Binding Domain in the treatment of cancer and pathogen-associated diseases. The present invention is also directed to pharmaceutical compositions that comprise such molecule(s).

【指定代表圖】　圖2

【代表圖之符號簡單說明】　無

【特徵化學式】　無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 變體CD3-結合結構域及其在用於治療疾病的組合療法中的用途

【英文發明名稱】 Variant CD3-Binding Domains and Their Use in Combination Therapies for the Treatment of Disease

【技術領域】

【0001】 [相關申請的交叉引用]

【0002】 本申請案主張美國專利申請案62/631,043(在2018年2月15日提交；申請中)和62/738,632 (在2018年9月28日提交；申請中)的優先權，每個申請均通過引用以其全部併入本文。

【0003】 [序列表的引用]

【0004】 本申請案按照37 C.F.R. 1.821以及以下各條包括一個或多個序列表，其在電腦可讀介質上公開(檔案名：1301_0150PCT_ST25.txt，創建於2019年1月30日，具有295,037個位元組的大小)，該文檔以其全部併入本文。

【0005】 本發明涉及包括能夠結合CD3的表位的CD3-結合結構域以及能夠結合疾病抗原(“**DA**”)的表位的疾病抗原-結合結構域的多特異性結合分子(例如，雙特異性抗體、雙抗體、雙特異性 scFv、三價分子、TandAb®、BiTE®等)(例如，“**DA x CD3結合分子**”)。本發明具體涉及這種包含變體CD3-結合結構域(“**vCD3-結合結構域**”)的**DA x CD3結合分子**，所述變體CD3-結合結構域(“**vCD3-結合結構域**”)包括CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域、和CDR_L3結構域，其中至少一個在氨基酸序列上區別於參考CD3-

結合結構域(“**rCD3-結合結構域**”)的對應CDR的氨基酸序列，並且其中所述包含這種vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**相對於包含這種rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3改變的親和力。本發明具體涉及這種包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其相對於包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3降低的親和力，並且能夠介導表達DA的靶細胞的重定向殺傷並且展示較低水準的細胞因數釋放。本發明具體涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包含這種分子（一種或多種）的藥物組合物。

【先前技術】

I. 哺乳動物免疫系統

【0006】 哺乳動物免疫系統充當抵禦各種病況包括例如，損傷、感染和瘤形成的防衛。人和其它哺乳動物形成對病原體、外來物質和癌抗原的免疫學應答的效率取決於兩種特徵：對抗原識別的免疫應答的高度特異性以及在用相同抗原重新啟動後允許更快且更強的應答的免疫學記憶(Portolés, P.等(2009) “*The TCR/CD3 Complex: Opening the Gate to Successful Vaccination*,” Current Pharmaceutical Design 15:3290-3300；Guy, C.S.等(2009) “*Organization of Proximal Signal Initiation at the TCR:CD3 Complex*,” Immunol Rev. 232(1):7-21；Topalian, S.L.等(2015) “*Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy*,” Cancer Cell 27:450-461)。

【0007】 在健康個體中，免疫系統處於靜息狀態，受到一系列不同抑制性受體和受體配體抑制。一旦識別到癌抗原、微生物病原體或過敏原，一系列啟

動受體和受體配體被觸發以誘導免疫系統的啟動。這種啟動導致巨噬細胞、天然殺傷(NK)細胞和抗原特異性的、細胞毒性的T-細胞的啟動，並且促進各種細胞因數的釋放，其全部具有對抗所察覺到的對受試者健康的威脅的作用(Dong, C.等(2003) "*Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules*," Immunolog. Res. 28(1):39-48；Viglietta, V.等(2007) "*Modulating Co-Stimulation*," Neurotherapeutics 4:666-675；Korman, A.J.等(2007) "*Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy*," Adv. Immunol. 90:297-339)。當抗衡抑制性免疫信號勝過啟動免疫信號時，免疫系統能夠返回到其正常靜息狀態。

【0008】 因此，癌症的疾病狀態(以及實際上傳染病的疾病狀態)可被認為反映出未能充分啟動受試者的免疫系統。這種故障可反映啟動免疫信號的展示不足，或者它可反映減弱受試者中的抑制性免疫信號的能力不足。在一些情況下，研究者已經確定癌症細胞可以拉攏(co-opt)免疫系統以避免被免疫系統檢測到(Topalian, S.L.等(2015) "*Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy*," Cancer Cell 27:450-461)。

【0009】 哺乳動物免疫系統由兩種獨立但相互關聯的系統：體液免疫系統和細胞免疫系統介導。一般而言，體液系統由**B細胞**產生的可溶性分子（抗體或免疫球蛋白）介導。這種分子具有與已經被識別為身體外來的抗原結合並中和已經被識別為身體外來的抗原的能力。細胞免疫系統涉及起多種治療作用的被稱為"T-細胞"的某些細胞的轉移(mobilization)。T-細胞是在胸腺中成熟並在組織、淋巴系統和循環系統之間迴圈的淋巴細胞。回應於多種外來結構（抗原）的存在和識別，T-細胞被"啟動"以啟動免疫應答。在許多情況下，這些外來抗原由於瘤形成或感染而在宿主細胞上表達。儘管T細胞自身不分泌抗體，但它們通

常是第二類淋巴細胞“B細胞”（其源自骨髓）分泌抗體所需的。關鍵地，T細胞展示非同尋常的免疫特異性以能夠將一種抗原與另一種相區分。

【0010】 兩種相互作用是T-細胞啟動所需的(Viglietta, V. 等 (2007) “*Modulating Co-Stimulation*,” Neurotherapeutics 4:666-675；Korman, A.J. 等 (2007) “*Checkpoint Blockade in Cancer Immunotherapy*,” Adv. Immunol. 90:297-339)。在第一相互作用中，細胞必須呈遞(display)結合至細胞的I類或II類主要組織相容性複合物(“**MHC**”)的相關靶抗原，以便它能結合幼稚T淋巴細胞的T-細胞受體(“**TCR**”)。儘管幾乎所有細胞類型可充當抗原呈遞細胞，但是一些細胞諸如**巨噬細胞**、**B細胞**和**樹突狀細胞**專門呈遞外來抗原並且是“專業的”“**抗原呈遞細胞**”。結合至抗原呈遞細胞的MHC I分子的抗原的免疫學檢測導致細胞毒性T-細胞的產生。結合至抗原呈遞細胞的MHC II分子的抗原的免疫學檢測導致細胞毒性T-細胞的產生。在第二相互作用中，抗原呈遞細胞的配體必須結合T-細胞的共受體 (Dong, C. 等 (2003) “*Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules*,” Immunolog. Res. 28(1):39-48；Lindley, P.S. 等 (2009) “*The Clinical Utility Of Inhibiting CD28-Mediated Costimulation*,” Immunol. Rev. 229:307-321)。經受兩種刺激信號的T-細胞然後就能對細胞因數（諸如白細胞介素-2和白細胞介素-12）作出應答。

【0011】 在TCR接合（TCR engagement）期間沒有兩種共刺激信號的情況下，T-細胞進入功能無應答狀態，被稱為克隆無能 (Khawli, L.A. 等 (2008) “*Cytokine, Chemokine, and Co-Stimulatory Fusion Proteins for the Immunotherapy of Solid Tumors*,” Exp. Pharmacol. 181:291-328)。在病理狀態下，T-細胞是各種器官特異定自身免疫疾病諸如I型糖尿病、類風濕性關節炎、和多發性硬化的關鍵參

與者(Dong, C. 等 (2003) "*Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules*," Immunolog. Res. 28(1):39-48)。

【0012】 這種免疫"檢查點"途徑在保持自我耐受性（即，防止受試者對他的/她的自身細胞發起免疫系統攻擊（一種"自身免疫"反應））以及在抗微生物或抗過敏免疫應答期間限制側支組織損傷方面是重要的。當T細胞的接觸導致產生兩種必需信號中的僅僅一種時，T細胞不會被啟動，也不會產生適應性免疫應答。因此，T細胞啟動的"雙信號"機制為免疫系統提供了一種避免不良應答的方法，所述不良應答例如對自身抗原的應答，其將以另外的方式導致對受試者的自身細胞的免疫系統攻擊（一種"自身免疫"反應）。

II. **細胞免疫系統的細胞表面分子**

A. CD3、CD4和CD8

【0013】 免疫系統的細胞特徵在於它們的特種糖蛋白細胞表面分子的表達。這種分子和其它細胞分子之間的相互作用觸發、維持或抑制免疫應答。具體地，所有T-細胞特徵在於它們的**CD3**的表達。CD3是由四條不同的鏈構成的T-細胞共受體 (Wucherpfennig, K.W. 等 (2010) "*Structural Biology Of The T-Cell Receptor: Insights into Receptor Assembly, Ligand Recognition, And Initiation of Signaling*," Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2(4):a005140；pages 1-14；Chetty, R. 等 (1994) "*CD3: Structure, Function, And Role Of Immunostaining In Clinical Practice*," J. Pathol. 173(4):303-307；Guy, C.S. 等 (2009) "*Organization Of Proximal Signal Initiation At The TCR:CD3 Complex*," Immunol. Rev. 232(1):7-21)。

【0014】 在哺乳動物中，複合物包含CD3γ鏈、CD3δ鏈和兩條CD3ε鏈。這些鏈與TCR締合以便在T淋巴細胞中產生啟動信號(Smith-Garvin, J.E. 等 (2009)

"*T Cell Activation*," Annu. Rev. Immunol. 27:591-619)。在CD3不存在的情況下，TCRs不能正確組裝並且會退化(Thomas, S. 等 (2010) "*Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer*," Immunology 129(2):170–177)。據發現CD3結合至所有成熟T-細胞的膜，並且幾乎沒有其它細胞類型(參見Janeway, C.A. 等 (2005) In: IMMUNOBIOLOGY: THE IMMUNE SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE," 6th ed. Garland Science Publishing, NY, pp. 214- 216；Sun, Z. J. 等 (2001) "*Mechanisms Contributing To T Cell Receptor Signaling And Assembly Revealed By The Solution Structure Of An Ectodomain Fragment Of The CD3ε:γ Heterodimer*," Cell 105(7):913-923；Kuhns, M.S. 等 (2006) "*Deconstructing The Form And Function Of The TCR/CD3 Complex*," Immunity. 2006 Feb;24(2):133-139)。

【0015】 T-細胞上TCR複合物的不變CD3ε信號傳導組分(signaling component)已經被用作迫使在T-細胞和癌症細胞之間形成免疫學突觸的靶。CD3和腫瘤抗原的共同接合使T-細胞啟動，這觸發表達腫瘤抗原的癌症細胞的溶解(Baeuerle 等 (2011) "*Bispecific T-cell Engager For Cancer Therapy*," In: Bispecific Antibodies, Kontermann, R.E. (Ed.) Springer-Verlag；2011:273-287)。該方法允許雙特異性抗體以對癌症細胞的高度特異性與T-細胞室全面相互作用，可廣泛應用於一系列的細胞表面腫瘤抗原並且已經被實施以靶向病原體感染的細胞(參見，例如，Sloan 等 (2015) "*Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells*," PLoS Pathog 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233；WO 2014/159940；and WO 2016/054101)。

【0016】 被稱為“輔助**T-細胞**”的T-細胞第一亞組特徵在於**CD4**(即，它們是“$CD4^+$”以及$CD3^+$)的表達。$CD4^+$ T-細胞是大部分哺乳動物免疫和自身免疫應答的必要組織者(Dong, C. 等 (2003) “*Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules*,” Immunolog. Res. 28(1):39-48)。已經發現$CD4^+$ T-細胞的啟動通過在抗原呈遞細胞(諸如，B-細胞、巨噬細胞或樹突狀細胞)表面上排列的抗原:主要組織相容性II類(**MHC II**)分子複合物與均在幼稚$CD4^+$ T-細胞的表面上排列的兩種分子TCR和**CD3**細胞表面受體配體的複合物之間的共刺激相互作用介導。啟動T輔助細胞能增殖到能夠介導對靶細胞的炎症應答的Th1細胞。

【0017】 被稱為“**細胞毒性T-細胞**”的T-細胞第二亞組特徵在於**CD8**(即，它們是“$CD8^+$”以及$CD3^+$)的表達。CD8是由兩條不同的鏈構成的T-細胞共受體(Leahy, D.J. (1995) “*A Structural View of CD4 and CD8*,” FASEB J. 9:17-25)，其在細胞毒性T-細胞上表達。已經發現$CD8^+$ T-細胞的啟動通過在靶細胞表面上排列的表面上排列的抗原:主要組織相容性I類 (**MHC I**) 分子複合物與在$CD8^+$ T-細胞的表面上排列的CD8和T-細胞受體的複合物之間的共刺激相互作用介導((Gao, G. 等 (2000) “*Molecular Interactions Of Coreceptor CD8 And MHC Class I: The Molecular Basis For Functional Coordination With The T-Cell Receptor,*” Immunol. Today 21:630-636)。不像僅僅由某些免疫系統細胞表達的主要組織相容性II類(**MHC II**)分子，MHC I分子被非常廣泛地表達。因此，細胞毒性T-細胞能結合各種各樣的細胞類型。啟動的細胞毒性T-細胞通過它們釋放細胞毒素穿孔素、顆粒酶和顆粒溶解素介導細胞殺傷。通過穿孔素的作用，顆粒酶進入靶細胞的細胞質並且它們的絲氨酸蛋白酶功能觸發胱天蛋白酶級聯，其是最終導致靶細胞凋亡（程式性細胞死亡）的一系列半胱氨酸蛋白酶。

B. T-細胞受體 (“TCR”)

【0018】 T-細胞受體(“**TCR**”)是由CD4+或CD8+ T-細胞天然表達的，並且允許這樣的細胞識別由抗原呈遞細胞的I類或II類MHC蛋白結合並呈遞的抗原肽。TCR對pMHC(肽–MHC)複合物的識別啟動細胞免疫應答的傳播，其導致細胞因數的產生和抗原呈遞細胞的溶解(參見，例如，Armstrong, K.M. 等 (2008) “*Conformational Changes And Flexibility In T- Cell Receptor Recognition Of Peptide–MHC Complexes*,” Biochem. J. 415(Pt 2):183–196；Willemsen, R. (2008) “*Selection Of Human Antibody Fragments Directed Against Tumor T-Cell Epitopes For Adoptive T-Cell Therapy*,” Cytometry A. 73(11):1093-1099；Beier, K.C. 等 (2007) “*Master Switches Of T-Cell Activation And Differentiation*,” Eur. Respir. J. 29:804-812；Mallone, R. 等 (2005) “*Targeting T Lymphocytes For Immune Monitoring And Intervention In Autoimmune Diabetes*,” Am. J. Ther. 12(6):534–550)。CD3是結合至TCR的受體(Thomas, S.等 (2010) “*Molecular Immunology Lessons From Therapeutic T-Cell Receptor Gene Transfer*,” Immunology 129(2):170-177；Guy, C.S. 等 (2009) “*Organization Of Proximal Signal Initiation At The TCR:CD3 Complex*,” Immunol. Rev. 232(1):7-21；St. Clair, E.W. (Epub 2009 Oct 12) “*Novel Targeted Therapies For Autoimmunity*,” Curr. Opin. Immunol. 21(6):648-657；Baeuerle, P.A.等 (Epub 2009 Jun 9) “*Bispecific T-Cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy*,” Cancer Res. 69(12):4941-4944；Smith-Garvin, J.E. 等 (2009) “*T Cell Activation*,” Annu. Rev. Immunol. 27:591-619；Renders, L.等 (2003) “*Engineered CD3 Antibodies For Immunosuppression*,” Clin. Exp. Immunol. 133(3):307-309)。

【0019】 TCR和CD3複合物連同CD3 ζ鏈 z鏈 (也稱為T-細胞受體T3 z鏈或CD247)一起構成“**TCR複合物**”(van der Merwe, P.A. 等(epub Dec. 3, 2010) “*Mechanisms For T Cell Receptor Triggering*,” Nat. Rev. Immunol. 11:47-55；Wucherpfennig, K.W. 等 (2010) “*Structural Biology of the T Cell Receptor: Insights into Receptor Assembly, Ligand Recognition, and Initiation of Signaling*,” Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2:a005140)。該複合物是特別重要的，因為它包含大量（10個）免疫受體酪氨酸基啟動基序(ITAMs)。

【0020】 包含CD3結合結構域和對在靶細胞上表達的疾病抗原(“**DA**”)特異性的結合結構域的多特異性分子能介導這種靶細胞的重定向T-細胞殺傷。然而，由於這種分子對CD3的親和力，這種分子可能太強有力，以致展示來自受激T-細胞的不期望的細胞因數釋放。因此，儘管之前在識別涉及哺乳動物免疫應答的分子方面的進步，但是仍然需要用於治療癌症和傳染病的改進療法。本發明提供一組具有一定範圍結合動力學的變體CD3-結合結構域，其可用於調節這種多特異性分子的細胞殺傷和/或細胞因數釋放活性以提高治療視窗。本發明涉及這種和其它目標。

【發明內容】

【0021】 本發明涉及包含能結合CD3的表位的CD3-結合結構域以及能結合疾病抗原(“**DA**”)的表位的疾病抗原-結合結構域的多特異性結合分子(例如，雙特異性抗體、雙抗體、雙特異性scFv、三價分子、TandAb®、BiTE®等) (例如，“**DA x CD3結合分子**”)。本發明具體涉及這種包含變體CD3-結合結構域(“**vCD3-結合結構域**”)的**DA x CD3結合分子**，所述變體CD3-結合結構域(“**vCD3-結合結**

構域")包括CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域、和CDR_L3結構域，其中至少一個在氨基酸序列上區別於參考CD3-結合結構域("**rCD3-結合結構域**")的對應CDR的氨基酸序列，並且其中所述包含這種vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**相對於包含這種rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3改變的親和力。本發明具體涉及這種包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其相對於包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3降低的親和力並且能夠介導表達DA的靶細胞的重定向殺傷並且展示較低水準的細胞因數釋放。本發明具體涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包含這種分子（一種或多種）的藥物組合物。

【0022】 詳細地，本發明提供包含能夠結合CD3的表位的CD3-結合結構域以及能夠結合疾病抗原的表位的疾病抗原-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其中所述CD3-結合結構域包括：

(I) (A) 包含選自由**SEQ ID NO:99**、**SEQ ID NO:91**、**SEQ ID NO:93**、**SEQ ID NO:95**和**SEQ ID NO:97**組成的組的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(II) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含選自由**SEQ ID NO:69**、**SEQ ID NO:71**、**SEQ ID NO:73**、**SEQ ID NO:75**、**SEQ ID NO:77**、**SEQ ID NO:79**、**SEQ ID NO:81**、**SEQ ID NO:83**、**SEQ ID NO:85**、**SEQ ID NO:87**、**SEQ ID NO:89**、**SEQ ID NO:101**、**SEQ ID NO:103**、**SEQ ID NO:105**和**SEQ ID NO:107**組成的組的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(III) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含選自由**SEQ ID NO:109**或**SEQ ID NO:111**組成的組的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(IV) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含選自由**SEQ ID NO:113**和**SEQ ID NO:115**組成的組的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【0023】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述CD3-結合結構域包括：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:56**的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含選自由**SEQ ID NO:98**、**SEQ ID NO:68**、**SEQ ID NO:70**、**SEQ ID NO:72**、**SEQ ID NO:74**、**SEQ ID NO:76**、**SEQ ID NO:78**、**SEQ ID NO:80**、**SEQ ID NO:82**、**SEQ ID NO:84**、**SEQ ID NO:86**、**SEQ ID NO:88**、**SEQ ID NO:90**、**SEQ ID NO:92**、**SEQ ID NO:94**、**SEQ ID NO:96**、**SEQ ID NO:100**、**SEQ ID NO:102**、**SEQ ID NO:104**和**SEQ ID NO:106**組成的組的氨基酸序列的VH結構域；或

(II) (A) 包含選自由**SEQ ID NO:108**、**SEQ ID NO:110**、**SEQ ID NO:112**和**SEQ ID NO:114**組成的組的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的VH結構域。

【0024】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述**DA x CD3結合分子**是雙特異性抗體、雙特異性雙抗體、雙特異性scFv、雙特異性TandAb或三價結合分子。

【0025】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述**DA x CD3結合分子**能結合多於一個的疾病抗原和/或效應細胞的不同細胞表面

分子。具體地，其中所述效應細胞的不同細胞表面分子是CD2、CD8、CD16、TCR、NKp46或NKG2D。

【0026】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述疾病抗原是癌抗原或病原體相關抗原。

【0027】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述癌抗原選自由下列癌抗原組成的組：19.9、4.2、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^{b}/Le^{y}、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D$_1$56-22、DR5、E$_1$系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R$_{24}$、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生肽、T$_5$A$_7$、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5、和Y半抗原Le^{y}。

【0028】 本發明具體涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述癌抗原是B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、EGRF、EphA2、gpA33、HER2/neu、VEGF、5T4、IL13Rα2、CD123、CD19或ROR1。

【0029】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【0030】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述**DA x CD3結合分子**包含：相互共價結合的第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中：

(A) 所述第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向上包含：

(i) 結構域1，其包含：

(1) 亞結構域(1A)，其包含能結合至疾病抗原的表位的單克隆抗體的VL結構域 (VL_{DA})；和

(2) 亞結構域(1B)，其包含能結合至CD3的表位的單克隆抗體的VH結構域(VH_{CD3})；

其中所述亞結構域1A和1B通過肽連接體彼此分開；和

(ii) 結構域2，其中所述結構域2是異源二聚體-促進結構域；

(B) 所述第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向上包含：

(i) 結構域1，其包含：

(1) 亞結構域(1A)，其包含能結合至CD3的表位的單克隆抗體的VL結構域(VL_{CD3})；和

(2) 亞結構域(1B)，其包含能結合至疾病抗原的表位的單克隆抗體的VH結構域 (VH_{DA})；

其中所述亞結構域1A和1B通過肽連接體彼此分開；

(ii) 結構域2，其中所述結構域2是異源二聚體-促進結構域，其中所述第一多肽鏈和所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域不同；

並且其中：

(a) 所述第一多肽鏈的VL結構域和所述第二多肽鏈的所述VH結構域 締合以形成所述疾病抗原-結合結構域，並且所述第一多肽鏈的VH結構域和所述第二多肽鏈的所述VL結構域締合以形成所述CD3-結合結構域；或

(b) 所述第一多肽鏈的所述VL結構域和所述第二多肽鏈的所述VH結構域締合以形成所述CD3-結合結構域，並且所述第一多肽鏈的所述VH結構域和所述第二多肽鏈的所述VL結構域締合以形成所述疾病抗原-結合結構域。

【0031】 本發明另外涉及包含這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中：

(a) 所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是E-螺旋結構域，並且所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是K-螺旋結構域；或

(b) 所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是K-螺旋結構域，並且所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是E-螺旋結構域。

【0032】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述第一或第二多肽鏈另外包含結構域3，其包含免疫球蛋白Fc結構域的CH2和CH3結構域。

【0033】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述**DA x CD3結合分子**進一步包含第三多肽鏈，其包含免疫球蛋白Fc結構域的CH2和CH3結構域。

【0034】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述**DA x CD3結合分子**進一步包含CD8-結合結構域。

【0035】 本發明另外涉及這種**DA x CD3結合分子**的實施方式，其中所述**DA x CD3結合分子**包含：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:179**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:175**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(II) (A) 包含**SEQ ID NO:184**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:181**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(III) (A) 包含**SEQ ID NO:196**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:186**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(IV) (A) 包含**SEQ ID NO:197**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:192**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(V) (A) 包含**SEQ ID NO:193**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:194**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(VI) (A) 包含**SEQ ID NO:179**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:175**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(VII) (A) 包含**SEQ ID NO:184**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:181**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(VIII) (A) 包含**SEQ ID NO:196**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:186**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(IX) (A) 包含**SEQ ID NO:193**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:194**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽。

【0036】 本發明另外涉及藥物組合物，其包括上述**DA x CD3結合分子**中的任一種和藥學上可接受的載體。

【0037】 本發明另外涉及用於治療疾病的方法，其包括給需要其的受試者施用治療有效量的上述**DA x CD3結合分子**中的任一種或上述藥物組合物。

【0038】 本發明另外涉及這種方法的實施方式，其中所述疾病是癌症。包括這樣的實施方式，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【0039】 本發明另外涉及這種方法的實施方式，其中所述疾病是病原體相關疾病；包括這樣的實施方式，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【0040】 本發明另外涉及上述**DA x CD3結合分子或上述**藥物組合物在治療疾病中的用途。

【0041】 本發明另外涉及這種用途的實施方式，其中所述疾病是癌症。包括這樣的實施方式，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、

多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【0042】 本發明另外涉及這種用途的實施方式，其中所述疾病是病原體相關疾病。包括這樣的實施方式，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【圖式簡單說明】

【0043】 **圖1A-1B**提供由兩條多肽鏈構成的具有兩個表位元結合結構域的代表性共價結合的雙抗體的示意圖，每條多肽鏈具有E-螺旋(E-coil)或K-螺旋(K-coil)異源二聚體-促進結構域(下面提供可替選的異源二聚體-促進結構域)。半胱氨酸殘基可存在於連接體中(**圖1A**)和/或異源二聚體-促進結構域中(**圖1B**)。識別相同表位元的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0044】 **圖2**提供由兩條多肽鏈構成的具有兩個表位元結合結構域的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖，每條多肽鏈具有CH2和CH3結構域，使得締合的鏈形成Fc結構域的全部或部分。識別相同表位元的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0045】 **圖3A-3C**提供由兩對多肽鏈(即總共四條多肽鏈)構成的具有四個表位元結合結構域的代表性共價結合的四價雙抗體的示意圖。每一對的一條多

肽具有CH2和CH3結構域，使得締合的鏈形成Fc結構域的全部或部分。識別相同表位元的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。兩對多肽鏈可以相同。在其中所述兩對多肽鏈相同並且VL和VH結構域識別不同表位元的這種實施方式中(如**圖3A-3B**所示)，所得分子具有四個表位元結合結構域並且關於每個結合的表位是雙特異性的和二價的。在其中所述VL和VH結構域識別相同表位元(例如，相同VL結構域CDR和相同VH結構域CDR被用於兩條鏈上)的這種實施方式中，所得分子具有四個表位元結合結構域並且關於單個表位是單特異性的並且是四價的。可替選地，兩對多肽可以是不同的。在所述兩對多肽鏈不同並且每對多肽的VL和VH結構域識別不同表位元的這種實施方式中(如**圖3C**中通過不同陰影和圖案所示)，所得分子具有四個表位元結合結構域並且關於每個結合的表位是四特異性的並且是單價的。**圖3A**顯示含Fc結構域的雙抗體，其包含含有半胱氨酸殘基的肽異源二聚體-促進結構域。**圖3B**顯示含Fc結構域的雙抗體，其包含含有半胱氨酸殘基和連接體(具有任選的半胱氨酸殘基)的E-螺旋和K-螺旋異源二聚體-促進結構域。**圖3C**顯示含Fc結構域的雙抗體，其包含的抗體CH1和CL結構域以促進異源二聚化。

【0046】 **圖4A-4B**提供由三條多肽鏈構成的具有兩個表位元結合結構域的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖。多肽鏈中的兩條具有CH2和CH3結構域，使得締合的鏈形成Fc結構域的全部或部分。包含VL和VH結構域的多肽鏈進一步包含異源二聚體-促進結構域。識別相同表位元的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0047】 **圖5**提供由五條多肽鏈構成的具有四個表位元結合結構域的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖。多肽鏈中的兩條具有CH2和CH3結構域，使

得締合的鏈形成包含Fc結構域的全部或部分的Fc結構域。包含連接的VL和VH結構域的多肽鏈進一步包含異源二聚體-促進結構域。識別相同表位元的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0048】 **圖6A-6F**提供代表性的具有三個表位元結合結構域的含Fc結構域的三價結合分子的示意圖。**圖6A**和**6B**分別示意性地示例包含具有不同結構域取向的兩個雙抗體型結合結構域和Fab型結合結構域的三價結合分子的結構域，其中雙抗體型結合結構域相對於Fc結構域位於N-末端或C-末端。**圖6A**和**6B**中的分子包含四條鏈。**圖6C**和**6D**分別示意性地示例三價結合分子的結構域，其包含相對於Fc結構域位於N-末端的兩個雙抗體型結合結構域、以及其中輕鏈和重鏈經由多肽間隔子連接的Fab型結合結構域、或scFv型結合結構域。**圖6E**和**6F**中的三價結合分子分別示意性地示例三價結合分子的結構域，其包含相對於Fc結構域位於C-末端的兩個雙抗體型結合結構域、以及其中輕鏈和重鏈經由多肽間隔子連接的Fab型結合結構域、或scFv型結合結構域。**圖6C-6F**中的三價結合分子包含三條鏈。識別相同表位元的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0049】 **圖7A-7D**顯示CTL和結合試驗的結果。**圖7A**顯示由包含**CD3 mAb 1**；**CD3 mAb 1 M1**；**CD3 mAb 1 M2**；**CD3 mAb 1 M15**；**CD3 mAb 1 M17**；**CD3 mAb 1 M18**；**CD3 mAb 1 M19**；和**CD3 mAb 1 M20**的VL和VH結構域的**DART-A**型雙抗體構建物介導的代表性重定向細胞殺傷(CTL試驗中的%細胞毒性)的結果。**圖7B-7C**描繪了**表11-12**中報導的親和力常數(**圖7B**：KD；**圖7C**：ka；和**圖7D**：kd)和CTL活性(18小時下細胞溶解的EC_{50})之間的關係。

【0050】 **圖8A-8E**顯示利用泛-T效應細胞和MV-4-11 白血病靶細胞由包含**CD3 mAb 1**；**CD3 mAb 1 M2**；**CD3 mAb 1 M7**；**CD3 mAb 1 M13**；和**CD3 mAb 1 M15**的VL和VH結構域的**DART A**-型雙抗體構建物介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果。**圖8A**中繪製了百分比細胞毒性。**圖8B-8E**中繪製了細胞因數應答（**圖8B**：IFN-γ；**圖8C**：TNF-α；**圖8D**：IL-6；**圖8D**：IL-2）；NegCtrl：陰性對照。

【0051】 **圖9A-9B**顯示DART-B-型雙抗體結合至疾病抗原的能力。**圖9A**顯示**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M2**和**CD123-M18 DART-B**-型雙抗體結合至表達CD123的MOLM-13細胞的能力。**圖9B**顯示 **5T4-WT**、**5T4-M1**、**5T4-M2**和**5T4-M18 DART-B**-型雙抗體結合至表達5T4的A498細胞的能力。結合利用對所述雙抗體的E/K螺旋和鏈黴親和素-藻紅蛋白(PE)特異性的生物素化抗體檢測。

【0052】 **圖10A-10B**顯示**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M2** 和**CD123-M18 DART-B**-型雙抗體結合至CD8+ T-細胞 (**圖10A**)和CD4+ T-細胞 (**圖10B**)的能力。

【0053】 **圖11A-11Q**顯示利用泛-T效應細胞和MOLM-13急性單核細胞白血病(AML) 靶細胞由CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物(具有Fc結構域)：CD123-WT (**圖11B**、**11F**、**11J** 和**11N**)、CD123-M2 (**圖11C**、**11G**、**11K** 和**11O**)、CD123-M18 (**圖11D**、**11H**、**11L和11P**)、HIV-WT (**圖11E**、**11I**、**11M** 和**11Q**) 介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果。**圖11A**中繪製了百分比細胞毒性。**圖11B-11Q**中繪製了細胞因數應答和百分比細胞毒性(**圖11B-11E**：IFN-γ；**圖11F-11I**：TNF-α；**圖11J-11M**：IL-6；**圖11N-11Q**：IL-2)。

【0054】 **圖12A-12E**顯示利用PBMC效應細胞 和MOLM-13 AML 靶細胞由CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物 (具有Fc結構域)介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果。**圖12A**中繪製了百分比細胞毒性 (E:T= 15:1, 24 h)。**圖12B-12E**中繪製了細胞因數應答(**圖12B**：IFN-γ；**圖12C**：TNF-α；**圖12D**：IL-6；**圖12E**：IL-2)。

【0055】 **圖13A-13Q**顯示利用泛-T效應細胞和A498腎細胞癌靶細胞由5T4 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物 (具有Fc結構域) 5T4-WT (**圖13B**、**13F**、**13J**和**13N**)、5T4-M2 (**圖13C**、**13G**、**13K**和 **13O**)、5T4-M18 (**圖13D**、**13H**、**13L**和**13P**)、HIV-WT (**圖13E**、**13I**、**13M** 和**13Q**)介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果(E:T= 5:1, 24 h)。**圖13A**中繪製了細胞毒性。**圖13B-13Q**中繪製了細胞因數應答和百分比細胞毒性 (**圖13B-13E**：IFN-γ；**圖13F-13I**：TNF-α；**圖13J-13M**：IL-6；**圖13N-13Q**：IL-2)。

【0056】 **圖14A-14J**顯示利用PBMCs (**圖14A-14E**) 或泛-T效應細胞 (**圖14F-14J**) 由CD19 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物 (具有Fc結構域)介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果(對於PBMCs，E:T= 30:1以及對於泛-T-細胞，E:T 10:1，24-48 h)。**圖14A** (PBMCs)和**圖14F** (泛-T-細胞) 中繪製了百分比細胞毒性(48 hrs)。**圖14B-14E** (PBMCs)和**圖14G-14J** (Pan T-細胞)中繪製了利用PBMCs在48小時的細胞因數應答(**圖14B**和**14G**：IFN-γ；**圖14C**和**14H**：TNF-α；**圖14D**和**14I**：IL-6；**圖14E** and **14J**：IL-2)。

【0057】 **圖15A-15E**顯示代表性CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體介導T-細胞啟動的能力。T-細胞啟動通過評價所述雙抗體影響CD25和CD69的表達的能力進行測量。**圖15A**中繪製了百分比細胞毒性。**圖15B**中繪製了如通過測量CD25

所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。**圖15C**中繪製了如通過測量CD69所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。**圖15D**中繪製了如通過測量CD25所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。**圖15E**中繪製了如通過測量CD69所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。

【0058】 **圖16A-16E**顯示代表性5T4 x CD3 **DART-B**-型雙抗體介導T-細胞啟動的能力。T-細胞啟動通過評價所述雙抗體影響CD25和CD69的表達的能力進行測量。**圖16A**中繪製了百分比細胞毒性。**圖16B**中繪製了如通過測量CD25所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。**圖16C**中繪製了如通過測量CD69所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。**圖16D**中繪製了如通過測量CD25所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。**圖16E**中繪製了如通過測量CD69所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。

【0059】 **圖17A-17B**顯示對示例性CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物介導體內腫瘤減小的能力的體內研究結果。將**CD123-WT** (50 μg/kg)或**CD123-M18** (以5 μg/kg或50 μg/kg) 提供給已經接受KG1A細胞的小鼠，並且在35天期間評估腫瘤體積。**圖17A**：CD4；**圖17B**：CD8。

【0060】 **圖18A-18D**顯示對CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物介導體內腫瘤減小的能力的體內研究結果。將**CD123-WT**、**CD123-M2**或**CD123-M18** (以0.5、5、50、或500 μg/kg) 提供給已經接受KG1A細胞的小鼠，並且在35天期間評估腫瘤體積。**圖18A**：**CD123-WT**；**圖18B**：**CD123-M2**；**圖18C**：**CD123-M18**；**圖18D**：**CD123-WT和CD123-M18** 50 μg/kg和500 μg/kg治療組。

【0061】 **圖19A-19D**顯示對CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物介導體內腫瘤減小的能力的體內研究結果。將**CD123-WT**、**CD123-M2**或**CD123-M18** (以0.5、5、50、或500 μg/kg) 提供給已經接受MV4-11細胞的小鼠，並且在35天

期間評估腫瘤體積。**圖19A**：**CD123-WT**；**圖19B**：**CD123-M18**；**圖19C**：**CD123-M2**；**圖19D**：**CD123-WT**、**CD123-M2** 和**CD123-M18** 500 μg/kg治療組。

【0062】 **圖20A-20B**顯示對5T4 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物介導體內腫瘤減小的能力的體內研究結果。將**5T4-WT** (以10、50、100、或500 μg/kg)、**5T4-M18** (以10、50、100、或500 μg/kg) 或**5T4-M2** (以500 μg/kg) 提供給已經接受SKOV3細胞的小鼠，並且在45天期間評估腫瘤體積。**圖20A**：**5T4-WT**；**圖20B**：**5T4-M18** 和**5T4-M2**。

【0063】 **圖21A-21D**顯示對由CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體誘導的細胞因數釋放分佈(profile)的體內研究的結果。在將**CD123-WT**、**CD123-M2**或**CD123-M18** (以50、或500 μg/kg)施用給已經接受KG1A細胞的小鼠後六小時評價血清細胞因數水準(pg/ml)。**圖21A**：IFN-γ；**圖21B**：TNF-α；**圖21C**：IL-6；和**圖21D**：IL-2。

【0064】 **圖22A-22C**顯示CD123 x CD3 x CD8**三價**-型分子、**T-CD123-WT**、**T-CD123-M1**、**T-CD123-M2**和**T-CD123-M18**結合至細胞表面抗原的能力。**圖22A**：結合至表達CD123的MOLM-13細胞；**圖22B**：結合至$CD4^+$ T-細胞；**圖22C**：結合至$CD8^+$ T-細胞。

【0065】 **圖23A-23G**顯示利用不同T-細胞群由**T-CD123-WT**、**T-CD123-M1**、**T-CD123-M2**和**T-CD123-M18** CD123 x CD3 x CD8**三價**-型分子介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果。利用$CD3^+$ 泛-T-細胞 (**圖23A**)；$CD4^+$ T-細胞 (**圖23B**)和$CD8^+$ T-細胞 (**圖23C**)的百分比細胞毒性。**圖23D-23G**中繪製了利用$CD3^+$ 泛-T-細胞的細胞因數應答。**圖23D**：IFN-γ；**圖23E**：TNF-α；**圖23F**：IL-6；和**圖23G**：IL-2。

【0066】 **圖24A-24J**顯示在用**CD123-M18** (10 mg/kg和20 mg/kg)或**CD123-WT** (0.003 mg/kg)治療的食蟹猴中觀察到的血清細胞因數水準、Ki67表達、和臨床病理標誌物水準。**圖24A**：IFN-γ；**圖24B**：TNF-α；**圖24C**：IL-6；**圖24D**：IL-2；**圖24E**：IL-15；**圖24F**：Ki67陽性$CD4^+$ T-細胞；**圖24G**：Ki67陽性$CD8^+$ T-細胞；**圖24H**：血小板；**圖24I**：C-反應蛋白；**圖24J**：血尿素氮。

【0067】 **圖25A-25G**顯示在來自AML患者的外周血樣品中由**DART-A-WT**、**CD123-WT**、**CD123-M1**和**CD123-M18**介導的AML胚細胞消耗的代表性研究結果。**圖25A**：作為對照百分比的AML 34^+ 胚細胞計數；**圖25B**：$CD4^+$細胞擴增；**圖25C**：$CD8^+$細胞擴增；**圖25D-G**：細胞因數釋放 (**圖25D**：IFN-γ；**圖25E**：TNF-α；**圖25F**：IL-6；和**圖25G**：IL-2)。

【0068】 **圖26A-26E**顯示利用泛-T效應細胞和MOLM-13 AML 靶細胞由CD123 x CD3 雙抗體構建物**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M13**、**CD123-M17**、**CD123-M18**和**CD123-M19**介導的重定向細胞殺傷(CTL試驗)的代表性研究的結果(E:T= 15:1，48-96 hr)。**圖26A**中繪製了細胞毒性作為%所釋放的LDH的函數。**圖26B-26E**中繪製了細胞因數應答(**圖26B**：IFN-γ；**圖26C**：TNF-α；**圖26D**：IL-6；**圖26E**：IL-2)。

【0069】 **圖27A-27D**展示利用泛-T效應細胞和MOLM-13 AML 靶細胞由CD123 x CD3 雙抗體構建物**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M13**、**CD123-M17**、**CD123-M18**、**CD123-M19**和**DART-A-WT**介導的4-7個重定向細胞殺傷試驗(CTL試驗)和細胞因數釋放研究的累積結果(E:T= 15:1，48-96 hr)。**圖27A**中繪製了以pM表示的CTL活性EC_{50}值。**圖27B**中繪製了作為**CD123-WT**的EC_{50}值的倍數的CTL活性。**圖27C**中繪製了作為**CD123-WT**的百分比的CTL活性

Emax。**圖27D**中繪製了標準化為**CD123-WT**的計算的治療指數(TI = E_{max} (CTL) ： E_{max} (細胞因數))。

【0070】 **圖28A-28B**顯示對CD123 x CD3 雙抗體構建物介導體內腫瘤減小的能力的體內研究結果。將**CD123-WT** (0.5 mg/kg)、**CD123-M18**或**CD123-M13** (以0.005、0.05、0.5和1 mg/kg)提供給已經接受KG1A細胞的小鼠，並且在42天期間評價腫瘤體積。**圖28A**：**CD123-WT**和**CD123-M18**。**圖28B**：**CD123-WT** 和 **CD123-M13**。

【0071】 **圖29A-29B**顯示對CD123 x CD3 雙抗體構建物介導體內腫瘤減小的能力的體內研究結果。將**CD123-WT** (0.05 mg/kg)、**CD123-M18**或 **CD123-M17** (以0.005、0.05、0.5和1 mg/kg) 提供給已經接受KG1A細胞的小鼠，並且在42天期間評價腫瘤體積。**圖29A**：**CD123-WT**和**CD123-M18**。**圖29B**：**CD123-WT** and 和**CD123-M17**。

【0072】 **圖30A-30B**顯示對由CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體誘導的白細胞介素-2細胞因數釋放分佈的體內研究結果。在將**CD123-WT** (0.5 mg/kg)、**CD123-M13**、**CD123-M17**或**CD123-M18** (以0.05、0.5和1 mg/kg)施用給已經接受KG1A細胞的小鼠後6小時評價血清細胞因數水準(pg/ml)。**圖30A**：**CD123-WT**、**CD123-M13**和**CD123-M18**；和**圖30B**：**CD123-WT**、**CD123-M17**和**CD123-M18**。

【0073】 **圖31A-31F**顯示通過來自人和食蟹猴PBMCs的**CD19-WT**、**CD19.1-M18**和**HIV-M18**的自體B-細胞消耗的代表性研究結果。**圖31A** (人PBMCs)和**圖31B** (食蟹猴PBMCs)中繪製了$CD20^+$ B-細胞的消耗。**圖31C-F**中繪製了來自治療的人PBMCs的細胞因數釋放(**圖31C**：IFN-γ；**圖31D**：TNF-α；**圖31E**：IL-6；和**圖31F**：IL-2)。

【0074】 **圖32A-32D**顯示在用**CD19.1-M18** (1 mg/kg和10 mg/kg)或**CD123-WT** (0.1 mg/kg)治療的食蟹猴的外周血中觀察到的B-細胞水準的降低。**圖32A**中顯示用藥前B-細胞水準 (B-細胞群用橢圓指示)。**圖32B-32C**中分別顯示在第1天、第8天和第15天的水準。

【0075】 **圖33A-33C**顯示來自食蟹猴治療前和用陽性對照**CD19-WT** (**圖33A**：0.1 mg/kg)或CD3 變體**CD19.1-M18** (**圖33B**：10 mg/kg；和**圖33C**：30 mg/kg)治療後7天的淋巴結中的免疫組織化學染色。

【0076】 **圖34**顯示在用**CD19.1-M13** (1 mg/kg)、**CD19.1-M17** (1 mg/kg)或**CD19-WT** (0.1 mg/kg)治療的食蟹猴的外周血中觀察到的B-細胞水準降低。

【0077】 **圖35A-35E**顯示用**CD19.1-M13** (1 mg/kg)、**CD19.1-M17** (1 mg/kg)、或**CD19-WT** (0.1 mg/kg) 治療的食蟹猴中觀察到的血清細胞因數水準。**圖35A**：TNF-α；**圖35B**：IFN-γ；**圖35C**：IL-2；**圖35D**：IL-6；和**圖35E**：IL-15。

【0078】 **圖36A-36B**顯示在用**CD19.1-M13** (1 mg/kg)、**CD19.1-M17** (1 mg/kg)或**CD19-WT** (0.1 mg/kg)治療的食蟹猴中觀察到的T-細胞增殖。**圖36A**：Ki67陽性T-細胞 $CD4^+$ T-細胞；**圖36B**：Ki67陽性$CD8^+$ T-細胞。

【實施方式】

【0079】 本發明涉及包含能夠結合CD3的表位的CD3-結合結構域以及能夠結合疾病抗原(“**DA**”)的表位的疾病抗原-結合結構域的多特異性結合分子 (例如，雙特異性抗體、雙抗體、雙特異性 scFv、三價分子、TandAb®、BiTE® 等) (例如，“**DA x CD3結合分子**”)。本發明具體涉及這種包含變體CD3-結合結構域(“**vCD3-結合結構域**”)的**DA x CD3結合分子**，所述變體CD3-結合結構域 (“**vCD3-**

結合結構域")包括CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，其中至少一個在氨基酸序列上區別於來自參考CD3-結合結構域("**rCD3-結合結構域**")的對應CDR的氨基酸序列，並且其中所述包含這種vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**相對於包含這種rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3改變的親和力。本發明具體涉及這種包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其相對於包含rCD3-結合結構域的DA x CD3結合分子展示對CD3降低的親和力，並且能夠介導表達DA的靶細胞的重定向殺傷並且展示較低水準的細胞因數釋放。本發明具體涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包含這種分子（一種或多種）的藥物組合物。

【0080】 如上所示，本發明的治療分子特別地包括雙特異性結合分子，其包含能夠免疫特異性地結合效應細胞的細胞表面分子的表位元的表位元結合結構域以及能夠免疫特異性地結合表達疾病抗原的靶細胞的表位元的表位元結合結構域。如本文所用，術語"**疾病抗原**" (縮寫為"**DA**")表示這樣的抗原，其在異常細胞或感染細胞的表面上表達並且特徵在於這種感染的異常性，或者其在外來細胞的表面上表達並且特徵在於這種外來來源。如本文所用，在其細胞表面上表達疾病抗原，並且因此被本發明的治療分子結合並且因此通過這種治療分子被靶向殺傷的細胞是"靶細胞"。與本發明特別相關的是為"**癌抗原**"或"**病原體相關抗原**"的疾病抗原。

I. 抗體和其結合結構域

【0081】 本發明的**DA x CD3結合分子**可以是抗體，或可衍生自抗體(例如，通過抗體多肽的斷裂、切割等，或者來自抗體分子的氨基酸序列或者編碼這種多核苷酸的多核苷酸(或其序列)等的應用)。

【0082】 **抗體**是能夠特異性結合分子，諸如碳水化合物、多核苷酸、脂質、多肽等的特定結構域或部分(moiety)或構造(“**表位**”)的免疫球蛋白分子。含表位的分子可具有免疫原性活性，使得其引起動物中的抗體產生應答；這樣的分子被稱為“**抗原**”。如本文所用，術語“**抗體(antibody)**”和“**抗體(antibodies)**”是指單克隆抗體、多特異性抗體、人抗體、人源化抗體、合成抗體、嵌合抗體、多克隆抗體、駱駝化抗體(camelized antibody)、單鏈Fvs(scFv)、單鏈抗體、Fab片段、F(ab')片段、二硫鍵連接的雙特異性Fvs(sdFv)、胞內抗體和任意上述的表位元結合結構域。具體地，術語“抗體”包括免疫球蛋白分子和免疫球蛋白分子的免疫活性片段，即包含表位元結合結構域的分子。免疫球蛋白分子可以具有任何類型(例如，IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、類別(例如，IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1和IgA_2)或亞類。抗體是由於在這樣的分子上存在特定結構域或部分或構象(“**表位**”)而能夠“**免疫特異性地結合**”至多肽、蛋白質或非蛋白質分子。

【0083】 術語“**單克隆抗體**”是指同源性抗體群，其中單克隆抗體包括涉及抗原的選擇性結合的氨基酸(天然產生的或非天然產生的)。單克隆抗體是高度特異性的，針對單個表位(或抗原位點)。術語“單克隆抗體”不僅僅涵蓋完整的單克隆抗體和全長單克隆抗體，而且也涵蓋其片段(比如Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv、單鏈(scFv)、其突變體)、包括抗體部分的融合蛋白、人源化的單克隆抗體、嵌合單克隆抗體和包括結合抗原所需特異性和能力的抗原識別位點的免疫球蛋白分子的任何其它修飾構型。就抗體的來源或其製備的方式(例如，通過雜交瘤、噬菌

體選擇、重組表達、轉基因動物等)而言，其不旨在是限制性的。術語包括完整的免疫球蛋白以及上面根據"抗體"的定義描述的片段等。製備單克隆抗體的方法是本領域已知的。可採用的一種方法是Kohler, G.等(1975) "*Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity*," Nature 256:495-497的方法或其改良。典型地，單克隆抗體在小鼠、大鼠或兔子中開發。通過用免疫原性量的細胞、細胞提取物或包含期望表位的蛋白質製品免疫動物而產生抗體。免疫原可以是但不限於原代細胞、培養細胞系、癌細胞、蛋白質、肽、核酸或組織。在其用作免疫原之前，用於免疫的細胞可被培養一段時間(例如，至少24小時)。細胞可本身或聯合非變性佐劑(比如Ribi)用作免疫原(參見，例如，

Jennings, V.M. (1995) "*Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production*," ILAR J. 37(3):119-125)。一般而言，在用作免疫原時，細胞應保持完整並且優選地是活的。相比於破裂的細胞，完整的細胞可允許抗原被免疫的動物更好地檢測到。變性佐劑或烈性佐劑(harsh adjuvants)，例如，弗氏佐劑的使用，可使細胞破裂並且因此受阻。免疫原可以週期性間隔被多次施用，諸如兩週一次或一週一次，或者可以以維持在動物中(例如，在組織重組體中)的生存力這樣的方式被施用。可替選地，對於期望的致病表位是免疫特異性的現有的單克隆抗體和任意其它等效抗體可被測序，並通過本領域中已知的任意手段重組產生。在一個實施方式中，對這樣的抗體測序，然後將多核苷酸序列克隆到載體中用於表達或增殖。編碼感興趣的抗體的序列可在宿主細胞內保持在載體中，然後可擴增和冷凍宿主細胞，用於將來的使用。這樣的抗體的多核苷酸序列可用於基因操作，以產生本發明的單特異性或多特異性(例如，雙特異性、三特異性和四特異

性)分子以及親和力優化的嵌合抗體、人源化抗體和/或犬源化(caninized)抗體，以改善抗體的親和力或其它特徵，如下所詳述。

【0084】 本發明的結合分子以“**免疫特異性**”方式經由它們的結合結構域結合表位元。如本文所用，如果一個抗體、雙抗體或其它表位結合分子相對於可替選的表位與另一分子的區域（即，表位元）更頻繁、更迅速、以更長的持續時間和/或以更大的親和力反應或締合，則認為該分子“**免疫特異性地**”結合所述另一分子的所述表位。例如，免疫特異性地結合一種病毒表位元元的抗體是相比於免疫特異性地結合其它病毒表位元元或非病毒表位元元以更大的親和力、親合力、更容易地和/或以更長的持續時間結合該病毒表位元元的抗體。通過閱讀該定義同樣理解，例如，免疫特異性地結合第一靶目標的抗體(或部分或表位元元)可以特異性地或優先地結合至第二靶標或者可以不特異性地或不優先地結合第二靶標。照此，“**免疫特異性結合**”並不一定要求(儘管其可包括)排他性結合。一般地，但不一定，本文提及“結合”意味著“免疫特異性”結合。

【0085】 過去幾十年已經看出對抗體的治療潛力的關注的復甦，並且抗體已經變成生物技術衍生的藥物的主導類別之一(Chan, C.E.等(2009) “*The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases*,” Singapore Med. J. 50(7):663-666)。超過200種的基於抗體的藥物已經批准使用或在開發中。

【0086】 天然抗體(諸如IgG抗體) 由與兩條“**重鏈**”複合的兩條“**輕鏈**”構成。各條輕鏈包含可變結構域 (“**VL**”)和恒定結構域 (“**CL**”)。各條重鏈包含可變結構域 (“**VH**”)、三個恒定結構域(“**CH1**”、“**CH2**”和“**CH3**”)、以及位於**CH1和CH2**結構域之間的“鉸鏈”區(“**H**”)。而scFvs是通過經由短連接肽將輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域連接而製備的單鏈分子。

【0087】 天然產生的免疫球蛋白(例如，IgG)的基本結構單元因此是具有兩條輕鏈和兩條重鏈的四聚體，其通常表達為大約150,000 Da的糖蛋白。各條鏈的氨基末端（“**N-末端**”）部分包括主要負責抗原識別的大約100至110個或更多個氨基酸的可變結構域。各條鏈的羧基-末端(“**C-末端**”)部分限定恒定區，其中具有單個恒定結構域的輕鏈和通常具有三個恒定結構域和鉸鏈結構域的重鏈。因此，IgG分子的輕鏈的結構是n-VL-CL-c，並且IgG 重鏈的結構是**n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c** (其中n和c分別代表多肽的N-末端和C-末端)。完整的、未修飾的抗體(例如，IgG抗體)結合抗原表位元的能力取決於可變結構域的存在和序列。除非另外指出，否則本文描述的蛋白分子的結構域的順序是以“**N-末端至C-末端**”方向。

A. 抗體可變結構域的特徵

【0088】 IgG分子的可變結構域由三個“**互補決定區**” (“**CDR**”)以及四個稱為“**框架區**”(“**FR**”)的間插非-CDR區段組成，CDR包含抗體的將與表位接觸的氨基酸殘基，FR分開CDR區段並且大體上保持CDR殘基的結構並且確定CDR殘基的定位以允許它們接觸所述表位(儘管某些框架殘基也可在這種接觸中起作用)。因此，VL和VH結構域具有結構**n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c**，其中n和c分別表示所述結構域的N-末端和C-末端。CDR的氨基酸序列確定抗體是否將能夠結合至特定的表位。

【0089】 來自免疫球蛋白的成熟重鏈和輕鏈的可變結構域的氨基酸通過所述鏈中氨基酸的位置命名。Kabat等(SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991) (“**Kabat**”)，其通過引用明確併入本文) 描述了抗體的許多氨基酸序列，鑒定了對

於每個亞組的氨基酸共有序列，並且指定了對每個氨基酸的殘基編號。如通過Kabat定義的，鑒定CDR(應理解，如通過Chothia, C. & Lesk, A. M.所定義的CDR_H1((1987)"*Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins*," J. Mol. Biol. 196:901-917)提前五個殘基開始)。Kabat的編號方案可通過參照保守氨基酸比對考慮中的抗體與Kabat中的共有序列之一擴展至不包括在其手冊中的抗體。用於指定殘基編號的該方法在本領結構域中已經變成標準，並且易於鑒定在不同抗體(包括嵌合或人源化變體)中在等同位置處的氨基酸。例如，在人抗體輕鏈的位置50處的氨基酸佔據與小鼠抗體輕鏈的位置50處的氨基酸等同的位置。

【0090】 作為(或可以用作)抗體輕鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分別命名為：**CDR_L1結構域**、**CDR_L2結構域**和**CDR_L3結構域**。類似地，作為(或可以用作)抗體重鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分別命名為：**CDR_H1結構域**、**CDR_H2結構域**和**CDR_H3結構域**。因此，術語CDR_L1結構域、CDR_L2結構域、CDR_L3結構域、CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域涉及這樣的多肽，當其併入蛋白質時引起蛋白質能夠結合至特定表位，而無論這種蛋白質是具有輕鏈和重鏈的抗體還是雙抗體或單鏈結合分子(例如，scFv、BiTe等)，或是另一類型蛋白質。因此，如本文所用，術語"**表位元結合結構域**"意指有助於結合分子免疫特異性地結合表位的能力的包含結合分子的片段或部分(或者具有這種片段或部分的氨基酸序列的多肽)的結構域。表位元結合結構域可包含抗體的任意1個、2個、3個、4個或5個CDR結構域，或者可包含抗體的全部6個CDR結構域，並且，儘管能夠免疫特異性地結合這種表位，但對不同於這種抗體的表位的這種表位可展示免疫特異性、親和力或選擇性。表位元結合結構

域可僅僅包含CDR的部分，即結合所需的CDR殘基（被稱為“特異性決定殘基”或“SDR”；Kim, J.H. 等 (2012)“*Humanization By CDR Grafting And Specificity-Determining Residue Grafting*,” Methods Mol. Biol. 907:237-245；Kim, K.S.等(2010) “*Construction Of A Humanized Antibody To Hepatitis B Surface Antigen By Specificity-Determining Residues (SDR)-Grafting And De-Immunization*,” Biochem. Biophys. Res. Commun. 396(2):231-237；Kashmiri, S.V.等(2005) “*SDR Grafting – A New Approach To Antibody Humanization*,” Methods 36(1):25-34；Gonzales, N.R.等(2004) “*SDR Grafting Of A Murine Antibody Using Multiple Human Germline Templates To Minimize Its Immunogenicity*,” Mol. Immunol. 41:863-872)的子集。然而，優選地，表位元結合結構域將包含這種抗體的CDR結構域中全部的6個。抗體的表位元結合結構域可以是單條多肽鏈(例如，scFv)，或者可包含兩條或更多條多肽鏈，其各自具有氨基端和羧基端(例如，雙抗體、Fab片段、Fab_2片段等)。

【0091】 本發明也特別地涵蓋這樣的結合分子，所述結合分子包含人源化抗體的VL和/或VH結構域。術語“**人源化抗體**”是指通常使用重組技術製備的嵌合分子，其具有來自非人物種的免疫球蛋白的表位元結合結構域和該分子的基於人免疫球蛋白的結構和/或序列的剩餘免疫球蛋白結構。這種抗體的可變結構域的多核苷酸序列可用於基因操縱以產生這種衍生物並且改善這種抗體的親和力或其它特徵。使抗體人源化的一般原則涉及保留抗體的表位元結合結構域的基本序列，同時以人抗體序列交換非人剩餘部分。存在使單克隆抗體人源化的四個常規步驟。這些步驟是：(1)確定起始抗體輕鏈和重鏈可變結構域的核苷酸和預測的氨基酸序列；(2)設計人源化抗體或犬源化抗體，即，決定在人源化或

犬源化過程中使用哪個抗體框架區；(3)實際的人源化或犬源化方法/技術；和(4)人源化抗體的轉染和表達。參見，例如，美國專利號4,816,567；5,807,715；5,866,692和6,331,415。

【0092】 表位元結合結構域可包含融合到恒定結構域上的完整可變結構域或者包含嫁接到合適框架區的這種可變結構域的僅互補決定區(CDRs)。表位元結合結構域可以是野生型的或者被一個或多個氨基酸置換所修飾。這消除了恒定區在人類個體中作為免疫原，但是保持了對外來的可變結構域的免疫應答的可能性(LoBuglio, A.F. 等 (1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224)。另一方法不僅集中於提供人源恒定區，而是也修飾可變結構域以使它們改造(reshape)得盡可能接近人類形式。已知的是重鏈和輕鏈兩者的可變結構域都包含三個互補決定區(CDRs)，所述互補決定區(CDRs)回應於有問題的抗原而變化並且決定結合能力，四個框架區(FRs) 位於其兩側，所述框架區(FRs)在給定物種中是相對保守的並且推定給CDRs提供支架。當非人抗體關於特定抗原製備時，可變結構域可以通過將源自非人抗體的CDRs嫁接在待被修飾的人抗體上存在的FRs被"改造"或"人源化"。針對各種抗體的這種方法的應用由下列報導：LoBuglio, A.F.等(1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224；Sato, K.等(1993) Cancer Res 53:851-856. Riechmann, L.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*," Nature 332:323-327；Verhoeyen, M.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity*," Science 239:1534-1536；Kettleborough, C. A. 等 (1991) "*Humanization Of A Mouse*

Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation," Protein Engineering 4:773-3783 ; Maeda, H. 等 (1991) "*Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity*," Human Antibody Hybridoma 2:124-134 ; Gorman, S. D.等(1991) "*Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:4181-4185 ; Tempest, P.R. 等 (1991) "*Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo*," Bio/Technology 9:266-271 ; Co, M. S. 等(1991) "*Humanized Antibodies For Antiviral Therapy*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:2869-2873 ; Carter, P.等(1992) "*Humanization Of An Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 89:4285-4289 ; 和Co, M.S.等(1992) "*Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen*," J. Immunol. 148:1149-1154。在一些實施方式中，人源化抗體保留所有CDR序列 (例如，包含來自小鼠抗體的全部六個CDR的人源化小鼠抗體)。在其它實施方式中，人源化抗體具有相對於原抗體在序列上不同的一個或多個CDR (一個、兩個、三個、四個、五個、或六個)。

【0093】 已經描述了包含源自非人免疫球蛋白的表位元結合結構域的許多人源化抗體分子，包括具有齧齒動物可變結構域或修飾的齧齒動物可變結構域和與人恒定結構域融合的它們相關的互補決定區(CDR)的嵌合抗體(參見，例如，Winter等(1991) "*Man-made Antibodies*," Nature 349:293-299 ; Lobuglio等(1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989) ; Shaw等(1987) "*Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A) To A*

Colon Cancer Tumor-Associated Antigen," J. Immunol. 138:4534-4538；和Brown等(1987) "*Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody*," Cancer Res. 47:3577-3583)。其它參考文獻描述了在與適當的人抗體恒定結構域融合之前嫁接至人支撐框架區(FR)的齧齒動物CDR(參見，例如，Riechmann, L.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*," Nature 332:323-327；Verhoeyen, M.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity*," Science 239:1534-1536；和Jones等(1986) "*Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse*," Nature 321:522-525)。另一參考文獻描述了通過重組修飾的齧齒動物框架區支撐的齧齒動物CDR。參見，例如，歐洲專利公開號519,596。這些"**人源化的**"分子被設計為使得對齧齒動物抗人抗體分子的不想要的免疫應答最小化，所述不想要的免疫應答限制了這些部分在人接受者中治療應用的持續時間和效力。也可使用人源化抗體的其它方法，其公開在以下文獻中：Daugherty等(1991) "*Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins*," Nucl. Acids Res. 19:2471-2476和美國專利號6,180,377；6,054,297；5,997,867；和5,866,692。

B. 抗體恒定區的特徵

【0094】 貫穿本申請說明書，IgG的恒定區中的殘基的編號是按照Kabat等的SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 第5版, Public Health Service, NH1, MD(1991) ("**Kabat**")中EU索引的編號，其通過引用明

確地併入本文。術語“**如Kabat中的EU索引**”指人IgG1 EU抗體的恒定結構域的編號。

【0095】 在抗體恒定區內在許多不同位置(例如，Fc位置，包括但不限於通過Kabat中所示的EU索引所編號的位置270、272、312、315、356和358)已經觀察到多態性，並且因此在所展示的序列和現有技術中的序列之間可存在輕微差異。已經很好地表徵了人免疫球蛋白的多態形式。目前，18個重鏈異型（“Gm異型”）是已知的：G1m (1、2、3、17)或G1m (a、x、f、z)、G2m (23)或G2m (n)、G3m (5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或G3m (b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5) (Lefranc等“*The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation.*” Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990)；Lefranc, G.等1979, Hum. Genet.: 50, 199-211)。具體考慮本發明的抗體可併入任何免疫球蛋白基因的任何同種異型(allotype)、異種型(isoallotype)或單體型(haplotype)，並且不限於本文提供的序列的同種異型、同種型或單體型。而且，在一些表達系統中，CH3結構域的C-末端氨基酸殘基(以上粗體的)可被翻譯後去除。因此，在本發明的所述結合分子中，CH3結構域的C-末端殘基是任選的氨基酸殘基。具體地，通過本發明涵蓋的是沒有CH3結構域的C-末端殘基的結合分子。同樣具體地，本發明涵蓋的是包括CH3結構域的C-末端賴氨酸殘基的這種構建物。

1. 重鏈的恒定區

【0096】 抗體的兩條重鏈的CH1結構域與抗體的輕鏈的“CL”恒定區複合，並且經由間插鉸鏈結構域連接到重鏈CH2結構域。

【0097】 示例性CH1結構域是人IgG1 CH1結構域。示例性人IgG1 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:1**)：

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

【0098】 示例性CH1結構域是人IgG2 CH1結構域。示例性人IgG2 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:2**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTV

【0099】 示例性CH1結構域是人IgG3 CH1結構域。示例性人IgG3 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:3**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRV

【0100】 示例性CH1結構域是人IgG4 CH1結構域。示例性人IgG4 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:4**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV

【0101】 一個示例性鉸鏈結構域是人IgG1鉸鏈結構域。示例性人IgG1鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:5**)：EPKSCDKTHTCPPCP。

【0102】 另一個示例性鉸鏈結構域是人IgG2鉸鏈結構域。示例性人IgG2鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:6**)：ERKCCVECPPCP。

【0103】 另一個示例性鉸鏈結構域是人IgG3鉸鏈結構域。示例性人IgG2鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:7**)：

ELKTPLGDTT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK
SCDTPPPCPR CP

【0104】 另一個示例性鉸鏈結構域是人IgG4鉸鏈結構域。示例性人IgG4鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:8**)：ESKYGPPCPSCP。如本文所述，IgG4

鉸鏈結構域可包含穩定突變諸如S228P置換。示例性S228P-穩定的人IgG4鉸鏈結構域的氨基酸序列是1(**SEQ ID NO:9**)：ESKYGPPCPPCP。

【0105】 IgG抗體的兩條重鏈的CH2和CH3結構域相互作用以形成IgG抗體的"**Fc結構域**"，其被細胞**Fc受體**（包括但不限於Fcγ受體**(FcγR)**）識別。如本文所用，術語"**Fc結構域**"用來限定IgG重鏈的C-末端區。如果Fc結構域的氨基酸序列相對於其他IgG同種型與該同種型最同源，那麼認為Fc結構域具有特定的IgG同種型、類別或亞類。除了抗體已知的在診斷中的用途，已經顯示抗體可用作治療劑。

【0106】 示例性人IgG1的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:10**)：

```
231       240         250         260         270         280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD

          290         300         310         320         330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

          340         350         360         370         380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

          390         400         410         420         430
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

          440      447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0107】 示例性人IgG2的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:11**)：

```
231       240         250         260         270         280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD
          290         300         310         320         330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA
          340         350         360         370         380
```

```
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE
         390        400        410        420        430
WESNGQPENN YKTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
         440     447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0108】 示例性人IgG3的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:12**)：

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

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0109】 示例性人IgG4的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:13**)：

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

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

2. 輕鏈的恒定區

【0110】 如上所指出的，抗體的各條輕鏈包含可變結構域(“**VL**”)和恒定結構域(“**CL**”)。

【0111】 優選的CL結構域是人IgG CL κ結構域。示例性人CL κ結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:14**)：

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC

【0112】 可替選地，示例性CL結構域是人IgG CL λ結構域。示例性人CL λ結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:15**)：

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

II. 多特異性結合分子

【0113】 抗體結合抗原的表位的能力取決於抗體的VL和VH結構域的存在和氨基酸序列。抗體的輕鏈和重鏈的相互作用，以及特別地其VL和VH結構域的相互作用形成天然抗體諸如IgG的兩個表位元結合結構域中的一個。天然抗體能夠結合僅僅一個表位種類(即，它們是單特異性的)，儘管它們能夠結合該種類的多個拷貝(即展示二價或多價)。

【0114】 抗體的功能可通過產生可同時結合兩個獨立且不同的抗原(或相同抗原的不同表位)的基於多特異性抗體的分子和/或通過產生對相同表位和/或抗原具有較高價態(即，多於兩個表位元結合結構域)的基於抗體的分子來增強。

【0115】 為了提供比天然抗體具有更大能力的分子，已經開發了廣泛種類的重組雙特異性抗體形式(參見，例如，PCT公開號WO 2008/003116、WO 2009/132876、WO 2008/003103、WO 2007/146968、WO 2009/018386、WO 2012/009544、WO 2013/070565)，其大多數使用連接肽以將另外的表位元結合結

構域(例如，scFv、VL、VH等)與抗體核心(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)融合至抗體核心(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)或融合在抗體核心(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)內，或融合多個抗體表位元結合結構域(例如，兩個Fab片段或scFvs)。可替選的形式使用連接肽以將表位元結合結構域(例如，scFv、VL、VH等)與二聚結構域諸如CH2-CH3結構域或可替選的多肽融合(WO 2005/070966、WO 2006/107786、WO 2006/107617、WO 2007/046893)。PCT公開號WO 2013/174873、WO 2011/133886和WO 2010/136172公開了三特異性抗體，其中CL和CH1結構域從其各自的天然位置轉換並且已經使得VL和VH結構域多樣化(WO 2008/027236；WO 2010/108127)，以使得它們結合多於一個的抗原。PCT公開號WO 2013/163427和WO 2013/119903公開了修飾CH2結構域以包含包括結合結構域的融合蛋白加合物(fusion protein adduct)。PCT公開號WO 2010/028797、WO2010028796和WO 2010/028795公開了重組抗體，其Fc結構域已經以另外的VL和VH結構域替換，以形成三價結合分子。PCT公開號WO 2003/025018和WO2003012069公開了重組雙抗體，其單個鏈包含scFv結構域。PCT公開號WO 2013/006544公開了多價Fab分子，其被合成為單多肽鏈且然後經歷蛋白水解以產生異源二聚體結構。PCT公開號WO 2014/022540、WO 2013/003652、WO 2012/162583、WO 2012/156430、WO 2011/086091、WO 2008/024188、WO 2007/024715、WO 2007/075270、WO 1998/002463、WO 1992/022583和WO 1991/003493公開了將另外的結合結構域或官能團添加至抗體或抗體部分(例如，將雙抗體添加至抗體的輕鏈，或將另外的VL和VH結構域添加至抗體的輕鏈和重鏈，或添加異源融合蛋白或將多個Fab結構域相互連結)。

【0116】 現有技術已經另外地指出在能夠結合兩個或更多個不同表位種類方面(即，除了二價或多價外或者作為二價或多價的交換，還展示出雙特異性或多特異性)產生不同於這種天然抗體的雙抗體的能力(參見，例如，Holliger等(1993) "*'Diabodies': Small Bivalent And Bispecific Antibody Fragments,*" Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 90:6444-6448；US 2004/0058400 (Hollinger等)；US 2004/0220388/WO 02/02781 (Mertens等.)；Alt等(1999) FEBS Lett. 454(1-2):90-94；Lu, D.等(2005) "*A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity*," J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672；WO 02/02781 (Mertens等.)；Olafsen, T.等(2004) "*Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications*," Protein Eng Des Sel. 17(1):21-27；Wu, A.等(2001) "*Multimerization Of A Chimeric Anti-CD20 Single Chain Fv-Fv Fusion Protein Is Mediated Through Variable Domain Exchange*," Protein Engineering 14(2):1025-1033；Asano等(2004) "*A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain*," Abstract 3P-683, J. Biochem. 76(8):992；Takemura, S.等(2000) "*Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,*" Protein Eng. 13(8):583-588；Baeuerle, P.A.等(2009) "*Bispecific T cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy*," Cancer Res. 69(12):4941-4944)。

【0117】 具體地，已經開發出穩定的、共價結合的異源二聚體非單特異性雙抗體，命名為**DART®**雙抗體，參見例如，Sloan, D.D. 等 (2015) "*Targeting HIV*

Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells," PLoS Pathog. 11(11):e1005233. doi: 10.1371/journal.ppat.1005233；Al Hussaini, M. 等 (2015) "*Targeting CD123 In AML Using A T-Cell Directed Dual-Affinity Re-Targeting (DART®) Platform*," Blood pii: blood-2014-05-575704；Chichili, G.R. 等 (2015) "*A CD3xCD123 Bisspecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates*," Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82；Moore, P.A. 等 (2011) "*Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T-Cell Killing Of B-Cell Lymphoma*," Blood 117(17):4542-4551；Veri, M.C. 等 (2010) "*Therapeutic Control Of B-Cell Activation Via Recruitment Of Fcgamma Receptor IIb (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold*," Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943；Johnson, S. 等 (2010) "*Effector Cell Recruitment With Novel Fv-Based Dual-Affinity Re-Targeting Protein Leads To Potent Tumor Cytolysis And in vivo B-Cell Depletion*," J. Mol. Biol. 399(3):436-449)；美國專利號8,044,180、8,133,982、8,187,593、8,193,318、8,530,627、8,669,349、8,778,339、8,784,808、8,795,667、8,802,091、8,802,093、8,946,387、8,968,730、和8,993,730；美國專利公開號2009/0060910、2010/0174053、2011/0081347、2011/0097323、2011/0117089、2012/0009186、2012/0034221、2012/0141476、2012/0294796、2013/0149236、2013/0295121、2014/0017237、和2014/0099318；歐洲專利文獻號EP 1868650、EP 2158221、EP 2247304、EP 2252631、EP 2282770、EP 2328934、EP 2376109、EP 2542256、EP 2601216、EP 2714079、EP 2714733、EP 2786762、EP 2839842、EP 2840091；

和PCT公開號WO 2006/113665、WO 2008/157379、WO 2010/027797、WO 2010/033279、WO 2010/080538、WO 2011/109400、WO 2012/018687、WO 2012/162067、WO 2012/162068、WO 2014/159940、WO 2015/021089、WO 2015/026892、和WO 2015/026894)。這種雙抗體包括兩個或更多個共價複合的多肽，並且涉及將一個或多個半胱氨酸殘基工程化進入每個採用的多肽種類，其允許二硫鍵形成並且因此將一對或多對這樣的多肽鏈相互共價結合。例如，已經顯示將半胱氨酸殘基添加至這種構建物的C-末端以允許在所涉及的多肽鏈之間二硫鍵鍵合，從而穩定化所得的雙抗體，而不幹擾雙抗體的結合特徵。

【0118】 最簡單的**DART®**雙抗體包括兩條多肽鏈，每條多肽鏈包括三個結構域(**圖1A-1B**)。第一多肽鏈包括：(i)包含第一免疫球蛋白的輕鏈可變結構域的表位元結合結構域的結構域(VL1)，(ii)包含第二免疫球蛋白的重鏈可變結構域的表位元結合結構域的第二結構域(VH2)，和(iii)用來促進與第二多肽鏈的異源二聚化並且將雙抗體的第一多肽鏈共價結合至第二多肽鏈的第三結構域(“**異源二聚體促進結構域**”)。第二多肽鏈包含互補第一結構域(VL2結構域)、互補第二結構域(VH1結構域)和與第一多肽鏈的第三結構域複合以促進異源二聚化和與第一多肽鏈的共價鍵合的第三結構域(“**異源二聚體促進結構域**”)。這種分子是穩定的、有效的並且具有同時結合兩個或更多個抗原的能力。在一個實施方式中，第一和第二多肽鏈的第三結構域各自包含半胱氨酸殘基（在圖中標示為“©”），其用來通過共價二硫鍵將多肽結合在一起。一條或兩條多肽鏈的第三結構域可另外地具有CH2-CH3結構域的序列，以使一個雙抗體多肽與另一雙抗體多肽的複合形成Fc結構域。這種Fc結構域可用於改變雙抗體的生物半衰期，降低其免疫原性，和/或能夠結合至細胞(如B淋巴細胞、樹突細胞、天然殺傷細胞、巨噬

細胞、嗜中性粒細胞、嗜酸性粒細胞、嗜鹼性粒細胞和肥大細胞)的Fc受體以提高或抑制效應子功能。已經描述了這種分子的許多變型(參見，例如，美國專利公開號2015/0175697、2014/0255407、2014/0099318、2013/0295121、2010/0174053、2009/0060910、2007/0004909；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221、EP 1868650；和PCT公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538、WO 2006/113665)，並且在本文中提供。

【0119】 最近，已經描述了併入兩個雙抗體-型結合結構域和一個非雙抗體-型結構域以及Fc結構域的三價結構(參見例如，PCT公開號WO 2015/184207和WO 2015/184203)。這種三價結合分子可用於產生如下面更詳細提供的單特異性、雙特異性或三特異性分子。結合三個不同表位的能力提供增強的能力。

【0120】 對於期望雙特異性或三價分子但是不需要Fc的應用來說，可替選構建物在本領域是已知的，包括但不限於雙特異性T細胞接合分子，也被稱為“**BiTEs**”(參見，例如，PCT公開號WO 1993/11161；和WO 2004/106381)，和四價串聯抗體，也被稱為“**TandAbs**”(參見，例如，美國專利公開號2011-0206672；歐洲專利公開號EP 2371866；和PCT公開號WO 1999/057150、WO 2003/025018和WO 2013/013700)。BiTEs由包含串聯連接的scFv的單條多肽鏈形成，而TandAb通過兩條相同多肽鏈的同源二聚化形成，該兩條多肽鏈各自具有VH1、VL2、VH2和VL2結構域。

【0121】 產生多特異性結合分子(例如，雙特異性抗體、雙特異性雙抗體、三價分子等)的能力已經使得它們用於(以“**反式(trans)**”)將兩個細胞共同連接在一起，例如，通過共同連接不同細胞表面上存在的受體(例如，將細胞毒性T-細胞交聯到靶細胞，諸如表達疾病抗原的癌症細胞或病原體感染細胞) (Staerz 等

(1985) *"Hybrid Antibodies Can Target Sites For Attack By T Cells,"* Nature 314:628-631, and Holliger 等 (1996) *"Specific Killing Of* Lymphoma *Cells By Cytotoxic T-Cells Mediated By A Bispecific Diabody,"* Protein Eng. 9:299-305；Marvin 等 (2005) "*Recombinant Approaches To IgG-Like Bispecific Antibodies*," Acta Pharmacol. Sin. 26:649-658；Sloan 等 (2015) "*Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells*," PLoS Pathog 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233))。可替選地(或另外地)，多特異性分子可用於(以"**順式(cis)**")共同連接存在於相同細胞表面上的分子諸如受體等。不同細胞和/或受體的共同連接可用於調節效應子功能和/或免疫細胞信號傳導。包含表位元結合結構域的多特異性分子(例如，雙特異性雙抗體)可針對T淋巴細胞、天然殺傷(NK)細胞、抗原呈遞細胞或其它單核細胞上表達的任何免疫細胞的表面決定子，諸如CD2、CD3、CD8、CD16、TCR、天然殺傷群2、成員D受體 (NKG2D)等。具體地，定向於免疫效應細胞上存在的細胞表面受體的表位元結合結構域可用於能夠介導重定向細胞殺傷的多特異性結合分子的產生。

【0122】 本發明提供能夠介導靶細胞(例如，癌症細胞或病原體感染細胞等)的重定向殺傷的結合分子。這種結合分子能夠結合"**第一表位**"和"**第二表位**"，其中這種表位之一是CD3的表位且這種表位中的另一個是疾病抗原的表位。特定表位被命名為第一表位還是第二表位是沒有關係的；這種標記法僅僅與本發明結合分子的多肽鏈的結構域的存在和取向有關。因此，本發明的雙特異性分子包括能夠結合CD3的表位的"**VL_{CD3}**"/"**VH_{CD3}**"結構域和能夠結合疾病抗原的表位的"**VL_{DA}**"/"**VH_{DA}**"結構域。本發明尤其涵蓋利用本文提供的任意方法所

產生的雙特異性雙抗體、雙特異性scFvs、BiTEs、抗體、TandAbs和三價結合分子。

A. 缺少Fc結構域的雙特異性雙抗體

【0123】 在一種實施方式中，本發明的**DA x CD3**結合分子將是雙特異性雙抗體並且包括能夠結合第一和第二表位元兩者的結構域，但將缺少Fc結構域，並且因此不能經由Fc-FcγR相互作用結合FcγR分子。雙特異性雙抗體的這種實施方式的第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向包括：N-端、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VL結構域(即，VL_{CD3}或VL_{DA})、第一間插間隔肽(連接體1)、能夠結合疾病抗原的表位的單克隆抗體的VH結構域(如果這種第一多肽鏈包含VL_{CD3})或能夠結合CD3的單克隆抗體的VH結構域(如果這種第一多肽鏈包含VL_{DA})、任選包含半胱氨酸殘基的第二間插間隔肽(連接體2)、異源二聚體-促進結構域和C-端(**圖1A-1B**)。

【0124】 雙特異性雙抗體的這種實施方式的第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向包括：N-末端、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VL結構域(即，VL_{CD3}或VL_{DA}，並且為不是選擇用於包括在雙抗體的第一多肽鏈中的VL結構域)、間插間隔肽(連接體1)、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VH結構域(即，VH_{CD3}或VH_{DA}，並且為不是選擇用於包括在雙抗體的第一多肽鏈中的VH結構域)、任選包含半胱氨酸殘基的第二間插間隔肽(連接體2)、異源二聚體-促進結構域和C-末端(**圖1A-1B**)。所採用的對於特定表位特異性的VL和VH結構域優選獲自或衍生自相同單克隆抗體。然而，這種結構域可衍生自不同單克隆抗體，條件是它們締合以形成能夠免疫特異性地結合這種表位的功能結合位點。這種不同的抗體在本文中被稱為“**相應**”抗體。

【0125】 第一多肽鏈的VL結構域與第二多肽鏈的VH結構域相互作用以形成對表位之一(例如，第一表位)特異性的第一功能表位元結合結構域。同樣，第二多肽鏈的VL結構域與第一多肽鏈的VH結構域相互作用以便形成對另一表位(即，第二表位)特異性的第二功能表位元結合結構域。因此，對第一和第二多肽鏈的VL和VH結構域的選擇進行“**協調**”，使得雙抗體的兩條多肽鏈共同地包括能夠結合第一表位和第二表位兩者的VL和VH結構域(即，它們共同地包括VL_{CD3}/VH_{CD3}和VL_{DA}/VH_{DA})。

【0126】 最優選地，對間插間隔肽(即，“**連接體1**”，其分開這種VL和VH結構域)的長度進行選擇以基本上或完全地防止多肽鏈的VL和VH結構域相互結合(例如，由0個、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個或9個間插連接體氨基酸殘基組成)。因此，第一多肽鏈的VL和VH結構域基本上或完全不能夠相互結合。同樣，第二多肽鏈的VL和VH結構域基本上或完全不能相互結合。優選的間插間隔肽(連接體1)具有序列(**SEQ ID NO:16**)：GGGSGGGG。

【0127】 第二間插間隔肽(“**連接體2**”)的長度和組成基於一個或多個促進這種二聚化的多肽結構域(即，“**異源二聚體-促進結構域**”)的選取而進行選擇。典型地，第二間插間隔肽(連接體2)將包含3-20個氨基酸殘基。具體地，在所採用的異源二聚體-促進結構域包含/不包含半胱氨酸殘基的情況下，使用包含半胱氨酸的第二間插間隔肽(連接體2)。包含半胱氨酸的第二間插間隔肽(連接體2)將包含1個、2個、3個或更多個半胱氨酸。優選的含半胱氨酸的間隔肽(連接體2)具有序列GGCGGG (**SEQ ID NO:17**)。可替選地，連接體2不包含半胱氨酸(例如，GGG、GGGS(**SEQ ID NO:18**)、LGGGSG(**SEQ ID NO:19**)、GGGSGGGSGGG(**SEQ ID NO:20**)、ASTKG(**SEQ ID NO:21**)、LEPKSS(**SEQ ID NO:22**)、APSSS(**SEQ ID**

NO:23)等)並且如下所述使用含半胱氨酸的異源二聚體-促進結構域。任選地，使用含半胱氨酸的連接體2和含半胱氨酸的異源二聚體-促進結構域兩者。

【0128】 異源二聚體-促進結構域可以包含一條鏈上的GVEPKSC (**SEQ ID NO:24**)或VEPKSC (**SEQ ID NO:25**)或AEPKSC (**SEQ ID NO:26**)以及另一條多肽鏈上的GFNRGEC (**SEQ ID NO:27**)或FNRGEC (**SEQ ID NO:28**)或由一條鏈上的GVEPKSC (**SEQ ID NO:24**)或VEPKSC (**SEQ ID NO:25**)或AEPKSC (**SEQ ID NO:26**)以及另一條多肽鏈上的GFNRGEC (**SEQ ID NO:27**)或FNRGEC (**SEQ ID NO:28**)組成(US2007/0004909)。

【0129】 在優選的實施方式中，異源二聚體-促進結構域將包括相反電荷的串聯重複螺旋結構域，例如，“E-螺旋”異源二聚體-促進結構域(**SEQ ID NO:29**：EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)，其谷氨酸殘基將在pH 7時形成負電荷，或“K-螺旋”異源二聚體-促進結構域(**SEQ ID NO:30**：KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)，其賴氨酸殘基將在pH 7時形成正電荷。這種帶電結構域的存在促進第一和第二多肽之間的締合，並且因而促進異源二聚體形成。可以利用這樣的異源二聚體-促進結構域，其包含上述E-螺旋和K-螺旋序列的修飾以便包括一個或多個半胱氨酸殘基。這種半胱氨酸殘基的存在允許一條多肽鏈上存在的螺旋與另一條多肽鏈上存在的互補螺旋共價鍵合，由此使多肽鏈相互共價鍵合並且增加雙抗體的穩定性。這種特別優選的異源二聚體-促進結構域的實例包括具有氨基酸序列EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (**SEQ ID NO:31**)的修飾的E-螺旋，和具有氨基酸序列KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (**SEQ ID NO:32**)的修飾的K-螺旋。

【0130】 如在WO 2012/018687中所公開的，為了提高雙抗體的體內藥物動力學特性，雙抗體可以進行修飾以在雙抗體的一個或個末端處包含血清結合蛋白的多肽部分。最優選地，血清結合蛋白的這種多肽部分將被安裝在雙抗體的多肽鏈的C-端。白蛋白是血漿中最豐富的蛋白並且在人中具有19天的半衰期。白蛋白具有幾個小分子結合位點，這允許其非共價結合其它蛋白並且因此延長其血清半衰期。鏈球菌(Streptococcus)菌株G148的蛋白G的白蛋白-結合結構域3 (ABD3)由形成穩定三螺旋束的46個氨基酸殘基組成並且具有寬的白蛋白結合特異性(Johansson, M.U.等(2002) "*Structure, Specificity, And Mode Of Interaction For Bacterial Albumin-Binding Module*s," J. Biol. Chem. 277(10):8114-8120)。因此，用於提高雙抗體的體內藥物動力學特性的血清結合蛋白的特別優選的多肽部分是來自鏈球菌蛋白G的白蛋白-結合結構域(ABD)，並且更優選地鏈球菌菌株G148的蛋白G的白蛋白-結合結構域3(ABD3) (**SEQ ID NO:33**):LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLINNAKT VEGVKALIDE ILAALP。

【0131】 如在WO 2012/162068(通過引用併入本文)中所公開，**SEQ ID NO:33的"去免疫"**變體具有減弱或消除MHC II類結合的能力。基於組合的突變結果，下述的置換組合被認為是用於形成這種去免疫ABD的優選置換：66D/70S +71A ； 66S/70S +71A ； 66S/70S +79A ； 64A/65A/71A ； 64A/65A/71A+66S ； 64A/65A/71A+66D；64A/65A/71A+66E；64A/65A/79A+66S；64A/65A/79A+66D；64A/65A/79A+66E。變體ABD具有修飾L64A、I65A和D79A或者修飾N66S、T70S和D79A。特別優選的是具有氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLI**D**$_{66}$NAK**S**$_{70}$ **A**$_{71}$EGVKALIDE ILAALP (**SEQ ID NO:34**)、

或者氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKN**A**$_{64}$**A**$_{65}$NNAKT VEGVKALI**A**$_{79}$E ILAALP **(SEQ ID NO:35)**、

或者氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLI**S**$_{66}$NAK**S**$_{70}$ VEGVKALI**A**$_{79}$E ILAALP **(SEQ ID NO:36)**

的變體去免疫的ABD，因為這種去免疫的ABD展示基本上野生型的結合，同時提供減弱的MHC II類結合。因此，這種具有ABD的雙抗體的第一多肽鏈包含第三連接體(連接體3)，其優選位於這種多肽鏈的E-螺旋(或K-螺旋)結構域的C-末端以便間插在E-螺旋(或K-螺旋)結構域和ABD(其優選為去免疫的ABD)之間。這種連接體3的優選序列是**SEQ ID NO:18**：GGGS。

B. 包含Fc結構域的雙抗體

【0132】 本發明的一種實施方式涉及多特異性(例如，雙特異性、三特異性、四特異性等)雙抗體，其包含Fc結構域並且能同時結合CD3的表位和疾病抗原的表位。這種分子的Fc結構域可以是任何同種型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。所述分子可進一步包含CH1結構域和/或鉸鏈結構域。當存在時，CH1結構域和/或鉸鏈結構域可具有任何同種型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)，並且優選具有與期望Fc結構域相同的同種型。

【0133】 將IgG CH2-CH3結構域添加至雙抗體多肽鏈中的一者或兩者，使得雙抗體鏈的複合導致Fc結構域的形成、增加了雙抗體的生物學半衰期和/或改變雙抗體的價態。這種雙抗體包含兩條或更多條多肽鏈，其序列允許多肽鏈相互共價結合以形成能夠同時結合第一表位和第二表位的共價締合的雙抗體。將

IgG CH2-CH3結構域併入到雙抗體多肽的兩者上將允許形成兩鏈雙特異性含Fc結構域的雙抗體(**圖2**)。

【0134】 可替選地，將IgG CH2-CH3結構域併入至雙抗體多肽中的僅僅一個上將允許形成更複雜的四鏈雙特異性含Fc結構域的雙抗體(**圖3A-3C**)。**圖3C**顯示具有恒定輕(CL)結構域和恒定重CH1結構域的代表性四鏈雙抗體，然而可以可替選地採用這種結構域以及其它多肽的片段(參見，例如，**圖3A和3B**，美國專利公開號2013-0295121、2010-0174053和2009-0060910；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221以及PCT公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538)。因此，例如，代替CH1結構域，可以採用衍生自人IgG的鉸鏈結構域的具有氨基酸序列GVEPKSC **(SEQ ID NO:24)**、VEPKSC **(SEQ ID NO:25)**或AEPKSC **(SEQ ID NO:26)**的肽，並且代替CL結構域，可以採用人κ輕鏈的C-末端的6個氨基酸，GFNRGEC **(SEQ ID NO:27)**或FNRGEC **(SEQ ID NO:28)**。代表性的含肽四鏈雙抗體顯示在**圖3A**中。可替選地或者另外地，可以採用這樣的肽，其包含相反電荷的串聯螺旋結構域，諸如"E-螺旋"螺旋結構域(**SEQ ID NO:29**：**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K或**SEQ ID NO:31**：**E**VAA**CE**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K)；和"K-螺旋"結構域(**SEQ ID NO:30**：**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E或**SEQ ID NO:32**：**K**VAA**CK**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E)。代表性的含螺旋結構域的四鏈雙抗體顯示在**圖3B**中。

【0135】 本發明的含Fc結構域的雙抗體分子可包含另外的間插間隔肽(連接體)，一般這樣的連接體將被併入在異源二聚體結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3結構域之間和/或併入在CH2-CH3結構域和可變結構域(即，VH或

VL)之間。典型地，另外的連接體將包含3-20個氨基酸殘基並且可任選地包含IgG鉸鏈結構域的全部或部分(優選地，IgG鉸鏈結構域的含半胱氨酸部分具有1個、2個、3個或更多個半胱氨酸殘基)。可用在本發明的雙特異性含Fc結構域的雙抗體分子中的連接體包括：GGGS (**SEQ ID NO:18**)、LGGGSG (**SEQ ID NO:19**)、GGGSGGGSGGG (**SEQ ID NO:20**)、ASTKG (**SEQ ID NO:21**)、LEPKSS (**SEQ ID NO:22**)、APSSS (**SEQ ID NO:23**)、APSSSPME (**SEQ ID NO:37**)、VEPKSADKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:38**)、LEPKSADKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:39**)、DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)、scFv連接體：GGGGSGGGGSGGGGS (**SEQ ID NO:41**)；“長”連接體：GGGGSGGGSGGG (**SEQ ID NO:42**)、GGC和GGG。LEPKSS (**SEQ ID NO:22**)可以代替GGG或GGC使用以便於克隆。另外，氨基酸GGG或LEPKSS (**SEQ ID NO:22**)可緊接DKTHTCPPCP(**SEQ ID NO:40**)以形成可替選的連接體：GGGDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:43**)和LEPKSSDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:44**)。除了連接體外或代替連接體，本發明的雙特異性含Fc結構域的分子可併入IgG鉸鏈結構域。示例性的鉸鏈結構域包括：來自IgG1的EPKSCDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:5**)、來自IgG2的ERKCCVECPPCP(**SEQ ID NO:6**)、來自IgG3的ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP (**SEQ ID NO:7**)、來自IgG4的ESKYGPPCPSCP (**SEQ ID NO:8**)和來自IgG4鉸鏈變體的ESKYGPPCP**P**CP (**SEQ ID NO:9**)，所述IgG4鉸鏈變體包含穩定化S228P置換(如按照Kabat中所示的EU索引所編號)以減少鏈交換。

【0136】 如**圖3A-3C**所提供，本發明的含Fc結構域的雙抗體可包含四條鏈。這種雙抗體的第一和第三多肽鏈包含三個結構域：(i)含VL1的結構域、(ii)

含VH2的結構域、(iii)異源二聚體-促進結構域和(iv)含CH2-CH3序列的結構域。第二和第四多肽鏈包含：(i)含VL2的結構域、(ii)含VH1的結構域和(iii)異源二聚體-促進結構域，其中異源二聚體-促進結構域促進第一/第三多肽鏈與第二/第四多肽鏈的二聚化。第三和第四多肽鏈的VL和/或VH結構域以及第一和第二多肽鏈的VL和/或VH結構域可以相同或不同，以便允許單特異性的、雙特異性的或四特異性的四價結合。符號“**VL3**”和“**VH3**”分別表示結合這種雙抗體的“第三”表位元的輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域。類似地，符號“**VL4**”和“**VH4**”分別表示結合這種雙抗體的“第四”表位元的輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域。本發明的代表性四鏈雙特異性含Fc結構域的雙抗體的多肽鏈的一般結構提供在表**1**中：

表1

雙特異性	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
四特異性	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VL3-VH4-HPD-CH2-CH3-COOH
	第四鏈	NH_2-VL4-VH3-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0137】 在具體實施方式中，本發明的雙抗體是由總計四條多肽鏈構成的雙特異性的、三價的(即，具有四個表位元結合結構域)含Fc的雙抗體(**圖3A-3C**)。本發明的雙特異性的、三價的含Fc的雙抗體包含兩個第一表位元結合結構域和兩個第二表位元結合結構域。

【0138】 在進一步的實施方式中，本發明的含Fc結構域的雙抗體可包含三條多肽鏈。這種雙抗體的第一多肽包含三個結構域：(i)含VL1的結構域、(ii)含VH2的結構域和(iii)含CH2-CH3序列的結構域。這種雙抗體的第二多肽包含：(i)含VL2的結構域、(ii)含VH1的結構域和(iii)促進與雙抗體的第一多肽鏈異源二聚化和共價鍵合的結構域。這種雙抗體的第三多肽包CH2-CH3序列。因此，這種雙抗體的第一和第二多肽鏈一起締合以形成能夠結合第一或第二表位的VL1/VH1表位元結合結構域、以及能夠結合這種表位中的另一表位的VL2/VH2表位元結合結構域。第一和第二多肽通過涉及它們各自的第三結構域中的半胱氨酸殘基的二硫鍵相互鍵合。特別地，第一和第三多肽鏈相互複合以形成經由二硫鍵穩定化的Fc結構域。這種雙特異性雙抗體具有增強的功效。**圖4A和4B**示例這種雙抗體的結構。這種含Fc結構域的雙抗體可具有兩種取向的任一種(**表2**)：

表2

第一取向	第三鏈	NH_2-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
第二取向	第三鏈	NH_2-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH_2-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0139】 在具體實施方式中，本發明的雙抗體是由總計三條多肽鏈構成的雙特異性的、二價的(即，具有兩個表位元結合結構域)含Fc的雙抗體(**圖4A-4B**)。本發明的雙特異性的、二價的含Fc的雙抗體包含一個對第一或第二表位免疫特異性的表位元結合結構域以及能夠結合這種表位中的另一表位的VL2/VH2表位元結合結構域。

【0140】 在進一步的實施方式中，含Fc結構域的雙抗體可包含總計五條多肽鏈。在特定的實施方式中，五條多肽鏈中的兩條具有相同的氨基酸序列。這種雙抗體的第一多肽鏈包含：(i)含VH1的結構域、(ii)含CH1的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域。第一多肽鏈可以是包含VH1和重鏈恒定區的抗體的重鏈。這種雙抗體的第二和第五多肽鏈包含：(i)含VL1的結構域和(ii)含CL的結構域。這種雙抗體的第二和/或第五多肽鏈可以是包含與第一/第三多肽鏈的VH1互補的VL1的抗體的輕鏈。第一、第二和/或第五多肽鏈可分離自天然存在的抗體。可替選地，它們可被重組構建。這種雙抗體的第三多肽鏈包含：(i)含VH1的結構域、(ii)含CH1的結構域、(iii)含CH2-CH3序列的結構域、(iv)含VL2的結構域、(v)含VH3的結構域和(vi)異源二聚體-促進結構域，其中所述異源二聚體-促進結構域促進第三鏈與第四鏈的二聚化。這種雙抗體的第四多肽包含：(i)含VL3的結構域、(ii)含VH2的結構域和(iii)促進與雙抗體的第三多肽鏈的異源二聚化和共價鍵合的結構域。

【0141】 因此，這種雙抗體的第一和第二多肽鏈、以及第三和第五多肽鏈一起締合以形成能夠結合第一表位的兩個VL1/VH1表位元結合結構域。這種雙抗體的第三和第四多肽鏈一起締合以形成能夠結合第二表位的VL2/VH2表位元結合結構域以及能夠結合第三表位的VL3/VH3結合位點。第一和第三多肽通過涉及它們各自的恒定區中的半胱氨酸殘基的二硫鍵相互鍵合。特別地，第一和第三多肽鏈相互複合以形成Fc結構域。這種多特異性雙抗體具有增強的功效。**圖5**示出這種雙抗體的結構。應理解，VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3結構域可以相同或不同，以便允許單特異性的、雙特異性的或三特異性的結合。

【0142】 對多肽鏈的VL和VH結構域進行選擇以便形成對期望表位特異性的VL/VH結合位點。通過多肽鏈的締合形成的VL/VH結合位點可以相同或不同，以便允許單特異性的、雙特異性的、三特異性的或四特異性的四價結合。具體地，VL和VH結構域可以進行選擇，使得多價雙抗體可包含針對第一表位的兩個結合位點和針對第二表位的兩個結合位點；或者針對第一表位的三個結合位點和針對第二表位的一個結合位點；或者針對第一表位的兩個結合位點、針對第二表位的一個結合位點和針對第三表位的一個結合位點(如**圖5**中所描繪)。本發明的代表性五鏈含Fc結構域的雙抗體的多肽鏈的一般結構被提供在**表3**中：

表3

雙特異性 (2x2)	第二鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH2-HPD-COOH
	第五鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH_2-VL2-VH2-HPD-COOH
雙特異性 (3x1)	第二鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第五鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
三特異性(2x1x1)	第二鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH3-HPD-COOH
	第五鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH_2-VL3-VH2-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0143】 在具體實施方式中，本發明的雙抗體是由總計五條多肽鏈構成的雙特異性的、四價的(即，具有四個表位元結合結構域)含Fc的雙抗體，其具有對第一表位免疫特異性的兩個表位元結合結構域和對第二表位特異性的兩個表位

元結合結構域。在另一實施方式中，本發明的雙特異性的、四價的、含Fc的雙抗體包含對第一表位免疫特異性的三個表位元結合結構域和對第二表位特異性的一個表位元結合結構域。如上所提供，VL和VH結構域可以進行選擇以允許三特異性結合。因此，本發明也涵蓋三特異性的、四價的、含Fc的雙抗體。本發明的三特異性的、四價的、含Fc的雙抗體包含對第一表位免疫特異性的兩個表位元結合結構域、對第二表位免疫特異性的一個表位元結合結構域、和對第三表位免疫特異性的一個表位元結合結構域。

【0144】 在傳統的免疫功能中，抗體-抗原複合物與免疫系統的細胞的相互作用導致廣泛系列的應答，其範圍從效應子功能，諸如抗體依賴性細胞毒性、肥大細胞脫粒和吞噬作用到免疫調節信號，諸如調節淋巴細胞增殖和抗體分泌。所有這些相互作用通過抗體或免疫複合物的Fc結構域與造血細胞上的專用細胞表面受體的結合而啟動。由抗體和免疫複合物觸發的細胞應答的多樣性起因於三個Fc受體：FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)和FcγRIII(CD16)的結構異質性。FcγRI(CD64)、FcγRIIA(CD32A)和FcγRIII(CD16)是啟動型(即，免疫系統增強型)受體；FcγRIIB(CD32B)是抑制型(即，免疫系統減弱型)受體。此外，與新生Fc受體(FcRn)的相互作用介導IgG分子從內體到細胞表面並且釋放到血液中的再迴圈。上面展示了示例性野生型IgG1(**SEQ ID NO:10**)、IgG2(**SEQ ID NO:11**)、IgG3(**SEQ ID NO:12**)和IgG4(**SEQ ID NO:13**)的氨基酸序列。

【0145】 Fc結構域的修飾可導致表型改變，例如，血清半衰期改變、穩定性改變、細胞酶敏感性改變或效應子功能改變。因此可期望就效應子功能而言修飾本發明的含Fc結構域的結合分子，例如，以便增強這種分子在治療癌症方面的有效性。Fc結構域介導的效應子功能的減少或消除在某些情況下是期望

的，例如，在其作用機理涉及帶有靶抗原的細胞的阻截或對抗而非殺傷的抗體的情況下。當針對不期望的細胞諸如腫瘤和外來細胞時，其中FcγR以低水準表達，例如，具有低水準FcγRIIB的腫瘤特異性B細胞(例如，非霍奇金淋巴瘤、CLL和伯基特淋巴瘤)，增加的效應子功能一般是期望。本發明的具有這種賦予的或改變的效應子功能活性的分子可用於疾病、障礙或感染的治療和/或預防，其中效應子功能活性的效應增加是期望的。

【0146】 因此，在某些實施方式中，本發明的含Fc結構域的分子的Fc結構域可以是工程化的變體Fc結構域。儘管本發明的雙特異性的含Fc結構域的分子的Fc結構域可具有結合一種或多種Fc受體(例如，FcγR)的能力，更優選地這種變體Fc結構域具有改變的結合FcγRIA(CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或FcγRIIIB (CD16b)(相對於野生型Fc結構域所展示的結合)，例如，將具有增強的結合啟動型受體和/或將具有基本上減少的或沒有結合一種或多種抑制性受體的能力。因此，本發明的含Fc結構域的分子的Fc結構域可以包括完整Fc結構域的CH2結構域的一些或全部和/或CH3結構域的一些或全部，或者可包含變體CH2和/或變體CH3序列(其相對於完整Fc結構域的CH2或CH3結構域可包括例如，一個或多個插入和/或一個或多個缺失)。這種Fc結構域可包含非Fc多肽部分，或者可包含非天然的完整Fc結構域的部分，或者可包含CH2和/或CH3結構域的非天然存在的取向(諸如，例如，兩個CH2結構域或兩個CH3結構域、或者在N-末端至C-末端方向上，與CH2結構域連接的CH3結構域等)。

【0147】 鑒別為改變效應子功能的Fc結構域修飾在本領域是已知的，包括增加結合啟動型受體(例如，FcγRIIA(CD16A)和減少結合抑制性受體(例如，

FcγRIIB(CD32B)的修飾(參見，例如，Stavenhagen, J.B.等(2007) "*Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcgamma Receptors*," Cancer Res. 57(18):8882-8890)。**表4**列出了增加結合啟動型受體和/或減少結合抑制性受體的示例性修飾的示例性單重、兩重、三重、四重或五重置換(編號(按照EU索引)和置換相對於上面所示的**SEQ ID NO:10**的氨基酸序列)。

表4
優選的啟動型Fc結構域的變化†

單位點變化			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
雙位點變化			
F243L和R292P	F243L和Y300L	F243L和P396L	R292P和Y300L
D270E和P396L	R292P和V305I	P396L和Q419H	P247L和N421K
R292P和P396L	Y300L和P396L	R255L和P396L	R292P和P305I
K392T和P396L			
三位點變化			
F243L、P247L和N421K		P247L、D270E和N421K	
F243L、R292P和Y300L		R255L、D270E和P396L	
F243L、R292P和V305I		D270E、G316D和R416G	
F243L、R292P和P396L		D270E、K392T和P396L	
F243L、Y300L和P396L		D270E、P396L和Q419H	
V284M、R292L和K370N		R292P、Y300L和P396L	
四位點變化			
L234F、F243L、R292P和Y300L		F243L、P247L、D270E和N421K	
L234F、F243L、R292P和Y300L		F243L、R255L、D270E和P396L	
L235I、F243L、R292P和Y300L		F243L、D270E、G316D和R416G	
L235Q、F243L、R292P和Y300L		F243L、D270E、K392T和P396L	
P247L、D270E、Y300L和N421K		F243L、R292P、Y300L和P396L	
R255L、D270E、R292G和P396L		F243L、R292P、V305I和P396L	
R255L、D270E、Y300L和P396L		F243L、D270E、P396L和Q419H	
D270E、G316D、P396L和R416G			
五位點變化			
L235V、F243L、R292P、Y300L和		F243L、R292P、V305I、Y300L和	

表4 優選的啟動型Fc結構域的變化†	
P396L	P396L
L235P、F243L、R292P、Y300L和P396L	
† 按照如Kabat中的EU索引編號	

【0148】 具有減少的結合CD32B和/或增加的結合CD16A的人IgG1 Fc結構域的示例性變體包含F243L、R292P、Y300L、V305I或P396L置換，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。這些氨基酸置換可以以任意組合存在於人IgG1 Fc結構域中。在一種實施方式中，人IgG1 Fc結構域變體包含F243L、R292P和Y300L置換。在另一實施方式中，人IgG1 Fc結構域變體包含F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L置換。

【0149】 在某些實施方式中，對於本發明含Fc結構域的結合分子的Fc結構域來說，優選的是展示減少的(或基本上沒有)結合FcγRIA(CD64)、FcγRIIA(CD32A)、FcγRIIB(CD32B)、FcγRIIIA(CD16a)或FcγRIIIB (CD16b) (相對於野生型IgG1 Fc結構域(**SEQ ID NO:10**)所展示的結合)。在具體實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含展示減少的抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(ADCC)效應子功能的IgG Fc結構域。在優選的實施方式中，這種結合分子的CH2-CH3結構域包括下列置換中的任意1個、2個、3個或4個：L234A、L235A、D265A、N297Q和N297G，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。在另一實施方式中，CH2-CH3結構域包含N297Q置換、N297G置換、L234A和L235A置換或D265A置換，因為這些突變消除FcR結合。可替選地，利用固有地展示減少的(基本上沒有)結合FcγRIIIA(CD16a)和/或減少的效應子功能(相對於由野生型IgG1 Fc結構域(**SEQ ID NO:10**)所展示的結合和效應子功能)的天然存在的Fc結

構域的CH2-CH3結構域。在具體實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含IgG2 Fc結構域(**SEQ ID NO:11**)、IgG3 Fc結構域(**SEQ ID NO:12**)或IgG4 Fc結構域(**SEQ ID NO:13**)。當利用IgG4 Fc結構域時，本發明也涵蓋引入穩定化突變，諸如上述鉸鏈區S228P置換(參見，例如，**SEQ ID NO:9**)。由於N297G、N297Q、L234A、L235A和D265A置換消除了效應子功能，所以在期望效應子功能的環境下，將優選不利用這些置換。

【0150】 對於具有減少或消除的效應子功能的本發明的含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域來說，優選的IgG1序列將包括置換L234A/L235A (**SEQ ID NO:45**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0151】 包含Fc結構域的蛋白質的血清半衰期可通過增加Fc結構域對FcRn的結合親和力而增加。如本文所用的術語“半衰期”意指分子的藥物動力學特性，其是所述分子在其施用後平均生存時間的度量。半衰期可表示為從受試者(例如，人患者或其它哺乳動物)的身體或其特定區室消除已知量的百分之五十(50%)的分子需要的時間，例如，如在血清中測量的，即迴圈半衰期，或在其他組織中測量的。一般而言，半衰期的增加導致施用的分子在迴圈中的平均停留時間(MRT)的增加。

【0152】 在一些實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含變體Fc結構域，所述變體Fc結構域包含相對於野生型Fc結構域的至少一個氨基酸修

飾，使得所述分子具有增加的半衰期(相對於如果包含野生型Fc結構域的這種分子)。在一些實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含變體IgG Fc結構域，所述變體IgG Fc結構域包含在選自由下列組成的組的一個或多個位置處的半衰期延長的氨基酸置換：238、250、252、254、256、257、256、265、272、286、288、303、305、307、308、309、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、428、433、434、435和436，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。能夠增加含Fc結構域的分子的半衰期的許多突變在本領域是已知的，並且包括例如，M252Y、S254T、T256E和其組合。例如，參見下列中描述的突變：美國專利號6,277,375、7,083,784、7,217,797、8,088,376；美國公開號2002/0147311、2007/0148164；和PCT公開號WO 98/23289、WO 2009/058492和WO 2010/033279，其通過引用以其全部內容併入本文。

【0153】 在一些實施方式中，展示增加的半衰期的本發明的含Fc結構域的結合分子具有這樣的變體Fc結構域，所述變體Fc結構域包括在Fc結構域殘基250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435和436中的兩個或更多個處的置換。具體地，選自下列的兩個或更多個置換：T250Q、M252Y、S254T、T256E、K288D、T307Q、V308P、A378V、M428L、N434A、H435K和Y436I。在具體實施方式中，這種分子可具有變體IgG Fc結構域，所述變體IgG Fc結構域包括下列置換：

(A) M252Y、S254T和T256E；

(B) M252Y和S254T；

(C) M252Y和T256E；

(D) T250Q和M428L；

(E) T307Q和N434A；

(F) A378V和N434A；

(G) N434A和Y436I；

(H) V308P和N434A；或

(I) K288D和H435K。

【0154】 在優選的實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子具有變體IgG Fc結構域，所述變體IgG Fc結構域包含下列置換中的1個、2個或3個：M252Y、S254T和T256E。本發明進一步涵蓋具有變體Fc結構域的這種結合分子，所述變體Fc結構域包含：

(A) 改變效應子功能和/或FcγR結合的一個或多個突變；和

(B) 延長血清半衰期的一個或多個突變。

【0155】 提供增加的半衰期(並且其在結合食蟹猴和人FcRn兩者方面具有10倍的增加) (Dall'Acqua, W.F.等(2006) "*Properties of Human IgG1s Engineered for Enhanced Binding to the Neonatal Fc Receptor (FcRn)*," J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524)的本發明的含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域的IgG1序列將包含置換M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:46**)：

APELLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0156】 組合了由置換L234A/L235A所提供的減少或消除的效應子功能和由置換M252Y/S254T/T256E所提供的增加的血清半衰期的本發明的含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域的可替選IgG1序列由**SEQ ID NO: 47**提供：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0157】 對於期望具有不同氨基酸序列的含Fc結構域的多肽鏈(例如，其含Fc結構域的多肽鏈期望是不相同的)的某些抗體、雙抗體和三價結合分子，期望減少或防止同源二聚化發生在相同鏈的CH2-CH3結構域之間(例如，兩條第一多肽鏈，或者兩條第三多肽鏈的CH2-CH3結構域之間)。這種多肽鏈的CH2和/或CH3結構域在序列上不需要相同，並且有利地被修飾以促進兩條多肽鏈之間的複合。例如，氨基酸置換(優選地，用包含形成“**杵(knob)**”的龐大側基的氨基酸例如色氨酸置換)可引入到CH2或CH3結構域，使得空間幹擾將防止與類似突變的結構域的相互作用，並且將迫使突變的結構域與互補的或適應性的突變已經被工程化到其中的結構域即“**臼(hole)**”(例如，用甘氨酸置換)配對。這樣的突變組可被工程化進入任意對的多肽，其包含形成Fc結構域的CH2-CH3結構域，以促進異源二聚化。相對於同源二聚化，支持異源二聚化的蛋白質工程化方法是本領域眾所周知的，特別是關於免疫球蛋白樣的分子的工程化方面，並且該方法涵蓋在本文中(參見，例如，Ridgway等(1996) *“‘Knobs-Into-Holes’ Engineering Of Antibody CH3 Domains For Heavy Chain Heterodimerization,”* Protein Engr. 9:617-621；Atwell等(1997)*“Stable Heterodimers From Remodeling The Domain*

Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library," J. Mol. Biol. 270: 26-35；和Xie等(2005) *"A New Format Of Bispecific Antibody: Highly Efficient Heterodimerization, Expression And Tumor Cell Lysis,"* J. Immunol. Methods 296:95-101，其各自在此通過引用以其全部內容併入本文)。

【0158】 優選的杵通過修飾IgG Fc結構域以包含修飾T366W形成。優選的臼通過修飾IgG Fc結構域以包含修飾T366S、L368A和Y407V形成。為了有助於從最終的雙特異性異源二聚體的含Fc結構域的分子中純化帶有臼的多肽鏈同源二聚體，多肽鏈的帶有臼的CH2和CH3結構域的蛋白A結合位點優選地通過在位置435處的氨基酸置換(H435R)而突變。因此，帶有臼的多肽鏈同源二聚體將不會結合蛋白A，而雙特異性異源二聚體將保留其經由帶有杵的多肽鏈上的蛋白A結合位點結合蛋白A的能力。在可替選的實施方式中，帶有臼的多肽鏈可在位置434和435處併入氨基酸置換(N434A/N435K)。

【0159】 本發明的含Fc結構域的分子的一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的優選IgG1氨基酸序列將具有"**帶有杵**"的序列(**SEQ ID NO:48**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**W**CLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0160】 本發明的具有M252Y/S254T/T256E置換和"帶有杵"的序列的含Fc結構域的分子的一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的可替選IgG1氨基酸序列是**SEQ ID NO:49**：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**W**CLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0161】 本發明的含Fc結構域的分子的另一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的優選IgG1氨基酸序列將具有“帶有臼的”序列(**SEQ ID NO:50**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**S**C**A**VK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFL**V**SKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHN**R**YTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0162】 本發明的具有M252Y/S254T/T256E置換和“帶有臼的”序列的含Fc結構域的分子的另一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的可替選IgG1氨基酸序列是**SEQ ID NO:51**：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**S**C**A**VK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFL**V**SKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHN**R**YTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0163】 如將指出的，**SEQ ID NO:48**、**SEQ ID NO:49**、**SEQ ID NO:50**和**SEQ ID NO:51**的CH2-CH3結構域包括在位置234處用丙氨酸的置換和在位置235處用丙氨酸的置換，並且因此形成展示出減少(或基本上沒有)的結合FcγRIA(CD64)、FcγRIIA(CD32A)、FcγRIIB(CD32B)、FcγRIIIA(CD16a)或FcγRIIIB(CD16b)(相對於由野生型Fc結構域(**SEQ ID NO:10**)展示出的結合)的Fc

結構域。本發明也涵蓋這種CH2-CH3結構域，其包括野生型丙氨酸殘基，改變Fc結構域的效應子功能和/或FγR結合活性的可替選的和/或另外的置換。本發明也涵蓋這種CH2-CH3結構域，其進一步包括一個或多個半衰期延長的氨基酸置換。具體地，本發明涵蓋進一步包含M252Y/S254T/T256E的這種帶有臼的和這種帶有杵的CH2-CH3結構域。

【0164】 本發明的含Fc結構域的分子的第一多肽鏈的CH2和CH3結構域的IgG4氨基酸序列由於其具有Y252/T254/E256而具有增加的血清半衰期(相對於IgG1的CH2和CH3結構域) (**SEQ ID NO:52**)：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0165】 這種IgG4 CH2-CH3氨基酸序列的“帶有杵”的變體具有**SEQ ID NO:53**的氨基酸序列：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSL**W**CLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0166】 這種IgG4 CG2-CH3氨基酸序列的“帶有臼”的變體具有**SEQ ID NO:54**的氨基酸序列：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSL**S**CA**V**K GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFL**V**SRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHN**R**YTQKS LSLSLG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0167】 優選地，第一多肽鏈將具有“帶有杵的”CH2-CH3序列，諸如**SEQ ID NO:48**或**SEQ ID NO:49**的序列。然而，如將所認識到的，“帶有臼的”CH2-CH3結構域(例如，**SEQ ID NO:50**或**SEQ ID NO:51**)可以被應用在第一多肽鏈中，在這種情況下，“帶有杵的”CH2-CH3結構域(例如，**SEQ ID NO:48**或**SEQ ID NO:49**)將被應用在本發明的具有兩條多肽鏈的含Fc結構域的分子的第二多肽鏈中(或者被應用在具有三條、四條、或五條多肽鏈的含Fc結構域的分子的第三多肽鏈中)。

【0168】 在其它實施方式中，本發明涵蓋含Fc結構域的結合分子，其包含已經利用本領域已知的突變進行工程化以相比同源二聚化支持異源二聚化的CH2和/或CH3結構域，諸如在PCT公開號WO 2007/110205、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/06867中所公開的那些，所有文獻均以其全部內容通過引用併入本文。

III. 包含Fc結構域的三價結合分子

【0169】 本發明的進一步實施方式涉及三價結合分子，其包含能夠同時結合第一表位、第二表位和第三表位元的Fc結構域，其中這種表位中的至少一個表位與另一個表位不相同。這種三價結合分子包含三個表位元結合結構域，其中兩個是雙抗體型結合結構域，其提供結合位點A和結合位點B，且其中之一是Fab型結合結構域或scFv型結合結構域，其提供結合位點C(參見，例如，**圖6A-6F**，PCT公開號WO 2015/184207和WO 2015/184203)。這種三價結合分子因此包含能夠結合這種三價結合分子的第一表位的“**VL1**”/“**VH1**”結構域和能夠結合第二表位的“**VL2**”/“**VH2**”結構域以及能夠結合“第三”表位的“**VL3**”和“**VH3**”結構域。“雙抗體型結合結構域”是存在於雙抗體中的表位元結合結構欄位型別，

如上所述。“Fab型結合結構域”和“scFv型結合結構域”中的每一種均是這樣的表位元結合結構域，其通過免疫球蛋白輕鏈的VL結構域和免疫球蛋白重鏈的互補VH結構域的相互作用形成。Fab型結合結構域與雙抗體型結合結構域的區別在於形成Fab型結合結構域的兩條多肽鏈僅包含單個表位元結合結構域，而形成雙抗體型結合結構域的兩條多肽鏈包含至少兩個表位元結合結構域。類似地，scFv型結合結構域與雙抗體型結合結構域的區別也在於它們僅包含單個表位元結合結構域。因此，如本文所用，Fab型和scFv型結合結構域與雙抗體型結合結構域是截然不同的。

【0170】 典型地，本發明的三價結合分子將包含四條不同的多肽鏈(參見**圖6A-6B**)，然而，所述分子可包含更少或更多數目的多肽鏈，例如，通過將這樣的多肽鏈相互融合(例如，經由肽鍵)、或者通過將這樣的多肽鏈分開以形成另外的多肽鏈、或者通過將更少或另外的多肽鏈經由二硫鍵締合。**圖6C-6F**通過示意性地描繪具有三條多肽鏈的這種分子說明本發明的這一方面。如**圖6A-6F**中所提供的，本發明的三價結合分子可具有可替選的取向，其中雙抗體型結合結構域是N-末端(**圖6A、6C和6D**)或C-末端(**圖6B、6E和6F**)至Fc結構域。可用於產生三價結合分子的CH2和CH3結構域在上文提供並且包括帶有杵的和帶有臼的結構域。

【0171】 在某些實施方式中，本發明的這種三價結合分子的第一多肽鏈包含：(i)含VL1的結構域、(ii)含VH2的結構域、(iii)異源二聚體-促進結構域和(iv)含CH2-CH3序列的結構域。VL1和VL2結構域位於含CH2-CH3的結構域的N-末端或C-末端，如表**4**所示(也參見**圖6A**和**6B**)。這種實施方式的第二多肽鏈包含：(i)含VL2的結構域、(ii)含VH1的結構域和(iii)異源二聚體-促進結構域。這種實施

方式的第三多肽鏈包含：(i)含VH3的結構域、(ii)含CH1的結構域和(iii)含CH2-CH3序列的結構域。第三多肽鏈可以是抗體的包含VH3和重鏈恒定區的重鏈，或者包含這種結構域的多肽。這種實施方式的第四多肽包含：(i)含VL3的結構域和(ii)含CL的結構域。第四多肽鏈可以是抗體的包含與第三多肽鏈的VH3互補的VL3的輕鏈，或者包含這種結構域的多肽。第三或第四多肽鏈可以分離自天然存在的抗體。可替選地，它們可以重組地、合成地或者通過其它手段構建。

【0172】 第一和第二多肽鏈的輕鏈可變結構域通過間插間隔肽與這種多肽鏈的重鏈可變結構域分開，所述間插間隔肽的長度太短而不能允許它們的VL1/VH2(或它們的VL2/VH1)結構域一起締合以形成能夠結合第一或第二表位元的表位元結合結構域。用於此目的的優選間插間隔肽(連接體1)具有序列(**SEQ ID NO:16**)：GGGSGGGG。三價結合分子的其它結構域可以通過任選地包含半胱氨酸殘基的間插間隔肽(連接體)分開。具體地，如上所提供，這種連接體將典型地被併入在可變結構域(即，VH或VL)和肽異源二聚體-促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)之間以及在這樣的肽異源二聚體-促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3結構域之間。用於產生三價結合分子的示例性連接體在上文中提供並且也提供在PCT申請號：PCT/US15/33081和PCT/US15/33076中。因此，這種三價結合分子的第一和第二多肽鏈締合在一起以形成能夠結合第一表位的VL1/VH1結合位點，以及能夠結合第二表位的VL2/VH2結合位點。這種三價結合分子的第三和第四多肽鏈締合在一起以形成能夠結合第三表位的VL3/VH3結合位點。

【0173】 如上所述，本發明的三價結合分子可包含三個多肽。包含三條多肽鏈的三價結合分子可通過在N-末端將第四多肽的結構域連接至第三多肽的含

VH3的結構域(例如，利用間插間隔肽(**連接體4**))獲得。可替選地，使用本發明的三價結合分子的第三多肽鏈，其包含下列結構域：(i)含VL3的結構域、(ii)含VH3的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域，其中所述VL3和VH3通過間插間隔肽彼此間隔開，所述間插間隔肽足夠長(至少9個或更多個氨基酸殘基)以便允許這些結構域的締合以形成表位元結合結構域。用於此目的的一個優選的間插間隔肽具有序列：GGGGSGGGGSGGGGS (**SEQ ID NO:41**)。

【0174】 將會理解，這種三價結合分子的VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3結構域可以不同以便允許結合是單特異性的、雙特異性的或三特異性的。具體地，VL和VH結構域可以進行選擇以便三價結合分子包含用於第一表位的兩個結合位點和用於第二表位的一個結合位點；或者用於第一表位的一個結合位點和用於第二表位的兩個結合位點；或者用於第一表位的一個結合位點、用於第二表位的一個結合位點和用於第三表位的一個結合位點。

【0175】 本發明的代表性三價結合分子的多肽鏈的一般結構在**圖6A-6F**和**表5**中提供：

表5

四條鏈第一取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH3-CH1-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL3-CL-COOH
四條鏈第二取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第三鏈	NH_2-VH3-CH1-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL3-CL-COOH
三條鏈第一取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH

表5		
	第三鏈	NH_2-VL3-VH3-HPD-CH2-CH3-COOH
三條鏈第二取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第三鏈	NH_2-VL3-VH3-HPD-CH2-CH3-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0176】 如上所提供，這種三價結合分子可包含三條、四條、五條或更多條多肽鏈。

IV. 本發明的實施方式

【0177】 如上所述，本發明涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，所述vCD3-結合結構域包括CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，其至少一個在氨基酸序列上區別於rCD3-結合結構域的對應CDR的氨基酸序列。要用於這種與特定vCD3-結合結構域比較的rCD3-結合結構域是分離的CD3-結合抗體的CD3-結合結構域，其與這種特定的vCD3-結合結構域展示最大同一性的CDR序列。rCD3-結合結構域在框架區也優選展示至少95%至100%的同一性。優選的rCD3-結合結構域包括**CD3 mAb-1**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域。本發明的包含這種vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**相對於包含這種rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3改變的親和力。本發明具體涉及這種包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其相對於包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示對CD3降低的親和力，並且能夠介導表達疾病抗原的靶細胞的重定向殺傷並且展示降低水準的細胞因數釋放。本發明具體涉及包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在治療癌症

和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包含這種分子（一種或多種）的藥物組合物。

【0178】 本發明因此涵蓋這種**DA x CD3結合分子**，其包含vCD3-結合結構域的VH 和/或VL結構域中的一個或多個，或者更優選地這種結構域的CDR_H1、CDR_H2、和CDR_H3以及CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3部分。在本發明的優選實施方式中，這種**DA x CD3結合分子**將另外包含足以允許這種分子結合至一個、兩個、或更多個疾病抗原的表位（一個或多個）的結合結構域。在本發明的另一優選實施方式中，這種**DA x CD3結合分子**將另外包含足以允許這種分子結合至在效應細胞的表面上表達的另一分子的表位（一個或多個）的結合結構域，所述效應細胞諸如CD2、CD8、CD16、T-細胞受體 (TCR)、NKp46、NKG2D等，其被表達在T淋巴細胞、天然殺傷(NK)細胞、抗原呈遞細胞或其它單核細胞上。

【0179】 本發明也涉及藥物組合物，其包含這種**DA x CD3結合分子**（一種或多種）。

【0180】 通過具有足以免疫特異性地結合CD3和疾病抗原的結合結構域，本發明的分子具有介導靶細胞(例如，癌症細胞或病原體感染細胞)的重定向殺傷的能力，所述靶細胞將疾病抗原排列在其表面上。兩種這種結合親和力的組合存在有助於將表達CD3的效應細胞定位到靶細胞的位點（即，“重定向”效應細胞），使得它可介導靶細胞的殺傷。如上所討論的，這種分子可以是雙特異性的，或者可以能夠結合多於兩個的表位（例如，三特異性）。

【0181】 使用CD3結合分子的努力已經受到這種療法所引起的高強度免疫啟動以及一些患者中高水準細胞因數的伴隨和不良產生的阻礙。因此，儘管

抗CD3療法已經在受體患者中導致顯著程度的免疫啟動，這與功效大增相關，但是這種分子的使用與顯著的毒性相關(Frey, N.V.等 (2016) "*Cytokine Release Syndrome With Novel Therapeutics For Acute Lymphoblastic Leukemia*," Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ Program. (1):567-572；Teachey, D.T.等 (2013) "*Cytokine Release Syndrome After Blinatumomab Treatment Related To Abnormal Macrophage Activation And Ameliorated With Cytokine-Directed Therapy*," Blood 121(26):5154-5157；Le Jeune, C.等 (2016) "*Potential For Bispecific T-Cell Engagers: Role Of Blinatumomab In Acute Lymphoblastic Leukemia*," Drug Des. Devel. Ther. 10:757-765；Newman, M.J.等 (2016) "*A Review Of Blinatumomab, A Novel Immunotherapy*," J. Oncol. Pharm. Pract. 22(4):639-645；Fitzgerald, J.C.等 (2017) "*Cytokine Release Syndrome After Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia*," Crit. Care Med. 45(2):e124-e131；Teachey, D.T.等 (2016) "*Identification of Predictive Biomarkers for Cytokine Release Syndrome after Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia*," Cancer Discov. 6(6):664-679；Goebeler, M.E.等 (2016) "*Blinatumomab: A CD19/CD3 Bispecific T Cell Engager (Bite) With Unique Anti-Tumor Efficacy*," Leuk. Lymphoma 57(5):1021-1032；Barrett, D.M.等 (2014) "*Toxicity Management For Patients Receiving Novel T-Cell Engaging Therapies*," Curr. Opin. Pediatr. 26(1):43-49)。

【0182】 本發明通過如下方式解決了這種障礙：通過證明展示高細胞毒性和高細胞因數釋放的親本CD3-結合結構域(即，rCD3-結合結構域)當併入到**DA x CD3結合分子**中時可以被改造以產生對CD3具有改變的親和力的變體(即，vCD3-

結合結構域)，其能夠介導重定向殺傷並且相對於包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示降低水準的細胞因數釋放。具體地，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示降低水準的下列任何一種或多種的釋放：IFN-γ、TNF-α、IL-2和/或IL-6。

【0183】 本發明部分源於認識到細胞毒性和細胞因數釋放是**DA x CD3結合分子**可分離的特性。本發明涵蓋保持高水準的細胞毒性同時展示降低水準的細胞因數釋放的變體CD3-結合結構域(即，vCD3-結合結構域)，以及包含這種vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在疾病治療中的用途。如本文所用，關於這種CD3-結合結構域的術語“**變體**”意欲指具有至少一個CDR_H和/或至少一個CDR_L的CD3-結合結構域，所述至少一個CDR_H和/或至少一個CDR_L區別於“**參考**”CD3-結合結構域 (即，rCD3-結合結構域)的“對應”CDR_H 和/或 CDR_L。如本文所用，術語“對應”CDR_H和/或CDR_L意指兩個CDR序列之間的比較，其中兩個這種CDRs均是CD_H1結構域，兩個這種CDRs均是CD_H2結構域，兩個這種CDRs均是CD_H3結構域，兩個這種CDRs均是CD_L1結構域，兩個這種CDRs均是CD_L2結構域，或者兩個這種CDRs均是CD_L3結構域。對於本文所述的示例性vCD3-結合結構域來說優選的rCD3-結合結構域是具有下列CDR中至少5個、至少4個、至少3個、至少2個或至少1個的CD3-結合結構域：**CD3 mAb 1**的CD_H1、CDR_H2、CDR_H3以及CD_L1、CDR_L2、和CDR_L3。優選地，這種示例性vCD3-結合結構域將具有下列CDR的至少5個：**CD3 mAb 1**的CD_H1、CDR_H2、CDR_H3以及CD_L1、CDR_L2、和CDR_L3。vCD3-結合結構域可以通過rCD3-結合結構域的一個或多個CDR的化學修飾獲得，但是將更優選通過下列獲得：形成編碼rCD3-結合結構域的這種一個或多個CDR的一個或多個多核苷酸，除了被改變以編碼

期望的vCD3-結合結構域之外，然後在合適的蛋白表達系統（例如，細胞或體外翻譯系統）中表達這種多核苷酸。細胞毒性可以以任何合適的方式（例如，測定EC_{50}最大值的CTL試驗等）測量。細胞因數釋放可以通過以任何合適的方式（例如，測定EC_{50}最大值的CTL試驗等）測定IFN-γ、TNF-α、IL-6或IL-2中的任何一個或多個被測量。

【0184】 值得注意地，最大細胞毒性和細胞因數釋放的絕對水準不是用於評估候選CD3-結合結構域是否是本發明所涵蓋的合適的vCD3-結合結構域的唯一標準。此外，或可替選地，可以利用EC_{50}值。如本文所提供的，合適的vCD3-結合結構域是當併入到**DA x CD3結合分子**中時能夠介導高水準的細胞毒性(即，低EC_{50}濃度)同時展示降低水準的細胞因數釋放的vCD3-結合結構域。

【0185】 在某些實施方式中，本發明提供這樣的vCD3-結合結構域，其當併入到**DA x CD3結合分子**中時介導細胞重定向細胞殺傷至最大細胞毒性(例如，如在CTL試驗中在18-48小時下所測量的)，其為包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所介導的最大細胞毒性的至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約100%。此外，或可替選地，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的細胞毒性的EC_{50} (例如，如在CTL試驗中在18-48小時下所測量的)相比包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的細胞毒性的EC_{50}增加了小於約10%、小於約20%、小於約30%、小於約40%、小於約50%、小於約60%、小於約70%、小於約80%、小於約90%、小於約100%、小於約200%、小於約300%、小於約400%、或小於約500%。此外，或可替選地，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**與包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**的細胞毒性的EC_{50} (例如，如在CTL試驗中在18-24小時下所

測量的)之比小於約2、小於約5、小於約10、小於約20、小於約40、小於約60、小於約80、小於約100、或小於約200。

【0186】 在某些實施方式中，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的一個或多個細胞因數的最大釋放(例如，如在CTL試驗中在18-24小時下所測量的)相比包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的一個或多個細胞因數的最大釋放降低了至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、或更多。此外，或可替選地，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的一個或多個細胞因數釋放的EC_{50}(例如，如在CTL試驗中在18-48小時下所測量的)相比包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的一個或多個細胞因數釋放的EC_{50}增加了至少約10%、至少約20%、至少約30%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80、至少約90%或更多。在具體實施方式中，所釋放的細胞因數選自由下列組成的組：IFN-γ、TNF-α、IL-2和IL-6。此外，或可替選地，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**與包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**的一個多個細胞因數釋放的EC_{50} (例如，如在CTL試驗中在18-24小時下所測量的)之比($EC_{50變體}/EC_{50參考}$)大於約1、大於約2、大於約5、大於約10、大於約20、大於約40、大於約60、大於約80、大於約100或大於約200。

【0187】 此外，本發明的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**保持包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的體內活性（例如，抗腫瘤、抗病原體活性）的至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%、至少約90%、至少約100%。鑒於本公開內容，將會理解，相比包含rCD3-結合結構

域的**DA x CD3結合分子**，包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**可以以更高的劑量施用以達到包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**所展示的體內活性的至少約50%或更多，但是這種更高的劑量將展示降低水準的細胞因數釋放。

【0188】 在一種實施方式中，本發明的這種**DA x CD3結合分子**將是單特異性的，以便具有結合至CD3的僅一個表位以及疾病抗原的僅一個表位的能力。

【0189】 可替選地，這種**DA x CD3結合分子**可以是多特異性的，即，能夠結合1個、2個、3個、4個、或多於4個表位元，其可以任何方式分配以結合CD3的1個、2個、或更多個表位以及一個或多個疾病抗原的1個、2個、3個、4個、或多於4個表位。

【0190】 在其中這種**DA x CD3結合分子**能免疫特異性地結合至僅單個疾病抗原的某些實施方式中，它們可以能夠免疫特異性地結合至僅一個CD3表位以及這種疾病抗原的一個、兩個表位（其兩個疾病抗原表位可以相同或不同），或者它們可以能夠免疫特異性地結合至僅一個CD3表位以及這種疾病抗原的三個表位（其三個疾病抗原表位可以相同，或者可以不同，或者可以是兩個表位是相同的和一個表位是不同的）。

【0191】 在其中這種**DA x CD3結合分子**能夠免疫特異性地結合至兩種不同疾病抗原(例如，第一疾病抗原和第二疾病抗原)的其它實施方式中，它們可以能夠免疫特異性地結合至僅一個CD3表位以及第一疾病抗原的一個或兩個表位(其兩個第一疾病抗原表位可以相同或不同)和第二疾病抗原的兩個或一個表位(其兩個第二疾病抗原表位可以相同或不同)。

【0192】 在仍然其它的實施方式中，這種**DA x CD3結合分子**可以能夠免疫特異性地結合至三個不同的疾病抗原(例如，第一疾病抗原、第二疾病抗原和第三疾病抗原)和僅一個CD3表位。

【0193】 在仍然其它的實施方式中，這種**DA x CD3結合分子**可以能夠免疫特異性地結合至一個或兩個不同的疾病抗原(例如，第一疾病抗原和第二疾病抗原)、僅一個CD3表位、和效應細胞 (其可以是相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的一個或兩個不同的細胞表面分子(其可以是相同的細胞表面分子、或者可以是不同的表面分子)。

【0194】 因此，例如，這種**DA x CD3結合分子**可結合：

(1) CD3的單個表位和在靶細胞的表面上排列的疾病抗原的單個表位；

(2) CD3的單個表位和在靶細胞的表面上排列的相同疾病抗原的兩個表位；

(3) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的第一疾病抗原的表位和在靶細胞的表面上排列的第二疾病抗原的表位；

(4) CD3的單個表位和在靶細胞的表面上排列的相同疾病抗原的三個表位；

(5) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的第一疾病抗原的兩個表位和在靶細胞的表面上排列的第二疾病抗原的一個表位；

(6) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的第一疾病抗原的表位和在靶細胞的表面上排列的第二疾病抗原的表位；

(7) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的疾病抗原的單個表位和在效應細胞(其可以是與排列CD3的效應細胞相同類型的效應細胞或

者可以是不同類型的效應細胞)的表面上排列的除了CD3之外的細胞表面分子的單個表位；

(8) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的疾病抗原的兩個表位和在效應細胞(其可以是與排列CD3的效應細胞相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的表面上排列的除了CD3之外的細胞表面分子的單個表位；

(9) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的第一疾病抗原的表位、在靶細胞的表面上排列的第二疾病抗原的表位和在效應細胞(其可以是與排列CD3的效應細胞相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的表面上排列的除了CD3之外的細胞表面分子的單個表位；

(10) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的疾病抗原的表位、和在效應細胞(其可以是與排列CD3的效應細胞相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的表面上排列的除了CD3之外的細胞表面分子的兩個表位；或

(11) CD3的單個表位、在靶細胞的表面上排列的疾病抗原的表位、在效應細胞 (其可以是與排列CD3的效應細胞相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的表面上排列的除了CD3之外的第一細胞表面分子的表位、和在效應細胞(其可以是與排列CD3的效應細胞相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的表面上排列的除了CD3之外的第二細胞表面分子的表位。

【0195】 本發明因此考慮這樣的**DA x CD3結合分子**，其包含能夠免疫特異性地結合CD3的表位的第一表位元結合結構域、和能夠免疫特異性地結合在這種靶細胞的表面上排列的疾病抗原的表位的第二表位元結合結構域、和能夠免疫特異性地結合效應細胞(其可以是相同類型的效應細胞或者可以是不同類型的效應細胞)的不同細胞表面分子的表位的第三表位元結合結構域。在具體實施方式中，效應細胞的不同細胞表面分子是CD8。**表6**顯示本發明的示例性分子的可能組合結合特異性。

表6

由能夠介導靶細胞的重定向殺傷的本發明示例性分子所識別的表位元數目

結合結構域的總數	CD3表位	其它效應細胞表位	第一疾病抗原表位	第二疾病抗原表位	第三疾病抗原表位
2	1	0	1	0	0
3	1	0	1	1	0
3	1	1	1	0	0
3	1	0	1	1	0
3	2	0	1	0	0
4	1	0	1	1	1
4	1	0	1	2	0
4	1	0	2	1	0
4	1	1	2	0	0
4	1	1	1	1	0
4	1	2	1	0	0
4	2	0	1	1	0
4	2	0	1	1	0
4	2	1	1	0	0

【0196】 通過形成更複雜的分子，可以獲得具有多於四個表位元結合結構域的**DA x CD3結合分子**，其能夠結合CD3、和一個或多個疾病抗原、和任選地效應細胞的不同細胞表面分子。對本發明分子可結合的表位或另外的表位元的性質或數目沒有限制，除了這種另外的結合能力不妨礙所述分子或其能夠結合

至CD3的表位元的結合結構域的這種結合並且不妨礙所述分子或其能夠結合至疾病抗原的表位元的結合結構域的這種結合，以便所述分子可介導靶細胞的重定向殺傷。

V. 示例性結合分子

【0197】 本發明涉及能夠結合至CD3和疾病抗原諸如癌抗原或病原體相關抗原的**DA x CD3結合分子** (例如，雙抗體、雙特異性抗體、雙特異性、三價分子、BiTe、TandAb等)。這種結合分子可容易地由抗體的CDRs和由抗體的VL和VH結構域產生。下面列出的是可用於產生本發明的結合分子和組合療法的示例性抗體。

A. 抗-CD3抗體CD3 mAb 1

【0198】 本發明利用變體CD3-結合結構域 (即，vCD3-結合結構域)，其包含抗人CD3抗體或其CD3-結合部分的輕鏈可變(VL)結構域和重鏈可變(VH)結構域並且介導與CD3的變體結合。如本文所用，術語“變體結合”意指由參考抗體的CD3-結合結構域所展示的相當的結合，所述參考抗體的CD3-結合結構域的CDRs 展示與變體CD3-結合結構域的CDRs最高的序列同一性。對於本發明說明的vCD3-結合結構域的CD3-結合參考抗體是**CD3 mAb 1**，其rCD3-結合結構域能夠結合人CD3和非人靈長類（例如，食蟹猴）的CD3。

【0199】 **CD3 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列 (**SEQ ID NO:55**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0200】 **CD3 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:56**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TC**RSSTGAVT TSNYAN**WVQQ KPGQAPRGLI G**GTNKRAP**WT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC **ALWYSNLWV**F GGGTKLTVLG

CD3 mAb 1		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR$_H$1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR$_H$2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR$_H$3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR$_L$1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR$_L$2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR$_L$3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

【0201】 “**CD3 mAb 1**”的rCD3-結合結構域包括**CD3 mAb 1** VH結構域，其具有在Kabat位置65的天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)(對應於**SEQ ID NO:55**的殘基68) (即，**SEQ ID NO:55**中的X是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G))；和**CD3 mAb 1**的VL結構域(**SEQ ID NO:56**)。因此，例如，當這種**CD3 mAb 1** VH結構域具有甘氨酸(G)作為其殘基68時，其序列是下面所顯示的**SEQ ID NO:63** (CDR$_H$殘基用底線顯示，Kabat位置65用雙底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R** **IRSKYNNYAT YYADSVKG**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

【0202】 本發明的具有vCD3-結合結構域的CD3-結合分子可以利用CTL試驗識別，其中：

(1) 潛在地具有vCD3-結合結構域的雙特異性癌抗原 x CD3雙抗體(例如，CD123 x CD3雙抗體或5T4 x CD3雙抗體)，和

(2) 具有對應的rCD3-結合結構域 (例如，**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域)的雙特異性癌抗原 x CD3雙抗體，

分別用效應子泛-T-細胞 (或PBMCs)和靶腫瘤細胞（例如，MOLM-13或A498細胞）例如以效應子:靶細胞比5:1 (或對於PBMCs來說15:1)培育18、24、或42小時，並且測定百分比細胞毒性 (即，細胞殺傷) 和/或EC_{50} (例如，通過利用CytoTox 96®非放射性細胞毒性試驗試劑盒(Promega)測量由損傷細胞向培養基中釋放的乳酸脫氫酶(LDH))。在一種實施方式中，IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-2細胞因數的釋放可以在CTL試驗結束時測定。CD4+ and CD8+ T淋巴細胞群也可在CTL試驗結束時針對啟動標誌物CD69和CD25的上調進行評估。潛在地具有vCD3-結合結構域的雙特異性癌抗原 x CD3雙抗體與具有rCD3-結合結構域的癌抗原 x CD3雙抗體的百分比細胞毒性和/或EC_{50}的比較鑒定了展示期望的變體CD3結合和/或降低水準的細胞因數釋放的vCD3-結合結構域。

【0203】 本發明的具有vCD3-結合結構域的CD3-結合分子可以可替選地利用結合試驗識別，其中：

(1) 潛在地具有vCD3-結合結構域的雙特異性癌抗原 x CD3雙抗體，和

(2) 具有rCD3-結合結構域 (例如，**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域)的雙特異性癌抗原 x CD3雙抗體，

分別通過FACS分析評價它們結合至腫瘤抗原-表達細胞系的細胞(MOLM-13或A498細胞)的表面的能力。簡言之，細胞在微量滴定板上用雙抗體分子(在包含10%人AB血清的FACS緩衝液中)培育。然後洗滌細胞並且用標記的抗人Fc二次抗體或用混合有鏈黴親和素-藻紅蛋白的生物素-結合的小鼠抗EK-螺旋抗體（其識別所述雙抗體的E-螺旋/K-螺旋(EK)異源二聚體-促進結構域）進行培育。然後

洗滌細胞並且用FACS緩衝液重懸浮並且通過流式細胞術進行分析並且進行比較。

【0204】 本發明的具有vCD3-結合結構域的CD3-結合分子可以可替選地利用例如共混合異種移植型(Co-Mix Xenograft Model)諸如NOD/SCID小鼠進行識別。在這樣的試驗中，小鼠注射有與啟動的人CD4+或CD8+ T-細胞共混的腫瘤細胞(例如，KG1A (AML)細胞) (E:T = 1:5)。將潛在地具有vCD3-結合結構域的雙特異性癌抗原 x CD3 雙抗體或者具有rCD3-結合結構域的所述癌抗原 x CD3 雙抗體注射到動物中並且對腫瘤生長的程度進行監控和比較。

【0205】 可替選地，本文命名為“**CD3 mAb 1 M3**” – “**CD3 mAb 1 M26**”的**CD3 mAb 1的**示例性變體中的任何一種、兩種或多於兩種可被用於提供本發明的**DA x CD3結合分子**的vCD3-結合結構域。本發明完全考慮了具有**CD3 mAb 1 M3 – CD3 mAb 1 M26**任意一種的VL和VH結構域的抗-CD3抗體，其中所述VH結構域具有在Kabat位置65的天冬氨酸(D)或者在Kabat位置65的甘氨酸(G)。**CD3 mAb 1**的示例性變體**CD3 mAb 1 M3 – CD3 mAb 1 M26**具有vCD3-結合結構域，其包括CDR_H1結構域、CDR_H2結構域、CDR_H3結構域、CDR_L1結構域、CDR_L2結構域、和CDR_L3結構域，其中至少一個在氨基酸序列上區別於rCD3-結合結構域 (**CD3 mAb 1**)的對應CDR的氨基酸序列；並且相對於包含所述rCD3-結合結構域的DA x CD3 結合結構域，包含所述vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**以改變的親和力結合CD3並且能夠介導重定向殺傷並且展示較低水準的細胞因數釋放。

【0206】 本發明的優選變體抗CD3 VH結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:55** 的變體並且由**SEQ ID NO:207**表示 (CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **$X_1X_2X_3$MN**WVRQA PGKGLEWVGR **IRSKYNNYAT** **YYADSVKX_4**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HX_5N$X_6$$X_7NSX_8$ST** **$X_9FAX_{10}$**WGQGTL VTVSS

其中：X_1是T、D、或E；X_2是Y、D 或T；X_3是A或G；X_4是D或G；X_5是G、D、E、或K；X_6是F或I；X_7是G或I；X_8是Y、A、G、或Q；X_9是W、F、或Y；並且X_{10}是Y或E。

【0207】 本發明的優選變體抗-CD3 VL結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**的變體並且由**SEQ ID NO:208**表示 (CDR_L殘基用底線顯示)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TC**RSSTGAVT** **TSNYAN**WVQQ KPGQAPRGLI G**X_1TNX$_2$RAP**WT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC **AX$_3$WYSNLWV**F GGGTKLTVLG

其中：X_1是G或D；X_2是K或G；並且X_3是L、E或Q。

B. 變體抗-CD3抗體

1. CD3 mAb 1 M1

【0208】 **CD3 mAb 1 M1**是**CD3 mAb 1**的低親和力變體，並且也被稱為“**CD3 mAb 1低**”。**CD3 mAb 1 M1**的VH結構域的氨基酸序列在下面顯示為**SEQ ID NO:64** (CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:64**包含S100dT置換(用雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:64**的如Kabat中所編號的位置65（也用雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R** **IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVT WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0209】 **CD3 mAb 1 M1**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M1

CDR	序列	SEQ ID NO
CDR_H1	TYAMN	SEQ ID NO:57
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	SEQ ID NO:58
CDR_H3	HGNFGNSYV**T**WFAY	SEQ ID NO:65
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	SEQ ID NO:60
CDR_L2	GTNKRAP	SEQ ID NO:61
CDR_L3	ALWYSNLWV	SEQ ID NO:62
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

2. CD3 mAb 1 M2

【0210】 **CD3 mAb 1 M2**相比**CD3 mAb 1**具有更快的解離率，並且因此也被稱為“**CD3 mAb 1快**”。**CD3 mAb 1 M2**的VH結構域的氨基酸序列在下面被顯示為**SEQ ID NO:66** (CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:66**包含如Kabat中所編號的G96K和S100dT置換(序列殘基110，以雙底線顯示)；此外，**SEQ ID NO:66**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HKNFGNSYVT WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0211】 **CD3 mAb 1 M2**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M2		
CDR	**序列**	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	SEQ ID NO:57
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	SEQ ID NO:58
CDR_H3	H**K**NFGNSYV**T**WFAY	SEQ ID NO:67

CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

3. CD3 mAb 1 M3

【0212】 **CD3 mAb 1 M3**的VH結構域的氨基酸序列 (**SEQ ID NO:68**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:68**包含G99I置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:68**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFINSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0213】 **CD3 mAb 1 M3**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M3		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNF**I**NSYVSWFAY	**SEQ ID NO:69**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

4. CD3 mAb 1 M4

【0214】 **CD3 mAb 1 M4**的VH結構域的氨基酸序列 (**SEQ ID NO:70**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**, **SEQ ID NO:70**包含Y100bA 置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:70**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSAVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0215】 **CD3 mAb 1 M4**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M4		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR$_H$1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR$_H$2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR$_H$3	HGNFGNS**A**VSWFAY	**SEQ ID NO:71**
CDR$_L$1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR$_L$2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR$_L$3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

5. CD3 mAb 1 M5

【0216】 **CD3 mAb 1 M5**的VH結構域的氨基酸序列 (**SEQ ID NO:72**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:72**包含Y100bG 置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:72**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSGVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0217】 **CD3 mAb 1 M5**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M5		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNS**G**VSWFAY	**SEQ ID NO:73**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

6. CD3 mAb 1 M6

【0218】 **CD3 mAb 1 M6**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:74**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:74**包含Y100bQ 置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:74**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSQVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0219】 **CD3 mAb 1 M6**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M6		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**

CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNS**Q**VSWFAY	**SEQ ID NO:75**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

7. CD3 mAb 1 M7

【0220】 **CD3 mAb 1 M7**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:76**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:76**包含G96D置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:76**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HDNFGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0221】 **CD3 mAb 1 M7**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M7		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	H**D**NFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:77**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

8. CD3 mAb 1 M8

【0222】 **CD3 mAb 1 M8**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:78**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:78**包含G99E置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:78**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R** **IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HENFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0223】 **CD3 mAb 1 M8**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M8		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR$_H$1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR$_H$2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR$_H$3	H**E**NFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:79**
CDR$_L$1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR$_L$2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR$_L$3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

9. CD3 mAb 1 M9

【0224】 **CD3 mAb 1 M9**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:80**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:80**包含G99K置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:80**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R** **IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HKNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0225】 **CD3 mAb 1 M9**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M9		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	H**K**NFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:81**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

10.CD3 mAb 1 M10

【0226】 **CD3 mAb 1 M10**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:82**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:82**包含F98I置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:82**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNIGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0227】 **CD3 mAb 1 M10**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M10		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**

CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGN**I**GNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:83**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

11.CD3 mAb 1 M11

【0228】 **CD3 mAb 1 M11**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:84**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:84**包含W100eF置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:84**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS FFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0229】 **CD3 mAb 1 M11**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M11		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVS**F**FAY	**SEQ ID NO:85**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

12.CD3 mAb 1 M12

【0230】 **CD3 mAb 1 M12**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:86**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:86**包含W100eY置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:86**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS YFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0231】 **CD3 mAb 1 M12**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M12		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR$_H$1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR$_H$2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR$_H$3	HGNFGNSYVS**Y**FAY	**SEQ ID NO:87**
CDR$_L$1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR$_L$2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR$_L$3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

13.CD3 mAb 1 M13

【0232】 **CD3 mAb 1 M13**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:88**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:88**包含Y102E置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:88**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HGNFGNSYVS WFAEWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0233】 **CD3 mAb 1 M13**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M13		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFA**E**	**SEQ ID NO:89**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

14.CD3 mAb 1 M14

【0234】 **CD3 mAb 1 M14**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:90**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:90**包含T31D置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:90**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **DYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0235】 **CD3 mAb 1 M14**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M14		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	**D**YAMN	**SEQ ID NO:91**

CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

15.CD3 mAb 1 M15

【0236】 **CD3 mAb 1 M15**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:92**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:92**包含T31E 置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:92**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **EYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0237】 **CD3 mAb 1 M15**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M15		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	**E**YAMN	**SEQ ID NO:93**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

16.CD3 mAb 1 M16

【0238】 **CD3 mAb 1 M16**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:94**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:94**包含Y32D置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:94**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TDAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0239】 **CD3 mAb 1 M16**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M16		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR$_H$1	TDAMN	**SEQ ID NO:95**
CDR$_H$2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR$_H$3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR$_L$1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR$_L$2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR$_L$3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

17.CD3 mAb 1 M17

【0240】 **CD3 mAb 1 M17**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:96**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:96**包含Y32T置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:96**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TTAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0241】 **CD3 mAb 1 M17** 的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M17		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	T**T**AMN	**SEQ ID NO:97**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

18.CD3 mAb 1 M18

【0242】 **CD3 mAb 1 M18**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:98**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:98**包含A33G置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:98**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYGMN**WVRQA PGKGLEWVGR **IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HGNFGNSYVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0243】 **CD3 mAb 1 M18**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M18		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TY**G**MN	**SEQ ID NO:99**

CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

19.CD3 mAb 1 M19

【0244】 **CD3 mAb 1 M19 (SEQ ID NO:100)** 的VH結構域的氨基酸序列顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:100**包含G96K和F98I置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:100**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HKNIGNSYVS WFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0245】 **CD3 mAb 1 M19**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M19		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	H**K**N**I**GNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:101**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

20.CD3 mAb 1 M20

【0246】 **CD3 mAb 1 M20**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:102**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:102**包含G96K和Y100bG置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:102**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R IRSKYNNYAT YYADSVKX**RF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR **HKNFGNSGVS WFAY**WGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0247】 **CD3 mAb 1 M20**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M20		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	H**K**NFGNS**G**VSWFAY	**SEQ ID NO:103**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

21.CD3 mAb 1 M21

【0248】 **CD3 mAb 1 M21**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:104**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:104**包含G96K和W100eF置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID**

NO:104的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HKNFGNSYVS FFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0249】 **CD3 mAb 1 M21**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M21		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	H**K**NFGNSYVS**F**FAY	**SEQ ID NO:105**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

22.CD3 mAb 1 M22

【0250】 **CD3 mAb 1 M22**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:106**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:55**，**SEQ ID NO:106**包含G96K和W100eY置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)；此外，**SEQ ID NO:106**的如Kabat中所編號的位置65（也以雙底線顯示）可以是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **TYAMN**WVRQA PGKGLEWVG**R**
IRSKYNNYAT YYADSVKXRF TISRDDSKNS LYLQMNSLKT EDTAVYYCVR
HKNFGNSYVS YFAYWGQGTL VTVSS

其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。

【0251】 **CD3 mAb 1 M22**的VL結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:56**。

CD3 mAb 1 M22		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	H**K**NFGNSYVS**Y**FAY	**SEQ ID NO:107**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

23.CD3 mAb 1 M23

【0252】 **CD3 mAb 1 M23**的VH結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:55**或**SEQ ID NO:63**。

【0253】 **CD3 mAb 1 M23**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:108**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:56**，**SEQ ID NO:108**包含L95E置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TC**RSSTGAVT TSNYAN**WVQQ KPGQAPRGLI G**GTNKRAP**WT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC **AEWYSNLWV**F GGGTKLTVLG

CD3 mAb 1 M23		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**

CDR_L3	A**E**WYSNLWV	**SEQ ID NO:109**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

24.CD3 mAb 1 M24

【0254】 **CD3 mAb 1 M24**的VH結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:55**或**SEQ ID NO:63**。

【0255】 **CD3 mAb 1 M24**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:110**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:56**，**SEQ ID NO:110**包含L95Q置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TC**RSSTGAVT TSNYAN**WVQQ KPGQAPRGLI G**GTNKRAP**WT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC **AQWYSNLWV**F GGGTKLTVLG

CD3 mAb 1 M24		
CDR	**序列**	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTNKRAP	**SEQ ID NO:61**
CDR_L3	A**Q**WYSNLWV	**SEQ ID NO:111**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

25.CD3 mAb 1 M25

【0256】 **CD3 mAb 1 M25**的VH結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:55**或**SEQ ID NO:63**。

【0257】 **CD3 mAb 1 M25**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:112**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:56**，**SEQ ID NO:112**包含G50D置換(以雙底線顯示，並且如Kabat中所編號)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TC**RSSTGAVT TSNYAN**WVQQ KPGQAPRGLI G**D****TNKRAP**WT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC **ALWYSNLWV**F GGGTKLTVLG

CD3 mAb 1 M25		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	**D**TNKRAP	**SEQ ID NO:113**
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

26.CD3 mAb 1 M26

【0258】 **CD3 mAb 1 M26**的VH結構域的優選氨基酸序列是**SEQ ID NO:55**或**SEQ ID NO:63**。

【0259】 **CD3 mAb 1 M26**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:114**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)。相對於**SEQ ID NO:56**，**SEQ ID NO:114**包含K53G置換(以雙底線顯示)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TC**RSSTGAVT TSNYAN**WVQQ KPGQAPRGLI G**GTNGRAP**WT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC **ALWYSNLWV**F GGGTKLTVLG

CD3 mAb 1 M26		
CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	TYAMN	**SEQ ID NO:57**
CDR_H2	RIRSKYNNYATYYADSVK**X**	**SEQ ID NO:58**
CDR_H3	HGNFGNSYVSWFAY	**SEQ ID NO:59**
CDR_L1	RSSTGAVTTSNYAN	**SEQ ID NO:60**
CDR_L2	GTN**G**RAP	**SEQ ID NO:115**

CD3 mAb 1 M26		
CDR_L3	ALWYSNLWV	**SEQ ID NO:62**
其中**X**是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)。		

C. 結合至效應細胞的細胞表面分子的示例性抗體

【0260】 如本文所用，術語“**效應細胞**”表示直接或間接介導靶細胞(例如，外來細胞、感染細胞或癌症細胞)殺傷的細胞。效應細胞的實例包括輔助性T細胞、細胞毒性T細胞、天然殺傷(NK)細胞、漿細胞(分泌抗體的B細胞)、巨噬細胞和粒細胞。這種細胞的優選細胞表面分子包括CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D受體。因此，能夠免疫特異性地結合這種分子或者結合至其它效應細胞表面分子的表位的分子可以按照本發明的原理進行使用。下面提供了示例性的抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠介導靶細胞的重定向殺傷的分子。

1. 示例性抗CD2抗體

【0261】 在一種實施方式中，能夠介導靶細胞的重定向殺傷的本發明分子將通過免疫特異性地結合這種效應細胞表面上存在的CD2的表位而結合效應細胞。特異性地結合CD2的分子包括抗CD2抗體“**CD2 mAb Lo-CD2a**”。

【0262】 **CD2 mAb Lo-CD2a**的VH結構域的氨基酸序列(ATCC登錄號：11423)；**SEQ ID NO:116**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLQQSGPE LQRPGASVKL SCKASGYIFT **EYYMY**WVKQR PKQGLELVG**R** **IDPEDGSIDY** **VEKFKK**KATL TADTSSNTAY MQLSSLTSED TATYFCAR**GK** **FNYRFAY**WGQ GTLVTVSS

【0263】 **CD2 mAb Lo-CD2a**的VL結構域的氨基酸序列(ATCC登錄號：11423；**SEQ ID NO:117**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DVVLTQTPPT LLATIGQSVS ISC**RSSQSLL HSSGNTYLN**W LLQRTGQSPQ PLIY**LVSKLE S**GVPNRFSGS GSGTDFTLKI SGVEAEDLGV YYC**MQFTHYP YT**FGAGTKLE LK

2. 示例性抗CD8抗體

【0264】 在一種實施方式中，能夠介導靶細胞的重定向殺傷的本發明分子將通過免疫特異性地結合這種效應細胞表面上存在的CD8的表位而結合效應細胞。特異性地結合CD8的抗體包括抗CD8抗體“**OKT8**”和“**TRX2**”。

【0265】 **OKT8**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:118**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLLESGPE LLKPGASVKM SCKA**SGYTFT DYNMH**WVKQS HGKSLEWIG**Y IYPYTGGTGY NQKFKN**KATL TVDSSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCARNF RYTYWYFDVW GQGTTVTVSS

【0266】 **OKT8**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:119**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIVMTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD **SYDNSLMH**WY QQKPGQPPKV LIY**LASNLES** GVPARFSGSG SRTDFTLTID PVEADDAATY YC**QQNNEDPY T**FGGGTKLEI KR

【0267】 **TRX2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:120**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS **DFGMN**WVRQA PGKGLEWVA**L IYYDGSNKFY ADSVKG**RFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAK**PH YDGYYHFFDS** WGQGTLVTVS S

【0268】 **TRX2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:121**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KGSQDIN NYLA**WYQQKP GKAPKLLIY**N TDILHT**GVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYC**YQ YNNGYT**FGQG TKVEIK

VI. 示例性癌症和病原體相關抗原

A. 排列在癌症細胞表面上的示例性癌抗原

【0269】 如本文所用，術語“**癌抗原**”表示典型地在癌細胞表面上表達的並且因此可用基於抗體的分子或免疫調節分子治療的抗原。癌抗原的實例包括但不限於：**19.9**，如結腸癌、胃癌粘蛋白中發現的；**4.2**；**ADAM-9** (美國專利公開號2006/0172350；PCT公開號WO 06/084075)；**AH6**，如胃癌中發現的；**ALCAM** (PCT公開號WO 03/093443)；**APO-1 (惡性人淋巴細胞抗原)** (Trauth, B.C.等(1989)*“Monoclonal Antibody-Mediated Tumor Regression By Induction Of Apoptosis,”* Science 245:301-304)；**B1** (Egloff, A.M.等(2006) *“Cyclin B1 And Other Cyclins As Tumor Antigens In Immunosurveillance And Immunotherapy Of Cancer,” Cancer Res.* 66(1):6-9)；**B7-H3** (Collins, M.等(2005) *“The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands,”* Genome Biol. 6:223.1-223.7). Chapoval, A.等(2001) *“B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN-γ Production,”* Nature Immunol. 2:269–274; Sun, M.等(2002) *“Characterization of Mouse and人 B7-H3 Genes,”* J. Immunol. 168:6294-6297)；**BAGE** (Bodey, B. (2002) *“Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy,”* Expert Opin. Biol. Ther. 2(6):577-584)；**β-聯蛋白** (Prange W.等(2003) *“Beta-Catenin Accumulation In The Progression Of Human Hepatocarcinogenesis Correlates With Loss Of E-Cadherin And Accumulation Of P53, But Not With Expression Of Conventional WNT-1 Target Genes,”* J. Pathol. 201(2):250-259)；**血型ALe^b/Le^y**，如在結腸腺癌中發現的；**伯基特淋巴瘤抗原-38.13**；**C14**，如在結腸腺癌中發現的；**CA125 (卵巢癌抗原)** (Bast, R.C. Jr.等(2005) *“New Tumor Markers: CA125 And Beyond,”* Int. J. Gynecol. Cancer 15(Suppl 3):274-281；Yu等(1991) *“Coexpression Of Different Antigenic Markers On Moieties*

That Bear CA 125 Determinants," Cancer Res. 51(2):468-475)；**羧肽酶M** (美國專利公開號2006/0166291)；**CD5** (Calin, G.A.等(2006) *"Genomics Of Chronic Lymphocytic Leukemia MicroRNAs As New Players With Clinical Significance,"* Semin. Oncol. 33(2):167-173；**CD19** (Ghetie等(1994) *"Anti-CD19 Inhibits The Growth Of Human B-Cell Tumor Lines In Vitro And Of Daudi Cells In SCID Mice By Inducing Cell Cycle Arrest,"* Blood 83:1329-1336；Troussard, X.等1998 *Hematol Cell Ther.* 40(4):139-48)；**CD20** (Reff等(1994) *"Depletion Of B Cells In Vivo By A Chimeric Mouse Human Monoclonal Antibody To CD20,"* Blood 83:435-445；Thomas, D.A.等2006 Hematol Oncol Clin North Am. 20(5):1125-36)；**CD22** (Kreitman, R.J. (2006) *"Immunotoxins For Targeted Cancer Therapy,"* AAPS J. 8(3):E532-51)；**CD23** (Rosati, S.等(2005) *"Chronic Lymphocytic Leukaemia: A Review Of The Immuno-Architecture,"* Curr. Top. Microbiol. Immunol. 294:91-107)；**CD25** (Troussard, X.等(1998) *"Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?"* Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148)；**CD27** (Bataille, R. (2006) *"The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy,"* Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD28** (Bataille, R. (2006) *"The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy,"* Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD33** (Sgouros 等 (1993) *"Modeling And Dosimetry Of Monoclonal Antibody M195 (Anti-CD33) In Acute Myelogenous Leukemia,"* J. Nucl. Med. 34:422-430)；**CD36** (Ge, Y. (2005) *"CD36: A Multiligand Molecule,"* *Lab*

Hematol. 11(1):31-7)；**CD40/CD154** (Messmer, D.等(2005) "*CD154 Gene Therapy For人B-Cell Malignancies*," Ann. N. Y. Acad. Sci. 1062:51-60)；**CD45** (Jurcic, J.G. (2005) "*Immunotherapy For Acute Myeloid Leukemia*," Curr. Oncol. Rep. 7(5):339-346)；**CD56** (Bataille, R. (2006) "*The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy*," Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD46** (美國專利號7,148,038；PCT公開號WO 03/032814)；**CD52** (Eketorp, S.S.等(2014) "*Alemtuzumab (Anti-CD52 Monoclonal Antibody) As Single-Agent Therapy In Patients With Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukaemia (CLL)- Single Region Experience On Consecutive Patients*," Ann Hematol. 93(10):1725-1733；Suresh, T.等(2014) "*New Antibody Approaches To Lymphoma Therapy*," J. Hematol. Oncol. 7:58；Hoelzer, D. (2013) "*Targeted Therapy With Monoclonal Antibodies In Acute Lymphoblastic Leukemia*," Curr. Opin. Oncol. 25(6):701-706)；**CD56** (Bataille, R. (2006) "*The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of "Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy*," Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD79a/CD79b** (Troussard, X.等(1998) "*Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?*" Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148；Chu, P.G.等(2001) "*CD79: A Review*," Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 9(2):97-106)；**CD103** (Troussard, X.等(1998) "*Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?*" Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148)；**CD317** (Kawai, S.等(2008) "*Interferon-A Enhances CD317 Expression And The Antitumor Activity Of Anti-CD317 Monoclonal*

Antibody In Renal Cell Carcinoma Xenograft Models," Cancer Science 99(12):2461-2466；Wang, W.等(2009) *HM1.24 (CD317) Is A Novel Target Against Lung Cancer For Immunotherapy Using Anti-HM1.24 Antibody*," Cancer Immunology, Immunotherapy 58(6):967-976; Wang, W.等(2009) "*Chimeric And Humanized Anti-HM1.24 Antibodies Mediate Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Against Lung Cancer Cells. Lung Cancer*," 63(1):23-31；Sayeed, A.等(2013) "*Aberrant Regulation Of The BST2 (Tetherin) Promoter Enhances Cell Proliferation And Apoptosis Evasion In High Grade Breast Cancer Cells*," PLoS ONE 8(6)e67191, pp. 1-10)；**CDK4** (Lee, Y.M. 等(2006) "*Targeting Cyclins And Cyclin-Dependent Kinases In Cancer: Lessons From Mice, Hopes For Therapeutic Applications In Human*," Cell Cycle 5(18):2110-2114)；**CEA** (癌胚抗原；Foon等(1995) *"Immune Response To The Carcinoembryonic Antigen In Patients Treated With An Anti-Idiotype Antibody Vaccine,"* J. Clin. Invest. 96(1):334-42)；Mathelin, C.(2006) "*Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer*," Gynecol. Obstet. Fertil. 34(7-8):638-646；Tellez-Avila, F.I.等(2005) "*The Carcinoembryonic Antigen: Apropos Of An Old Friend*," Rev. Invest. Clin. 57(6):814-819)；**CEACAM5/CEACAM6** (Zheng, C.等(2011) "*A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity*," PLoS One 6(6):e21146, pp. 1-11)；**CO17-1A** (Ragnhammar等(1993) *"Effect Of Monoclonal Antibody 17-1A And GM-CSF In Patients With Advanced Colorectal Carcinoma - Long-Lasting, Complete Remissions Can Be Induced,"* Int. J. Cancer 53:751-758)；**CO-43** (血型Le^b)；**CO-514** (血型Le^a)，如在腺癌中發現的；**CTA-1**；**CTLA-4** (Peggs, K.S.等(2006) "*Principles And Use Of*

Anti-CTLA4 Antibody In Human Cancer Immunotherapy," Curr. Opin. Immunol. 18(2):206-13)；**細胞角蛋白8** (PCT公開號WO 03/024191)；**D1.1**；**$D_1$56-22**；**DR5** (Abdulghani, J.等(2010) "*TRAIL Receptor Signaling And Therapeutics*," Expert Opin. Ther. Targets 14(10):1091-1108；Andera, L. (2009) "*Signaling Activated By The Death Receptors Of The TNFR Family*," Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub. 153(3):173-180；Carlo-Stella, C.等(2007) "*Targeting TRAIL Agonistic Receptors for Cancer Therapy*," Clin, Cancer 13(8):2313-2317；Chaudhari, B.R. 等 (2006) "*Following the TRAIL to Apoptosis*," Immunologic Res. 35(3):249-262)；**E_1系列** (血型B)，如在胰腺癌中發現的；**EGFR** (表皮生長因數；Adenis, A.等(2003) "*Inhibitors Of Epidermal Growth Factor Receptor And Colorectal Cancer*," Bull. Cancer. 90 Spec No:S228-S232)；**肝配蛋白受體**(尤其是**EphA2** (美國專利號7,569,672；PCT公開號WO 06/084226)；**Erb** (ErbB1；ErbB3；ErbB4；Zhou, H.等(2002) "*Lung Tumorigenesis Associated With Erb-B-2 And Erb-B-3 Overexpression In Human Erb-B-3 Transgenic Mice Is Enhanced By Methylnitrosourea*," *Oncogene* 21(57):8732-8740；Rimon, E. 等 (2004) "*Gonadotropin-Induced Gene Regulation In Human Granulosa Cells Obtained From IVF Patients: Modulation Of Genes Coding For Growth Factors And Their Receptors And Genes Involved In Cancer And Other Diseases*," Int. J. Oncol. 24(5):1325-1338)；**GAGE** (GAGE-1；GAGE-2；Akcakanat, A. 等 (2006) "*Heterogeneous Expression Of GAGE, NY-ESO-1, MAGE-A and SSX Proteins In Esophageal Cancer: Implications For Immunotherapy*," Int. J. Cancer. 118(1):123-128)；**GD2/GD3/GM2** (Livingston, P.O.等(2005) "*Selection Of GM2,*

Fucosyl GM1, Globo H And Polysialic Acid As Targets On Small Cell Lung Cancers For Antibody-Mediated Immunotherapy," Cancer Immunol. Immunother. 54(10):1018-1025)；**神經節苷脂GD2** (G_{D2}；Saleh等(1993) *"Generation Of A Human Anti-Idiotypic Antibody That Mimics The GD2 Antigen,"* J. Immunol., 151, 3390-3398)；**神經節苷脂GD3** (G_{D3}；Shitara等(1993) *"A Mouse/Human Chimeric Anti-(Ganglioside GD3) Antibody With Enhanced Antitumor Activities,"* Cancer Immunol. Immunother. 36:373-380)；**神經節苷脂GM2** (G_{M2}；Livingston等(1994) *"Improved Survival In Stage III Melanoma Patients With GM2 Antibodies: A Randomized Trial Of Adjuvant Vaccination With GM2 Ganglioside,"* J. Clin. Oncol. 12:1036-1044)；**神經節苷脂GM3** (G_{M3}；Hoon等(1993) *"Molecular Cloning Of A Human Monoclonal Antibody Reactive To Ganglioside GM3 Antigen On Human Cancers,"* Cancer Res. 53:5244-5250)；**GICA 19-9** (Herlyn等(1982) *"Monoclonal Antibody Detection Of A Circulating Tumor-Associated Antigen. I. Presence Of Antigen In Sera Of Patients With Colorectal, Gastric, And Pancreatic Carcinoma,"* J. Clin. Immunol. 2:135-140)；**gp100** (Lotem, M.等(2006) "*Presentation Of Tumor Antigens By Dendritic Cells Genetically Modified With Viral And Nonviral Vectors*," J. Immunother. 29(6):616-27)；**Gp37** (人白血病T細胞抗原；Bhattacharya-Chatterjee等(1988) *"Idiotype Vaccines Against Human T Cell Leukemia. II. Generation And Characterization Of A Monoclonal Idiotype Cascade (Ab1, Ab2, and Ab3),"* J. Immunol. 141:1398-1403)；**gp75** (黑色素瘤抗原；Vijayasardahl等(1990) *"The Melanoma Antigen Gp75 Is The Human Homologue Of The Mouse B (Brown) Locus Gene Product,"* J. Exp. Med. 171(4):1375-1380)；**gpA33** (Heath, J.K.等(1997) "*The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The*

Immunoglobulin Superfamily," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474；Ritter, G.等(1997) "*Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium*," Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686；Wong, N.A.等(2006) "*EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia*," J. Clin. Pathol. 59(3):260-263)；Almqvist, Y. (2006) "*In vitro and in vivo Characterization of 177Lu-huA33: A Radioimmunoconjugate Against Colorectal Cancer*," Nucl. Med. Biol. 33(8):991-998)；**HER2抗原**(HER2/neu, $p185^{HER2}$；Pal, S.K.等(2006) "*Targeting HER2 Epitopes*," Semin. Oncol. 33(4):386-391)；**HMFG** (人乳脂肪球抗原；WO1995015171)；**人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7** (DiMaio, D.等(2006) "*Human Papillomaviruses And Cervical Cancer*," Adv. Virus Res. 66:125-59；**HMW-MAA** (高分子量黑色素瘤抗原；Natali等(1987) *"Immunohistochemical Detection Of Antigen In Human Primary And Metastatic Melanomas By The Monoclonal Antibody 140.240 And Its Possible Prognostic Significance,"* Cancer 59:55-63；Mittelman等(1990) *"Active Specific Immunotherapy In Patients With Melanoma. A Clinical Trial With Mouse Antiidiotypic Monoclonal Antibodies Elicited With Syngeneic Anti-High-Molecular-Weight-Melanoma-Associated Antigen Monoclonal Antibodies,"* J. Clin. Invest. 86:2136-2144)；**I抗原** (分化抗原；Feizi (1985) *"Demonstration By Monoclonal Antibodies That Carbohydrate Structures Of Glycoproteins And Glycolipids Are Onco-Developmental Antigens,"* Nature 314:53-57)；**IL13Rα2** (PCT公開號WO 2008/146911；Brown, C.E.等(2013) "*Glioma IL13Rα2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis*," PLoS One. 18;8(10):e77769；Barderas, R.等(2012) "*High*

Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis," Cancer Res. 72(11):2780-2790；Kasaian, M.T.等(2011) "*IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13Rα2*," J. Immunol. 187(1):561-569；Bozinov, O.等(2010) "*Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13Ralpha2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas*," Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621；Fujisawa, T.等(2009) "*A novel role of Interleukin-13 receptor alpha2 in pancreatic cancer invasion and metastasis*," Cancer Res. 69(22):8678-8685)；**整聯蛋白β6** (PCT公開號WO 03/087340)；**JAM-3** (PCT公開號WO 06/084078)；**KID3** (PCT公開號WO 05/028498)；**KID31** (PCT公開號WO 06/076584)；**KS 1/4 泛癌抗原** (Perez等(1989) *"Isolation And Characterization Of A cDNA Encoding The Ks1/4 Epithelial Carcinoma Marker,"* J. Immunol. 142:3662-3667；Möller 等 (1991) *"Bis-pecific-Monoclonal-Antibody-Directed Lysis Of Ovarian Carcinoma Cells By Activated Human T Lymphocytes,"* Cancer Immunol. Immunother. 33(4):210-216；Ragupathi, G. 2005 *Cancer Treat Res.* 123:157-80)；**L6**和**L20** (人肺癌抗原；Hellström等(1986) *"Monoclonal Mouse Antibodies Raised Against Human Lung Carcinoma,"* Cancer Res. 46:3917-3923)；**LEA**；**LUCA-2** (美國專利公開號2006/0172349；PCT公開號WO 06/083852)；**M1:22:25:8**；**M18**；**M39**；**MAGE** (MAGE-1；MAGE-3；(Bodey, B. (2002) "*Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy*," Expert Opin. Biol. Ther. 2(6):577-584)；**MART** (Kounalakis, N.等(2005) "*Tumor Cell And Circulating Markers In Melanoma: Diagnosis, Prognosis, And Management*," Curr. Oncol. Rep.

7(5):377-382；**間皮素** (Chang, K.等(1996) "*Molecular Cloning Of Mesothelin, A Differentiation Antigen Present On Mesothelium, Mesotheliomas, And Ovarian Cancers*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 93:136-140)；**MUC-1** (Mathelin, C. (2006) "*Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer*," Gynecol. Obstet. Fertil. 34(7-8):638-646)；**MUM-1** (Castelli, C. 等 (2000) "*T-Cell Recognition Of Melanoma-Associated Antigens*," J. Cell. Physiol. 182(3):323-331)；**Myl**；**N-乙醯葡糖胺基轉移酶**(Dennis, J.W. (1999) "*Glycoprotein Glycosylation And Cancer Progression*," Biochim. Biophys. Acta. 6;1473(1):21-34)；**擬糖蛋白**；**NS-10**，如在腺癌中發現的；**OFA-1**；**OFA-2**；**制瘤素M**(制瘤素受體β；美國專利號7,572,896；PCT公開號WO 06/084092)；**p15** (Gil, J. 等 (2006) "*Regulation Of The INK4b-ARF-INK4a Tumour Suppressor Locus: All For One Or One For All*," Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 7(9):667-677)；**p97** (黑色素瘤相關抗原；Estin等(1989) "*Transfected Mouse Melanoma Lines That Express Various Levels Of Human Melanoma-Associated Antigen p97,*" J. Natl. Cancer Instit. 81(6):445-454)；**PEM**(多態性上皮粘蛋白；Hilkens等(1992) "*Cell Membrane-Associated Mucins And Their Adhesion-Modulating Property,*" Trends in Biochem. Sci. 17:359-363)；**PEMA (多態性上皮粘蛋白抗原)**；**PIPA** (美國專利號7,405,061；PCT公開號WO 04/043239)；**PSA** (前列腺特異性抗原；Henttu等(1989) "*cDNA Coding For The Entire Human Prostate Specific Antigen Shows High Homologies To The Human Tissue Kallikrein Genes,*" Biochem. Biophys. Res. Comm. 10(2):903-910；Israeli等(1993) "*Molecular Cloning Of A Complementary DNA Encoding A Prostate-Specific Membrane Antigen,*" Cancer Res. 53:227-230；Cracco, C.M.等(2005) "*Immune*

Response In Prostate Cancer," Minerva Urol. Nefrol. 57(4):301-311)；**PSMA** (前列腺特異性膜抗原；Ragupathi, G. (2005) "*Antibody Inducing Polyvalent Cancer Vaccines*," Cancer Treat. Res. 123:157-180)；**前列腺酸磷酸鹽** (Tailor等(1990) *"Nucleotide Sequence Of Human Prostatic Acid Phosphatase Determined From A Full-Length cDNA Clone,"* Nucl. Acids Res. 18(16):4928)；**R_{24}**，如在黑色素瘤中發現的；**ROR1** (美國專利號5,843,749)；**鞘脂類**；**SSEA-1**；**SSEA-3**；**SSEA-4**；**sTn** (Holmberg, L.A. (2001) "*Theratope Vaccine (STn-KLH)*," Expert Opin. Biol. Ther. 1(5):881-91)；來自皮膚T細胞淋巴瘤的**T-細胞受體衍生肽**(參見Edelson (1998) *"Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Model For Selective Immunotherapy,"* Cancer J. Sci. Am. 4:62-71)；**T_5A_7**，發現於骨髓細胞；**TAG-72** (Yokota等(1992) *"Rapid Tumor Penetration Of A Single-Chain Fv And Comparison With Other Immunoglobulin Forms,"* Cancer Res. 52:3402-3408)；**TL5** (血型A)；**TNF-受體** (TNF-α受體，TNF-ß受體；**TNF-γ 受體** (van Horssen, R.等(2006) "*TNF-Alpha In Cancer Treatment: Molecular Insights, Antitumor Effects, And Clinical Utility*," Oncologist 11(4):397-408；Gardnerova, M.等(2000) "*The Use Of TNF Family Ligands And Receptors And Agents Which Modify Their Interaction As Therapeutic Agents*," Curr. Drug Targets 1(4):327-364)；**TRA-1-85** (血型H)；**轉鐵蛋白受體** (美國專利號7,572,895；PCT公開號WO 05/121179)；**5T4** (TPBG，滋養層糖蛋白；Boghaert, E.R.等(2008) "*The Oncofetal Protein,* 5T4*, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin*," Int. J. Oncol. 32(1):221-234；Eisen, T.等(2014) "*Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin*," Curr. Oncol. Rep. 16:370, pp. 1-6)；**TSTA (腫瘤特異性移植抗原)** 諸

如病毒誘導的腫瘤抗原，其包括DNA腫瘤病毒的T-抗原和RNA腫瘤病毒的包被抗原，癌胚抗原-α-胎蛋白，諸如結腸的CEA、膀胱腫瘤癌胚抗原(Hellström等(1985) *"Monoclonal Antibodies To Cell Surface Antigens Shared By Chemically Induced Mouse Bladder Carcinomas,"* Cancer. Res. 45:2210-2188)；**VEGF** (Pietrantonio, F.等(2015) "*Bevacizumab-Based Neoadjuvant Chemotherapy For Colorectal Cancer Liver Metastases: Pitfalls And Helpful Tricks In A Review For Clinicians*," Crit. Rev. Oncol. Hematol. 95(3):272-281；Grabowski, J.P. (2015) "*Current Management Of Ovarian Cancer*," Minerva Med. 106(3):151-156；Field, K.M. (2015) "*Bevacizumab And Glioblastoma: Scientific Review, Newly Reported Updates, And Ongoing Controversies*," Cancer 121(7):997-1007；Suh, D.H.等(2015) "*Major Clinical Research Advances In Gynecologic Cancer In 2014*," J. Gynecol. Oncol. 26(2):156-167；Liu, K.J.等(2015) "*Bevacizumab In Combination With Anticancer Drugs For Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer*," Tumour Biol. 36(3):1323-1327；Di Bartolomeo, M.等(2015) "*Bevacizumab Treatment In The Elderly Patient With Metastatic Colorectal Cancer*," Clin. Interv. Aging 10:127-133)；**VEGF**受體 (O'Dwyer. P.J. (2006) "*The Present And Future Of Angiogenesis-Directed Treatments Of Colorectal Cancer*," Oncologist 11(9):992-998)；**VEP8**；**VEP9**；**VIM-D5**；和**Y半抗原**，**Le^{y}**，如在胚胎癌細胞中發現的。癌抗原和結合它們的分子(例如，抗體)被公開在**表7**中。5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD123、DR5、EGFR、肝配蛋白受體、gpA33、HER2/neu、IL13Rα2、ROR1和VEGF是本發明特別優選的"**癌抗原**"。

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
3F8	Gd2	成神經細胞瘤
8H9	B7-H3	成神經細胞瘤、肉瘤、轉移性腦癌
阿巴伏單抗 (Abagovomab)	CA-125	卵巢癌
阿德木單抗 (Adecatumumab)	Epcam	前列腺癌和乳腺癌
阿托珠單抗 (Afutuzumab)	CD20	淋巴瘤
阿賽珠單抗 (Alacizumab)	VEGFR2	癌症
阿妥莫單抗 (Altumomab)	CEA	結直腸癌
阿麥妥昔 (Amatuximab)	間皮素	癌症
麻安莫單抗 (Anatumomab Mafenatox)	TAG-72	非小細胞肺癌
阿尼魯單抗 (Anifrolumab)	幹擾素A/B受體	系統性紅斑狼瘡
安蘆珠單抗 (Anrukinzumab)	IL-13	癌症
阿泊珠單抗 (Apolizumab)	HLA-DR	血液癌症
阿西莫單抗 (Arcitumomab)	CEA	胃腸癌症
阿提努單抗 (Atinumab)	RTN4	癌症
貝妥莫單抗 (Bectumomab)	CD22	非霍奇金淋巴瘤(檢測)
貝利木單抗 (Belimumab)	BAFF	非霍奇金淋巴瘤
貝伐珠單抗 (Bevacizumab)	VEGF-A	轉移癌，早產兒視網膜病
比伐珠單抗 (Bivatuzumab)	CD44 V6	鱗狀細胞癌
博納吐單抗 (Blinatumomab)	CD19	癌症
布侖妥昔單抗 (Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	血液癌症
坎妥珠單抗 (Cantuzumab)	MUC1	癌症
莫坎妥珠單抗 (Cantuzumab Mertansine)	黏蛋白Canag	結直腸癌
卡普賽珠單抗 (Caplacizumab)	VWF	癌症

表7 抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
卡羅單抗 (Capromab)	前列腺癌細胞	前列腺癌(檢測)
卡蘆單抗 (Carlumab)	MCP-1	腫瘤學/免疫指征
卡妥索單抗 (Catumaxomab)	Epcam、CD3	卵巢癌、惡性腹水、胃癌
Cc49	標籤-72	腫瘤檢測
西妥昔單抗 (Cetuximab)	EGFR	轉移性結直腸癌和頭頸癌
Ch.14.18	未確定的	成神經細胞瘤
西他土珠單抗 (Citatuzumab)	Epcam	卵巢癌和其他實體腫瘤
西妥木單抗 (Cixutumumab)	IGF-1受體	實體腫瘤
克立瓦妥珠單抗 (Clivatuzumab)	MUC1	胰腺癌
可那木單抗 (Conatumumab)	TRAIL-R2	癌症
達西珠單抗 (Dacetuzumab)	CD40	血液癌症
達洛珠單抗 (Dalotuzumab)	胰島素樣生長因數I受體	癌症
達雷木單抗 (Daratumumab)	CD38	癌症
登西珠單抗 (Demcizumab)	DLL4	癌症
地莫單抗 (Detumomab)	B-淋巴瘤細胞	淋巴瘤
卓齊妥單抗 (Drozitumab)	DR5	癌症
度利戈妥單抗 (Duligotumab)	HER3	癌症
杜氏圖單抗 (Dusigitumab)	ILGF2	癌症
依美昔單抗 (Ecromeximab)	GD3神經節苷脂	惡性黑素瘤
依庫珠單抗 (Eculizumab)	C5	陣發性睡眠性血紅蛋白尿症
依決洛單抗 (Edrecolomab)	Epcam	結直腸癌
依洛珠單抗 (Elotuzumab)	SLAMF7	多發性骨髓瘤
艾西莫單抗 (Elsilimomab)	IL-6	癌症

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
依納妥珠單抗(Enavatuzumab)	TWEAK受體	癌症
恩莫單抗(Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	癌症
依諾吉珠單抗(Enokizumab)	IL9	哮喘
依諾蘇單抗(Enoticumab)	DLL4	癌症
恩司昔單抗(Ensituximab)	5AC	癌症
西依匹莫單抗(Epitumomab Cituxetan)	上皮唾蛋白(Episialin)	癌症
依帕珠單抗(Epratuzumab)	CD22	癌症、SLE
厄馬索單抗(Ertumaxomab)	HER2/Neu，CD3	乳腺癌
艾達珠單抗(Etaracizumab)	整聯蛋白$A_v\beta_3$	黑素瘤、前列腺癌症、卵巢癌
法拉莫單抗(Faralimomab)	幹擾素受體	癌症
法勒珠單抗(Farletuzumab)	葉酸鹽受體1	卵巢癌
法西努單抗(Fasinumab)	HNGF	癌症
Fbta05	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
菲拉妥珠單抗(Ficlatuzumab)	HGF	癌症
芬妥木單抗(Figitumumab)	IGF-1受體	腎上腺皮質癌、非小細胞肺癌
夫蘭妥單抗(Flanvotumab)	TYRP1(糖蛋白75)	黑素瘤
芳妥珠單抗(Fontolizumab)	IFN-γ	克羅恩氏病
瑞索利木單抗(Fresolimumab)	TGF-B	特發性肺纖維化、局灶性節段性腎小球硬化症、癌症
伏妥昔單抗(Futuximab)	EGFR	癌症
加利昔單抗(Galiximab)	CD80	B細胞淋巴瘤
甘尼妥單抗(Ganitumab)	IGF-I	癌症
吉妥珠單抗-奧佐米星(Gemtuzumab	CD33	急性骨髓性白血病

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
Ozogamicin)		
吉伏珠單抗 (Gevokizumab)	IL-1β	糖尿病
吉瑞昔單抗 (Girentuximab)	碳酸酐酶9 (CA-IX)	透明細胞腎細胞癌
格萊木單抗-維多汀 (Glembatumumab Vedotin)	GPNMB	黑素瘤、乳腺癌
戈利木單抗 (Golimumab)	TNF-A	風濕性關節炎、牛皮癬關節炎、關節強硬性脊椎炎
替伊莫單抗 (Ibritumomab Tiuxetan)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
艾盧蘇單抗 (Icrucumab)	VEGFR-1	癌症
伊戈伏單抗 (Igovomab)	CA-125	卵巢癌(診斷)
Imab362	Cldn18.2	胃腸腺癌和胰臟腫瘤
英加妥珠單抗 (Imgatuzumab)	EGFR	癌症
英拉蘇單抗 (Inclacumab)	選擇素P	癌症
拉-英達西單抗 (Indatuximab Ravtansine)	SDC1	癌症
伊珠單抗-奧佐米星(Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	癌症
英妥木單抗 (Intetumumab)	CD51	實體腫瘤(前列腺癌症、黑素瘤)
伊匹木單抗 (Ipilimumab)	CD152	黑素瘤
伊妥木單抗 (Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	霍奇金淋巴瘤
伊曲珠單抗 (Itolizumab)	CD6	癌症
拉貝珠單抗 (Labetuzumab)	CEA	結直腸癌
蘭羅利珠單抗 (Lambrolizumab)	PDCD1	抗腫瘤劑
蘭帕利珠單抗 (Lampalizumab)	CFD	癌症
來沙木單抗	TRAIL-R2	癌症

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Lexatumumab)		
利韋單抗 (Libivirumab)	乙型肝炎表面抗原	乙型肝炎
利格利珠單抗 (Ligelizumab)	IGHE	癌症
林妥珠單抗 (Lintuzumab)	CD33	癌症
利瑞魯單抗 (Lirilumab)	KIR2D	癌症
洛妥珠單抗 (Lorvotuzumab)	CD56	癌症
魯卡木單抗 (Lucatumumab)	CD40	多發性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤
魯昔單抗 (Lumiliximab)	CD23	慢性淋巴細胞性白血病
馬帕木單抗 (Mapatumumab)	TRAIL-R1	癌症
瑪格妥昔單抗 (Margetuximab)	Ch4d5	癌症
馬妥珠單抗 (Matuzumab)	EGFR	結直腸癌、肺癌和胃癌
米拉珠單抗 (Milatuzumab)	CD74	多發性骨髓瘤和其他血液學惡性腫瘤
明瑞莫單抗 (Minretumomab)	TAG-72	癌症
米妥莫單抗 (Mitumomab)	GD3神經節苷脂	小細胞肺癌
莫加珠單抗 (Mogamulizumab)	CCR4	癌症
莫羅木單抗 (Morolimumab)	獼猴因數	癌症
帕蘇托-莫塞妥莫單抗 (Moxetumomab Pasudotox)	CD22	癌症
他那可單抗 (Nacolomab Tafenatox)	C242抗原	結直腸癌
奈米布單抗 (Namilumab)	CSF2	癌症
他那莫單抗 (Naptumomab Estafenatox)	5T4	非小細胞肺癌、腎細胞癌
納那妥單抗	RON	癌症

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Narnatumab)		
奈巴庫單抗 (Nebacumab)	內毒素	敗血症
奈昔木單抗 (Necitumumab)	EGFR	非小細胞肺癌
奈瑞莫單抗 (Nerelimomab)	TNF-A	癌症
耐斯伐庫單抗 (Nesvacumab)	血管生成素2	癌症
尼妥珠單抗 (Nimotuzumab)	EGFR	鱗狀細胞癌、頭頸癌、鼻咽癌、神經膠質瘤
尼魯單抗 (Nivolumab)	PD-1	癌症
莫坦-諾非妥莫單抗(Nofetumomab Merpentan)	未確定的	癌症
奧卡拉妥珠單抗 (Ocaratuzumab)	CD20	癌症
奧法妥木單抗 (Ofatumumab)	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
奧拉妥單抗 (Olaratumab)	PDGF-R A	癌症
奧洛珠單抗 (Olokizumab)	IL6	癌症
奧納妥珠單抗 (Onartuzumab)	人散射因數受體激酶	癌症
昂妥昔珠單抗 (Ontuxizumab)	TEM1	癌症
莫-奧珠單抗 (Oportuzumab monatox)	Epcam	癌症
奧戈伏單抗 (Oregovomab)	CA-125	卵巢癌
奧替庫單抗 (Orticumab)	Oxldl	癌症
奧樂妥珠單抗 (Otlertuzumab)	CD37	癌症
帕尼單抗 (Panitumumab)	EGFR	結直腸癌
帕尼庫單抗 (Pankomab)	MUC1的腫瘤特異性糖基化	卵巢癌
巴薩妥珠單抗 (Parsatuzumab)	EGFL7	癌症
帕曲妥單抗	HER3	癌症

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Patritumab)		
派姆單抗 (Pembrolizumab)	PD-1	癌症
培妥莫單抗 (Pemtumomab)	MUC1	癌症
培拉珠單抗 (Perakizumab)	IL17A	關節炎
帕妥株單抗 (Pertuzumab)	HER2/Neu	癌症
皮地珠單抗 (Pidilizumab)	PD-1	癌症和傳染病
皮那妥珠單抗-維多汀(Pinatuzumab Vedotin)	CD22	癌症
平妥莫單抗 (Pintumomab)	腺癌抗原	腺癌
普拉庫魯單抗 (Placulumab)	人TNF	癌症
泊拉妥珠單抗-維多汀(Polatuzumab Vedotin)	CD79B	癌症
普立托昔單抗 (Pritoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
普立妥木單抗 (Pritumumab)	波形蛋白	腦癌
奎利珠單抗 (Quilizumab)	IGHE	癌症
雷妥莫單抗 (Racotumomab)	N-羥乙醯神經氨糖酸 (N-Glycolylneuraminic Acid)	癌症
雷得妥單抗 (Radretumab)	纖連蛋白額外結構域-B	癌症
雷莫蘆單抗 (Ramucirumab)	VEGFR2	實體腫瘤
利妥木單抗 (Rilotumumab)	HGF	實體腫瘤
利妥昔單抗 (Rituximab)	CD20	淋巴瘤、白血病(Leukemias)、一些自身免疫性病症
羅妥木單抗 (Robatumumab)	IGF-1受體	癌症
羅度單抗 (Roledumab)	RHD	癌症
沙馬珠單抗 (Samalizumab)	CD200	癌症

表7
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
沙妥莫單抗噴地肽(Satumomab Pendetide)	TAG-72	癌症
司裡班妥單抗(Seribantumab)	ERBB3	癌症
司托昔抗(Setoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
Sgn-CD19a	CD19	急性成淋巴細胞性白血病和B細胞非-霍奇金淋巴瘤
Sgn-CD33a	CD33	急性髓細胞樣白血病
西羅珠單抗(Sibrotuzumab)	FAP	癌症
司妥昔單抗(Siltuximab)	IL-6	癌症
索利托單抗(Solitomab)	Epcam	癌症
松妥珠單抗(Sontuzumab)	上皮唾蛋白	癌症
他巴魯單抗(Tabalumab)	BAFF	B細胞癌
替他珠單抗(Tacatuzumab Tetraxetan)	甲胎蛋白	癌症
帕-他莫單抗(Taplitumomab Paptox)	CD19	癌症
替莫單抗(Telimomab)	未確定的	癌症
替妥莫單抗(Tenatumomab)	生腱蛋白C	癌症
替奈昔單抗(Teneliximab)	CD40	癌症
替妥木單抗(Teprotumumab)	CD221	血液腫瘤
替昔木單抗(Ticilimumab)	CTLA-4	癌症
替加珠單抗(Tigatuzumab)	TRAIL-R2	癌症
Tnx-650	Il-13	霍奇金淋巴瘤
托西莫單抗(Tositumomab)	CD20	濾泡淋巴瘤
托維妥單抗(Tovetumab)	CD140a	癌症
曲妥珠單抗	HER2/Neu	乳腺癌

表7 抗體和基於抗體的分子		
抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Trastuzumab)		
Trbs07	Gd2	黑素瘤
曲美木單抗 (Tremelimumab)	CTLA-4	癌症
西莫白介素單抗 (Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	癌症
優利妥昔單抗 (Ublituximab)	MS4A1	癌症
烏瑞魯單抗 (Urelumab)	4-1BB	癌症
萬替妥單抗 (Vantictumab)	捲曲受體(Frizzled Receptor)	癌症
伐利昔單抗 (Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	癌症
伐特珠單抗 (Vatelizumab)	ITGA2	癌症
維妥珠單抗 (Veltuzumab)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
維森庫單抗 (Vesencumab)	NRP1	癌症
伏洛昔單抗 (Volociximab)	整聯蛋白A5β1	實體腫瘤
伏司妥珠單抗 (Vorsetuzumab)	CD70	癌症
伏妥昔單抗 (Votumumab)	腫瘤抗原CTAA16.88	結直腸腫瘤
紮蘆木單抗 (Zalutumumab)	EGFR	頭頸的鱗狀細胞癌
紮妥昔單抗 (Zatuximab)	HER1	癌症
齊拉木單抗 (Ziralimumab)	CD147	癌症

【0270】 表7列出了示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建本發明的能夠結合排列在癌症細胞表面上的癌抗原並且介導這種癌症細胞的重定向殺傷的結合分子，下面提供了可用於構建能夠結合排列在癌症細胞表面上的癌抗原並且介導這種癌症細胞的重定向殺傷的分子的另外抗體。

1. 示例性抗B7-H3抗體

【0271】 **B7-H3**是在各種實體腫瘤類型上過表達的癌抗原並且是涉及免疫調節的分子的B7家族的成員(參見美國專利號8,802,091；US 2014/0328750；US 2013/0149236；Loo, D.等(2012) "*Development Of An Fc-Enhanced Anti-B7-H3 Monoclonal Antibody With Potent Antitumor Activity*," Clin. Cancer Res. 18(14):3834-3845)。具體地，數個獨立的研究已經顯示人惡性癌症細胞(例如，成神經細胞瘤以及胃癌、卵巢癌、胰腺癌和非小細胞肺癌的癌症細胞)展示B7-H3蛋白表達的顯著增加以及該增加的表達與增加的疾病嚴重性相關(Zang, X.等(2007) "*The B7 Family And Cancer Therapy: Costimulation And Coinhibition*," Clin. Cancer Res. 13:5271-5279)，表明B7-H3被腫瘤利用為免疫逃逸路徑(Hofmeyer, K.等(2008) "*The Contrasting Role Of B7-H3*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 105(30):10277-10278)。

【0272】 B7-H3也已經被發現共同刺激CD4+和CD8+ T細胞增殖。B7-H3也刺激IFN-γ產生和CD8+溶解活性(Chapoval, A.等(2001) "*B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN-γ Production*," Nature Immunol. 2:269–274；Sharpe, A.H.等(2002) "*The B7-CD28 Superfamily*," Nature Rev. Immunol. 2:116-126)。然而，該蛋白也可能通過NFAT(啟動的T細胞的核因數)、NF-κB(核因數κB)、和AP-1(啟動蛋白-1)因數作用以抑制T細胞啟動(Yi. K.H.等(2009) "Fine *Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4*," Immunol. Rev. 229:145-151)。B7-H3也被認為體內抑制Th1、Th2或Th17(Prasad, D.V.等(2004) "*Murine B7–H3 Is A Negative Regulator Of T Cells*," J. Immunol. 173:2500-2506；Fukushima, A.等(2007) "*B7–H3 Regulates The Development Of Experimental Allergic Conjunctivitis In Mice*," Immunol. Lett. 113:52-57；Yi. K.H.

等(2009) "Fine *Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4*," Immunol. Rev. 229:145-151)。

【0273】 優選的B7-H3-結合分子具有人源化抗人B7-H3單克隆抗體"**B7-H3 mAb-B**"、"**B7-H3 mAb-C**"、"**B7-H3 mAb-D**"或任一種本文提供的抗B7-H3抗體的VL和/或VH結構域，並且更優選地具有這種抗B7-H3單克隆抗體的VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

【0274】 在人源化後，抗體**B7-H3 mAb-B**產生兩個變體VH結構域：**B7-H3 mAb-B VH1**和**B7-H3 mAb-B VH2**；和兩個變體VL結構域：**B7-H3 mAb-B VL1**和**B7-H3 mAb-B VL2**，其可以以VH/VL結構域的任何組合來產生功能性的B7-H3結合結構域。

【0275】 **B7-H3 mAb-B VH1**的VH結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:122** (CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SYWMQ**WVRQA PGQGLEWMG**T**
IYPGDGDTRY **TQKFKG**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**RG**
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

【0276】 **B7-H3 mAb-B VH2**的VH結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:123** (CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SYWMQ**WVRQA PGQGLEWMG**T**
IYPGGGDTRY **TQKFQG**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**RG**
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

【0277】 **B7-H3 mAb-B VL1**的VL結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:124** (CDR_L殘基用底線顯示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQDIS** **NYLN**WYQQKP GKAPKLLIY**Y**
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYC**QQ** **GNTLPPT**FGG
GTKLEIK

【0278】 **B7-H3 mAb-B VL2**的VL結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:125** (CDR$_L$殘基用底線顯示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQSIS SYLN**WYQQKP GKAPKLLIY**Y TSRLQS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYC**QQ GNTLPPT**FGG GTKLEIK

【0279】 人源化**B7-H3 mAb-C**的VH結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:126** (CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS **SYGMS**WVRQA PGKGLEWVA**T INSGGSNTYY PDSLKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**HD GGAMDY**WGQG TTVTVSS

【0280】 人源化**B7-H3 mAb-C**的VL結構域的氨基酸序列是**SEQ ID NO:127** (CDR$_L$殘基用底線顯示)。

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASESIY SYLA**WYQQKP GKAPKLLVY**N TKTLPE**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QH HYGTPPWT**FG QGTRLEIK

【0281】 **B7-H3 mAb-D**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:128**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)。

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SFGMH**WVRQA PGKGLEWVA**Y ISSGSGTIYY ADTVKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**HG YRYEGFDY**WG QGTTVTVSS

【0282】 **B7-H3 mAb-D**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:129**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)。

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITC**KASQNVD TNVA**WYQQKP GKAPKALIY**S ASYRYS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFAEYFC**QQ YNNYPFT**FGQ GTKLEIK

【0283】 特別優選的是具有人源化VH和/或VL結構域的B7-H3-結合分子，其包括但不限於“恩比利珠單抗(Enoblituzumab)” (也被稱為MGA271；CAS登錄號1353485-38-7)。恩比利珠單抗是結合至HER2/neu並且介導提高的ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。恩比利珠單抗的完整的重鏈和輕鏈的氨基酸序列

在本領域是已知的(參見，例如，WHO Drug Information, 2017推薦的INN:列表77, 31(1):49)。恩比利珠單抗的VH結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:130**) (CDR_H被標以底線)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SFGMH**WVRQA PGKGLEWVA**Y ISSDSSAIYY ADTVKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGR**GR ENIYYGSRLD Y**WGQGTTVTV SS

恩比利珠單抗的VL結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:131**) (CDR_L被標以底線)：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITC**KASQNVD TNVA**WYQQKP GKAPKALIY**S ASYRYS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YNNYPFT**FGQ GTKLEIK

【0284】 除了上面所鑒定的優選抗B7-H3結合分子，本發明還考慮使用下列抗B7-H3結合分子中的任一種：**LUCA1**；**BLA8**；**PA20**；**或SKN2** (參見美國專利號7,527,969；8,779,098和PCT公開號WO 2004/001381)；**M30**；**cM30**；**M30-H1-L1**；**M30-H1-L2**；**M30-H1-L3**；**M30-H1-L4**；**M30-H1-L5**；**M30-H1-L6**；**M30-H1-L7**；**M30-H4-L1**；**M30-H4-L2**；**M30-H4-L3**；**和M30-H4-L4** (參見美國專利公開號2013/0078234和PCT公開號WO 2012/147713)；和**8H9** (參見美國專利號7,666,424；7,737,258；7,740,845；8,148,154；8,414,892；8,501,471；9,062,110；美國專利公開號2010/0143245和PCT公開號WO 2008/116219)。

2. 示例性抗CEACAM5和抗CEACAM6抗體

【0285】 癌胚抗原相關的細胞粘附分子5(CEACAM5)和細胞粘附分子6(CEACAM6)已經發現與各種類型的癌症相關，所述各種類型的癌症包括甲狀腺髓樣癌、結直腸癌、胰腺癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸癌、膀胱癌、前列腺癌、子宮癌、子宮內膜癌、乳腺癌、造血系統癌症、白血病和卵巢癌(PCT公開號WO 2011/034660)，以及特別地，結直腸癌、胃腸癌、胰腺癌、非小細胞

肺癌(NSCL)、乳腺癌、甲狀腺癌、胃癌、卵巢癌和子宮癌(Zheng, C.等(2011) "*A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity*," PLoS One 6(6):e21146, pp. 1-11)。

【0286】 CEACAM5已經發現在90%的胃腸癌、結直腸癌和胰腺癌、70%的非小細胞肺癌細胞和50%的乳腺癌中過表達(Thompson, J.A.等(1991) "*Carcinoembryonic Antigen Gene Family: Molecular Biology And Clinical Perspectives*," J. Clin. Lab. Anal. 5:344-366)。過表達的癌胚抗原相關的細胞粘附分子6 (CEACAM6)在各種人癌症的侵襲和轉移中起著重要作用，其包括甲狀腺髓樣癌、結直腸癌、胰腺癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸癌、膀胱癌、前列腺癌、子宮癌、子宮內膜癌、乳腺癌、造血系統癌症、白血病和卵巢癌(PCT公開號WO 2011/034660；Deng, X.等(2014) "*Expression Profiling Of CEACAM6 Associated With The Tumorigenesis And Progression In Gastric Adenocarcinoma*," Genet. Mol. Res. 13(3):7686-7697；Cameron, S.等(2012) "*Focal Overexpression Of CEACAM6 Contributes To Enhanced Tumourigenesis In Head And Neck Cancer Via Suppression Of Apoptosis*," Mol. Cancer 11:74, pp. 1-11；Chapin, C.等(2012) "*Distribution And Surfactant Association Of Carcinoembryonic Cell Adhesion Molecule 6 In Human Lung*," Amer. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 302(2):L216-L25；Riley, C.J.等(2009) "*Design And Activity Of A Murine And Humanized Anti-CEACAM6 Single-Chain Variable Fragment In The Treatment Of Pancreatic Cancer*," Cancer Res. 69(5):1933-1940；Lewis-Wambi, J.S.等(2008) "*Overexpression Of CEACAM6 Promotes Migration And Invasion Of*

Oestrogen-Deprived Breast Cancer Cells," Eur. J. Cancer 44(12):1770-1779；Blumenthal, R.D.等(2007) "*Expression Patterns Of CEACAM5 And CEACAM6 In Primary And Metastatic Cancers*," BMC Cancer. 7:2, pp. 1-15)。免疫特異性地結合CEACAM5和CEACAM6的抗體是可商購的(Santa Cruz Biotechnology, Inc.；Novus Biologicals LLC；Abnova Corporation)。

【0287】 人源化抗CEACAM5/抗CEACAM6抗體**16C3**(EP 2585476)的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:132**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLQQSGPE VVRPGVSVKI SCKGS**GYTFT DYAMH**WVKQS HAKSLEWIG**L ISTYSGDTKY NQNFKG**KATM TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**GD YSGSRYWFAY** WGQGTLVTVS S

【0288】 人源化抗CEACAM5/抗CEACAM6抗體**16C3**(EP 2585476)的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:133**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**GASENIY GALN**WYQRKP GKSPKLLIW**G ASNLAD**GMPS RFSGSGSGRQ YTLTISSLQP EDVATYY**CQN VLSSPYT**FGG GTKLEIK

【0289】 人源化抗CEACAM5/CEACAM6抗體**hMN15**(WO 2011/034660)的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:134**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SC**SSSGFALT DYYMS**WVRQA PGKGLEWLG**F IANKANGHTT DYSPSVKG**RF TISRDNSKNT LFLQMDSLRP EDTGVYFCAR **DMGIRWNFDV** WGQGTPVTVS S

【0290】 人源化抗CEACAM5/CEACAM6抗體**hMN15** (WO 2011/034660)的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:135**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQLTQSPSS LSASVGDRVT MTC**SASSRVS YIH**WYQQKPG KAPKRWIY**GT STLAS**GVPAR FSGSGSGTDF TFTISSLQPE DIATYYC**QQW SYNPPT**FGQG TKVEIKR

【0291】 本發明具體地包括並且涵蓋能夠結合至CEACAM5和/或CEACAM6的CEACAM5/CEACAM6結合分子(例如，CEACAM5/CEACAM6 x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這種結合分子，其包含抗CEACAM5/CEACAM6單克隆抗體**16C3**或**hMN15**的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

3. 示例性抗-EGRF抗體

【0292】 表皮生長因數受體(EGFR)是某些轉移性結直腸癌、轉移性非小細胞肺癌和頭頸癌的癌抗原。示例性的結合人EGRF的抗體是“**西妥昔單抗**”和“**帕尼單抗**”。西妥昔單抗是重組人-小鼠嵌合表皮生長因數受體(EGFR)IgG1單克隆抗體(Govindan R. (2004) “*Cetuximab In Advanced Non-Small Cell Lung Cancer*,” Clin. Cancer Res. 10(12 Pt 2):4241s-4244s；Bou-Assaly, W.等(2010) “*Cetuximab (Erbitux)*,” Am. J. Neuroradiol. 31(4):626-627)。帕尼單抗(Vectibix®，Amgen)是全人源化表皮生長因數受體(EGFR)IgG2單克隆抗體(Foon, K.A.等(2004) “*Preclinical And Clinical Evaluations Of ABX-EGF, A Fully Human Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody*,” Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 58(3):984-990；Yazdi, M.H.等(2015) “*A Comprehensive Review of Clinical Trials on EGFR Inhibitors Such as Cetuximab and Panitumumab as Monotherapy and in Combination for Treatment of Metastatic Colorectal Cancer*,” Avicenna J. Med. Biotechnol. 7(4):134-144)。

【0293】 嵌合抗-EGFR抗體**西妥昔單抗**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:136**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLKQSGPG LVQPSQSLSI TCTVS**GFSLT NYGVH**WVRQS PGKGLEWLG**V IWSGGNTDYN TPFTS**RLSIN KDNSKSQVFF KMNSLQSNDT AIYYCAR**ALT YYDYEFAY**WG QGTLVTVSA

【0294】 嵌合抗-EGFR抗體**西妥昔單抗**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:137**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DILLTQSPVI LSVSPGERVS FSC**RASQSIG TNIH**WYQQRT NGSPRLLIK**Y ASESIS**GIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYC**QQ NNNWPTT**FGA GTKLELKR

【0295】 帕尼單抗的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:138**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVS**GGSVS SGDYY**WTWIR QSPGKGLEWI G**HIYYSGNTN YNPSLKS**RLT ISIDTSKTQF SLKLSSVTAA DTAIYYCVR**D RVTGAFDI**WG QGTMVTVSS

【0296】 帕尼單抗的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:139**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**QASQDIS NYLN**WYQQKP GKAPKLLIY**D ASNLET**GVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYFC**QH FDHLPLA**FGG GTKVEIKR

【0297】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至EGFR的EGFR結合分子(例如，EGFR x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這種結合分子，其包含抗-EGFR單克隆抗體西妥昔單抗或帕尼單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。

4. 示例性抗-EphA2抗體

【0298】 受體酪氨酸激酶——肝配蛋白型-A受體2(**EphA2**)在成年人上皮組織中的細胞與細胞接觸位點正常表達，然而最近的研究已經表明它在各種類型的上皮癌中過表達，其中最大水準的EphA2表達在轉移病灶中被觀察到。EphA2的高表達水準已經在大範圍的癌症和許多癌細胞系中發現，其包括前列腺

癌、乳腺癌、非小細胞肺癌和黑色素瘤(Xu, J.等(2014) "*High EphA2 Protein Expression In Renal Cell Carcinoma Is Associated With A Poor Disease Outcome*," Oncol. Lett. Aug 2014; 8(2): 687-692；Miao, B.等(2014) "*EphA2 is a Mediator of Vemurafenib Resistance and a Novel Therapeutic Target in Melanoma*," Cancer Discov. pii: CD-14-0295)。EphA2並非似乎僅僅是癌症的標記物，而是似乎在許多人癌症中持續過表達並且功能上發生改變(Chen, P.等(2014) "*EphA2 Enhances The Proliferation And Invasion Ability Of LnCap Prostate Cancer Cells*," Oncol. Lett. 8(1):41-46)。示例性的結合人EphA2的抗體是"**EphA2 mAb 1**"、"**EphA2 mAb 2**"和"**EphA2 mAb 3**"。

【0299】 **EphA2 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:140**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLS **RYSVH**WVRQP PGKGLEWLG**M**
IWGGGSTDYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTDDT AMYYCAR**KHG**
NYYTMDYWGQ GTSVTVSS

【0300】 **EphA2 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:141**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQMTQTTSS LSASLGDRIT ISC**RASQDIS NYLN**WYQQKP DGTVKLLIY**Y**
TSRLHSGVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFC**QQ GYTLYT**FGGG
TKLEIK

【0301】 **EphA2 mAb 2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:142**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGFTFT **NYGMN**WVKQA PGKGLKWMG**W**
INTYIGEPTY ADDFKGRFVF SLETSASTAY LQINNLKNED MATYFCAR**EL**
GPYYFDYWGQ GTTLTVSS

【0302】 **EphA2 mAb 2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:143**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DVVMTQTPLS LPVSLGDQAS ISC**RSSQSLV HSSGNTYLH**W YLQKPGQSPK LLIY**KVSNRF S**GVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFC**SQSTHVP T**FGSGTKLEI K

【0303】 **EphA2 mAb 3**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:144**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG SVKPGGSLKL SCAASGFTFT **DHYMY**WVRQT PEKRLEWVA**T ISDGGSFTSY PDSVKG**RFTI SRDIAKNNLY LQMSSLKSED TAMYYCTR**DE SDRPFPY**WGQ GTLVTVSS

【0304】 **EphA2 mAb 3**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:145**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIVLTQSHRS MSTSVGDRVN ITC**KASQDVT TAVA**WYQQKP GQSPKLLIF**W ASTRHA**GVPD RFTGSGSGTD FTLTISSVQA GDLALYYC**QQ HYSTPYT**FGG GTKLEIK

【0305】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至EphA2的EphA2結合分子(例如，EphA2 x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這種結合分子，其包含抗-EphA2單克隆抗體**EphA2 mAb 1**、**EphA2 mAb 2**和**EphA2 mAb 3**的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。

5. 示例性抗-gpA33抗體

【0306】 43 kD的跨膜糖蛋白A33(**gpA33**)在>95%的所有結直腸癌中表達(Heath, J.K.等(1997) "*The Human A33 Antigen Is A Transmembrane* Glycoprotein *And A Novel Member Of The Immunoglobulin* Superfamily," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474；Ritter, G.等(1997) "*Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium*," Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686；Wong, N.A.等(2006) "*EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's*

Metaplasia," J. Clin. Pathol. 59(3):260-263)。示例性的結合人gpA33的抗體是"**gpA33 mAb 1**"。

【0307】 **gpA33 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:146**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **GSWMN**WVRQA PGQGLEWIG**R IYPGDGETNY NGKFKD**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**IY GNNVYFDV**WG QGTTVTVSS

【0308】 **gpA33 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:147**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITC**SARSSIS FMY**WYQQKPG KAPKLLIY**DT SNLAS**GVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLEAE DAATYYC**QQW SSYPLT**FGQG TKLEIK

【0309】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至gpA33的gpA33結合分子(例如，gpA33x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這種結合分子，其包含抗gpA33單克隆抗體**gpA33 mAb 1**、或者WO 2015/026894中提供的抗gpA33單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。本發明另外包括並且涵蓋WO 2015/026894中提供的示例性gpA33 x CD3雙特異性結合分子。

6. 示例性抗-HER2/neu抗體

【0310】 HER2/neu是185 kDa受體蛋白，其最初被鑒定為來自化學處理的大鼠的成神經細胞瘤的轉化基因的產物。HER2/neu由於其在數種人癌症（包括乳腺癌和胃癌）和哺乳動物發育中的作用而已經被進行了廣泛的研究(Hynes等(1994) Biochim. Biophys. Acta 1198:165-184 ； Dougall 等 (1994) Oncogene 9:2109-2123；Lee等(1995) Nature 378:394-398)。示例性的結合人HER2/neu的抗體包括"**瑪格妥昔單抗(Margetuximab)**"、"**曲妥珠單抗(Trastuzumab)**"和"**帕妥株**

單抗(Pertuzumab)”。瑪格妥昔單抗(也被稱為MGAH22；CAS登錄號1350624-75-7)是結合至HER2/neu並且介導提高的ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。曲妥珠單抗(也被稱為rhuMAB4D5，並且作為Herceptin®出售；CAS登錄號180288-69-1；參見美國專利號5,821,337)是抗體4D5的人源化版本，具有IgG1/κ恒定區。帕妥株單抗(也被稱為rhuMAB2C4，並且作為PERJETA™出售；CAS登錄號380610-27-5；參見例如WO2001/000245)是抗體2C4的人源化版本，其具有IgG1/κ恒定區。

【0311】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至Her2/Neu的Her2/Neu結合分子(例如，Her2/Neu x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這種結合分子，其包含抗-HER2/Neu單克隆抗體瑪格妥昔單抗、曲妥珠單抗或帕妥株單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

【0312】 瑪格妥昔單抗的VH結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:148**)(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK **DTYIH**WVKQR PEQGLEWIG**R**
IYPTNGYTRY DPKFQDKATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSR**WG**
GDGFYAMDYW GQGASVTVSS

【0313】 瑪格妥昔單抗的VL結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:149**)(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITC**KASQDVN TAVA**WYQQKP GHSPKLLIY**S**
ASFRYTGVPD RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYC**QQ HYTTPPT**FGG
GTKVEIK

【0314】 瑪格妥昔單抗的完整的重鏈和輕鏈的氨基酸序列在本領域是已知的(參見，例如，WHO Drug Information, 2014，推薦的INN:列表71, 28(1):93-94)。

【0315】 曲妥珠單抗的VH結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:150**)(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK **DTYIH**WVRQA PGKGLEWVA**R IYPTNGYTRY ADSVKG**RFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSR**WG GDGFYAMDY**W GQGTLVTVSS

【0316】 曲妥珠單抗的VL結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:151**)(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQDVN TAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASFLY**SGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ HYTTPPT**FGQ GTKVEIK

【0317】 帕妥株單抗的VH結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:152**)(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT **DYTMD**WVRQA PGKGLEWVA**D VNPNSGGSIY NQRFKG**RFTL SVDRSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**NL GPSFYFDY**WG QGTLVTVSS

【0318】 帕妥株單抗的VL結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:153**)(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KASQDVS IGVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASYRYT**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YYIYPYT**FGQ GTKVEIK

【0319】 除了上面所鑒定的優選抗-HER2/neu結合分子外，本發明還考慮這樣的Her2/Neu**結合分子**，其包含下列抗-Her-2結合分子：**1.44.1**；**1.140**；**1.43**；**1.14.1**；**1.100.1**；**1.96**；**1.18.1**；**1.20**；**1.39**；**1.24**；和**1.71.3**(美國專利號8,350,011；8,858,942和PCT公開號WO 2008/019290)；**F5和C1**(美國專利號7,892,554；8,173,424；8,974,792和PCT公開號WO 99/55367)；以及美國專利公開號US2013017114和PCT公開號WO2011/147986和WO 2012/143524的抗-Her-2結合分子中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR$_L$中的1個、2個或

所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。本發明另外包括並且涵蓋WO 2012/143524中提供的示例性Her2/Neu x CD3雙特異性結合分子。

7. 示例性抗-VEGF抗體

【0320】 VEGF-A是刺激多種疾病，尤其某些轉移癌，諸如轉移性結腸癌，以及某些肺癌、腎癌、卵巢癌和腦的多形性成膠質細胞瘤中的血管生成的化學信號。示例性的結合至人VEGF-A的抗體是“**貝伐珠單抗(Bevacizumab)**”(Avastin®)。**貝**伐珠單抗是重組人源化IgG1單克隆抗體(Midgley, R.等(2005) “*Bevacizumab– Current Status And Future Directions*,” Ann. Oncol. 16(7):999-1004；Hall, R.D.等(2015) “*Angiogenesis Inhibition As A Therapeutic Strategy In Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)*,” Transl. Lung Cancer Res. 4(5):515-523；Narita, Y. (2015) “*Bevacizumab For Glioblastoma*,” Ther. Clin. Risk Manag. 11:1759-1765)。

【0321】 **貝伐珠單抗**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:154**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT **NYGMN**WVRQA PGKGLEWVG**W**
INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCA**KYP**
HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSS

【0322】 **貝伐珠單抗**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:155**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**SASQDIS NYLN**WYQQKP GKAPKVLIY**F**
TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YSTVPWT**FGQ
GTKVEIKR

【0323】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至VEGF的VEGF結合分子(例如，VEGF x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這樣的結合分子，其包含

抗-VEGF單克隆抗體貝伐珠單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

8. 示例性抗-5T4抗體

【0324】 癌胚蛋白**5T4**是在許多癌症(包括腎癌、結腸癌、前列腺癌、肺癌)的細胞膜上以及在急性淋巴細胞性白血病中展示的腫瘤相關蛋白(參見Boghaert, E.R.等(2008) "*The Oncofetal Protein, 5T4, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin*," Int. J. Oncol. 32(1):221-234；Eisen, T. 等 (2014) "*Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin*," Curr. Oncol. Rep. 16:370, pp. 1-6)。示例性的結合至人5T4的抗體包括"**5T4 mAb 1**"和"**5T4 mAb 2**"。

【0325】 **5T4 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:156**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SFWMH**WVRQA PGQGLEWMG**R**
IDPNRGGTEY **NEKAKS**RVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAG**GN**
PYYPMDYWGQ GTTVTVSS

【0326】 示例性**5T4 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:157**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQGIS** **NYLA**WFQQKP GKAPKSLIY**R**
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYC**LQ** **YDDFPWT**FGQ
GTKLEIK

【0327】 **5T4 mAb 2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:158**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKASGYTFT **SYWIT**WVKQR PGQGLEWIG**D**
IYPGSGRANY **NEKFKS**KATL TVDTSSSTAY MQLSSLTSED SAVYNCAR**YG**
PLFTTVVDPN **SYAMDY**WGQG TSVTVSS

【0328】 **5T4 mAb 2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:159**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISC**RSSQSIV YSNGNTYLE**W YLQKPGQSPK LLIY**KVSNRF S**GVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYC**FQGSHVP FT**FGSGTKLE IK

【0329】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至5T4的5T4結合分子(例如，5T4 x CD3雙特異性結合分子)，其包含抗-5T4單克隆抗體**5T4 mAb 1**或**5T4 mAb 2**或者WO 2013/041687或WO 2015/184203中提供的抗-5T4抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。本發明另外包括並且涵蓋WO 2015/184203中提供的示例性5T4 x CD3雙特異性結合分子。

【0330】 本申請案另外具體地包括並且涵蓋能夠結合5T4、CD3和CD8的5T4 x CD3 x CD8三特異性結合分子，以及尤其這樣的三特異性結合分子，其包含抗-5T4單克隆抗體**5T4 mAb 1**或**5T4 mAb 2**或者WO 2015/184203中提供的抗-5T4單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個，和/或本文提供的抗CD8單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

9. 示例性抗-IL13Rα2抗體

【0331】 白介素-13受體α2(**IL-13Rα2**)在多種癌症中過表達，所述癌症包括成膠質細胞瘤、結直腸癌、宮頸癌、胰腺癌、多發性黑素瘤、骨肉瘤、白血病、淋巴瘤、前列腺癌和肺癌(PCT公開號WO 2008/146911；Brown, C.E.等(2013) "*Glioma IL13Rα2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And*

Poor Patient Prognosis," PLoS One. 18;8(10):e77769；Barderas, R.等(2012) "*High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis*," Cancer Res. 72(11):2780-2790；Kasaian, M.T.等(2011) "*IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13Rα2*," J. Immunol. 187(1):561-569；Bozinov, O.等(2010) "*Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13Ralpha2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas*," Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621；Fujisawa, T.等(2009) "*A Novel Role Of Interleukin-13 Receptor Alpha2 In Pancreatic Cancer Invasion And Metastasis*," Cancer Res. 69(22):8678-8685)。免疫特異性地結合至IL-13Rα2的抗體是可商購的並且已經被描述在下列文獻中(Abnova Corporation, Biorbyt, LifeSpan BioSciences, United States Biologicals；也參見PCT公開號WO 2008/146911)。示例性的結合至人IL13Rα2的抗體包括"**hu08**"(參見，例如PCT公開號WO 2014/072888)。

【0332】 **hu08**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:160**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **RNGMS**WVRQA PGKGLEWVA**T VSSGGSYIYY ADSVKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**QG TTALATRFFD V**WGQGTLVTV SS

【0333】 **hu08**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:161**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KASQDVG TAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASYRST**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QH HYSAPWT**FGG GTKVEIK

【0334】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至IL13Rα2的IL13Rα2結合分子(例如，IL13Rα2 x CD3雙特異性結合分子)，尤其這樣的結合分子，其包

含抗-IL13Rα2單克隆抗體**hu08**的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

10. 示例性抗-CD123抗體

【0335】 CD123(白介素3受體α，IL-3Ra)是40 kDa分子並且是白介素3受體複合物的一部分(Stomski, F.C.等(1996) "*Human Interleukin-3 (IL-3) Induces Disulfide-Linked IL-3 Receptor Alpha- And Beta-Chain Heterodimerization, Which Is Required For Receptor Activation But Not High-Affinity Binding*," Mol. Cell. Biol. 16(6):3035-3046)。白介素3(IL-3)驅動多能幹細胞早期分化成紅系祖細胞、髓系祖細胞和淋巴樣祖細胞的細胞。已經報導CD123在大範圍的血液學惡性腫瘤(包括急性髓細胞樣白血病(AML)、慢性髓細胞性白血病(CML)、急性B淋巴細胞性白血病(B-ALL)、毛細胞白血病(HCL)、鈍性漿細胞樣樹突狀細胞腫瘤(BPDCN)、慢性髓細胞性白血病(CML)、急性B淋巴細胞性白血病(B-ALL)、毛細胞白血病(HCL)、鈍性漿細胞樣樹突狀細胞腫瘤(BPDCN)、和脊髓增生異常綜合征(MDS))中的惡性細胞上過表達(Muñoz, L.等(2001) "*Interleukin-3 Receptor Alpha Chain (CD123) Is Widely Expressed In Hematologic Malignancies*," Haematologica 86(12):1261-1269)。CD123的過表達與AML中的較差的預後有關(Tettamanti, M.S.等(2013) "*Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor*," Br. J. Haematol. 161:389-401)。

【0336】 示例性的結合至人CD123並且可用於本發明的抗體是"**CD123 mAb 1**"(參見，例如PCT公開號WO 2015/026892)。

【0337】 **CD123 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:162**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVQSGAE LKKPGASVKV SCKASGYTFT **DYYMK**WVRQA PGQGLEWIG**D IIPSNGATFY NQKFKG**RVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**SH LLRASWFAY**W GQGTLVTVSS

【0338】 **CD123 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:163**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSC**KSSQSLL NSGNQKNYLT** WYQQKPGQPP KLLIY**WASTR ES**GVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYC**QNDYSY PYT**FGQGTKL EIK

【0339】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至CD123的CD123結合分子(例如，CD123 x CD3雙特異性結合分子)，尤其這樣的結合分子，其包含抗-CD123單克隆抗體**CD123 mAb 1**以及US 2017/081424和WO 2016/036937中公開的抗-CD123抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。本發明另外包括並且涵蓋示例性CD123 x CD3雙特異性結合分子，其包括：flotetuzumab (aka MGD007；CAS登錄號1664355-28-5)、JNJ-63709178 (Johnson & Johnson，也參見WO 2016/036937)和XmAb14045 (Xencor，也參見US 2017/081424)。

11. 示例性抗-CD19抗體

【0340】 CD19(B淋巴細胞表面抗原B4，Genbank登錄號M28170)是B細胞受體(BCR)複合物的組分，並且是調節B細胞啟動和體液免疫的閾值的B細胞信號傳導的正調節物。CD19是在B細胞譜系中最普遍存在表達的抗原之一並且在>95%的B細胞惡性腫瘤上表達，包括急性成淋巴細胞性白血病(ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)。特別地，CD19表達維持在對抗-CD20療法變得抗性的B細胞淋巴瘤上(Davis等(1999) "*Therapy of B-Cell*

Lymphoma With Anti-CD20 Antibodies Can Result In The Loss Of CD20 Antigen Expression." Clin Cancer Res, 5:611-615, 1999)。已經建議CD19作為治療自體免疫疾病的靶標(Tedder (2009) "*CD19: A Promising B Cell Target For Rheumatoid Arthritis*," Nat. Rev. Rheumatol. 5:572-577)。

【0341】 示例性的結合至人CD19並且可用於本發明中的人源化抗體是WO 2016/048938中公開的抗CD19抗體(本文也稱為"**CD19 mAb 1**")。

【0342】 **CD19 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:164**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS **TSGMGVG**WIR QPPGKALEWL A**HIWWDDDKR YNPALKS**RLT ISKDTSKNQV FLTMTNMDPV DTATYYCAR**M ELWSYYFDY**W GQGTTVTVSS

【0343】 **CD19 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:165**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITC**RASQSVS YMH**WYQQKPG QAPRLLIY**DA SNRAS**GVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYC**FQG SVYPFT**FGQG TKLEIK

【0344】 **CD19 mAb 1**的可替選VL結構域的氨基酸序列 (**SEQ ID NO:195**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKVT ITC**SASSSVS YMH**WYQQKPG QAPRLLIY**DT SKLAS**GVPSR FSGSGSGTDH FLTISSLEAE DAATYYC**FQG SVYPFT**FGQG TKLEIK

【0345】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至CD19的CD19結合分子(例如，CD19 x CD3雙特異性結合分子)，以及尤其這樣的結合分子，其包含抗-CD19單克隆抗體**CD19 mAb 1**或者美國專利號7,112,324中公開的抗-CD19抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。本發明具體地包括並且

涵蓋可用於本發明中的示例性CD19 x CD3雙特異性結合分子，其包括：博納吐單抗(BLINCYTO®；氨基酸序列，見於WHO Drug Information, 2009, 推薦的INN: List 62, 23(3):240-241)和duvortuxizumab (aka MGD011；氨基酸序列，見於WHO Drug Information, 2016, 推薦的INN: List 116, 30(4):627-629)。

B. 示例性病原體相關抗原

【0346】 如本文所用，術語“**病原體抗原**”意指被典型地表達在病原體感染細胞的表面上並且因此可用基於抗體的分子或免疫調節分子治療的抗原。病原體抗原的實例包括但不限於在用下列感染的細胞的表面上表達的抗原：單純皰疹病毒(例如，感染的細胞蛋白(ICP)47、gD等)、水痘-帶狀皰疹病毒、柯氏肉瘤相關的皰疹病毒(kaposi's sarcoma-associated herpes virus)、愛潑斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr Virus)(例如，LMP-1、LMP-2A、LMP-2B等)、巨細胞病毒(例如，UL11等)、人免疫缺陷病毒(例如，env蛋白gp160、gp120、gp41等)、人乳頭瘤病毒(例如，E6、E7等)、人T細胞白血病病毒(例如，env蛋白gp64、gp46、gp21等)、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、水泡性口炎病毒(VSV)、桿菌(*Bacilli*)、檸檬酸桿菌(*Citrobacter*)、霍亂菌(*Cholera*)、白喉菌(*Diphtheria*)、腸桿菌(*Enterobacter*)、淋球菌(*Gonococci*)、幽門螺桿菌(*Helicobacter pylori*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella*)、軍團菌(*Legionella*)、腦膜炎球菌(*Meningococci*)、分枝桿菌(mycobacteria)、假單胞菌(*Pseudomonas*)、肺炎球菌(*Pneumonococci*)、立克次氏體細菌(rickettsia bacteria)、沙門氏菌(*Salmonella*)、沙雷氏菌(*Serratia*)、葡萄球菌(*Staphylococci*)、鏈球菌(*Streptococci*)、破傷風(*Tetanus*)、麴黴屬真菌(*Aspergillus*)(煙麴黴(fumigatus)、黑麴黴(niger)等)、皮膚芽孢桿菌(*Blastomyces dermatitidis*)、念珠菌屬(*Candida*)(白色念珠菌(albicans)、克柔念珠菌(krusei)、光

滑念珠菌(glabrata)、熱帶念珠菌(tropicalis)等)、新生隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、屬毛黴菌目(Genus *Mucorales*)(毛黴菌(mucor)、犁頭黴(absidia)、根黴菌(rhizopus))、申克氏胞絲菌(*Sporothrix schenkii*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)、莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)、鉤端螺旋體病(*Leptospirosis*)、伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)、寄生蠕蟲病(helminth parasite)(鉤蟲、絛蟲、吸蟲、扁蟲(例如血吸蟲(*Schistosomia*))、賈第蟲(*Giardia lambia*)、旋毛蟲(*trichinella*)、脆雙核阿米巴(*Dientamoeba Fragilis*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)和杜氏利什曼原蟲(*Leishmania donovani*))。這種抗體可從多種來源商購，或者可以通過用這種抗原使小鼠或其它動物免疫獲得(包括產生單克隆抗體)。

【0347】 下面提供了示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠結合排列在病原體感染細胞的表面上的病原體抗原的分子，另外的抗體在本領域是已知的。

1. 示例性抗-HIV env抗體

【0348】 HIV的env蛋白是示例性的病原體相關抗原，並且結合HIV的env蛋白的抗體是示例性的能夠結合病原體相關抗原的抗體。

【0349】 HIV-1感染的初始步驟伴隨著細胞表面CD4結合至三聚體HIV-1包膜糖蛋白(env)、跨膜糖蛋白(gp41)和表面糖蛋白(gp120)的異源二聚體發生。gp120和gp41糖蛋白初始被合成為單個gp160多肽，其隨後被切割以產生非共價締合的gp120/gp41複合物。Env的胞外結構域是品質約140 kDa的異源二聚體，由整個gp120組分和約20 kDa的gp41構成(Harris, A.等(2011) "*Trimeric HIV-1 Glycoprotein Gp140 Immunogens And Native HIV-1 Envelope Glycoproteins Display*

The Same Closed And Open Quaternary Molecular Architectures," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 108(28):11440-11445)。免疫特異性地結合至env蛋白的抗體可商購並且已經描述在現有技術中(參見，例如GenBank登錄號AFQ31503；Buchacher, A. 等(1994) "*Generation Of Human Monoclonal Antibodies Against HIV-1 Proteins; Electrofusion And Epstein-Barr Virus Transformation For Peripheral Blood Lymphocyte Immortalization*," AIDS Res. Hum. Retroviruses 10(4):359-369；Shen, R. (2010) "*GP41-Specific Antibody Blocks Cell-Free HIV Type 1 Transcytosis Through Human Rectal Mucosa And Model Colonic Epithelium*," J. Immunol. 184(7):3648-3655；WO 2012/162068；和WO 2016/054101)。結合至HIV env的示例性抗體包括"**7B2**"(GenBank登錄號AFQ31503)和"**A32**"(PCT公開號WO 2014/159940)。抗體A32的多個VH結構域已經在現有技術中報導其在報導的框架區1和/或4中具備最小的改變(參見，例如蛋白質資料庫登錄號(Protein Data Base Accession number)PDB: 4YBL_H, US 2015/0239961和WO 2006/044410)。任意這些變體抗體A32VH結構域可根據本發明採用。

【0350】 **7B2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:166**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGGG VFKPGGSLRL SCEASGFTFT **EYYMT**WVRQA PGKGLEWLAY **ISKNGEYSKY** **SPSSNG**RFTI SRDNAKNSVF LQLDRLSADD TAVYYCAR**AD GLTYFSELLQ** **YIFDL**WGQGA RVTVSS

【0351】 **7B2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:167**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCK**SSQTLL** **YSSNNRHSIA** WYQQRPGQPP KLLLY**WASMR** **LS**GVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYC**HQYSSH PPT**FGHGTRV EIK

【0352】 **A32**的示例性VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:168**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLQESGPG LVKPSQTLSL SCTVSGGSSS **SGAHYWS**WIR QYPGKGLEWI G**YIHYSGNTY YNPSLKS**RIT ISQHTSENQF SLKLNSVTVA DTAVYYCAR**G TRLRTLRNAF DI**WGQGTXVT VSS

其中：X是L或M

【0353】 **A32**的這種示例性VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:209**)，其中**X**是L，顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLQESGPG LVKPSQTLSL SCTVSGGSSS **SGAHYWS**WIR QYPGKGLEWI G**YIHYSGNTY YNPSLKS**RIT ISQHTSENQF SLKLNSVTVA DTAVYYCAR**G TRLRTLRNAF DI**WGQGTLVT VSS

【0354】 **A32**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:169**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SC**TGTSSDVG GYNYVS**WYQH HPGKAPKLII S**EVNNRPS**GV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC **SSYTDIHNFV** FGGGTKLTVL

【0355】 本申請案具體地包括並且涵蓋能夠結合至HIV的HIV結合分子(例如，HIV x CD3雙特異性結合分子)，以及具體的這樣的結合分子，其包含抗HIV單克隆抗體**7B2**、**A32**或者在WO 2016/054101、WO 2017/011413、WO 2017/011414中公開的任意抗HIV抗體的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。本發明具體地包括並且涵蓋在WO 2014/159940、WO 2015/184203、WO 2017/011413、和WO 2017/011414中提供的示例性HIV x CD3雙特異性結合分子。

【0356】 本發明另外具體地包括並且涵蓋能夠結合至HIV、CD3和CD8的HIV x CD3 x CD8三特異性結合分子，以及具體的這樣的三特異性結合分子，其包含抗HIV單克隆抗體**7B2**或**A32**或者在WO 2015/184203、WO 2016/054101、

WO 2017/011413、WO 2017/011414中公開的任意抗HIV單克隆抗體的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個，和/或在WO 2015/184203中提供的任意抗CD8單克隆抗體的VL和/或VH結構域，和/或VL結構域的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

2. 示例性抗-RSV糖蛋白F抗體

【0357】 進一步例證性的病原體相關抗原是RSV糖蛋白F。示例性抗RSV糖蛋白F抗體是帕利珠單抗(Palivizumab)(參見，例如蛋白質資料庫(Protein Data Bank) (PDB) ID號 2HWZ)。可替選的抗RSV糖蛋白F抗體包括莫維珠單抗(motavizumab)(參見，例如PDB ID號3IXT)以及帕利珠單抗變體，其已經被改造以從帕利珠單抗的CDR_L1中去除半胱氨酸殘基。帕利珠單抗變體的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:170**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS **TSGMSVG**WIR QPPGKALEWL A**DIWWDDKKD** **YNPSLKS**RLT ISKDTSKNQV VLKVTNMDPA DTATYYCAR**S MITNWYFDV**W GAGTTVTVSS

【0358】 帕利珠單抗變體的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:171**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITC**RASQSVG YMH**WYQQKPG KAPKLLIY**DT SKLAS**GVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLQPD DFATYYC**FQG SGYPFT**FGGG TKLEIK

VII. 本發明的示例性結合分子

【0359】 如下所討論，利用幾種具有不同結構的**DA x CD3結合分子**，包括能夠介導腫瘤細胞的重定向殺傷的分子(例如，“**DART-A**”-型雙抗體或“**DART-B**”-型雙抗體或三價-型分子，如下所述)在內，對本發明進行說明。

A. DART-A-型雙抗體

【0360】 **DART-A**-型雙抗體是能夠結合CD3和疾病抗原(例如，癌抗原)的雙特異性雙抗體，其不包含Fc結構域。本文提供的是示例性**DART-A**-型雙抗體，其由具有一個用於CD3的結合位點和一個用於癌抗原CD123的結合位點的兩條多肽鏈構成(參見，例如，**圖1**)。

【0361】 示例性**DART-A**-型雙抗體 (命名為“**DART-A-WT**”)的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:172**的氨基酸序列：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG GEVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVKDR FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHGNFGNSYV SWFAYWGQGT LVTVSSGGCG
GG**KVAALKEK VAALKEKVAA LKEKVAALKE

【0362】 這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的VL結構域(**SEQ ID NO:162**)。這種示例性DART-A-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基114-121(帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65(帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基247-252(帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“K-螺旋”(**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E；**SEQ ID NO:30**)。

【0363】 這種示例性**DART-A**-型雙抗體 **DART-A-WT**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:173**的氨基酸序列：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG **GGGSGGGG**EV QLVQSGAELK KPGASVKVSC KASGYTFTDY

YMKWVRQAPG QGLEWIGDII PSNGATFYNQ KFKGRVTITV DKSTSTAYME
LSSLRSEDTA VYYCARSHLL RASWFAYWGQ GTLVTVSS**GG CGGG**EVAALE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EK

【0364】 這種示例性**DART-A**-型雙抗體 **DART-A-WT**的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1**的VL結構域 (**SEQ ID NO:56**)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基111-118(帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基119-238對應於**CD123 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:163**)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基239-244 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。這種示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基245-272對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。

【0365】 如鑒於本公開內容將會認識到的，具有可替選疾病抗原的結合位點和/或具有變體抗CD3抗體的CD3結合結構域 (即，vCD3-結合結構域)的另外的**DART-A**-型雙抗體可同樣被構建(通過利用這種抗體的VL和VH結構域代替示例性**DART-A**-型雙抗體的VL和VH結構域)。類似地，如本文所提供，可同樣構建可替選的**DART-A**-型分子，其併入可替選的連接體和/或可替選的異源二聚體-促進結構域。例如，產生一組示例性的CD123 x CD3 **DART-A**-型雙抗體，其具有與本文所提供的**DART-A-WT**雙抗體相同的結構，但包含上文提供的**CD3 mAb 1**變體(**M1-M26**)之一的VL和VH結構域。

【0366】 該組的每個示例性CD123 x CD3 **DART-A**-型雙抗體的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO: SEQ ID NO:189**的氨基酸序列：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT
WYQQKPGQPP KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT

ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY PYTFGQGTKL EIKGGGSGGG
GEVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF S$X_1X_2X_3$MNWVRQ
APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVKX_4R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHX_5NX_6X_7NSX_8V X_9X_{10}FAX_{11}WGQGT
LVTVSSGGCG GGKVAALKEK VAALKEKVAA LKEKVAALKE

其中：X_1是T、D、或E；X_2是Y、D或T；X_3是A或G；X_4是D或G；X_5是G、D、E、或K；X_6是F或I；X_7是G或I；X_8是Y、A、G、或Q；X_9是S或T；X_{10}是W、F、或Y；並且X_{11}是Y或E。

【0367】 該組的示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的VL結構域(**SEQ ID NO:162**)。該組的示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**；帶雙底線的)。該組的示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M1 - CD3 mAb 1 M22**的VH結構域 (**SEQ ID NOs: 64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104**或**106**)。該組的示例性**DART-A**-型雙抗體的殘基247-252 (帶有單底線)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。該組的示例性**DART-A**-型雙抗體的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進"K-螺旋"(KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE；**SEQ ID NO:30**)。

【0368】 這種示例性**DART-A**-型雙抗體的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:190**的氨基酸序列：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ
KPGQAPRGLI GX_1TNX_2RAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA
QAEDEADYYC AX_3WYSNLWVF GGGTKLTVLG GGGSGGGGEV
QLVQSGAELK KPGASVKVSC KASGYTFTDY YMKWVRQAPG
QGLEWIGDII PSNGATFYNQ KFKGRVTITV DKSTSTAYME
LSSLRSEDTA VYYCARSHLL RASWFAYWGQ GTLVTVSSGG
CGGGEVAALE KEVAALEKEV AALEKEVAAL EK

其中：X_1是G或D；X_2是K或G；並且X_3是L、E或Q。

【0369】 該組的示例性**DART-A-**型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1 M23 – CD3 mAb 1 M26**的VL結構域 (**SEQ ID NOs:108**、**110**、**112**、和**114**)。該組的示例性**DART-A-**型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基111-118(帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**；帶雙底線的)。該組的示例性**DART-A-**型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基119-238對應於**CD123 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:163**)。該組的示例性**DART-A-**型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基239-244(帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**；帶有單底線)。該組的示例性**DART-A-**型雙抗體的所述第二多肽鏈的殘基245-272對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。

【0370】 該組的包含**CD3 mAb 1**變體的VL和VH的示例性**DART-A-**型雙抗體的氨基酸序列和命名被提供在下面的**表8**中。

表8
示例性DART-A-型雙抗體

命名	第一多肽鏈 **SEQ ID NO:**	第二多肽鏈 **SEQ ID NO.**
DART-A-M1	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是G；X_6是F；X_7是G；X_8是Y；X_9是T；X_{10}是W；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M2	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是K；X_6是F；X_7是G；X_8是Y；X_9是T；X_{10}是W；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M3	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是G；X_6是F；X_7是I；X_8是Y；X_9是S；X_{10}是W；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M4	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是G；X_6是F；X_7是G；X_8是A；X_9是S；X_{10}是W；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M5	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是G；X_6是F；X_7是G；X_8是G；X_9是S；X_{10}是W；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M6	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；	**173**

表8 示例性DART-A-型雙抗體		
命名	第一多肽鏈 **SEQ ID NO:**	第二多肽鏈 **SEQ ID NO.**
	X_4是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Q；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	
DART-A-M7	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是D；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且 **X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M8	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是E；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M9	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是K；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M10	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是I；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M11	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是F；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M12	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是Y；並且 **X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M13	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是E	**173**
DART-A-M14	**189** - 其中：**X_1**是D；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M15	**189** - 其中：**X_1**是E；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且 **X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M16	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是D；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M17	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是T；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且 **X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M18	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是G；**X_4**是D；**X_5**是G；**X_6**是F；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**
DART-A-M19	**189** - 其中：**X_1**是T；**X_2**是Y；**X_3**是A；**X_4**是D；**X_5**是K；**X_6**是I；**X_7**是G；**X_8**是Y；**X_9**是S；**X_{10}**是W；並且**X_{11}**是Y	**173**

表8 示例性DART-A-型雙抗體		
命名	第一多肽鏈 **SEQ ID NO:**	第二多肽鏈 **SEQ ID NO.**
DART-A-M20	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是K；X_6是F；X_7是G；X_8是G；X_9是S；X_{10}是W；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M21	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是K；X_6是F；X_7是G；X_8是Y；X_9是S；X_{10}是F；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M22	**189** - 其中：X_1是T；X_2是Y；X_3是A；X_4是D；X_5是K；X_6是F；X_7是G；X_8是Y；X_9是S；X_{10}是Y；並且X_{11}是Y	**173**
DART-A-M23	**172**	**190** - 其中：X_1是G；X_2是K；並且X_3是E
DART-A-M24	**172**	**190** - 其中：X_1是G；X_2是K；並且X_3是Q
DART-A-M25	**172**	**190** - 其中：X_1是D；X_2是K；並且X_3是L
DART-A-M26	**172**	**190** - 其中：X_1是G；X_2是G；並且X_3是L

B. DART-B-型雙抗體

【0371】 **DART-B-**型雙抗體是能夠結合CD3和疾病抗原(例如，癌抗原或傳染病抗原)的雙特異性雙抗體，其包含Fc結構域。本文提供的是示例性**DART-B-**型雙抗體(**表9**)，其由三條多肽鏈構成並且具有一個用於CD3的結合位點和一個用於癌抗原 CD123、5T4或CD19的結合位點(參見，例如，**圖4A**)。

表9						
DART-B-型編號	疾病抗原-結合結構域	**CD3結合結構域**	多肽鏈 第一 **CD123/CD3結合結構域**	第二	第三 **Fc結構域**	命名
1	CD123 mAb 1	CD3 mAb 1	SEQ ID NO:174	SEQ ID NO:175	SEQ ID NO:176	CD123-WT
2		CD3 mAb 1 M1	SEQ ID NO:177			CD123-M1
3		CD3 mAb 1 M2	SEQ ID NO:178			CD123-M2
4		CD3 mAb 1 M18	SEQ ID NO:179			CD123-M18
5		CD3 mAb 1 M13	SEQ ID NO:198			CD123-M13

表9						
DART-B-型編號	**疾病抗原-結合結構域**	**CD3結合結構域**	**多肽鏈**			**命名**
			第一	**第二**	**第三**	
			CD123/CD3結合結構域		**Fc結構域**	
6		CD3 mAb 1 M17	SEQ ID NO:199			CD123-M17
7		CD3 mAb 1 M19	SEQ ID NO:200			CD123-M19
8	5T4 mAb 1	CD3 mAb 1	SEQ ID NO:180	SEQ ID NO:181		5T4-WT
9		CD3 mAb 1 M1	SEQ ID NO:182			5T4-M1
10		CD3 mAb 1 M2	SEQ ID NO:183			5T4-M2
11		CD3 mAb 1 M18	SEQ ID NO:184			5T4-M18
12	HIV mAb A32	CD3 mAb 1	SEQ ID NO:185	SEQ ID NO:186		HIV-WT
13		CD3 mAb 1 M18	SEQ ID NO:196			HIV-M18
14	CD19 mAb 1 (可替選的VL在其中被標示)	CD3 mAb 1	SEQ ID NO: 191	SEQ ID NO: 192		CD19-WT
15		CD3 mAb 1 M18	SEQ ID NO: 197			CD19-M18
16		CD3 mAb 1 M18	SEQ ID NO: 193	SEQ ID NO: 194		CD19.1-M18
17		CD3 mAb 1 M13	SEQ ID NO:201			CD19.1-M13
18		CD3 mAb 1 M17	SEQ ID NO:202			CD19.1-M17
19		CD3 mAb 1 M19	SEQ ID NO:203			CD19.1-M19

1.第一示例性DART-B-型雙抗體

CD123-WT (CD123 x CD3 mAb 1)

【0372】 第一示例性**DART-B**-型雙抗體(被命名為“**CD123-WT**”)的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:174**的氨基酸序列：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG GEVQLVESGG** GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHGNFGNSYV SWFAYWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA

KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

【0373】 **CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的VL結構域 (**SEQ ID NO:163**)。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基247-252 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-WT**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0374】 **CD123-WT**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:175**的氨基酸序列：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG **GGGSGGGG**EV QLVQSGAELK KPGASVKVSC KASGYTFTDY
YMKWVRQAPG QGLEWIGDII PSNGATFYNQ KFKGRVTITV DKSTSTAYME
LSSLRSEDTA VYYCARSHLL RASWFAYWGQ GTLVTVSS**GG** **CGGG**KVAALK
EKVAALKEKV AALKEKVAAL KE

【0375】 **CD123-WT**的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1**的VL結構域(**SEQ ID NO:56**)。**CD123-WT**的所述第二多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-WT**的所述第二多肽鏈的殘基119-238對應於**CD123 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:162**)。

CD123-WT的所述第二多肽鏈的殘基239-244(帶底線的)對應於連接體2(GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-WT**的所述第二多肽鏈的殘基245-272對應於異源二聚體-促進"K-螺旋"(**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E；**SEQ ID NO:30**)。

【0376】 **CD123-WT**的第三多肽鏈具有**SEQ ID NO:176**的氨基酸序列：

DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK
CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK
GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG
NVFSCSVMHE ALHNRYTQKS LSLSPGK

【0377】 **CD123-WT**的所述第三多肽鏈的殘基1-10對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-WT**的所述第三多肽鏈的殘基10-227對應於IgG1 "帶有臼的" CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:50**)。

【0378】 如將會認識到的，**CD123-WT**的第三多肽鏈不包含任何表位元結合結構域並且因此可用於各種具有這種**DART-B**-型結構的**DA x CD3結合分子**。

2. 第二示例性DART-B-型雙抗體

CD123-M1 (CD123 x CD3 mAb 1 M1)

【0379】 第二示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD123-WT** 雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M1**的VH結構域並且被命名為"**CD123-M1**"。如上所示，**CD3 mAb 1 M1**是**CD3 mAb 1**的低親和力變體(也被稱為"**CD3 mAb 1低**")。還如上所示，**CD3 mAb 1 M1**的VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的VL結構域相同的氨基酸序列。

【0380】 因此，第二示例性**DART-B**-型雙抗體 (**CD123-M1**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:177**)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG** **G**EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHGNFGNSYV TWFAYWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP** **PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

【0381】 **CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的VL結構域 (**SEQ ID NO:163**)。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65(帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基247-252 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0382】 因為**CD3 mAb 1 M1**的VL結構域與**CD3 mAb 1**的VL結構域相同，所以**CD123-M1**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:175**)。類似地，**CD123-M1**的所

述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

3. 第三示例性DART-B-型雙抗體

CD123-M2 (CD123 x CD3 mAb 1 M2)

【0383】 第三示例性**DART-B-**型雙抗體類似於上述**CD123-M1**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M2**的所述VH結構域並且被命名為被命名為“**CD123-M2**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M2**具有比**CD3 mAb 1**快的解離率，並且因此也被稱為“**CD3 mAb 1快**”。還如上所示，**CD3 mAb 1 M2**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0384】 因此，第三示例性**DART-B-**型雙抗體 (**CD123-M2**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:178**)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG** **G**EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHKNFGNSYV TWFAYWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP** **PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

【0385】 **CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的VL結構域 (**SEQ ID NO:163**)。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M2**的VH結構域 (**SEQ ID NO:59**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基

247-252 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-M2**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0386】 因為**CD3 mAb 1 M2**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD123-M2**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:175**)。類似地，**CD123-M2**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT** 雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

4. 第四示例性DART-B-型雙抗體

CD123-M18 (CD123 x CD3 mAb 1 M18)

【0387】 第四示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD123-M2**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域並且被命名為“**CD123-M18**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M18**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0388】 因此，第四示例性**DART-B**-型雙抗體 (**CD123-M18**)的第一多肽鏈具有氨基酸序列 (**SEQ ID NO:179**)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG** **G**EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYGMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN

SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHGNFGNSYV SWFAYWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

【0389】 **CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的所述VL結構域(**SEQ ID NO:163**)。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:98**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基247-252 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-M18**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的”CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0390】 因為**CD3 mAb 1 M18**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD123-M18**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT** 雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:175**)。類似地，**CD123-M18**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT** 雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

5. 第五示例性DART-B-型雙抗體

CD123-M13 (CD123 x CD3 mAb 1 M13)

【0391】 第五示例性**DART-B-**型雙抗體類似於上述**CD123-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M13**的所述VH結構域並且被命名為“**CD123-M13**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M13**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0392】 因此，第五示例性**DART-B-**型雙抗體 (**CD123-M13**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:198**)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG** **G**EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHGNFGNSYV SWFAEWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP** **PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

【0393】 **CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的VL結構域 (**SEQ ID NO:163**)。**CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M13**的VH結構域(**SEQ ID NO:88**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基247-252 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD123-M13**的

所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-M13**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0394】 因為**CD3 mAb 1 M13**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD123-M13**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:175**)。類似地，**CD123-M1**的第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT** 雙抗體的第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

6. 第六示例性DART-B-型雙抗體

CD123-M17 (CD123 x CD3 mAb 1 M17)

【0395】 第六示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD123-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M17**的所述VH結構域並且被命名為“**CD123-M17**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M17**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0396】 因此，第六示例性**DART-B**-型雙抗體(**CD123-M17**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:199**)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG** **G**EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STTAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHGNFGNSYV SWFAYWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP** **PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP

ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

【0397】 **CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:163**)。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M17**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:96**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基247-252 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K ； **SEQ ID NO:29**)。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-M17**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0398】 因為**CD3 mAb 1 M17**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD123-M17**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:175**)。類似地，**CD123-M17**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT** 雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

7. 第七示例性DART-B-型雙抗體

CD123-M19 (CD123 x CD3 mAb 1 M19)

【0399】 第七示例性**DART-B-**型雙抗體類似於上述**CD123-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M19**的所述VH結構域並且被命名為“**CD123-M19**”。如上所

示，**CD3 mAb 1 M19**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0400】 因此，第七示例性**DART-B**-型雙抗體 (**CD123-M19**)的第一多肽鏈具有下列的氨基酸序列 (**SEQ ID NO:200**)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSCKSSQSLL NSGNQKNYLT WYQQKPGQPP
KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQNDYSY
PYTFGQGTKL EIK**GGGSGGG** **G**EVQLVESGG GLVQPGGSLR LSCAASGFTF
STYAMNWVRQ APGKGLEWVG RIRSKYNNYA TYYADSVK**D**R FTISRDDSKN
SLYLQMNSLK TEDTAVYYCV RHKNIGNSYV SWFAYWGQGT LVTVSS**GGCG**
GGEVAALEKE VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGG**DKTHTCP** **PCP**APEAAGG
PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA
KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS
KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP
ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

【0401】 **CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基1-113對應於**CD123 mAb 1**的所述VL結構域(**SEQ ID NO:163**)。**CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基114-121 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基122-246對應於**CD3 mAb 1 M19**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:100**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基247-252 (帶底線的)對應於連接體2(GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基253-280對應於異源二聚體-促進“E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K ； **SEQ ID NO:29**)。**CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基281-283對應於GGG連接體。**CD123-M1**的所述第一多肽鏈的殘基284-293 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD123-M19**的所述第一多肽鏈的殘基294-510對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0402】 因為**CD3 mAb 1 M19**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD123-M19**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:175**)。類似地，**CD123-M1**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

8. 第八示例性DART-B-型雙抗體

5T4-WT (5T4 x CD3 mAb 1)

【0403】 第八示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD123-M18**雙抗體，但包含5T4 結合結構域，而不是**CD123-M18**雙抗體的CD123結合結構域。此外，第八示例性**DART-B**-型雙抗體包含**CD3 mAb 1**的所述VH結構域。該第八示例性DART-B-型雙抗體被命名為“**5T4-WT**”。

【0404】 因此，第八示例性**DART-B**-型雙抗體 (**5T4-WT**)的第一多肽鏈具有氨基酸序列 (**SEQ ID NO:180**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDDFPWTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYAMN
WVRQAPGKGL EWVGRIRSKY NNYATYYADS VK**G**RFTISRD DSKNSLYLQM
NSLKTEDTAV YYCVRHGNFG NSYVSWFAYW GQGTLVTVSS **GGCGGG**EVAA
LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGG**DKT** **HTCPPCP**APE AAGGPSVFLF
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP
REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
SPGK

【0405】 **5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基1-107對應於**5T4 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:157**)。**5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基108-115 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**5T4-WT**的所述第一多肽

鏈的殘基116-240對應於**CD3 mAb 1**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是甘氨酸 (G)。**5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基241-246 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基247-274對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基275-277對應於GGG連接體。**5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基278-287 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**5T4-WT**的所述第一多肽鏈的殘基288-504對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0406】 **5T4-WT**的第二多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:181**)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG **GGGSGGGG**QV QLVQSGAEVK KPGASVKVSC KASGYTFTSF
WMHWVRQAPG QGLEWMGRID PNRGGTEYNE KAKSRVTMTA DKSTSTAYME
LSSLRSEDTA VYYCAGGNPY YPMDYWGQGT TVTVSS**GGCG** **GG**KVAALKEK
VAALKEKVAA LKEKVAALKE

【0407】 **5T4-WT**的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:56**)。**5T4-WT**的所述第二多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**5T4-WT**的所述第二多肽鏈的殘基119-236對應於**5T4 mAb 1**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:156**)。**5T4-WT**的所述第二多肽鏈的殘基237-242 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**5T4-WT**的所述第二多肽鏈的殘基243-280對應於異源二聚體-促進 “K-螺旋” (**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E；**SEQ ID NO:30**)。

【0408】 **5T4-WT**的第三多肽鏈具有與**CD123-WT**雙抗體的第三多肽鏈相同的氨基酸序列(即，**SEQ ID NO:176**)。

9. 第九示例性DART-B-型雙抗體

5T4-M1 (5T4 x CD3 mAb 1 M1)

【0409】 第九示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**5T4-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M1**的所述VH結構域並且被命名為“**5T4-M1**”。

【0410】 因此，第九示例性**DART-B**-型雙抗體(**5T4-M1**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:182**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDDFPWTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYAMN
WVRQAPGKGL EWVGRIRSKY NNYATYYADS VK**D**RFTISRD DSKNSLYLQM
NSLKTEDTAV YYCVRHGNFG NSYVTWFAYW GQGTLVTVSS **GGCGGG**EVAA
LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGG**DKT** **HTCPPCP**APE AAGGPSVFLF
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP
REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
SPGK

【0411】 **5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基1-107對應於**5T4 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:157**)。**5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基108-115 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基116-240對應於**CD3 mAb 1 M1**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:64**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基241-246 (帶底線的) 對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基247-274對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基275-277對應於GGG連接體。**5T4-M1**的所述第一多肽鏈的殘基278-287 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**5T4-M1**

的所述第一多肽鏈的殘基288-504對應於the IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:48**)。

【0412】 因為**CD3 mAb 1 M1**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**5T4-M1**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**5T4-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:181**)。類似地，**5T4-M1**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

10. 第十示例性DART-B-型雙抗體

5T4-M2 (5T4 x CD3 mAb 1 M2)

【0413】 第十示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**5T4-M1**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M2**的所述VH結構域並且被命名為“**5T4-M2**”。

【0414】 因此，第十示例性**DART-B**-型雙抗體(**5T4-M2**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:183**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDDFPWTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYAMN
WVRQAPGKGL EWVGRIRSKY NNYATYYADS VK**D**RFTISRD DSKNSLYLQM
NSLKTEDTAV YYCVRHKNFG NSYVTWFAYW GQGTLVTVSS **GGCGGG**EVAA
LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGG**DKT** **HTCPPCP**APE AAGGPSVFLF
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP
REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
SPGK

【0415】 **5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基1-107對應於**5T4 mAb 1**的所述VL結構域(**SEQ ID NO:157**)。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基108-115 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈

的殘基116-240對應於**CD3 mAb 1 M2**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:66**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基241-246 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基247-274對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基275-277對應於GGG連接體。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基278-287 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**5T4-M2**的所述第一多肽鏈的殘基288-504對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0416】 因為**CD3 mAb 1 M2**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**5T4-M2**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**5T4-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:181**)。類似地，**5T4-M2**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

11. 第十一示例性DART-B-型雙抗體

5T4-M18 (5T4 x CD3 mAb 1 M18)

【0417】 第十一示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**5T4-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域並且被命名為“**5T4-M18**”。

【0418】 因此，第十一示例性**DART-B**-型雙抗體 (**5T4-M18**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:184**)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIS NYLAWFQQKP GKAPKSLIYR
ANRLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYCLQ YDDFPWTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYGMN
WVRQAPGKGL EWVGRIRSKY NNYATYYADS VK**D**RFTISRD DSKNSLYLQM

NSLKTEDTAV YYCVRHGNFG NSYVSWFAYW GQGTLVTVSS **GGCGGG**EVAA
LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGG**DKT** **HTCPPCP**APE AAGGPSVFLF
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE
EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP
REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT
TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL
SPGK

【0419】 **5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基1-107對應於**5T4 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:157**)。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基108-115 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基116-240對應於**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:98**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基241-246 (帶底線的)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基247-274對應於異源二聚體-促進“E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基275-277對應於GGG連接體。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基278-287 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**5T4-M18**的所述第一多肽鏈的殘基288-504對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0420】 因為**CD3 mAb 1 M18**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**5T4-M18**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**5T4-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:181**)。類似地，**5T4-M18**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

12. 第十二示例性DART-B-型雙抗體

HIV-WT (HIV x CD3 mAb 1)

【0421】 第十二示例性**DART-B-**型雙抗體類似於上述**CD123-WT**雙抗體，但包含抗HIV抗體A32的HIV結合結構域，而不是**CD123-WT**雙抗體的CD123結合結構域。該第十二示例性DART-B-型雙抗體被命名為“**HIV-WT**”。

【0422】 因此，第十二示例性**DART-B-**型雙抗體(**HIV-WT**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:185**):

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL **GGGSGGGG**EV QLVESGGGLV QPGGSLRLSC AASGFTFSTY
AMNWVRQAPG KGLEWVGRIR SKYNNYATYY ADSVK**G**RFTI SRDDSKNSLY
LQMNSLKTED TAVYYCVRHG NFGNSYVSWF AYWGQGTLVT VSS**ASTKG**EV
AACEKEVAAL EKEVAALEKE VAALEKGGG**D** **KTHTCPPCP**A PEAAGGPSVF
LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG
QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY
KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL
SLSPGK

【0423】 **HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基1-110對應於**A32**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:169**)。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基119-243對應於**CD3 mAb 1**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是甘氨酸(G)。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基244-248(帶底線的)對應於連接體2 (ASTKG；**SEQ ID NO:21**；帶有單底線)。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基249-276對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAA**CE**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:31**)。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基277-279對應於GGG連接體。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘

基280-289 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**；帶有單底線)。**HIV-WT**的所述第一多肽鏈的殘基290-506對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0424】 **HIV-WT**的所述第二多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:186**)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG **GGGSGGGG**QV QLQESGPGLV KPSQTLSLSC TVSGGSSSSG
AHYWSWIRQY PGKGLEWIGY IHYSGNTYYN PSLKSRITIS QHTSENQFSL
KLNSVTVADT AVYYCARGTR LRTLRNAFDI WGQGTLVTVS S**ASTKG**KVAA
CKEKVAALKE KVAALKEKVA ALKE

【0425】 **HIV-WT**的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1**的所述VL結構域(**SEQ ID NO:56**)。**HIV-WT**的所述第二多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**HIV-WT**的所述第二多肽鏈的殘基119-241對應於**A32**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:209** (即，**SEQ ID NO:168**，其中X是L))。**HIV-WT**的所述第二多肽鏈的殘基242-246 (帶底線的)對應於連接體2 (ASTKG；**SEQ ID NO:21**)。**HIV-WT**的所述第二多肽鏈的殘基247-274對應於異源二聚體-促進“K-螺旋” (**K**VAA**CK**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E；**SEQ ID NO:32**)。

【0426】 **HIV-WT**的第三多肽鏈具有與**CD123-WT**雙抗體的第三多肽鏈相同的氨基酸序列(即，**SEQ ID NO:176**)。

13. 第十三示例性DART-B-型雙抗體

HIV-M18 (HIV x CD3 mAb 18)

【0427】 第十三示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**HIV-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域。該示例性DART-B-型雙抗體被命名為“**HIV-M18**”。

【0428】 因此，第十三示例性**DART-B**-型雙抗體(**HIV-M18**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:196**)：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL **GGGSGGGG**EV QLVESGGGLV QPGGSLRLSC AASGFTFSTY
GMNWVRQAPG KGLEWVGRIR SKYNNYATYY ADSVK**G**RFTI SRDDSKNSLY
LQMNSLKTED TAVYYCVRHG NFGNSYVSWF AYWGQGTLVT VSS**ASTKG**EV
AACEKEVAAL EKEVAALEKE VAALEKGGG**D KTHTCPPCP**A PEAAGGPSVF
LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG
QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY
KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL
SLSPGK

【0429】 **HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基1-110對應於**A32**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:169**)。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基119-243對應於**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是甘氨酸(G)。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基244-248 (帶底線的)對應於連接體2 (ASTKG；**SEQ ID NO:21**；帶有單底線)。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基249-276對應於異源二聚體-促進“E-螺旋”(**E**VAA**CE**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:31**)。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基277-279對應於GGG連接體。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基280-289 (帶底線的)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**；帶有單底

線)。**HIV-M18**的所述第一多肽鏈的殘基290-506對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0430】 因為**CD3 mAb 1 M18**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**HIV-M18**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**HIV-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:186**)。類似地，**HIV-M18**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

14. 第十四示例性DART-B-型雙抗體

CD19-WT (CD19 x CD3 mAb 1)

【0431】 第十四示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**HIV-WT**雙抗體，但包含**CD19 mAb 1**，而不是**A32**結合結構域。該第十四示例性**DART-B**-型雙抗體被命名為“**CD19-WT**”。

【0432】 因此，第十四示例性**DART-B**-型雙抗體(**CD19-WT**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:191**)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**G**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**A** **STKG**EVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKGGG**DKTHT** **CPPCP**APEAA GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL WCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

【0433】 **CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:165**)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基107-114

(帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基115-239對應於**CD3 mAb 1**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:55**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是甘氨酸 (G)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基240-244 (帶底線的)對應於連接體2 (ASTKG；**SEQ ID NO:21**；帶有單底線)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基245-272對應於異源二聚體-促進"E-螺旋" (**E**VAA**C**~~**E**~~K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:31**)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基273-275對應於GGG連接體(帶雙底線的)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基276-285 (帶有單底線)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD19-WT**的所述第一多肽鏈的殘基286-502對應於IgG1 "帶有杵的" CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0434】 **CD19-WT**的所述第二多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:192**)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG GGGSGGGGQV TLRESGPALV KPTQTLTLTC TFSGFSLSTS
GMGVGWIRQP PGKALEWLAH IWWDDDKRYN PALKSRLTIS KDTSKNQVFL
TMTNMDPVDT ATYYCARMEL WSYYFDYWGQ GTTVTVSSAS TKGKVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

【0435】 **CD19-WT**的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1**的所述VL結構域(**SEQ ID NO:56**)。**CD19-WT**的所述第二多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19-WT**的所述第二多肽鏈的殘基119-238對應於**CD19 mAb 1**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:164**)。**CD19-WT**的所述第二多肽鏈的殘基239-243(帶底線的)對應於連接體2 (ASTKG；**SEQ ID NO:21**)。**CD19-WT**的所述第二多肽鏈的殘基244-271對應於異

源二聚體-促進“K-螺旋” (**K**VAA**C****K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E；**SEQ ID NO:32**)。

【0436】 **CD19-WT**的第三多肽鏈具有與**CD123-WT**雙抗體的第三多肽鏈相同的氨基酸序列(即，**SEQ ID NO:176**)。

15. 第十五示例性DART-B-型雙抗體

CD19-M18 (CD19 x CD3 mAb 1 M18)

【0437】 第十五示例性**DART-B-**型雙抗體類似於上述**CD19-WT**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域。該第十五示例性**DART-B-**型雙抗體被命名為“**CD19-M18**”。

【0438】 因此，第十五示例性**DART-B-**型雙抗體 (**CD19-M18**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:197**)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYGMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**G**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**A** **STKG**EVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKGGG**DKTHT**_**CPPCP**APEAA GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL WCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

【0439】 **CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的所述VL結構域(**SEQ ID NO:165**)。**CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基107-114(帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基115-239對應於**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:98**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是甘氨酸(G)。**CD19-M18**的所述第一多

肽鏈的殘基240-244 (帶底線的)對應於連接體2 (ASTKG；**SEQ ID NO:21**；帶有單底線)。**CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基245-272對應於異源二聚體-促進 “E-螺旋” (**E**VAA**CE**K–**E**VAAL**E**K–**E**VAAL**E**K–**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:31**)。**CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基273-275對應於GGG連接體。**CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基276-285(帶有單底線)對應於連接體DKTHTCPPCP(**SEQ ID NO:40**)。**CD19-M18**的所述第一多肽鏈的殘基286-502對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0440】 因為**CD3 mAb 1 M18**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD19-M18**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD19-WT**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同 (即，**SEQ ID NO:192**)。類似地，**CD19-M18**的第三多肽鏈具有**CD123-WT**雙抗體的第三多肽鏈相同的氨基酸序列 (即，**SEQ ID NO:176**)。

16. 第十六示例性DART-B-型雙抗體

CD19.1-M18 (CD19.1 x CD3 mAb 1 M18)

【0441】 第十六示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD123-M18**雙抗體，但包含CD19結合結構域，其包含**CD19 mAb 1**的可替選VL結構域，而不是**CD123-M18**的CD123結合結構域。該示例性**DART-B**-型雙抗體被命名為“**CD19.1-M18**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M18**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0442】 因此，第十六示例性**DART-B**-型雙抗體 (**CD19.1-M18**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:193**)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKVT ITCSASSSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTDH FLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG

TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYGMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**D**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**G** **GCGGG**EVAAL
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEKGGG**DKTH** **TCPPCP**APEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS
PGK

【0443】 **CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的可替選VL結構域 (**SEQ ID NO:195**)。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基107-114 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基115-239對應於**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:98**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基240-245(帶有單底線)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基246-273對應於異源二聚體-促進“E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基274-276對應於GGG連接體。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基277-286 (帶有單底線)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD19.1-M18**的所述第一多肽鏈的殘基287-503對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0444】 **CD19.1-M18**的所述第二多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:194**)：

QAVVTQEPSL TVSPGGTVTL TCRSSTGAVT TSNYANWVQQ KPGQAPRGLI
GGTNKRAPWT PARFSGSLLG GKAALTITGA QAEDEADYYC ALWYSNLWVF
GGGTKLTVLG **GGGSGGGG**QV TLRESGPALV KPTQTLTLTC TFSGFSLSTS
GMGVGWIRQP PGKALEWLAH IWWDDDKRYN PALKSRLTIS KDTSKNQVFL
TMTNMDPVDT ATYYCARMEL WSYYFDYWGQ GTTVTVSS**GG** **CGGG**KVAALK
EKVAALKEKV AALKEKVAAL KE

【0445】 **CD19.1-M18**的所述第二多肽鏈的殘基1-110對應於**CD3 mAb 1**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:56**)。**CD19.1-M18**的所述第二多肽鏈的殘基111-118 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19.1-M18**的所述第二多肽鏈的殘基119-238對應於**CD19 mAb 1**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:164**)。**CD19.1-M18**的所述第二多肽鏈的殘基239-244 (帶有單底線)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD19.1-M18**的所述第二多肽鏈的殘基245-272對應於異源二聚體-促進“K-螺旋”(**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E-**K**VAAL**K**E；**SEQ ID NO:30**)。

【0446】 **CD19.1-M18**的第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

17. 第十七示例性DART-B-型雙抗體

CD19.1-M13 (CD19.1 x CD3 mAb 1 M13)

【0447】 第十七示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD19.1-M18**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M13**的所述VH結構並且被命名為“**CD19.1-M13**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M13**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0448】 因此，第十七示例性**DART-B**-型雙抗體(**CD19.1-M13**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列(**SEQ ID NO:201**)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKVT ITCSASSSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTDH FLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**D**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAEWG QGTLVTVSS**G GCGGG**EVAAL
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEKGGG**DKTH TCPPCP**APEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR

EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS PGK

【0449】 **CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的可替選VL結構域 (**SEQ ID NO:195**)。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基107-114 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基115-239對應於**CD3 mAb 1 M13**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:88**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基240-245 (帶有單底線)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基246-273對應於異源二聚體-促進 “E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基274-276對應於GGG連接體。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基277-286 (帶有單底線)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD19.1-M13**的所述第一多肽鏈的殘基287-503對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0450】 因為**CD3 mAb 1 M13**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD19.1-M13**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD19.1-M18**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:194**)。**CD19.1-M13**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

18. 第十八示例性DART-B-型雙抗體

CD19.1-M17 (CD19.1 x CD3 mAb 1 M17)

【0451】 第十八示例性**DART-B**-型雙抗體類似於上述**CD19.1-M18**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M17**的所述VH結構域並且被命名為“**CD19.1-M17**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M17**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0452】 因此，第十八示例性**DART-B**-型雙抗體 (**CD19.1-M17**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:202**)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKVT ITCSASSSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTDH FLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTTAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**D**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**G** **GCGGG**EVAAL
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEKGGG**DKTH** **TCPPCP**APEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS
PGK

【0453】 **CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的可替選VL結構域(**SEQ ID NO:195**)。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基107-114 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基115-239對應於**CD3 mAb 1 M17**的所述VH結構域(**SEQ ID NO:96**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基240-245 (帶有單底線)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基246-273對應於異源二聚體-促進 “E-螺旋” (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基274-276對應於GGG連接體。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基277-286 (帶有單底線)對應於連接體

DKTHTCPPCP(**SEQ ID NO:40**)。**CD19.1-M17**的所述第一多肽鏈的殘基287-503對應於IgG1 “帶有杵的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0454】 因為**CD3 mAb 1 M17**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD19.1-M17**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD19.1-M18**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同 (即，**SEQ ID NO:194**)。**CD19.1-M17**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT** 雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同 (即，**SEQ ID NO:176**)。

19. 第十九示例性DART-B-型雙抗體

CD19.1-M19 (CD19.1 x CD3 mAb 1 M19)

【0455】 第十九示例性**DART-B-**型雙抗體類似於上述**CD19.1-M18**雙抗體，但包含**CD3 mAb 1 M19**的所述VH結構域並且被命名為“**CD19.1-M19**”。如上所示，**CD3 mAb 1 M19**的所述VL結構域具有與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同的氨基酸序列。

【0456】 因此，第十九示例性**DART-B-**型雙抗體 (**CD19.1-M19**)的第一多肽鏈具有下列氨基酸序列 (**SEQ ID NO:203**)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKVT ITCSASSSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTDH FLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**D**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHKNIGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**G** **GCGGG**EVAAL
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEKGGG**DKTH** **TCPPCP**APEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LWCLVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTQKSLSLS
PGK

【0457】 **CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的可替選VL結構域(**SEQ ID NO:195**)。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基107-114 (帶雙底線的)對應於連接體1 (GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基115-239對應於**CD3 mAb 1 M9**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:100**)，其中Kabat位置65 (帶雙底線的)是天冬氨酸(D)。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基240-245 (帶有單底線)對應於連接體2 (GGCGGG；**SEQ ID NO:17**)。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基246-273對應於異源二聚體-促進"E-螺旋" (**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K-**E**VAAL**E**K；**SEQ ID NO:29**)。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基274-276對應於GGG連接體。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基277-286 (帶有單底線)對應於連接體DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)。**CD19.1-M19**的所述第一多肽鏈的殘基287-503對應於IgG1 "帶有杵的" CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:48**)。

【0458】 因為**CD3 mAb 1 M19**的所述VL結構域與**CD3 mAb 1**的所述VL結構域相同，所以**CD19.1-M19**的所述第二多肽鏈的氨基酸序列與**CD19.1-M18**雙抗體的所述第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:194**)。**CD19.1-M13**的所述第三多肽鏈的氨基酸序列與**CD123-WT**雙抗體的所述第三多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:176**)。

【0459】 具體考慮的另外的CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體類似於上述**CD19-WT** (參見，第十四示例性DART-B-型雙抗體)，但將包括**CD3 mAb 1 M13**、**M17**、或**M19**的所述VH結構域。這種雙抗體將包括具有下列氨基酸序列之一的第一多肽鏈：

【0460】 用於包含**CD3 mAb 1 M13**的所述VH結構域的這種雙抗體的

SEQ ID NO:204如下：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**G**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAEWG QGTLVTVSS**A** **STKG**EVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKGGG**DKTHT** **CPPCP**APEAA GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL WCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

【0461】 用於包含**CD3 mAb 1 M17**的所述VH結構域的這種雙抗體的

SEQ ID NO:205如下：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTTAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**G**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHGNFGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**A** **STKG**EVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKGGG**DKTHT** **CPPCP**APEAA GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL WCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

【0462】 用於包含**CD3 mAb 1 M19**的所述VH結構域的這種雙抗體的

SEQ ID NO:206如下：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVQPGG SLRLSCAASG FTFSTYAMNW
VRQAPGKGLE WVGRIRSKYN NYATYYADSV K**G**RFTISRDD SKNSLYLQMN
SLKTEDTAVY YCVRHKNIGN SYVSWFAYWG QGTLVTVSS**A** **STKG**EVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKGGG**DKTHT** **CPPCP**APEAA GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL WCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP

PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK

【0463】 這種雙抗體的所述第二多肽鏈將具有**CD19-WT**的相同氨基酸序列(即，**SEQ ID NO:192**)並且這種雙抗體的所述第三多肽鏈將具有與**CD123-WT**的所述第三多肽鏈相同的氨基酸序列(即，**SEQ ID NO:176**)。

【0464】 如鑒於本公開將會認識到的，具有對於可替選疾病抗原的結合位點和/或具有可替選變體抗CD3抗體的CD3結合結構域 (即，vCD3-結合結構域)的另外的**DART-B-**型雙抗體可同樣被構建(通過利用這種抗體的VL和VH結構域)。類似地，如本文所提供，可同樣構建可替選的**DART-B-**型分子，其併入可替選的連接體和/或可替選的異源二聚體-促進結構域。

【0465】 可用於本發明方法的能夠介導表達疾病抗原的細胞(例如，腫瘤細胞)的重定向殺傷的另外的示例性分子包括能夠結合下列的雙特異性分子：**CD19**和**CD3** (參見，例如，美國專利號7,235,641和WO 2016/048938)；**CD123**和**CD3** (參見，例如，Kuo, S.R. 等, (2012) "*Engineering a CD123xCD3 Bispecific scFv Immunofusion For The Treatment Of Leukemia And Elimination Of Leukemia Stem Cells*," Protein Eng Des Sel. 25:561-9；WO 2015/026892；WO 2016/086189)；**gpA33**和**CD3** (例如，WO 2015/026894)；**CEA**和**CD3** (例如，WO 2013/012414；WO 2017/118675)；**B7-H3**和**CD3** (例如，WO 2017/030926)；**HER2**和**CD3** (例如，WO 2012/143524)；**5T4**和**CD3** (例如，WO 2015/184203和WO 2013/041687)，以及其它具有CD3結合結構域的分子 (參見，例如，WO 2013/026835、WO 2013/158856、WO 2014/110601、WO 2016/182751、WO 2017/053469等)。如鑒於本公開將會認識到的，本發明的vCD3-結合結構域可以被併入到這樣的分子中。

C. 三價型分子

【0466】 三價型分子是能夠結合高達三個不同表位的三價分子。具體地，本發明的三價型分子能夠結合CD3和疾病抗原(例如，癌抗原或傳染病抗原)並且可進一步結合另外的抗原諸如另外的疾病抗原(例如，癌抗原或傳染病抗原)或在效應細胞表面上表達的另外抗原(例如，CD8)，或者可結合至CD3的第二表位或該疾病抗原的第二表位。三價型分子包含Fc結構域。本文提供的是示例性三價型雙抗體，其由四條多肽鏈構成並且具有一個對於CD3的結合位點，一個對於癌抗原CD123或對於癌抗原5T4的結合位點和一個對於CD8的結合位點(參見，例如，**圖6A**)。本發明的示例性三價型分子可利用上面提供的**DART-B**-型雙抗體的第一和第二多肽鏈結合下面提供的示例性第三和第四多肽鏈(其提供CD8結合結構域）產生。第一和第二多肽鏈形成CD3和DA結合結構域，而第三和第四多肽鏈形成CD8結合結構域，第一和第三多肽鏈形成Fc結構域。

【0467】 下面提供的示例性三價型分子各自併入具有**SEQ ID NO:187**的氨基酸序列的第三多肽鏈：

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS DFGMNWVRQA PGKGLEWVAL
IYYDGSNKFY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKPH
YDGYYHFFDS WGQGTLVTVS SASTKGPSVF PLAPSSKSTS GGTAALGCLV
KDYFPEPVTV SWNSGALTSG VHTFPAVLQS SGLYSLSSVV TVPSSSLGTQ
TYICNVNHKP SNTKVDKRVE PKSCDKTHTC PPCPAPEAAG GPSVFLFPPK
PKDTLMISRT PEVTCVVVDV SHEDPEVKFN WYVDGVEVHN AKTKPREEQY
NSTYRVVSVL TVLHQDWLNG KEYKCKVSNK ALPAPIEKTI SKAKGQPREP
QVYTLPPSRE EMTKNQVSLS CAVKGFYPSD IAVEWESNGQ PENNYKTTPP
VLDSDGSFFL VSKLTVDKSR WQQGNVFSCS VMHEALHNRY TQKSLSLSPG
K

【0468】 這種示例性三價型分子的所述第三多肽鏈的殘基1-121對應於抗CD8抗體**TRX2**的所述VH結構域 (**SEQ ID NO:120**)。這種示例性三價型分子的所述第三多肽鏈的殘基121-219對應於IgG1 CH1結構域 (**SEQ ID NO:1**)。這種示例

性**三價**型分子的所述第三多肽鏈的殘基220-234對應於IgG1鉸鏈結構域 (**SEQ ID NO:5**)。殘基235-451對應於IgG1“帶有臼的” CH2-CH3結構域 (**SEQ ID NO:50**)。

【0469】 下面描述的示例性**三價**型分子各自併入具有**SEQ ID NO:188**的氨基酸序列的第四多肽鏈：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKGSQDIN NYLAWYQQKP GKAPKLLIYN TDILHTGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYCYQ YNNGYTFGQG TKVEIKRTVA APSVFIFPPS DEQLKSGTAS VVCLLNNFYP REAKVQWKVD NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLTL SKADYEKHKV YACEVTHQGL SSPVTKSFNR GEC

【0470】 這種示例性**三價**型分子的所述第四多肽鏈的殘基1-106對應於抗CD8抗體**TRX2**的所述VL結構域 (**SEQ ID NO:121**)。殘基107-213對應於CL κ結構域 (**SEQ ID NO:14**)。

【0471】 示例性**三價**型分子的多肽鏈的序號(**SEQ ID NOs**.)被總結在表**10**中。

表10
CD123 x CD3 x CD8三價分子

三價型編號	疾病抗原-結合結構域	CD3結合結構域	多肽鏈				命名
			第一	第二	第三	第四	
			CD123/CD3結合結構域		CD8結合結構域		
1	CD123 mAb 1	CD3 mAb 1	SEQ ID NO:174	SEQ ID NO:175	SEQ ID NO:187	SEQ ID NO:188	T-CD123-WT
2		CD3 mAb 1 M1	SEQ ID NO:177				T-CD123-M1
3		CD3 mAb 1 M2	SEQ ID NO:178				T-CD123-M2
4		CD3 mAb 1 M18	SEQ ID NO:179				T-CD123-M18

1. 第一示例性三價型分子

T-CD123-WT (CD123 mAb 1 x CD3 mAb 1 x TRX2)

【0472】 第一示例性三價型分子(被命名為“**T-CD123-WT**”)包含**CD123 mAb 1**的VH和VL結構域，**CD3 mAb 1**的VH和VL結構域，和抗CD8抗體**TRX2**的VH和VL結構域。如上所示，所述第一多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-WT**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:174**)。類似地，所述第二多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-WT**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:175**)。還如上所述，所有示例性三價型分子的第三和第四多肽鏈的氨基酸序列分別為**SEQ ID NO:187**和**SEQ ID NO:188**。

2. 第二示例性三價型分子

T-CD123-M1 (CD123 mAb 1 x CD3 mAb 1 M1 x TRX2)

【0473】 第二示例性三價型分子(被命名為“**T-CD123-M1**”)包含**CD123 mAb 1**的VH和VL結構域，**CD3 mAb 1 M1**的VH和VL結構域，以及**TRX2**的VH和VL結構域。如上所示，所述第一多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-M1**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:177**)。類似地，所述第二多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-WT**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:175**)。還如上所示，所有示例性三價型分子的第三和第四多肽鏈的氨基酸序列分別是**SEQ ID NO:187**和**SEQ ID NO:188**。

3. 第三示例性三價型分子

T-CD123-M2 (CD123 mAb 1 x CD3 mAb 1 M2 x TRX2)

【0474】 被命名為**T-CD123-M2**的第三示例性三價型分子包含**CD123 mAb 1**的VH和VL結構域，**CD3 mAb 1 M2**的VH和VL結構域，和**TRX2**的VH和VL結構域。如上所示，所述第一多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-M2**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:178**)。類似地，所述第二多肽鏈的氨基酸序列與上述

CD123-WT雙抗體的相同 (**SEQ ID NO:175**)。還如上所示，所有示例性**三價**型分子的第三和第四多肽鏈的氨基酸序列分別是**SEQ ID NO:187**和**SEQ ID NO:188**。

4. 第四示例性三價型分子

T-CD123-M18 (CD123 mAb 1 x CD3 mAb 1 M18 x TRX2)

【0475】 被命名為**T-CD123-M18**的第四示例性**三價**型分子包含**CD123 mAb 1**的VH和VL結構域，**CD3 mAb 1 M18**的VH和VL結構域，以及**TRX2**的VH和VL結構域。如上所示，所述第一多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-M18**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:179**)。類似地，所述第二多肽鏈的氨基酸序列與上述**CD123-WT**雙抗體的相同(**SEQ ID NO:175**)。還如上所示，所有示例性**三價**型分子的第三和第四多肽鏈的氨基酸序列分別是**SEQ ID NO:187**和**SEQ ID NO:188**。

【0476】 如鑒於本公開將會認識到的，具有對於可替選疾病抗原的結合位點和/或具有可替選變體抗CD3抗體的CD3結合結構域 (即，vCD3-結合結構域)的另外的**三價**型雙抗體可同樣被構建(通過利用這種抗體的VL和VH結構域)。類似地，如本文所提供，可同樣構建可替選的**三價型**分子，其併入可替選的連接體和/或可替選的異源二聚體-促進結構域。

【0477】 可用於本發明方法的能夠介導表達疾病抗原的細胞(例如，腫瘤細胞)的重定向殺傷的另外的示例性分子包括能夠結合下列的三價分子：**B7-H3**、**CD3**和**CD8** (參見，例如，WO 2015/184203)；**5T4**、**CD3**和**CD8** (參見，例如，WO 2015/184203)；**ROR1**、**CD3**和**CD8** (參見，例如，WO 2015/184203和WO 2017/106061)；**HIV**、**CD3**和**CD8** (參見，例如，WO 2015/184203；WO2017/011413；和WO2017/011414)；**gpA33**、**CD3**和**DR5** (參見，例如，WO 2015/184207)；**EphA2**、**CD3**和**DR5** (參見，例如，WO 2015/184207)；**gpA33**、

CD3和**EphA2** (參見，例如，WO 2015/184207)；和其它三價分子 (參見，例如，WO 2016/105450；WO 2016/115274；WO 2017/180913)。如鑒於本公開將會認識到的，本發明的vCD3-結合結構域可被併入這樣的分子中。

VIII. 生產方法

【0478】 本發明的分子最優選地通過編碼這種多肽的核酸分子的重組表達生產，如本領域所熟知的。

【0479】 本發明的多肽可方便地利用固相肽合成製備(Merrifield, B. (1986) "S*olid Phase Synthesis*," Science 232(4748):341-347；Houghten, R.A. (1985) "*General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides: Specificity Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 82(15):5131-5135；Ganesan, A. (2006) "*Solid-Phase Synthesis In The Twenty-First Century*," Mini Rev. Med. Chem. 6(1):3-10)。

【0480】 抗體可利用本領域已知的任何方法被重組製備並且被表達。抗體可通過首先分離從宿主動物製備的抗體、獲得基因序列、和利用該基因序列在宿主細胞(例如CHO細胞)中重組表達抗體而重組製備。可以採用的另一方法是在植物(例如，煙草)或轉基因牛奶中表達抗體序列。在植物或牛奶中重組表達抗體的合適方法已經被公開(參見，例如Peeters等(2001) "*Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants*," Vaccine 19:2756；Lonberg, N.等(1995) "*Human Antibodies From Transgenic Mice*," Int. Rev. Immunol 13:65-93；和Pollock等(1999) "*Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies*," J. Immunol. Methods 231:147-157)。製備抗體衍生物(例如人源化、單鏈等)的合適

方法在本領域是已知的，並且在上面已經進行描述。在另一替選方案中，抗體可通過噬菌體展示技術重組製備(參見，例如美國專利號5,565,332、5,580,717、5,733,743、6,265,150；和Winter, G.等(1994) "*Making Antibodies By Phage Display Technology*," Annu. Rev. Immunol. 12.433-455)。

【0481】 包含目標多核苷酸(例如，編碼本發明的結合分子的多肽鏈的多核苷酸)的載體可通過許多合適手段中的任何一種引入到宿主細胞中，所述手段包括電穿孔；利用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-葡聚糖或其它物質的轉染；微粒轟擊；脂質轉染和感染(例如，其中載體是感染劑，諸如牛痘病毒)。引入載體或多核苷酸的選擇將常常取決於宿主細胞的特徵。

【0482】 能夠過表達異源DNA的任何宿主細胞可用於表達目標多肽或蛋白的目的。合適的哺乳動物宿主細胞的非限制性實例包括但不限於COS、HeLa和CHO細胞。

【0483】 本發明包括包含本發明的結合分子的氨基酸序列的多肽。本發明的多肽可通過本領域已知的程式製備。多肽可通過抗體的蛋白水解或其它降解、通過如上所述的重組方法(即，單個多肽或融合多肽)或通過化學合成產生。抗體的多肽、尤其高達約50個氨基酸的較短多肽，通過化學合成方便製備。化學合成的方法在本領域是已知的並且是可商購的。

【0484】 本發明包括所公開的結合分子的變體，其包括不顯著影響這種分子的性能的功能上等同的多肽以及具有增加的或減少的活性的變體。多肽的修飾在本領域是常規實踐並且不需要在本文進行詳細描述。修飾的多肽的實例包括具有氨基酸殘基的保守置換、沒有顯著不利地改變化學類似物的功能活性或用途的氨基酸的一個或多個缺失或添加的多肽。可彼此保守置換的氨基酸殘基

包括但不限於：甘氨酸/丙氨酸；絲氨酸/蘇氨酸；纈氨酸/異亮氨酸/亮氨酸；天冬醯胺/穀氨醯胺；天冬氨酸/谷氨酸；賴氨酸/精氨酸；和苯丙氨酸/酪氨酸。這些多肽也包括糖基化和非糖基化的多肽，以及具有其它翻譯後修飾(諸如，例如用不同糖的糖基化、乙醯化和磷酸化)的多肽。優選地，氨基酸置換將是保守的，即置換的氨基酸將具有與原始氨基酸相似的化學性能。這種保守置換是本領域已知的並且已經在上面提供實例。氨基酸修飾的範圍可從改變或修飾一個或多個氨基酸至區域諸如可變結構域的完全重新設計。可變結構域中的變化可改變結合親和性和/或特異性。修飾的其它方法包括利用本領域已知的偶聯技術，其包括但不限於酶促方式、氧化置換和螯合。修飾可用於，例如連接用於免疫測試的標籤，諸如連接用於放射性免疫測試的放射性部分。修飾的多肽利用本領域建立的程式製備並且可利用本領域已知的標準測試篩選。

【0485】 在一種實施方式中，提供了包含輕鏈、重鏈或者輕鏈和重鏈兩者的融合多肽。在另一實施方式中，融合多肽包含異源免疫球蛋白恒定區。在另一實施方式中，融合多肽包含從表面上沉積的雜種瘤(publicly-deposited hybridoma)中產生的抗體的VH和VL結構域。為了本發明的目的，抗體融合蛋白包含特異性地結合CD3、或者CD3和疾病抗原兩者的一個或多個多肽結構域，並且其包含天然分子中未連接到其上的另一氨基酸序列，例如來自另一區的異源序列或同源序列。

【0486】 本發明特別地涵蓋綴合到診斷或治療部分的這種結合分子(例如，抗體、雙抗體、三價結合分子等)。為了診斷目的，本發明的結合分子可被偶聯到可檢測物質。這種結合分子可用於監測和/或預後疾病的發展或進展作為臨床測試程式的部分，諸如測定特定療法的功效。可檢測物質的實例包括各種

酶(例如，辣根過氧化物酶、β-半乳糖苷酶等)、輔基(例如，抗生物素蛋白/生物素)、螢光物質(例如，傘形酮、螢光素、或藻紅蛋白)、發光物質(例如，魯米諾)、生物發光物質(例如，螢光素酶或發光蛋白質)、放射性物質(例如，碳14、錳54、鍶85或鋅65)、正電子發光金屬和非放射性順磁金屬離子。可檢測物質可利用本領域已知的技術直接地或者通過中間體(例如連接體)間接地被偶聯或綴合至結合分子。

【0487】 為了治療目的，本發明的結合分子可被綴合至治療部分，諸如細胞毒素(例如，細胞靜止劑或殺細胞劑)、治療劑或放射性金屬離子，例如、α-發射劑。細胞毒素或細胞毒性劑包括對細胞有害的任何試劑，諸如，例如假單胞菌外毒素、白喉毒素、肉毒桿菌毒素A至F、篦麻毒素、相思豆毒素、皂草素和這種試劑的細胞毒素片段。治療劑包括具有治療效果以預防性地或治療性地治療障礙的任何試劑。這種治療劑可以是化學治療劑、蛋白質或多肽治療劑，並且包括具有期望的生物學活性和/或改變給定的生物學應答的治療劑。治療劑的實例包括烷基化劑、血管生成抑制劑、抗有絲分裂劑、激素治療劑和可用於治療細胞增生性障礙的抗體。治療部分可利用本領域已知的技術直接地或者通過中間體(例如連接體)間接地被偶聯或綴合至結合分子。

IX. 本發明的結合分子的用途

【0488】 如上所討論，能夠結合CD3和疾病抗原的分子能夠介導靶細胞(即，癌細胞或病原體感染細胞)的重定向細胞殺傷，所述靶細胞(即，癌細胞或病原體感染細胞)在其細胞表面上表達這種疾病抗原。這種分子可用於治療目的，例如在患有癌症或感染的受試者中。因此，本發明的結合分子具有治療與在這種靶細胞的表面上的疾病抗原(尤其癌抗原或病原體相關抗原)的表達相關

或特徵在於所述疾病抗原(尤其癌抗原或病原體相關抗原)的表達的任何疾病或病況的能力。因此，沒有限制地，本發明的結合分子可用於治療癌症，尤其特徵在於表達癌抗原的癌症。本發明的結合分子可用於治療感染，尤其特徵在於表達病原體相關抗原的感染。

【0489】 具體地，本發明涵蓋這樣的方法，其中所述能夠結合CD3的分子包含能夠結合CD3的抗體的表位元-結合結構域並且也包含能夠結合靶細胞表面上的疾病抗原(具體地，癌抗原或病原體相關抗原)的表位元-結合結構域以便介導靶細胞的重定向殺傷(例如，通過介導重定向細胞殺傷(例如，重定向的T細胞細胞毒性))。

【0490】 在具體實施方式中，能夠結合CD3和疾病抗原的分子是雙特異性抗體或包含其表位元結合結構域的分子(包括雙特異性scFv、BiTe、TandAb)。

【0491】 在具體實施方式中，能夠結合CD3和疾病抗原的分子是雙特異性雙抗體。

【0492】 在具體實施方式中，能夠結合CD3和疾病抗原的分子是三價結合分子。

【0493】 “**提供治療(providing a therapy)**”或“**治療(treating)**”是指與任何有利或期望結果的指征相關的組合物的任何施用，所述結果包括但不限於任何臨床結果，諸如減少疾病所引起的症狀；減輕感染的症狀(例如，病毒載量、發燒、疼痛、膿毒症等)；腫瘤(在癌症背景下，例如乳腺癌、胃癌或前列腺癌的腫瘤)尺寸的縮小；癌症細胞生長的減緩；轉移的開始、形成或進展的延遲；疾病所引起的症狀的減少；受體受試者生活品質的增加；提供以治療受試者疾病

的其它藥物劑量的減少；另一藥物效果諸如經由靶向和/或內化的增強；疾病進展的延遲；和/或受試者存活的延長。

【0494】 用於治療的受試者包括動物，最優選地哺乳動物物種，諸如非靈長類(例如，牛、馬、貓、犬、齧齒動物等)或靈長類(例如，猴子如食蟹猴、人等)。在優選的實施方式中，受試者是人。

【0495】 可通過本發明的各種實施方式治療的示例性障礙包括但不限於增生性障礙、細胞增殖性障礙、和癌症(尤其是表達由能夠介導重定向細胞殺傷的分子所結合的癌抗原的癌症)、病原體相關疾病(尤其是與由能夠介導重定向細胞殺傷的分子所結合的病原體相關抗原的表達相關的慢性病毒感染)。在各種實施方式中，本發明涵蓋用於治療、預防或管理受試者中的疾病或障礙的方法或組合物，其包括向受試者施用治療有效量的本發明的結合分子。這種分子尤其可用於預防、抑制、減少原發腫瘤的生長或進展和腫瘤的轉移，以及用於減少病原體載量或消除病原體感染細胞。儘管不意欲受特定作用機理的束縛，但是這種分子可介導針對靶細胞的效應子功能、促進免疫系統對靶細胞的啟動、使細胞表面抗原和/或受體在靶細胞上交聯和增強細胞凋亡或負增長調節信號、或其組合，引起靶細胞的清除和/或數量減少。

【0496】 可以由本發明的分子和由本發明的方法治療的癌症包括但不限於：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【0497】 具體地，本發明的CD19 x CD3結合分子、CD19 x CD3 x CD8結合分子、CD123 x CD3結合分子和CD123 x CD3 x CD8結合分子可用於治療血液

癌，其包括但不限於急性髓細胞樣白血病(AML)；慢性髓細胞性白血病(CML)；脊髓增生異常綜合征(MDS)；急性B淋巴細胞性白血病(B-ALL)；慢性淋巴細胞性白血病(CLL)，包括CLL的裡克特綜合征或裡克特轉化；毛細胞白血病(HCL)、鈍性漿細胞樣樹突狀細胞腫瘤(BPDCN)；非霍奇金淋巴瘤(NHL)，包括套細胞淋巴瘤(MCL)和小淋巴細胞淋巴瘤(SLL)；霍奇金淋巴瘤；系統性肥大細胞增多症和伯基特淋巴瘤。

【0498】 可通過本發明的LAG-3結合分子治療的病原體-相關疾病包括慢性的病毒性、細菌性、真菌性和寄生蟲性的感染。可通過本發明的LAG-3結合分子治療的慢性感染包括愛潑斯坦-巴爾病毒、甲型肝炎病毒(HAV)；乙型肝炎病毒(HBV)；丙型肝炎病毒(HCV)；皰疹病毒(例如，HSV-1、HSV-2、HHV-6、CMV)、人免疫缺陷病毒(HIV)、水泡性口炎病毒(VSV)、桿菌(*Bacilli*)、檸檬酸桿菌(*Citrobacter*)、霍亂菌(*Cholera*)、白喉菌(*Diphtheria*)、腸桿菌(*Enterobacter*)、淋球菌(*Gonococci*)、幽門螺桿菌(*Helicobacter pylori*)、克雷伯氏菌(*Klebsiella*)、軍團菌(*Legionella*)、腦膜炎球菌(*Meningococci*)、分枝桿菌(mycobacteria)、假單胞菌(*Pseudomonas*)、肺炎球菌(*Pneumonococci*)、立克次氏體細菌(rickettsia bacteria)、沙門氏菌(*Salmonella*)、沙雷氏菌(*Serratia*)、葡萄球菌(*Staphylococci*)、鏈球菌(*Streptococci*)、破傷風(*Tetanus*)、麴黴屬真菌(*Aspergillus*)(煙麴黴(fumigatus)、黑麴黴(niger)等)、皮膚芽孢桿菌(*Blastomyces dermatitidis*)、念珠菌屬(*Candida*)(白色念珠菌(albicans)、克柔念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、熱帶念珠菌等(tropicalis)等)、新生隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、屬毛黴菌目(Genus *Mucorales*)(毛黴菌(mucor)、犁頭黴(absidia)、根黴菌(rhizopus))、申克氏胞絲菌(*Sporothrix schenkii*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗

球孢子菌(*Coccidioides immitis*)、莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)、鉤端螺旋體病(*Leptospirosis*)、伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)、寄生蠕蟲病(helminth parasite)(鉤蟲、絛蟲、吸蟲、扁蟲(例如血吸蟲(*Schistosomia*))、賈第蟲(*Giardia lambia*)、旋毛蟲(*trichinella*)、脆雙核阿米巴(*Dientamoeba Fragilis*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)和杜氏利什曼原蟲(*Leishmania donovani*))。

X. 藥物組合物

【0499】 本發明涵蓋包括能夠結合CD3並且也能夠結合至疾病抗原的分子(例如，**DA x CD3結合分子**，其包括例如，**DA x CD3 x CD8結合分子**、**DA x CD3 x DA結合分子**等)的組合物。本發明的組合物包括可用於製備藥物組合物的原料藥組合物(例如，不純或非滅菌的組合物)和可以以單位劑型的製劑使用的藥物組合物(即，適合於施用至受試者或患者的組合物)。這種組合物包括預防或治療有效量的能夠結合CD3並且也能夠結合至疾病抗原以便能夠介導靶細胞(例如，癌症細胞、病原體感染細胞等)的重定向殺傷的分子，或者這種試劑和藥學上可接受的載體的組合。優選地，本發明的組合物包括預防或治療有效量的本發明的結合分子和藥學上可接受的載體。在優選的方面，這種組合物是基本上純化的(即，基本上不含限制其效果或產生不期望的副作用的物質)。

【0500】 這種組合物的各種製劑可用於施用。除了藥理活性劑之外，本發明的組合物可包含合適的藥學上可接受的載體(包括賦形劑和輔料)，其是本領域熟知的並且其是有助於藥理有效物質的施用或者有助於將活性化合物加工成可藥學上用於遞送至作用位點的製劑的相對惰性物質。例如，賦形劑可給予形狀

或稠度(consistency)、或者充當稀釋劑。合適的賦形劑包括但不限於穩定劑、潤濕和乳化劑、用於改變滲透壓的鹽、膠囊化劑、緩衝劑、和皮膚滲透增強劑。

【0501】 在具體實施方式中，術語**“藥學上可接受的”**指被聯邦政府或州政府管理機構許可的或列於美國藥典或其他通常獲得認可的藥典中，用於動物，特別是用於人類的。術語**“載體”**指與治療劑一起施用的稀釋劑、佐劑(例如弗氏佐劑(完全和不完全)、賦形劑或媒介。通常，本發明組合物的成分被單獨提供或以單位劑型混合在一起，例如作為在標明活性劑的量的氣密密封容器(如安瓿或袋(sachette))中的乾燥凍乾粉或無水濃縮物。當通過輸注施用組合物時，其可以用含有無菌的藥物級水或生理鹽水(saline)的輸注瓶分配。當通過注射施用所述組合物時，則可以提供注射用無菌水或生理鹽水的安瓿，以便可以在施用前混合所述成分。

【0502】 本發明也提供了藥物包(pack)或試劑盒，其包括一個或多個容器，所述容器填充有單獨的本發明的結合分子或填充有本發明的結合分子與這種藥學上可接受的載體。另外，用於治療疾病的一種或多種其他預防或治療的試劑也可包括在藥物包或試劑盒中。本發明也提供了這樣的藥物包或試劑盒，其包括一個或多個容器，所述容器填充有本發明藥物組合物的一種或多種成分。任選地與這類容器關聯的可以是以由管理藥物或生物製品的製造、使用或銷售的政府機構規定的形式的告示(notice)，所述告示反映了管理機構許可製造、使用或銷售，供人類施用。

【0503】 本發明提供可用於上述方法的試劑盒。試劑盒可包括本發明的結合分子中的任一種。試劑盒還可在一個或多個容器中包括用於治療癌症的一種或多種其他預防和/或治療的試劑。

XI. 施用方法

【0504】 本發明的組合物可提供通過向受試者施用有效量的本發明的藥物組合物，用於治療、預防和改善與疾病、障礙或感染相關的一種或多種症狀。在優選的方面中，這類組合物是基本上純的(即基本上不含限制其效果或產生不期望的副作用的物質)。在具體實施方式中，受試者是動物，優選哺乳動物，如非靈長類(例如牛科動物、馬、貓科動物、犬科動物、齧齒動物等)或靈長類(例如，猴子如食蟹猴、人等)。在優選的實施方式中，受試者是人。

【0505】 施用本發明的分子或藥物組合物的方法包括但不限於，腸胃外施用(例如皮內、肌內、腹膜內、靜脈內和皮下)、硬膜外和粘膜(例如鼻內和口服路徑)。在具體實施方式中，肌內、靜脈內或皮下施用本發明的結合分子。可通過任何方便的路徑，例如通過輸注或彈丸注射、通過經上皮或粘膜皮膚保護層(例如，口腔粘膜、直腸和腸道粘膜等)吸收，施用所述組合物，並且所述組合物可與其他生物活性試劑一起施用。施用可以是全身的或局部的。

【0506】 本發明也提供了本發明的結合分子的製劑被包裝在指示分子的量的氣密密封容器，如安瓿或袋中。在一個實施方式中，這種分子作為乾燥滅菌的凍乾粉或無水濃縮物提供在氣密密封容器中並且可以例如用水或生理鹽水重構至適當的濃度，以施用至受試者。優選地，本發明的結合分子作為無菌的凍乾粉提供在氣密密封容器中。

【0507】 本發明的結合分子的凍幹製劑應在它們的初始容器中儲存在2℃和8℃之間並且該分子應在重構之後的12小時內、優選地6小時內、5小時內、3小時內或1小時內施用。在可替選的實施方式中，這種分子以液體形式提供在指

示分子、融合蛋白或綴合分子的量和濃度的氣密密封容器中。優選地，液體形式提供的這種結合分子提供在氣密密封容器中。

【0508】 可通過標準臨床技術確定本發明的這種製劑有效治療、預防或改善與障礙相關的一種或多種症狀的量。製劑中採用的精確劑量也取決於施用的路徑和病症的嚴重性，並且應根據醫師的判斷和每個患者的情況決定。有效的劑量可從源自體外或動物模型測試系統的劑量回應曲線推出。

【0509】 如本文使用的，藥物組合物的“**有效量**”是足夠實現有益的或期望的結果的量，所述結果包括但不限於臨床結果，如減輕疾病引起的症狀、緩解感染的症狀(例如，病毒載量、發燒、疼痛、敗血症等)或癌症的症狀(例如癌症細胞的增殖、腫瘤存在、腫瘤轉移等)，從而提高患有該疾病的那些人的生活品質、減少治療該疾病需要的其它藥物的劑量、增強另一藥物治療的效果(諸如經靶向和/或內化)、延遲疾病的進展、和/或延長個體的存活。當應用於單個活性成分、單獨施用時，該術語是指單獨這個成分。當應用於組合時，該術語是指無論組合地、連續地或者同時地施用，引起治療效果的活性成分的組合量。

【0510】 有效量可在一次或多次施用中施用。為了本發明的目的，藥物、化合物或藥物組合物的有效量是這樣的量：其足以直接地或間接地殺死癌症細胞和/或減少癌症細胞的增殖，和/或消除、減少和/或延遲從癌症原發部位轉移的發展；或降低傳染性病原體的增殖(或效果)和降低和/或延遲病原體介導的疾病的發展。在一些實施方式中，藥物、化合物或藥物組合物的有效量可以結合或不結合另一藥物、化合物或藥物組合物而實現。因此，“有效量”可在施用一種或多種化療劑的背景下考慮，並且如果結合一種或多種其他試劑，期望的結

果可以實現或被實現，則可以考慮以有效量給予單一試劑。儘管個體需求不同，但是確定每種組分的有效量的最佳範圍在本領域技術人員的技能範圍內。

【0511】 對於本發明涵蓋的結合分子，優選基於接收受試者的體重(kg)確定施用至患者的劑量。對於本發明涵蓋的結合分子，施用至患者的劑量通常是受試者體重的約0.01 μg/kg至約30 mg/kg或更高。

【0512】 可通過修飾比如例如脂質化增強所述分子的吸收和組織滲透而降低或改變施用本發明的結合分子的劑量和頻率。

【0513】 可計算用作單一試劑療法的施用至患者的本發明的結合分子的劑量。可替選地，所述分子可以結合其它治療性組合物使用，並且施用至患者的劑量小於當所述分子用作單一試劑療法時使用的劑量。

【0514】 本發明的藥物組合物可局部施用至需要治療的區域；這可通過例如且無限制性地局部輸注、通過注射或者通過移植物實現，所述移植物是多孔的、無孔的或膠狀的材料，其包括膜，諸如sialastic膜，或纖維。優選地，當施用本發明的分子時，必須注意使用所述分子不吸附至其上的材料。

【0515】 本發明的組合物可以在囊泡尤其脂質體中遞送(參見Langer (1990) *"New Methods Of Drug Delivery,"* Science 249:1527-1533)；Treat等, in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989)；Lopez-Berestein，出處同上，pp. 317-327)。

【0516】 利用治療或預防有效量的本發明的結合分子治療受試者可包括單次治療，或優選地可包括一系列治療。在優選的實例中，用本發明的藥物組合物治療受試者約1至10周之間，優選地2至8周之間，更優選地約3至7周之間，

甚至更優選地約4周、5周或6周。本發明的藥物組合物可以每天一次施用，其中這種施用一周發生一次、一周發生兩次、每兩周發生一次、一月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、一年發生兩次或一年發生一次等。可替選地，本發明的藥物組合物可以一天兩次施用，其中這種施用一周發生一次、一周發生兩次、每兩周發生一次、一月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、一年發生兩次或一年發生一次等。可替選地，本發明的藥物組合物可以一天三次施用，其中這種施用一周發生一次、一周發生兩次、每兩周發生一次、一月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、一年發生兩次或一年發生一次等。也將認識到用於治療的分子的有效劑量可隨著具體治療過程的推移而增加或減少。

XII. 本發明的具體實施方式

【0517】 本發明的具體實施方式包括實施方式**E1-E27**：

E1. DA x CD3結合分子，其包含能夠結合CD3的表位的CD3-結合結構域和能夠結合疾病抗原的表位的疾病抗原-結合結構域，其中所述CD3-結合結構域包括：

(I) (A) 包含選自由**SEQ ID NO:99**、**SEQ ID NO:91**、**SEQ ID NO:93**、**SEQ ID NO:95** 和 **SEQ ID NO:97**組成的組的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(II) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含選自由**SEQ ID NO:69**、**SEQ ID NO:71**、**SEQ ID NO:73**、**SEQ ID NO:75**、**SEQ ID NO:77**、**SEQ ID NO:79**、**SEQ ID NO:81**、**SEQ ID NO:83**、**SEQ ID NO:85**、**SEQ ID NO:87**、**SEQ ID NO:89**、**SEQ ID NO:101**、**SEQ ID NO:103**、**SEQ ID NO:105**和 **SEQ ID NO:107**組成的組的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(III) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含選自由**SEQ ID NO:109**或**SEQ ID NO:111**組成的組的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(IV) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含選自由**SEQ ID NO:113**和**SEQ ID NO:115**組成的組的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

E2. **E1**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述CD3-結合結構域包括：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:56**的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含選自由**SEQ ID NO:98**、**SEQ ID NO:68**、**SEQ ID NO:70**、**SEQ ID NO:72**、**SEQ ID NO:74**、**SEQ ID NO:76**、**SEQ ID NO:78**、**SEQ ID NO:80**、**SEQ ID NO:82**、**SEQ ID NO:84**、**SEQ ID NO:86**、**SEQ ID NO:88**、**SEQ ID NO:90**、**SEQ ID NO: 92**、**SEQ ID NO:94**、**SEQ ID NO:96**、**SEQ ID NO:100**、**SEQ ID NO:102**、**SEQ ID NO:104**和**SEQ ID NO:106**組成的組的氨基酸序列的VH結構域；或

(II) (A) 包含選自由**SEQ ID NO:108**、**SEQ ID NO:110**、**SEQ ID NO:112**和**SEQ ID NO:114**組成的組的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的VH結構域。

E3. **E1**或**E2**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**是雙特異性抗體、雙特異性雙抗體、雙特異性scFv、雙特異性TandAb或三價結合分子。

E4. **E1-E3**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**能夠結合多於一個的疾病抗原和/或效應細胞的不同細胞表面分子。

E5. **E1-E4**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述疾病抗原是癌抗原。

E6. **E1-E4**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述疾病抗原是病原體相關抗原。

E7. **E4-E6**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述效應細胞的不同細胞表面分子是CD2、CD8、CD16、TCR、NKp46或NKG2D。

E8. **E5**或**E7**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述癌抗原選自由下列癌抗原組成的組：19.9、4.2、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D$_1$56-22、DR5、E$_1$系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4 泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R$_{24}$、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體

衍生肽、T_5A_7、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5和Y半抗原Le^y。

E9. **E8**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述疾病抗原是B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、EGRF、EphA2、gpA33、HER2/neu、VEGF、5T4、IL13Rα2、CD123、CD19或ROR1。

E10. **E6**或**E7**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

E11. **E1-E10**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**包含：相互共價結合的第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中：

(A) 所述第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向上包含：

(i) 結構域1，其包含：

(1) 亞結構域(1A)，其包含能夠結合至所述疾病抗原的表位的單克隆抗體的VL結構域 (VL_{DA})；和

(2) 亞結構域(1B)，其包含能夠結合至所述CD3的表位的單克隆抗體的VH結構域(VH_{CD3})；

其中所述亞結構域1A和1B通過肽連接體彼此分開；和

(ii) 結構域2，其中所述結構域2是異源二聚體-促進結構域；

(B) 所述第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向上包含：

(i) 結構域1，其包含：

(1) 亞結構域(1A)，其包含能夠結合至所述CD3的表位的單克隆抗體的VL結構域(VL_{CD3})；和

(2) 亞結構域(1B)，其包含能夠結合至所述疾病抗原的表位的單克隆抗體的VH結構域(VH_{DA})；

其中所述亞結構域1A和1B通過肽連接體彼此分開；

(ii) 結構域2，其中所述結構域2是異源二聚體-促進結構域，其中所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域和所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域不同；

並且其中：

(a) 所述第一多肽鏈的VL結構域和所述第二多肽鏈的所述VH結構域 締合以形成所述疾病抗原-結合結構域，並且所述第一多肽鏈的VH結構域和所述第二多肽鏈的所述VL結構域締合以形成所述CD3-結合結構域；或

(b) 所述第一多肽鏈的所述VL結構域和所述第二多肽鏈的所述VH結構域締合以形成所述CD3-結合結構域，並且所述第一多肽鏈的所述VH結構域和所述第二多肽鏈的所述VL結構域締合以形成所述疾病抗原-結合結構域。

E12. E11所述的**DA x CD3結合分子**，其中：

(a) 所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是E-螺旋結構域，並且所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是K-螺旋結構域；或

(b) 所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是K-螺旋結構域，並且所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是E-螺旋結構域。

E13. **E11**或**E12**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述第一或第二多肽鏈另外包含結構域3，其包含免疫球蛋白Fc結構域的CH2和CH3結構域。

E14. **E13**所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**進一步包含第三多肽鏈，其包含免疫球蛋白Fc結構域的CH2和CH3結構域。

E15. **E11-E14**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**進一步包含CD8-結合結構域。

E16. **E11-E15**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**包含：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:179**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:175**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(II) (A) 包含**SEQ ID NO:184**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:181**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(III) (A) 包含**SEQ ID NO:196**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:186**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(IV) (A) 包含**SEQ ID NO:197**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:192**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(V) (A) 包含**SEQ ID NO:193**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:194**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(VI) (A) 包含**SEQ ID NO:179**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:175**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(VII) (A) 包含**SEQ ID NO:184**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:181**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(VIII) (A) 包含**SEQ ID NO:196**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:186**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(IX) (A) 包含**SEQ ID NO:193**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:194**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽。

E17. 藥物組合物，其包括**E1-E16**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**和藥學上可接受的載體。

E18. 用於治療疾病的方法，其包括給需要其的受試者施用治療有效量的**E1-E16**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**或**E17**所述的藥物組合物。

E19. **E18**所述的方法，其中所述疾病是癌症。

E20. **E19**所述的方法，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

E21. **E18**所述的方法，其中所述疾病是病原體相關疾病。

E22. **E21**所述的方法，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

E23. **E1-E16**中任一項所述的**DA x CD3結合分子**或**E16**所述的藥物組合物用於治療疾病。

E24. **E23**所述的**DA x CD3結合分子**或藥物組合物，其中所述疾病是癌症。

E25. **E24**所述的**DA x CD3結合分子**或藥物組合物，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、

腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

E26. **E23**所述的**DA x CD3結合分子**或藥物組合物，其中所述疾病是病原體相關疾病。

E27. **E26**所述的**DA x CD3結合分子**或藥物組合物，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

實施例

【0518】 已經總體上描述了本發明之後，通過參考下列實施例將更容易理解本發明，下列實施例通過例證的方式提供並且不意欲限制本發明，除非指明。

實施例1

CD3 mAb 1 M3 – CD3 mAb 1 M26的評價

【0519】 在29個CDR位置的CD3 mAb 1 scFv飽和突變體文庫被構建並且表達在大腸桿菌(*E. coli*) (XL-1 Blue)中。多孔形式被用於產生可溶性scFv。含scFv的上清液被捕獲在抗-His表面上並且利用Attana生物感測器篩選與重組體CD3(ε/γ鏈 Fos/Jun異源二聚體)的結合以鑒定vCD3-結合結構域。

【0520】 產生了CD123 x CD3 **DART-A-**型雙抗體(被命名為**DART-A-WT**；上面提供的氨基酸序列)的變體，其包含所鑒定的scFv的VH和VL

結構域。因此，產生了一組**DART-A-**型雙抗體，被命名為**DART-A-M1 – DART-A-M26**，其包含vCD3-結合結構域(這種vCD3-結合結構域分別被命名為“**CD3 mAb 1 M1 – CD3 mAb 1 M26**”)。**DART-A-M1 – DART-A-M26**的CD3-結合動力學通過BIACORE®測量並且與**DART-A-WT**比較。**表11**總結了**DART-A-WT和DART-A-**型雙抗體的CD3-結合動力學，所述**DART-A-**型雙抗體包含**CD3 mAb 1 M1 – CD3 mAb 1 M26**的vCD3-結合結構域，其通過k_a排位(R表示變體**DART-A-**型雙抗體 (包含vCD3-結合結構域)與**DART-A-WT** (包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域)的k_a、k_d、或k_D比)。

表 11
CD123 x CD3 DART-A-型雙抗體的 CD3-結合動力學
CD3 mAb 1 M1 -- CD3 mAb 1 M26

CD3 mAb1 變體	**置換 (對於 CD3 Mab-1)**	**ka ($M^{-1}s^{-1}$)**	**R**	**kd (s^{-1})**	**R**	**KD (M)**	**R**
M25	G50D/VL	1.54×10^{5}	0.3	1.92×10^{-2}	4.7	1.25×10^{-7}	15
M18	A33G/VH	2.87×10^{5}	0.6	5.88×10^{-2}	14	2.05×10^{-7}	25
M14	T31D/VH	3.08×10^{5}	0.6	1.43×10^{-2}	3.5	4.66×10^{-8}	5.7
M26	K53G/VL	3.19×10^{5}	0.6	1.74×10^{-2}	4.3	5.44×10^{-8}	6.7
M13	Y102E/VH	3.21×10^{5}	0.6	2.20×10^{-2}	5.4	6.86×10^{-8}	8.4
M16	Y32D/VH	3.47×10^{5}	0.7	1.04×10^{-1}	25	3.01×10^{-7}	37
M15	T31E/VH	3.52×10^{5}	0.7	3.75×10^{-2}	9.2	1.07×10^{-7}	13
M1	S100dT/VH	4.08×10^{5}	0.8	6.50×10^{-2}	16	1.59×10^{-7}	19
M3	G99I/VH	4.49×10^{5}	0.9	8.30×10^{-3}	2	1.85×10^{-8}	2.3
M23	L95E/VL	4.59×10^{5}	0.9	1.24×10^{-2}	3	2.69×10^{-8}	3.3
CD3 Mab-1	**野生型**	**5.00×10^{5}**	**1**	**4.09×10^{-3}**	**1**	**8.17×10^{-9}**	**1**
M24	L95Q/VL	5.94×10^{5}	1.2	8.61×10^{-3}	2.1	1.45×10^{-8}	1.8
M6	Y100bQ/VH	6.99×10^{5}	1.4	2.01×10^{-2}	4.9	2.88×10^{-8}	3.5
M10	F98I/VH	7.17×10^{5}	1.4	3.10×10^{-2}	7.6	4.33×10^{-8}	5.3
M19	G96K/F98I/VH	7.53×10^{5}	1.5	4.11×10^{-2}	10	5.46×10^{-8}	6.7
M4	Y100bA/VH	7.90×10^{5}	1.6	2.03×10^{-2}	5	2.57×10^{-8}	3.1
M17	Y32T/VH	8.37×10^{5}	1.7	4.78×10^{-2}	12	5.72×10^{-8}	7
M12	W100eY/VH	8.66×10^{5}	1.7	1.11×10^{-2}	2.7	1.28×10^{-8}	1.6
M7	G96D/VH	1.02×10^{6}	2	2.29×10^{-2}	5.6	2.25×10^{-8}	2.8
M8	G96E/VH	1.13×10^{6}	2.3	7.84×10^{-3}	1.9	6.91×10^{-9}	0.8
M5	Y100bG/VH	1.31×10^{6}	2.6	2.80×10^{-2}	6.8	2.14×10^{-8}	2.6

表 11 CD123 x CD3 DART-A-型雙抗體的 CD3-結合動力學 CD3 mAb 1 M1 -- CD3 mAb 1 M26							
CD3 mAb1 變體	**置換 (對 於 CD3 Mab-1)**	**ka ($M^{-1}s^{-1}$)**	**R**	**kd (s^{-1})**	**R**	**KD (M)**	**R**
M11	W100eF/VH	1.39×10^{6}	2.8	2.67×10^{-2}	6.5	1.92×10^{-8}	2.4
M9	G96K/VH	2.15×10^{6}	4.3	7.16×10^{-3}	1.8	3.33×10^{-9}	0.4
M22	G96K/W100eY/VH	2.37×10^{6}	4.7	1.56×10^{-2}	3.8	6.60×10^{-9}	0.8
M21	G96K/W100eF/VH	2.45×10^{6}	4.9	1.03×10^{-2}	2.5	4.18×10^{-9}	0.5
M2	G96K/S100dT/VH	3.07×10^{6}	6.1	3.91×10^{-2}	9.6	1.27×10^{-8}	1.6
M20	G96K/Y100bG/VH	3.87×10^{6}	7.7	7.32×10^{-2}	18	1.89×10^{-8}	2.3

【0521】 **DART-A-M1 – DART-A-M26** (包含vCD3-結合結構域)介導T-細胞重定向細胞殺傷的能力在CTL試驗中測量並且與**DART-A-WT** (包含rCD3-結合結構域)比較。簡言之，**DART-A**-型雙抗體用效應子泛-T-細胞和MOLM-13靶腫瘤細胞以效應子:靶細胞比5:1培育18和42小時，並且通過測量受損細胞將乳酸脫氫酶 (LDH)向培養基中的釋放(例如，通過利用CytoTox 96®非放射性細胞毒性試驗試劑盒(Promega)，其定量測量LDH釋放或類似物)，測量EC_{50}。將具有**CD3 mAb 1**的CD3 結合結構域的4420 x CD3螢光素結合的**DART-A**-型雙抗體用作陰性對照。此外，**DART-A**-型雙抗體的穩定性通過利用DSF測量Tm進行評價。**DART-A-WT**、**DART-A-M1**、**DART-A-M2**、**DART-A-M15**、**DART-A-M17**、**DART-A-M18**、**DART-A-M19**和**DART-A-M20**的代表性細胞毒性曲線展示在**圖7A**中。**表12**總結了**DART-A-M1 – DART-A-M26**的細胞毒性 (即，T-細胞重定向殺傷活性)，其通過18-小時EC_{50}排位(R表示變體**DART-A**-型雙抗體 (包含vCD3-結合結構域)與**DART-A-WT** (包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域)之比)；ΔTm表示與WT (Tm = 63°C)相比Tm的變化。**圖7B-7D**中繪製了動力學參數和細胞溶

解潛能的關係(**圖7B**：親和力vs細胞溶解(18小時EC_{50})，**圖7C**：締合率vs細胞溶解 (EC_{50})，**圖7D**：解離率vs細胞溶解(EC_{50}))。**CD3 mAb1 (◯)**、**M18 (■)**、**M2 (▲)**和**M1 (▼)**變體被顯示。

表 12
抗體的細胞毒性
CD3 mAb 1 M1 – CD3 mAb 1 M26

CD3 mAb 1 變體	置換 (相對於 CD3 Mab-1)	MOLM-13 (E:T=5:1)						
		EC_{50} (ng/mL)	R	max % CytoTox	EC_{50} (ng/mL)	R	max % CytoTox	R ΔTm (°C)
		18 小時			42 小時			
M21	G96K/W100eF/VH	0.026	0.3	36.54	0	0	29.92	-1
M8	G96E/VH	0.069	0.9	38.43	0.005	1.7	29.35	1
M22	G96K/W100eY/VH	0.072	0.9	38.26	0.01	3.5	31.58	-0.5
M9	G96K/VH	0.075	1	38.25	0.001	0.4	30.46	0
CD3 Mab-1	**野生型**	**0.079**	**1**	**38.97**	**0.003**	**1**	**29.13**	**-**
M3	G99I/VH	0.108	1.4	39.69	0.006	2.3	28.58	0
M6	Y100bQ/VH	0.162	2.1	41.86	0.011	3.9	29.46	1
M4	Y100bA/VH	0.176	2.2	41.69	0.011	3.9	29.8	1
M11	W100eF/VH	0.223	2.8	48.55	0.016	5.8	32.43	0.5
M5	Y100bG/VH	0.225	2.9	40.75	0.011	3.8	28.41	1
M20	G96K/Y100bG/VH	0.259	3.3	37.48	0.038	13.5	30.89	-0.5
M7	G96D/VH	0.304	3.8	41.38	0.03	10.8	32.54	1
M24	L95Q/VL	0.34	4.3	49.41	0.031	11.1	31.12	0.5
M12	W100eY/VH	0.372	4.7	49.72	0.067	24	31.54	0.5
M23	L95E/VL	0.421	5.3	49.29	0.061	21.6	31.37	-0.5
M10	F98I/VH	0.426	5.4	39.26	0.095	33.7	29.87	0
M26	K53G/VL	0.444	5.6	44.23	0.078	27.9	28.19	0
M14	T31D/VH	0.492	6.2	44.69	0.11	39.3	31.36	1.5
M25	G50D/VL	0.585	7.4	46.56	0.1	35.7	30.41	0
M19	G96K/F98I/VH	0.68	8.6	41.01	0.11	39.1	32.83	-0.5
M13	Y102E/VH	1.223	15.5	45.08	0.203	72.3	31.48	-0.5
M17	Y32T/VH	1.283	16.2	44.23	0.126	44.9	30.69	-0.5
M15	T31E/VH	4.164	52.7	42.74	0.975	347.2	32.05	1.5
M18	A33G/VH	4.687	59.3	41.3	0.91	324	30.58	0.5

表 12 抗體的細胞毒性 CD3 mAb 1 M1 – CD3 mAb 1 M26								
CD3 mAb 1 變體	置換 (相對於 CD3 Mab-1)	MOLM-13 (E:T=5:1)						
		EC_{50} (ng/mL)	R	max % CytoTox	EC_{50} (ng/mL)	R	max % CytoTox	R ΔTm (°C)
		18 小時			42 小時			
M2	G96K/S100dT/VH	8.113	102.7	32.33	0.693	246.9	32.77	-1
M1	S100dT/VH	19.64	248.6	32.32	2.336	831.9	32.37	0
M16	Y32D/VH	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-0.5

【0522】 如**表11-12**中所示，**DART-A-M1 – DART-A-M26**變體展示一定範圍的結合動力學和CTL活性，同時保持它們的熱穩定性。這種**DA x CD3結合分子**和它們的vCD3-結合結構域用於調節CD3結合、重定向T-細胞殺傷活性和/或T-細胞刺激活性。

實施例2

代表性變體的CTL活性和細胞因數釋放

【0523】 一組包含變體**CD3 mAb 1** VL或VH結構域的代表性**DART-A-**型雙抗體的細胞毒性(CTL)活性和細胞因數釋放分佈通過將**DART-A-WT**、**DART-A-M2**、**DART-A-M7**、**DART-A-M13**和**DART-A-M15**在泛-T-細胞效應細胞和MV-4-11白血病靶腫瘤細胞存在下以效應子:靶細胞比5:1培育24小時進行評估。百分比細胞毒性(即，細胞殺傷) 和/或EC_{50}通過測量受損細胞將乳酸脫氫酶 (LDH)向培養基中的釋放(例如，通過利用CytoTox 96®非放射性細胞毒性試驗試劑盒(Promega)，其定量測量LDH釋放或類似物)進行測定並且被繪製在**圖8A**中。測量在CTL期間向上清夜中釋放的細胞因數(例如利用酶聯免疫斑點(ELISPOT) 試驗或多重細胞因數試驗)。細胞因數釋放被繪製在**圖8B-8E**(**圖8B:**

INF-γ，**圖8C:** TNF-α，**圖8D:** IL-6和**圖8E:** IL-2)中。細胞毒性的EC_{50}值和細胞因數釋放被提供在**表13**中。將具有**CD3 mAb 1**的CD3結合結構域的4420 x CD3螢光素結合**DART-A-**型雙抗體用作陰性對照(**NegCtrl**)。

表 13

DART-A-型	**EC_{50}CTL**	**EC_{50}INF-γ**	**EC_{50}TNFα**	**EC_{50}IL-6**	**EC50-IL2**
WT	0.029	0.11	0.76	0.13	0.85
M2	0.92	1.7	4.7	10	27
M7	0.052	0.98	6.6	1.1	7.0
M13	0.12	0.83	0.12	1.3	7.5
M15	0.39	3.5	18	7.5	30

【0524】 這些研究的結果表明與包含rCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**相比，展示具有改變的親和力的包含vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**保留了細胞溶解活性並且展示一個或多個降低的細胞因數應答(最大應答和/或EC50)。

實施例3

DART-B-型雙抗體的產生

【0525】 對具有**CD3 mAb 1 M18**的所述VH結構域的雙抗體進行選擇用於進一步表徵並且與具有**CD3 mAb 1**、**CD3 mAb 1 M1**和**CD3 mAb 1 M2**的所述VH結構域的雙抗體比較。因此，製備**表9**的**DART-B-**型雙抗體，其包含結合癌抗原 CD123、5T4、或CD19的疾病抗原(DA)結合結構域。各鏈的氨基酸序列被詳細提供在本文中(參見第一– 第十九示例性**DART-B-**型雙抗體，見前文)。簡言之，雙抗體被表達在CHO細胞(暫態或穩定轉染)中並且在蛋白A親和力樹脂(例如，MabSelect)上純化，接著HPLC尺寸排阻層析。

實施例4

DART-B-型雙抗體結合至疾病抗原的能力

【0526】 這種雙抗體結合至它們在MOLM-13白血病(CD123)或A-498腎癌(5T4)靶癌症細胞表面上各自的疾病抗原(即，CD123或5T4)的能力利用FACS進行評估。簡言之，細胞在微量滴定板上用雙抗體分子(在含有10%人AB血清的FACS緩衝液中)培育。洗滌細胞並且用生物素綴合的小鼠抗EK-螺旋抗體進行培育，所述生物素綴合的小鼠抗EK-螺旋抗體識別混合有鏈黴親和素-藻紅蛋白的雙抗體的E-螺旋/K-螺旋(EK)異源二聚體-促進結構域。這種試驗的代表性資料顯示在**圖9A-9B**中。資料表明代表性雙抗體能夠結合至它們各自的疾病抗原。

實施例5

DART-B-型雙抗體結合至CD4$^+$和CD8$^+$ T-細胞的能力

【0527】 CD123-結合雙抗體：**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M2**和**CD123-M18**結合至CD4$^+$和CD8$^+$ T-細胞的能力也利用FACS評估。具有**CD3 mAb 1**的CD3結合結構域的4420 x CD3螢光素結合的**DART-A**-型雙抗體被用作CD3結合的對照(“**4420-CD3**”)。簡言之，CD4+和CD8+ T-細胞在微量滴定板上用雙抗體分子(在含有10%人AB血清的FACS緩衝液中)培育。洗滌細胞並且用標記的抗人Fc二次抗體培育。然後洗滌細胞並且用FACS緩衝液重懸浮，並且通過流式細胞儀分析。這種試驗的代表性資料顯示在**圖10A** (結合至CD8$^+$ T-細胞)和**圖10B** (結合至CD4$^+$ T-細胞)中。**T-CD123-M1**和**T-CD123-M18**展示與表達CD3的CD4$^+$和CD8$^+$ T-細胞降低的結合。

【0528】 CD123-結合雙抗體：**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M2**和**CD123-M18**結合至人CD3和CD123的能力也利用BIAcore®評價。簡言之，濃度為62.5-1000 nM的雙抗體經過已經固定化到表面上的可溶性人CD3 (標準化；1:1結合配合(binding fit))。使用高分析物濃度(62.5-1000 nM)，以便允許評價弱CD3

相互作用的參數，然而高濃度分析物可以與非特異性結合的貢獻相關。在分開的研究中，濃度為62.5-100 nM的雙抗體經過已經His-標記並且被捕獲到抗PentaHis表面的可溶性CD123(標準化；1:1結合配合)。**表14**展示來自這些研究的計算的k_a、k_d和**KD**。

表 14

CD3 變體	結合至人 CD3			結合至人 CD123		
	k_a ($x10^4$)	k_d ($x10^{-3}$)	KD (nM)	k_a ($x10^5$)	k_d ($x10^{-4}$)	KD (nM)
CD123-WT	9.1	6.1	67	2.7	5.3	2.0
CD123-M1	9.5	80	842	3.2	3.9	1.2
CD123-M2	3.8	41	108	4.2	4.5	1.1
CD123-M18	8.6	51	593	2.4	5.4	2.3

【0529】 5T4-結合雙抗體：**5T4-WT**、**5T4-M1**、**5T4-M2**和**5T4-M18**結合至CD3的能力也利用BIAcore®評價，如上所述。**表15A**展示計算的k_a、k_d和**KD**。

表 15A

CD3 變體	結合至人 CD3		
	k_a ($x10^5$) ($M^{-1}s^{-1}$)	k_d ($x10^{-3}$) (s^{-1})	KD (nM)
5T4-WT	1.5	5.4	36
5T4-M1	0.95	31	326
5T4-M2	3.5	41	118
5T4-M18	0.75	34	453

【0530】 在另外的研究中，CD123-結合雙抗體：**CD123-WT**、**CD123-M13**、**CD123-M17**和**CD123-M19**結合至人CD3和食蟹猴CD3的能力也利用BIAcore®評價。簡言之，濃度為6.25-400 nM的雙抗體經過固定化的人CD3或食蟹猴（cyno）CD3 (1:1 Langmuir結合配合)。**表15B**展示計算的k_a、k_d和**KD**。

表 15B

CD3 變體	結合至人 CD3			結合至 cyno CD3		
	k_a ($x10^4$)	k_d ($x10^{-3}$)	KD (nM)	k_a ($x10^4$)	k_d ($x10^{-3}$)	KD (nM)
CD123-WT	9.3	4.8	52	11	4.3	39
CD123-M13	5.9	27	458	5	29	580

CD123-M17	19	55	290	17	56	329
CD123-M19	22	48	218	22	50	227

實施例6

示例性DART-B-型雙抗體介導重定向細胞殺傷的能力

【0531】 評價示例性DART-B-型雙抗體介導重定向細胞殺傷的能力。在指明的情況下，**HIV-WT**或**HIV-M18** (上述)被用作陰性對照，因為它們不結合癌抗原。將會理解，**HIV-WT**和**HIV-M18** 雙抗體將結合這樣的細胞(例如，HIV感染細胞)，所述細胞表達通過它們的細胞表面上的A32抗體(HIV env)所結合的表位，參見例如：WO 2014/1599401和WO 2016/054101，並且能夠介導這種細胞的重定向細胞殺傷。

【0532】 由示例性CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果展示在**圖11A-11Q**、**圖12A-12E**和**圖26A-26E**中。由示例性5T4 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果展示在**圖13A-13Q**中。由示例性CD19 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果展示在**圖14A-14J**中。這些試驗基本上如上所述利用指出的效應子和靶細胞進行，效應子:靶細胞比和培育時間描述在下面(也參見**圖11A**、**12A**、**13A**和**14A**)。在指明的情況下，IFN-γ、TNF-α、IL-6和IL-2細胞因數的釋放在CTL試驗結束時利用標準商業試劑進行測定。

【0533】 **圖11A-11Q**顯示利用泛-T效應細胞和MOLM-13急性單核細胞白血病(AML)靶細胞 (E:T= 5:1, 24 h)由CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物 (具有Fc結構域) **CD123-WT**、**CD123-M2**和**CD123-M18**所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果。**圖11A**中繪製了百分比細胞毒性。**圖11B-11Q**中繪製了細胞

因數應答和細胞毒性(**圖11B-11E**: IFN-γ；**圖11F-11I**: TNF-α；**圖11J-11M**: IL-6；**圖11N-11Q**: IL-2)。**圖11B、11F、11J和11N**: CD123-WT；**圖11C、11G、11K和11O**: CD123-M2；**圖11D、11H、11L和11P**: CD123-M18；**圖11E、11I、11M和11Q**: HIV-WT (陰性對照)。針對另一AML細胞系MV-4-11觀察到類似的細胞毒性。

【0534】 **圖11A**顯示包含不同**CD3 mAb 1**變體的 CD123 x CD3結合分子展示顯著不同的介導細胞毒性的能力，具體如通過比較EC_5所測量的，但達到相似的最大細胞毒性。此外，這些分子展示不同的介導細胞因數應答的能力。例如，如**圖11B-11Q**中可見，儘管**CD123-M18**展示與**CD123-WT**所展示的類似的最大細胞毒性水準，但是通過用**CD123-M18**處理所釋放的細胞因數IFN-α、TNF-α和IL-6的水準為通過用**CD123-WT**處理所釋放的水準的大約50%，並且用**CD123-M18**所觀察到的IL-2的水準顯著低於用**CD123-WT**所觀察到的IL-2水準。因此，**CD123-M18**被發現能提供與**CD123-WT**相當的治療值，但具有比**CD123-WT**小的出現的副作用(attending sude effect)。

【0535】 **圖12A-12E**顯示利用PBMC效應細胞和MOLM-13 AML靶細胞由CD123 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物 (具有Fc結構域)所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果。**圖12A**中繪製百分比細胞毒性(E:T= 15:1, 24 h)。**圖12B-12E**中繪製細胞因數應答(在多重細胞因數實驗中測量) (**圖12B**: IFN-γ；**圖12C**: TNF-α；**圖12D**: IL-6；**圖12E**: IL-2)。

【0536】 結果再次證明**CD123-WT**和**CD123-M18**展示相似的最大細胞毒性水準，但**CD123-M18**展示顯著降低的細胞因數應答。此外，對於IFN-γ、TNF-α

或IL-6的釋放，**CD123-M18**的EC_{50}值顯著大於**CD123-WT**的EC_{50}值，表明用**CD123-M18**治療導致與用**CD123-WT**治療相比顯著更低的細胞因數釋放。

【0537】 **圖26A-26D**和**圖27A-27D**顯示利用泛-T效應細胞和MOLM-13急性單核細胞白血病(AML)靶細胞(E:T= 5:1, 48小時至96小時)由CD123 x CD3 **DART B-**型雙抗體構建物(具有Fc結構域)**CD123-WT**、**CD123-M1**、**CD123-M13**、**CD123-M17**、**CD123-M18**和**CD123-M19**所介導的重定向細胞殺傷的研究結果。如下所示，**DART-A-WT** 被包括在一些研究中作為比較物件。**圖26A-26D**顯示進行48小時的代表性研究的結果。在**圖26A**中繪製細胞毒性作為%所釋放的LDH的函數。**圖26B-26E**中繪製了細胞因數應答和細胞毒性(**圖26B**: IFN-γ；**圖26C**: TNF-α；**圖26D**: IL-6；**圖26E**: IL-2)。**圖27A-27D**總結了包括**DART-A-WT**的進行了48和96小時的4-7個這種研究的結果。**圖27A-27C**提供了來自四個這種研究的48和96小時下細胞毒性(CTL)活性的比較圖(**圖27A**:以pM計的CTL活性EC_{50}值；**圖27B**: CTL活性作為**CD123-WT**的EC_{50}值的倍數，**圖27C**: CTL活性Emax作為**CD123-WT**的分數)。**圖27D**繪製了CTL活性對細胞因數IL-2的治療指數。

【0538】 **圖26A**顯示儘管包含不同**CD3 mAb 1**變體的CD123 x CD3結合分子用**CD123-M13**、**D123-M17**、**CD123-M18**和**CD123-M19**展示顯著不同的細胞毒性曲線，但是它們能達到相似的最大細胞毒性。由上可見，各變體介導較低的細胞因數應答。例如，如**圖26B-26D**中可見，儘管**CD123-M13**、**CD123-M17**、**CD123-M18**和**CD123-M19** 展示與**CD123-WT**所展示的類似的最大細胞毒性水準，但是所釋放的細胞因數IFN-α、TNF-α、IL-6和IL-2的水準顯著低於用**CD123-WT**治療所觀察到的水準。因此，包含**CD3 mAb 1**變體**M13**、**M17**、**M18**

和M19的雙抗體分子的每一種被發現能提供與包含野生型**CD3 mAb 1**的雙抗體構建物相當的治療值，但具有較少的出現的副作用。

【0539】 **圖 27A-27C** 中顯示的結果進一步證明 **CD123-M13**、**CD123-M17**、**CD123-M18**和**CD123-M19**展示顯著不同的細胞毒性EC_{50}值，但達到可與**CD123-WT**和**DART-A-WT**相當的最大CTL活性。利用IL-2作為代表性細胞因數，如下測定治療指數(TI)：

$$TI = E_{max}\ (CTL) : E_{max}\ (細胞因數)$$

【0540】 標準化為針對**CD123-WT**的值的計算的TI值被繪製在**圖27D**中並且進一步證明包含**CD3 mAb 1**變體**M13**、**M17**、**M18和M19**的**DA x CD3結合分子**相比包含野生型**CD3 mAb 1**的那些展示提高的TI。

【0541】 **圖13A-13Q**顯示利用泛-T效應細胞和A498腎細胞癌靶細胞由5T4 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物 (具有Fc結構域) **5T4-WT**、**5T4-M1**、**5T4-M2**和**5T4-M18**所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果(E:T= 5:1, 24 h)。**圖13A**中繪製百分比細胞毒性。**圖13B-13Q**中繪製細胞因數應答和細胞毒性(**圖13B-13E**：IFN-γ；**圖13F-13I**：TNF-α；**圖13J-13M**：IL-6；**圖13N-13Q**：IL-2)。**圖13B**、**13F**、**13J**和**13N**：**5T4-WT**；**圖13C**、**13G**、**13K**和**13O**：**5T4-M2**；**圖13D**、**13H**、**13L**和**13P**：**5T4-M18**；**圖13E**、**13I**、**13M**和**13Q**：**HIV-WT** (陰性對照)。對JIMT-1乳腺癌細胞也觀察到細胞毒性。這些結果證明**5T4-WT**和**5T4-M18**展示相似的最大細胞毒性水準，但顯著不同的細胞因數應答，其中**5T4-M18**相比**5T4-WT**展示顯著降低水準的細胞因數釋放。

【0542】 **圖14A-14J**顯示利用泛-T、或PBMC效應細胞和Raji類淋巴母細胞靶細胞由CD19 x CD3 **DART B**-型雙抗體構建物(具有Fc結構域)**CD19-WT**和

CD19.1-M18所介導的重定向細胞殺傷的代表性研究的結果(對於PBMCsE:T= 30:1，以及針對泛-T-細胞E:T= 10:1， 24-48 h)。**圖14A** (PBMCs)和**圖14F** (泛-T-細胞)中繪製百分比細胞毒性 (48 hr)。利用PBMCs在48小時的細胞因數應答被繪製在**圖14B-14E** (PBMCs)和**圖14G-14J** (Pan T-細胞) 中(**圖14B**和**14G**：IFN-γ；**圖14C**和**14H**：TNF-α；**圖14D**和**14I**：IL-6；**圖14E**和**14J**：IL-2；**HIV-M18** (陰性對照))。**CD19.1-M18**針對Daudi靶細胞展示相似的細胞毒性和降低的細胞因數釋放。這些結果證明**CD19-WT**和**CD19.1-M18**展示相似的最大細胞毒性水準，但顯著不同的細胞因數應答，其中**CD19.1-M18**相比**CD19-WT**展示顯著降低水準的細胞因數釋放。

【0543】 上述研究的結果證實包含**CD3 mAb 1 M18** 變體的構建物相比包含M1和M2變體的構建物在CTL試驗中展示更高的細胞毒性(CTL)活性。CTL研究也表明包含M18 變體的構建物相比WT展示較低的細胞因數應答，並且類似於或僅僅稍高於由較低活性的M2變體所展示的細胞因數應答。因此，M18變體似乎具有較大的CTL活性vs細胞因數釋放的窗口。

實施例7

示例性DART-B-型雙抗體介導T-細胞啟動的能力

【0544】 介導T-細胞啟動的能力通過評價所述雙抗體影響CD25和CD69（其是T-細胞啟動的標誌物）在$CD4^+$和$CD8^+$ T-細胞群上的表達的能力進行測量。T-細胞群獲自CTL試驗，其基本上如上所述進行。在指明的情況下，CD4+和CD8+ T淋巴細胞群在CTL試驗結束時通過流式細胞儀對於啟動標誌物CD69和CD25的上調進行評價。

【0545】 CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體構建物的代表性資料顯示在**圖15A-15E**中。在**圖15A**中繪製細胞毒性。在**圖15B**中繪製如通過測量CD25所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。在**圖15C**中繪製如通過測量CD69所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。在**圖15D**中繪製如通過測量CD25所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。在**圖15E**中繪製如通過測量CD69所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。

【0546】 5T4 x CD3 **DART-B**-型雙抗體構建物的代表性資料顯示在**圖16A-16E**中。在**圖16A**中繪製細胞毒性。在**圖16B**中繪製如通過測量CD25所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。在**圖16C**中繪製如通過測量CD69所測定的$CD4^+$ T-細胞的啟動。在**圖16D**中繪製如通過測量CD25所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。在**圖16E**中繪製如通過測量CD69所測定的$CD8^+$ T-細胞的啟動。

【0547】 這些研究的結果顯示包含**CD3-M18** 變體的構建物相比包含M1和M2變體的構建物展示提高的T-細胞啟動活性。

實施例8

示例性DART-B-型雙抗體在小鼠模型中的體內活性

【0548】 CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體 **CD123-WT**和**CD123-M18**的體內活性在共混KG1A細胞AML模型中進行評價(E:T = 1:5)。簡言之，NOD/SCID小鼠(每組6只)在第0天注射共混有啟動的人CD4+或CD8+ T-細胞的KG1A (AML)細胞 (E:T = 1:5)。隨後施用載體對照、**CD123-WT** (50 μg/kg)或**CD123-M18** (5 μg/kg或50 μg/kg)。在研究的過程中監控腫瘤體積。

【0549】 該研究的結果提供在**圖17A**($CD4^+$ T-細胞)和**圖17B**($CD8^+$ T-細胞)中。結果顯示包含M18變體的構建物顯示可與包含WT CD3結合結構域的構建物相當的抗腫瘤活性。

【0550】 評價CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體的體內活性的進一步研究利用重構的腫瘤模型進行，其中5 x 10^6 KG1A (AML)細胞在第0天皮下(SC)注射到$MHCI^{-/-}$小鼠(每組5只雌性小鼠)中。在第9天腹膜內(IP)注射1 x 10^7 PBMC細胞。在第15天開始一周兩次(2QW)靜脈內(IV)施用載體對照**CD123-WT**、**CD123-M2**或**CD123-M18** (各為0.5、5、50、或500 μg/kg)。在研究的過程中監控腫瘤體積。

【0551】 該研究的結果提供在**圖18A-18D**中。結果顯示**CD123-M2**在該模型中沒有展示活性(**圖18B**)。相反，**CD123-M18** (**圖18C**)展示可與**CD123-WT** (**圖18A**)相當的抗腫瘤活性，尤其在50 μg/kg和500 μg/kg劑量時(**圖18D**)。

【0552】 評價CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體的體內活性的另一研究利用PBMC植入模型進行，其中在第0天將5 x 10^6 MV4-11 (白血病)細胞SC注射以及將1 x 10^7 PBMC細胞眼球後 (RO)注射到$MHCI^{-/-}$小鼠(每組6只雄性小鼠)。在第14天開始一周兩次(2QW)靜脈內(IV)施用載體對照**CD123-WT** (以0.5、5、50或500 μg/kg)、**CD123-M18**或 **CD123-M2** (各為5、50、500或1000 μg/kg)。在研究的過程中監控腫瘤體積。

【0553】 該研究的結果提供在**圖19A-19D**中。結果顯示**CD123-WT**在0.5 μg/kg及以上展示抗腫瘤活性(**圖19A**)。**CD123-M18**在50 μg/kg及以上展示抗腫瘤活性(**圖19B**)。而**CD123-M2**僅在1000 μg/kg展示抗腫瘤活性(**圖19C**)。如**圖19D**所示，在500 μg/kg時CD123-M18抗腫瘤活性可與**CD123-WT** 的相當，而CD123-M2在該濃度下展示很少的抗腫瘤活性或者不展示抗腫瘤活性。

【0554】 5T4 x CD3 **DART-B**-型雙抗體**5T4-WT**、**5T4-M1**和**5T4-M18**的體內活性在PBMC植入模型中進行評價，其中在第0天將5 x 10^6 SKOV3 (卵巢癌)細

胞SC注射以及將1 x 10^7 PBMC細胞RO注射到MHCI$^{-/-}$小鼠(每組8只雌性小鼠)中。在第7天開始一周兩次(2QW)靜脈內(IV)施用載體對照**5T4-WT**(10、50、100或500 μg/kg)、**5T4-M18**(10、50、100或500 μg/kg)或 **5T4-M2** (500 μg/kg)。在研究的過程中監控腫瘤體積。

【0555】 該研究的結果提供在**圖20A-20B**中。結果顯示**5T4-WT**在所有測試的劑量下均展示強有力的抗腫瘤活性(**圖20A**)。**5T4-M18**在500 μg/kg下展示可與**5T4-WT**相當的劑量依賴型抗腫瘤活性，而**5T4-M2**在500 μg/kg下展示顯著較低的活性(**圖20B**)。

【0556】 由CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體所誘導的體內細胞因數釋放分佈在PBMC共混模型中進行監測。簡言之，將5 x 10^6 KG1A (AML)和1 x 10^7 PBMC細胞混合並且培育過夜，第二天將混合的細胞SC注射到NSG小鼠(每組6只雄性小鼠)中並且靜脈內(IV)施用單劑量的載體對照、**CD123-WT**、**CD123-M18**或**CD123-M2** (各為50或500 μg/kg)。評價施用後六小時的血清細胞因數水準。**圖20A-20D** 中繪製了細胞因數釋放分佈(**圖21A**：IFN-γ；**圖21B**：TNF-α；**圖21C**：IL-6；和**圖21D**：IL-2)。這些研究的結果顯示用包含**CD3 mAb 1 M2**和**CD3 mAb 1 M18**的變體VL和VH結構域的**DA x CD3結合分子**的治療展示較低水準的細胞因數釋放。

【0557】 用於評價CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體的體內活性的兩個進一步的研究利用重構的腫瘤模型進行，其中PBMC重構的(8 x 10^6 PBMC在第0天眼球後注射) NSG/MHCI$^{-/-}$小鼠(每組7-8只小鼠)在第7天皮下(SC)注射5 x 10^6 KG1A (AML)細胞。在一個研究中，在第28天開始一周兩次(2QW)靜脈內(IV)施用**CD123-WT** (0.5 mg/kg)、**CD123-M18和CD123-M13** (以 0.005、0.05、0.5和1

mg/kg)或載體。在另一研究中，在第28天開始一周兩次(2QW)靜脈內(IV)施用**CD123-WT** (0.05 mg/kg)、**CD123-M18和CD123-M17** (以0.005、0.05、0.5和1 mg/kg)或載體。在研究的過程中監控腫瘤體積。

【0558】 這些研究的結果提供在**圖28A-28B** (用**CD123-WT**、**CD123-M18和CD123-M13**治療)和**圖29A-29B** (用**CD123-WT**、**CD123-M18和CD123-M17**治療)中。結果顯示**CD123-M18** 抗腫瘤活性在0.5 mg/kg及以上的劑量類似於**CD123-WT** (**圖28A和29A**)以及**CD123-M13**和**CD123-M17**在剛剛0.05 mg/kg（是**CD123-M18**的劑量的十分之一）開始就展示類似於**CD123-WT**的抗腫瘤活性(**圖28B**和**29B)**。

【0559】 由CD123 x CD3 **DART-B**-型雙抗體**CD123-WT**、**CD123-M13**、**CD123-M17和CD123-M18**誘導的體內細胞因數釋放分佈在PBMC共混模型中進行檢測。簡言之，將5 x 10^6 KG1A (AML)和1 x 10^7 PBMC細胞混合並且培育過夜，第二天將混合的細胞SC注射到NSG小鼠(每組7-8只)中並且靜脈內(IV)施用單劑量的**CD123-WT** (0.5 mg/kg)、**CD123-M13**、**CD123-M17和CD123-M18**(以0.05、0.5和1 mg/kg)或載體。評價施用後六小時的血清細胞因數水準。在一個研究中，動物用**CD123-WT**、**CD123-M18和CD123-M13**治療，並且在分開的研究中，動物用**CD123-WT**、**CD123-M18和CD123-M17**治療。IL-2 細胞因數釋放分佈被繪製在**圖30A-30B**中(**圖30A**：**CD123-WT**、**CD123-M18和CD123-M13)**；**圖30B**：**CD123-WT**、**CD123-M18和CD123-M17**)並且表明用包含變體CD3 mAb 1 VL和VH結構域的**DA x CD3結合分子**導致與包含野生型VL和VH結構域的**DA x CD3結合分子**相比降低水準的細胞因數釋放。

【0560】 這些動物研究的結果顯示施用包含**CD3 mAb 1**的變體VL和VH結構域，尤其**CD3 mAb 1 M2**、**CD3 mAb 1 M13**、**CD3 mAb M17**和**CD3 mAb 1 M18**的VL和VH結構域(即，vCD3-結合結構域)的**DA x CD3結合分子**相比包含**CD3 mAb 1**的VL和VH結構域(即，rCD3-結合結構域)的**DA x CD3 結合分子**導致降低水準的細胞因數釋放。具體地，這些研究的結果證明包含**CD3 mAb 1 M13**、**CD3 mAb M17**和 **CD3 mAb 1 M18**的變體VL和VH結構域的**DA x CD3結合分子**展示較低水準的細胞因數釋放同時保持體內抗腫瘤活性。

實施例9

三價型分子的產生

【0561】 **CD3 mAb 1**、**CD3 mAb 1 M1**、**CD3 mAb 1 M2**或**CD3 mAb 1 M18**的VH和VL結構域被用於產生包含結合癌抗原CD123的疾病抗原(DA)結合結構域和結合效應細胞抗原CD8的結合結構域的**三價**型分子(“**DA x CD3 x CD8 三價-**型分子”)。**表10**總結了各多肽鏈的CD3 結合結構域和SEQ ID Nos。各鏈的氨基酸序列被詳細地提供在本文中(參見第一- 第四示例性**三價**型分子，出處同上)。

實施例10

DA x CD3 x CD8三價型分子的表徵

【0562】 **T-CD123-WT**、**T-CD123-M1**、**T-CD123-M2**和**T-CD123-M18**結合在MOLM-13細胞上表達的CD123的能力基本上如上所述評價。此外，這些分子結合$CD4^+$ T-細胞和$CD8^+$ T-細胞的能力基本上如上所述評價。**DART-B-型雙抗體CD123-WT**被包括在這些研究中用於比較。來自這些研究的代表性資料被提供在**圖22A** (結合至MOLM-13細胞)、**圖22B** (結合至$CD4^+$ T-細胞)和**圖22C** (結合至$CD8^+$ T-細胞)中。所有的測試分子均展示相當的與表達CD123的MOLM-13

細胞和表達CD8的$CD8^+$ T-細胞的結合。**T-CD123-M1**和**T-CD123-M18**展示顯著降低的與表達CD3的$CD4^+$ T-細胞的的結合，如MFI(幾何平均數)所測量的。與$CD8^+$ T-細胞的結合通過**三價**型分子中存在的CD3-結合結構域和CD8-結合結構域兩者介導。

【0563】 評價**T-CD123-WT**、**T-CD123-M1**、**T-CD123-M2**和**T-CD123-M18**介導重定向細胞殺傷的能力。簡言之，**三價**型分子在泛-T-細胞或純化的$CD4^+$或$CD8^+$ T-細胞效應細胞和MOLM-13靶腫瘤細胞的存在下以效應子:靶細胞比1:1培育48小時。通過測量受損細胞將乳酸脫氫酶 (LDH)向培養基中的釋放(例如，利用定量測量LDH釋放或類似物的CytoTox 96®非放射性細胞毒性試驗試劑盒(Promega))，測定細胞毒性。在泛-T-細胞樣品中檢測細胞因數應答。**DART-B-型雙抗體CD123-WT**被包括在這些研究中用於比較。**圖23A-23C**中繪製百分比細胞毒性(**圖23A**：泛-T-細胞；**圖23B**：$CD4^+$ T-細胞；和**圖23C**：$CD8^+$ T-細胞)。**圖23D-23G**中繪製細胞因數應答 (**圖23D**：IFN-γ；**圖23E**：TNF-α；**圖23F**：IL-6；**圖23G**：IL-2)。

實施例11

毒理學研究

【0564】 代表性CD123 x CD3結合分子的安全性和細胞因數釋放分佈在食蟹猴中的給藥研究中評估。在該研究中，評估**CD123-M18**(包含**CD3 mAb 1 M18**的vCD3-結合結構域)和**CD123-WT**(包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域)在通過重複靜脈輸注施用時的潛在毒性和細胞因數釋放分佈。在該模型中不容易評估細胞殺傷活性。該研究設計展示在**表16中**。

表 16

組編號	測試材料	劑量水準 (mg/kg)	給藥天數	動物數量 (雄性)
1	對照	0	0	2
2	**CD123-WT**	0.003	0, 7	3
3	**CD123-M18**	10	0, 7	3
4	**CD123-M18**	20	0, 7	2

【0565】 在**CD123-M18**治療組(10和20 mg/kg)中觀察到沒有死亡、體重減輕或其它不良觀察結果。此外，這些組中觀察到沒有顯著的血液學或臨床化學變化。相反，**CD123-WT**分子(0.003 mg/kg)不具有很好的耐受性。該組中觀察到細胞因數釋放綜合征和死亡率(1/3)。**圖24A-24E**中繪製血清細胞因數水準(第0-9天)(**圖24A**：IFN-γ、**圖24B**：TNF-α、**圖24C**：IL-6、**圖24D**：IL-2、和**圖24E**：IL-15)。此外，利用作為增殖細胞的標誌物的Ki67的表達通過FACS檢測T-細胞增殖。**圖24F**繪製$CD4^+$ T-細胞擴增，並且**圖24G**繪製$CD8^+$ T-細胞擴增作為對Ki67陽性的$CD4^+$或$CD8^+$細胞的百分數(第0-14天)。**圖24H-24I** 展示了對治療組中的動物來說重要的幾種血液學和臨床化學標誌物的圖(**圖24H**：血小板計數；**圖24I**：C-反應蛋白；**圖24J**：尿素氮)。該研究的結果顯示包含**CD3 mAb 1 M18**的vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**在食蟹猴中具有很好的耐受性並且甚至在超過規劃的治療水準的劑量下展示TNF-α、IFN-γ、IL-2和IL-6釋放的最小暫態增加。此外，看到包含**CD3 mAb 1 M18的**vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**優先刺激$CD8^+$ T-細胞的增殖。

【0566】 利用以1 mg/kg和10 mg/kg給藥的**CD123-M13** (包含**CD3 mAb 1 M13**的vCD3-結合結構域)、以1 mg/kg和10 mg/kg給藥的**CD123-M17** (包含**CD3 mAb 1 M17**的vCD3-結合結構域)和以10 mg/kg給藥的**CD123-M19** (包含**CD3 mAb 1 M19**的vCD3-結合結構域)，進行進一步的毒理學研究。在這些研究中，

CD123-M13被觀察到展示比**CD123-M17**或**CD123-M19**更高的細胞因數釋放，尤其在10 mg/kg組中。在該研究中觀察到一些死亡率，尤其在**CD123-M13**高劑量組中，並且觀察到暫態血液學和臨床化學變化。**表17**提供從該研究以及利用**CD123-WT**和**CD123-M19**的先前毒理學研究中觀察到的死亡率的總結。

表 17

CD3 變體	**劑量**	**# 給藥**	**# 死亡**	
CD123-WT	10 μg/kg	1	1	在第 3 天安樂死
	3 → 3 μg/kg (第 1 → 8 天)	3	1	在第 8 天安樂死
	3 → 10 μg/kg (第 1 → 8 天)	2	1	在第 8 天安樂死
	3 → 30 μg/kg (第 1 → 8 天)	2	2	在第 8 或第 9 天安樂死
CD123-M13	1 mg/kg	2	1	在第 3 天安樂死
	10 mg/kg	2	2	死亡或在第 3 天安樂死
CD123-M17	1 mg/kg	2	0	無死亡
	10 mg/kg	5	1	在第 4 天安樂死
CD123-M18	在 10 (n=3)或 20 mg/kg (n=2)下無死亡			
CD123-M19	在 10 mg/kg (n=2)下無死亡 (更高劑量沒有進行測試)			

【0567】 如**表17**所示，在用少至3 μg/kg (0.003 mg/kg) **CD123-M13** (包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域)治療的動物中觀察到死亡，而包含**CD3 mAb 1 M13**、**M17**、**M18**、和**M19**的vCD3-結合結構域的**CD123 x CD3結合分子**與包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域的**CD123-M13**相比在更高的劑量下可耐受並且展示降低的細胞因數釋放分佈。來自這些研究的耐受劑量排行為**CD123-M18 ≥ CD123-M19 > CD123-M17 > CD123-M13 > CD123-WT**。這些發現與上面提供的治療指數評價一致(track)。

實施例12

示例性CD123 x CD3分子介導AML胚細胞消耗的能力

【0568】 評價示例性CD123 x CD3雙抗體它們介導來自AML患者的外周血樣品的AML胚細胞消耗的能力。簡言之，來自AML患者的外周血細胞在增加濃度的**DART-A-WT**、**CD123-WT**、**CD123-M1**和**CD123-M18**的存在下在補充培養基中進行培育。細胞密度(cellularity)($CD34^+$胚細胞、$CD3^+$和$CD8^+$ T-細胞)通過流式細胞儀器在時間0和第6天進行分析並且被繪製為未治療對照的百分數或為基線的倍數增加。細胞因數水準通過在培育第4天收穫的上清液上的細胞因數珠陣列(BD)進行分析。該研究的結果展示在**圖25A-25G**中。如**圖25A**中所示，**CD123-M18**能夠以與**DART-A-WT**和**CD123-WT**相同的程度介導AML胚細胞消耗。然而，**CD123-M18** 展示T-細胞群(圖25B：$CD4^+$ T-細胞；圖25C：$CD8^+$ T-細胞)顯著降低的擴增。此外，**CD123-M18**展示顯著較低水準的細胞因數釋放(**圖25D**：IFN-γ；**圖25E**：TNF-α；**圖25F**：IL-6；和**圖25G**：IL-2)。

【0569】 這些結果進一步證明包含**CD3 mAb 1 M18**的vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**以稍微降低的效力保持最大殺傷潛力，但體外和體內靶誘導的細胞因數釋放相應地(commensurably)更大的降低。將這種vCD3-結合結構域併入**DA x CD3結合分子**可擴大重定向T-細胞殺傷應用中的治療指數。

實施例13

示例性CD19 x CD3分子介導自體B-細胞消耗的能力

【0570】 在一組研究中，評價示例性CD19 x CD3雙抗體**CD19-WT**(包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域的陽性對照)和**CD19.1-M18**(包含**CD3 mAb 1 M18**的vCD3-結合結構域)它們介導體外和體內自體B-細胞消耗的能力。對於體外研究，利用來自人和食蟹猴的PMBCs。簡言之，分離自人或食蟹猴的PMBC在增加濃度的 **CD19-WT** (陽性對照)或**CD19.1-M18**或陰性對照 **HIV-M18**的存在

下在補充培養基中進行培育。在培育後48小時通過流式細胞儀(利用CD20作為B-細胞標誌物)分析B-細胞水準。來自人樣品的上清液中的細胞因數水準通過細胞因數-珠陣列(BD)進行分析。該研究的結果展示在**圖31A-31F**中。如**圖31A-31B**中所示，**CD19.1-M18**能夠以與**CD19-WT**相同的程度消耗來自任何人和食蟹猴兩者的自體B-細胞。此外，**CD19.1-M18**展示顯著較低水準的細胞因數釋放(**圖31C**：IFN-γ；**圖31D**：TNF-α；**圖31E**：IL-6；和**圖31F**：IL-2)。

【0571】 陽性對照**CD19-WT**和**CD19.1-M18**(包含**CD3 mAb 1 M18**的vCD3-結合結構域)介導體內自體B-細胞消耗的能力在食蟹猴中的給藥研究中進行評估。該研究設計展示在**表18**中。

表 18

組編號	測試材料	劑量水準 (mg/kg)	動物數量 (雄性)
1	**CD19-WT**	0.1	2
2	**CD19.1-M18**	1	2
3	**CD19.1-M18**	10	2
4	**CD19.1-M18**	30	2

【0572】 CD19 x CD3雙抗體通過在第0天的單次2-hr靜脈輸注施用。外周血樣品在給藥前採集並且在給藥後定期採集。外周血樣品中的B-細胞水準通過流式細胞儀(利用CD20作為B-細胞標誌物)進行分析。來自組1-3中所治療的2只猴子中的1只的代表性資料顯示在**圖32A-32D**中(**圖32A**：給藥前第0天；**圖32B**：第1天；**圖32C**：第8天；**圖32D**：第15天；B-細胞群用橢圓形指示)。此外，給藥前、第7天和第15天收集的腹股溝淋巴結針對B-細胞進行染色(利用CD20作為B-細胞標誌物)。來自組1、3和4中治療的2只猴子中的1只的給藥前和第7天樣品的代表性免疫組織化學圖像顯示在**圖33A-33C**中 (**圖33A**：組1；**圖33B**：組3；**圖33C**：

組4；左邊給藥前以及右邊第7天；染色的B-細胞呈現黑色)。體內研究的結果顯示在施用(參見**圖32A-32D**)單劑量示例性CD19 x CD3 雙抗體 **CD19.1-M18**後在1天內B-細胞在外周血中被高效消耗並且消耗持續高達15天。類似地，B-細胞在7天內（在施用後所檢測的最早時間點）在淋巴結中被高效消耗，這證明在僅僅1 mg/kg的劑量下**CD19.1-M18**就能夠以與**CD19-WT**陽性對照相似的程度經由體內T-細胞重定向殺傷介導自體B-細胞消耗。

【0573】 另外的CD19 x CD3結合分子介導自體B-細胞消耗的能力在食蟹猴中進行評估。在該研究中，**CD19-WT**(包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域的陽性對照)；**CD19.1-M13** (包含**CD3 mAb 1 M13**的vCD3-結合結構域)；和**CD19.1-M17** (包含**CD3 mAb 1 M17**的vCD3-結合結構域)的活性針對它們在通過重複靜脈輸注施用時介導自體B-細胞消耗的能力被評估。該研究設計展示在**表19**中。

表 19

組編號	測試材料	劑量水準 (mg/kg)	劑量給藥天數	動物編號
1	**CD19-WT**	0.1	1, 8	2M
2	**CD19.1-M13**	1	1, 8	3M
3	**CD19.1-M17**	1	1, 8	3M

【0574】 觀察到沒有死亡、體重減輕或其它顯著不利觀察結果，在給藥後在第1天在組3的一個動物中以及在第8天在組2中的一個動物中觀察到冷肢，兩者均在第二天消退。外周血樣品（劑量給藥前和劑量給藥後定期採取）中的B-細胞水準通過流式細胞儀(利用CD20作為B-細胞標誌物)進行分析。此外，組織樣品(脾、骨髓和淋巴結(LN))通過免疫組織化學法評價CD20染色。來自組1-3的流式細胞儀的資料顯示在**圖34**中並且來自各動物（和未治療的陰性對照動物）

的組織染色資料被總結在**表20**中。在研究的過程期間（給藥前和給藥後定期）評價血清細胞因數水準。各治療組的TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-6和IL-15的血清水準被分別繪製在**圖35A-35E**中。此外，外周血中的T-細胞群利用作為增殖細胞的標誌物的Ki67的表達通過FACS進行檢測。**圖36A**繪製$CD4^+$ T-細胞擴增作為對Ki67陽性的$CD4^+$或$CD8^+$細胞的百分比(給藥前和給藥後定期)，並且**圖36B**繪製$CD8^+$ T-細胞擴增作為對Ki67陽性的$CD4^+$或$CD8^+$細胞的百分比(給藥前和給藥後定期)。

表 20：CD20 組織染色

	陰性對照ǂ	**CD19-WT**	
動物編號	5001	1001	1002
脾	X	2+	1+
骨髓	2+	0	0
LN，腋的	3+	1+	1+
LN，下頜的	3+	1+	1+
LN，腸系膜的	3+	1+	1+
LN，腹股溝的	3+	1+	1+
	CD19.1-M13		
動物編號	2001	2002	2003
脾	1+	2+	1+
骨髓	0	0	0
LN，腋的	1+	2+	1+
LN，下頜的	1+	1+	1+
LN，腸系膜的	0	1+	1+
LN，腹股溝的	1+	1+	1+
	CD19.1-M17		
動物編號	3001	3002	3003
脾	1+	1+	1+
骨髓	0	1+	1+
LN，腋的	1+	2+	2+
LN，下頜的	1+	2+	2+
LN，腸系膜的	1+	1+	2+

表 20：CD20 組織染色			
LN，腹股溝的	1+	2+	2+

ǂ陰性對照組中的一個動物

X – 未檢測　　0 – 未觀察到染色

1+ – 觀察到弱的染色　　2+ – 觀察到中等的染色

3+ – 觀察到強的染色

【0575】 該研究的結果顯示包含**CD3 mAb 1 M13**或**CD3 mAb 1 M17**的vCD3-結合結構域的CD19 x CD3結合分子具有活性，其中用1 mg/kg **CD19.1-M13**治療的動物以與**CD19-WT**陽性對照相似的程度展示自體B-細胞消耗。用1 mg/kg **CD19.1-M17**治療的動物也展示自體B-細胞消耗，但以比陽性對照稍低的程度。預期**CD19.1-M17**將達到與較高劑量相當的消耗。變體介導INF-γ、TNF-α、IL-2、和IL-6的釋放中更低的增加以及IL-15的釋放中稍微的降低。此外，看到包含**CD3 mAb 1 M13**和**CD3 mAb 1 M17**的結合分子刺激T-細胞的增殖，其中包含**CD3 mAb 1 M13**的分子展示更高水準的增殖。此外，兩種分子均展示優先刺激$CD8^+$ T-細胞增殖。

【0576】 上面實施例中提供的研究一起顯示包含**CD3 mAb 1** (例如，**M13**、**M17**、**M18**、**M19**)的vCD3-結合結構域的**DA x CD3結合分子**展示一定範圍的結合親和力、一定範圍的細胞毒性EC_{50}值但均達到與包含**CD3 mAb 1**的rCD3-結合結構域的分子相當的最大CTL活性，因此展示提高的治療指數。這些研究進一步顯示這種分子具有耐受性，這種分子在介導T-細胞重定向細胞殺傷方面以及在刺激T-細胞啟動和體內增殖方面具有活性。

【0577】 本說明書中提及的所有出版物和專利以相同的程度通過引用併入本文，如同每個出版物或專利申請被明確且單獨地指出以其全部內容通過引

用併入一樣。儘管本發明已經結合其具體實施方式進行了描述，但是應當理解它能進一步改變，並且本申請意欲涵蓋本發明的任何變化、應用或改編，其總體上遵循本發明的原理並且包括落入本發明所屬領域內的已知或慣常實踐內的並且可適用於前文所提出的實質特徵的這種偏離。

【符號說明】

【0578】 無

【序列表】

<110> 美商宏觀基因股份有限公司(MacroGenics, Inc.)

<120> 變體CD3-結合結構域及其在用於治療疾病的組合療法中的用途

<130> 1301.0150PCT

<150> US 62/738,632
<151> 2018-09-28

<150> US 62/631,043
<151> 2018-02-15

<160> 209

<170> PatentIn 版本3.5

<210> 1
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 示例性人IgG1 CH1結構域

<400> 1

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

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

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

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

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

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

Arg Val

<210> 2
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 示例性人 IgG2 CH1 結構域

<400> 2

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

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

Thr Val

<210> 3
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 示例性人 IgG3 CH1 結構域

<400> 3

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

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

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

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

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

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

Arg Val

<210> 4
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 示例性人 IgG4 CH1 結構域

<400> 4

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

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

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

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

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

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

85 90 95

Arg Val

<210> 5
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(15)
<223> 示例性人 IgG1 鉸鏈結構域

<400> 5

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

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> 示例性人 IgG2 鉸鏈結構域

<400> 6

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

<210> 7
<211> 62
<212> PRT

<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(62)
<223> 示例性人 IgG2 鉸鏈結構域

<400> 7

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
50 55 60

<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> 示例性人 IgG4 鉸鏈結構域

<400> 8

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 9

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含穩定 S228P 置換的人 IgG4 鉸鏈結構域

<400> 9

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 10
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 示例性人 IgG1 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 10

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

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

50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

〈210〉 11

<211> 216
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(216)
<223> 示例性人 IgG2 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (216)..(216)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 11

```
Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1               5                  10                  15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            20                  25                  30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
        35                  40                  45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    50                  55                  60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
65                  70                  75                  80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
                85                  90                  95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
            100                 105                 110
```

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
115 120 125

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
130 135 140

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
180 185 190

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
195 200 205

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 12
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 示例性人 IgG3 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)

<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 12

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160
```

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 13
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 示例性人 IgG4 的 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 13

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 14
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 示例性人CLκ結構域

<400> 14

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

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

<210> 15

<211> 104
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(104)
<223> 示例性人 CLλ結構域

<400> 15

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
50 55 60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
65 70 75 80

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100

<210> 16
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 優選間插間隔肽(連接體 1)

<400> 16

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 優選的含半胱氨酸的間隔肽(連接體 2)

<400> 17

Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 18
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 缺少半胱氨酸的可替選的間隔肽(連接體 2)

<400> 18

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 缺少半胱氨酸的可替選的間隔肽(連接體 2)

<400> 19

Leu Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 缺少半胱氨酸的可替選的間隔肽(連接體 2)

<400> 20

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 缺少半胱氨酸的可替選的間隔肽(連接體 2)

<400> 21

Ala Ser Thr Lys Gly
1 5

<210> 22
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 缺少半胱氨酸的可替選的間隔肽(連接體 2)

<400> 22

Leu Glu Pro Lys Ser Ser
1 5

<210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 缺少半胱氨酸的可替選的間隔肽(連接體 2)

<400> 23

Ala Pro Ser Ser Ser
1 5

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體-促進結構域

<400> 24

Gly Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 25
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體-促進結構域

<400> 25

Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 26
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體-促進結構域

<400> 26

Ala Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體-促進結構域

<400> 27

Gly Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 異源二聚體-促進結構域

<400> 28

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 29
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> "E-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 29

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 30
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> "K-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 30

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 31
<211> 28
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 含半胱氨酸的"E-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 31

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 32
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 含半胱氨酸的"K-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 32

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 33
<211> 46
<212> PRT
<213> 停乳鏈球菌

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(46)
<223> 鏈球菌菌株 G148 的蛋白 G 的白蛋白結合結構域 3(ABD3)

<400> 33

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 34
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含N66D、T70S和V71A置換的鏈球菌菌株G148的蛋白G的變體去免疫化白蛋白結合結構域3(ABD3)

<400> 34

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asp Asn Ala Lys Ser Ala Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 35
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含L64A、I65A和D79A置換的鏈球菌菌株G148的蛋白G的變體去免疫化白蛋白結合結構域3(ABD3)

<400> 35

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Ala Ala Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 36
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含N66S、T70S和D79A置換的鏈球菌菌株G148的蛋白G的變體去免疫化白蛋白結合結構域3(ABD3)

<400> 36

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Ser Asn Ala Lys Ser Val Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 37

Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu
1 5

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 38

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

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 39

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

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 40

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(ScFv 連接體)

<400> 41

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽("長"連接體)

<400> 42

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 43
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 43

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 間插間隔肽(連接體)

<400> 44

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

<210> 45
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含 L234A/L235A 置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 45

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 46
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含 M252Y/S254T/T256E 置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 46

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110
```

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 47
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含 L234A/L235A 和 M252Y/S254T/T256E 置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

〈400〉 47

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175
```

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 48
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含"帶有杵的"置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 48

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

〈210〉 49
〈211〉 217

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含"帶有杵的"置換和 M252Y/S254T/T256E 置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 49

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 50
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含"帶有臼的"置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 50

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 51
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含"帶有臼的"置換和 M252Y/S254T/T256E 置換的人 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 51

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

```
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            180                 185                 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln
        195                 200                 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
    210                 215
```

<210> 52
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 包含 Y252/T254T/E256 置換的人 IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 52

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 53
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含"帶有杵的"置換和 Y252/T254/E256 置換的人 IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 53

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 54
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含"帶有臼的"置換和 Y252/T254/E256 置換的人 IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 54

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 55
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)

<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 55

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 56
<211> 110
<212> PRT

<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 56

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VH 結構域的 CDRH1

<400> 57

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 58
<211> 19
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(19)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VH 結構域的 CDRH2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (19)..(19)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 58

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Xaa

<210> 59
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 59

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 60
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VL 結構域的 CDRL1

<400> 60

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VL 結構域的 CDRL2

<400> 61

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 62
<211> 9
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(9)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VL 結構域的 CDRL3

<400> 62

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 63
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 包含 D66 的抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 63

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 64
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M1的VH結構域("CD3 mAb 1低")

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 64

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Thr Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 65
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M1的VH結構域的CDRH3("CD3 mAb 1低")

<400> 65

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Thr Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 125
<212> PRT

<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M2 的 VH 結構域("CD3 mAb 1 快")

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 66

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Thr Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 67
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M2的VH結構域的CDRH3("CD3 mAb 1快")

<400> 67

His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Thr Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M3的VH結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 68

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Ile Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 69
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M3的VH結構域的CDRH3

<400> 69

His Gly Asn Phe Ile Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 70

<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M4 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 70

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Ala Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110
```

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 71
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M4 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 71

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Ala Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 72
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M5 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 72

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Gly Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 73
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M5 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 73

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Gly Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 74
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M6 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 74

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Gln Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M6 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 75

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Gln Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 76
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M7 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 76

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Asp Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 77
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M7的VH結構域的CDRH3

<400> 77

His Asp Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 78
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M8 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 78

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Glu Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 79
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M8 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 79

His Glu Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 80
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M9 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 80

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 81
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M9 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 81

His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 82
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M10 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 82

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 83
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M10 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 83

His Gly Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 84
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M11 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 84

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe
            100                 105                 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 85
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)

<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M11 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 85

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 86
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M12 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 86

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 87
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M12 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 87

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 88
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M13 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 88

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 89
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M13 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 89

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Glu
1 5 10

<210> 90
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M14 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 90

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 91
<211> 5
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M14 的 VH 結構域的 CDRH1

<400> 91

Asp Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 92
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M15 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 92

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 93
<211> 5
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M15 的 VH 結構域的 CDRH1

<400> 93

Glu Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 94
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M16 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 94

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M16 的 VH 結構域的 CDRH1

<400> 95

Thr Asp Ala Met Asn
1 5

<210> 96
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)

<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M17 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 96

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 97
<211> 5
<212> PRT

<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M17 的 VH 結構域的 CDRH1

<400> 97

Thr Thr Ala Met Asn
1 5

<210> 98
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M18 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 98

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 99
<211> 5
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M18 的 VH 結構域的 CDRH1

<400> 99

Thr Tyr Gly Met Asn
1 5

<210> 100
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M19 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 100

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 101

<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M19 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 101

His Lys Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 102
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M20 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 102

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Gly Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 103
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M20 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 103

His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Gly Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 104
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M21 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 104

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 105
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M21 的 VH 結構域的 CDRH3

<400> 105

His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Phe Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 106
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M22 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<400> 106

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 107
<211> 14
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(14)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M22的VH結構域的CDRH3

<400> 107

His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 108
<211> 110
<212> PRT

<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M23 的 VL 結構域

<400> 108

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Glu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 109
<211> 9
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(9)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M23 的 VL 結構域的 CDRL3

<400> 109

Ala Glu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 110
<211> 110
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M24 的 VL 結構域

<400> 110

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Gln Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 111
<211> 9
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(9)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M24的VL結構域的CDRL3

<400> 111

Ala Gln Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 112
<211> 110
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 抗人CD3抗體CD3 mAb 1 M25的VL結構域

<400> 112

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Asp Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 113
<211> 7
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M25 的 VL 結構域的 CDRL2

<400> 113

Asp Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 114
<211> 110
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M26 的 VL 結構域

<400> 114

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Gly Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(7)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 M26 的 VL 結構域的 CDRL2

<400> 115

Gly Thr Asn Gly Arg Ala Pro
1 5

<210> 116
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 CD2 抗體 CD2 mAb Lo-CD2a 的 VH 結構域

<400> 116

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Lys Phe Asn Tyr Arg Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 117
<211> 112
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(112)
<223> 抗人CD2抗體CD2 mAb Lo-CD2a的VL結構域

<400> 117

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

Gln Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Thr Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Pro Leu Ile Tyr Leu Val Ser Lys Leu Glu Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asn Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Gly Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Phe

85 90 95

Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 118
<211> 120
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(120)
<223> 抗人 CD8 抗體 OKT8 的 VH 結構域

<400> 118

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

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Tyr Thr Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

Met Glu Leu Arg Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Phe Arg Tyr Thr Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 119
<211> 112
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(112)
<223> 抗人 CD8 抗體 OKT8 的 VL 結構域

<400> 119

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

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Ser Tyr
20 25 30

Asp Asn Ser Leu Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Val Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Arg Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp
65 70 75 80

Pro Val Glu Ala Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn
85 90 95

Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 120
<211> 121
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(121)
<223> 抗人 CD8 抗體 TRX2 的 VH 結構域

<400> 120

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

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

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

Ala Leu Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe 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 Pro His Tyr Asp Gly Tyr Tyr His Phe Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 121
<211> 106
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(106)
<223> 抗人 CD8 抗體 TRX2 的 VL 結構域

<400> 121

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Thr Asp Ile Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 122
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-B VH1 的 VH 結構域

<400> 122

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 123
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-B VH2 的 VH 結構域

<400> 123

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

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

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

Gly Thr Ile Tyr Pro Gly Gly Gly Asp Thr Arg Tyr Thr Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Gly Ile Pro Arg Leu Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 124

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-B VL1 的 VL 結構域

<400> 124

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 125
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-B VL2 的 VL 結構域

<400> 125

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 126
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-C 的 VH 結構域

<400> 126

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

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

Ala Thr Ile Asn Ser Gly Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Leu
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 127
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-C 的 VL 結構域

<400> 127

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Val
        35                  40                  45

Tyr Asn Thr Lys Thr Leu Pro Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Gly Thr Pro Pro
                85                  90                  95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 128
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-D 的 VH 結構域

<400> 128

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Gly Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Gly Tyr Arg Tyr Glu Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 129
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體 B7-H3 mAb-D 的 VL 結構域

<400> 129

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 130
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體恩比利珠單抗的 VH 結構域

<400> 130

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 B7-H3 抗體恩比利珠單抗的 VL 結構域

<400> 131

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 132
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CEACAM5 / CEACAM6 抗體 16C3 的 VH 結構域

<400> 132

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ala 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 Gly Asp Tyr Ser Gly Ser Arg Tyr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 133
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CEACAM5 / CEACAM6 抗體 16C3 的 VL 結構域

<400> 133

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gly Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Gly Ala
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Trp Gly Ala Ser Asn Leu Ala Asp Gly Met Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asn Val Leu Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 134
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CEACAM5 / CEACAM6 抗體 hMN15 的 VH 結構域

<400> 134

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

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

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

Gly Phe Ile Ala Asn Lys Ala Asn Gly His Thr Thr Asp Tyr Ser Pro
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Phe Cys Ala Arg Asp Met Gly Ile Arg Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 135
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CEACAM5 / CEACAM6 抗體 hMN15 的 VL 結構域

<400> 135

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

Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Arg Val Ser Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Trp Ile Tyr
35 40 45

Gly Thr Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Tyr Asn Pro Pro Thr
85 90 95

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

<210> 136
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗人 EGFR 抗體西妥昔單抗的 VH 結構域

<400> 136

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 137
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗人 EGFR 抗體西妥昔單抗的 VL 結構域

<400> 137

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
            20                  25                  30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser
65                  70                  75                  80

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
            100                 105
```

<210> 138
<211> 119
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(119)
<223> 抗人 EGFR 抗體帕尼單抗的 VH 結構域

<400> 138

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Val Ser Ser Gly
20 25 30

Asp Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Ile Asp Thr Ser Lys Thr Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95

Cys Val Arg Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 139
<211> 108
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(108)
<223> 抗人 EGFR 抗體帕尼單抗的 VL 結構域

<400> 139

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln His Phe Asp His Leu Pro Leu
85 90 95

Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 140
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 EphA2 抗體 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 140

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Arg Tyr

20 25 30

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

Gly Met Ile Trp Gly Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
50 55 60

Ser Arg Leu Ser Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Leu
65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Thr Asp Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Lys His Gly Asn Tyr Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 141
<211> 106
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(106)
<223> 抗人 EphA2 抗體 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 141

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Ile Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Gln
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 142
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 EphA2 抗體 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 142

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

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

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Leu Gly Pro Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 143
<211> 111
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(111)
<223> 抗人 EphA2 抗體 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 143

Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

Thr His Val Pro Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 144
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 EphA2 抗體 mAb 3 的 VH 結構域

<400> 144

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp His
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Thr Ile Ser Asp Gly Gly Ser Phe Thr Ser Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ala Lys Asn Asn Leu Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Asp Glu Ser Asp Arg Pro Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 145
<211> 107
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 抗人 EphA2 抗體 mAb 3 的 VL 結構域

<400> 145

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser His Arg Ser Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Asn Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Thr Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Gly Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 146
<211> 119
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(119)
<223> 抗人 gpA33 抗體 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 146

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 Gly Ser
20 25 30

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

Gly Arg Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Glu Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Asp 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 Ile Tyr Gly Asn Asn Val Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 147
<211> 106
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(106)
<223> 抗人 gpA33 抗體 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 147

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Arg Ser Ser Ile Ser Phe Met
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

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

<210> 148
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體瑪格妥昔單抗的 VH 結構域

<400> 148

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Val Ser Arg Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 149
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體瑪格妥昔單抗的 VL 結構域

<400> 149

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly His Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Val Gln Ala
65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

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

<210> 150
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體曲妥珠單抗的 VH 結構域

<400> 150

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 151
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體曲妥珠單抗的 VL 結構域

<400> 151

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

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

<210> 152
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體帕妥株單抗的 VH 結構域

<400> 152

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

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

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

Ala Asp Val Asn Pro Asn Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Gln Arg Phe
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Leu Gly Pro Ser Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 153
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 Her2/Neu 抗體帕妥株單抗的 VL 結構域

<400> 153

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Ile Gly
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ile Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 154
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 VEGF 抗體貝伐珠單抗的 VH 結構域

<400> 154

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Ala Asp Phe
50 55 60

Lys Arg Arg Phe Thr Phe Ser Leu Asp Thr Ser Lys Ser Thr Ala 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 Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 155
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 VEGF 抗體貝伐珠單抗的 VL 結構域

<400> 155

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 156
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 抗人 5T4 抗體 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 156

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

1 5 10 15

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asn Arg Gly Gly Thr Glu Tyr Asn Glu Lys Ala
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met 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 Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 157
<211> 107
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 抗人 5T4 抗體 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 157

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
85 90 95

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

<210> 158
<211> 127
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(127)
<223> 抗人 5T4 抗體 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 158

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

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

Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Arg Ala Asn Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Pro Leu Phe Thr Thr Val Val Asp Pro Asn Ser Tyr
100 105 110

Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 159
<211> 112
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(112)
<223> 抗人 5T4 抗體 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 159

Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val Tyr Ser
20 25 30

Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

Ser His Val Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 160
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 IL-13R(α2)抗體 hu08 的 VH 結構域

<400> 160

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

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

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

Ala Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Thr Thr Ala Leu Ala Thr Arg Phe Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 161
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 IL-13R(α2)抗體 hu08 的 VL 結構域

<400> 161

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Ser Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ser Ala Pro Trp
85 90 95

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

<210> 162
<211> 120
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(120)
<223> 抗人 CD123 抗體 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 162

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Leu 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

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

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

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 163
<211> 113
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(113)
<223> 抗人 CD123 抗體 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 163

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

```
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110

Lys
```

<210> 164
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD19 抗體 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 164

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
            20                  25                  30

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

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
    50                  55                  60
```

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Phe Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 165
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD19 抗體 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 165

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

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

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

<210> 166
<211> 126
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(126)
<223> 人抗 HIV(env)抗體 7B2 的 VH 結構域

<400> 166

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Phe Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

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

Ala Tyr Ile Ser Lys Asn Gly Glu Tyr Ser Lys Tyr Ser Pro Ser Ser
50 55 60

Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Val Phe
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asp Arg Leu Ser Ala Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Asp Gly Leu Thr Tyr Phe Ser Glu Leu Leu Gln Tyr Ile
100 105 110

Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Ala Arg Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 167
<211> 113
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(113)
<223> 人抗 HIV(env)抗體 7B2 的 VL 結構域

<400> 167

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

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 168
<211> 123
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(123)
<223> 人抗 HIV(env)抗體 A32 的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (118)..(118)
<223> Xaa 是亮氨酸(L)或甲硫氨酸(M)

<400> 168

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

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ser Gly
20 25 30

Ala His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Tyr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Xaa Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 169
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 人抗 HIV(env)抗體 A32 的 VL 結構域

<400> 169

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 170
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗 RSV(糖蛋白 F)抗體帕利珠單抗的 VH 結構域

<400> 170

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
20 25 30

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

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 171
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗 RSV(糖蛋白 F)抗體帕利珠單抗的 VL 結構域

<400> 171

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 172
<211> 280
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-A-型雙抗體 DART-A-WT 的第一多肽鏈

<400> 172

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

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

100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
210 215 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala
245 250 255

Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
260 265 270

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu

275 280

<210> 173
<211> 272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-A-型雙抗體 DART-A-WT 的第二多肽鏈

<400> 173

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
115 120 125

Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
130 135 140

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr
165 170 175

Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys
180 185 190

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp
210 215 220

Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

〈210〉 174
〈211〉 510
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉

<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-WT 的第一多肽鏈

<400> 174

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
            20                  25                  30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
    130                 135                 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
145                 150                 155                 160
```

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
210 215 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
275 280 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
290 295 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305 310 315 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
325 330 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
340 345 350

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505 510

<210> 175
<211> 272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-WT 的第二多肽鏈

<400> 175

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
115 120 125

Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
130 135 140

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr
165 170 175

Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys
180 185 190

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp
210 215 220

Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
245 250 255

Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 176
<211> 227
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-WT 的第三多肽鏈

<400> 176

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175
```

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 177
<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-M1 的第一多肽鏈

<400> 177

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
210 215 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
275 280 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
290 295 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305 310 315 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
325 330 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
340 345 350

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505 510

<210> 178
<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-M2 的第一多肽鏈

<400> 178

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

```
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
    130                 135                 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
145                 150                 155                 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
                165                 170                 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
            180                 185                 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
        195                 200                 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Lys Asn
    210                 215                 220
```

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
275 280 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
290 295 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305 310 315 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
325 330 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
340 345 350

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505 510

<210> 179
<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-M18 的第一多肽鏈

<400> 179

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
210 215 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
275 280 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
290 295 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305 310 315 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
325 330 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
340 345 350

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505 510

<210> 180
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5T4 x CD3 DART-B-型雙抗體 5T4-WT 的第一多肽鏈

<400> 180

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
        115                 120                 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
                165                 170                 175
```

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
180 185 190

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
195 200 205

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
210 215 220

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
260 265 270

Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
275 280 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
405 410 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 181
<211> 270
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 5T4 x CD3 DART-B-型雙抗體 5T4-WT 的第二多肽鏈

<400> 181

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
        115                 120                 125

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
    130                 135                 140

Tyr Thr Phe Thr Ser Phe Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
```

145 150 155 160

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Arg Ile Asp Pro Asn Arg Gly Gly Thr
165 170 175

Glu Tyr Asn Glu Lys Ala Lys Ser Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys
180 185 190

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp
210 215 220

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly
225 230 235 240

Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
245 250 255

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 182
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5T4 x CD3 DART-B-型雙抗體 5T4-M1 的第一多肽鏈

<400> 182

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
115 120 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
130 135 140

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
165 170 175

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
180 185 190

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
195 200 205

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
210 215 220

Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
260 265 270

Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
275 280 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
405 410 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 183
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

〈223〉 5T4 x CD3 DART-B-型雙抗體 5T4-M2 的第一多肽鏈

〈400〉 183

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
        115                 120                 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
    130                 135                 140

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145                 150                 155                 160
```

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
165 170 175

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
180 185 190

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
195 200 205

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
210 215 220

Thr Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
260 265 270

Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
275 280 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
405 410 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 184
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5T4 x CD3 DART-B-型雙抗體 5T4-M18 的第一多肽鏈

<400> 184

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asp Phe Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
115 120 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
130 135 140

Ser Thr Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
165 170 175

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
180 185 190

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
195 200 205

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
210 215 220

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
260 265 270

Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
275 280 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
405 410 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 185
<211> 506
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HIV x CD3 DART-B-型雙抗體 HIV-WT 的第一多肽鏈

<400> 185

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
130 135 140

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
165 170 175

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
180 185 190

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
210 215 220

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu
245 250 255

Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
260 265 270

Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
275 280 285

```
Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    290                 295                 300

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
305                 310                 315                 320

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                325                 330                 335

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
            340                 345                 350

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        355                 360                 365

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
    370                 375                 380

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
385                 390                 395                 400

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
                405                 410                 415

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
            420                 425                 430

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
        435                 440                 445

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
    450                 455                 460
```

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
465 470 475 480

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
485 490 495

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505

<210> 186
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HIV x CD3 DART-B-型雙抗體 HIV-WT 的第二多肽鏈

<400> 186

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly
115 120 125

Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly
130 135 140

Gly Ser Ser Ser Ser Gly Ala His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Tyr
145 150 155 160

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn
165 170 175

Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His
180 185 190

Thr Ser Glu Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala
195 200 205

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu
210 215 220

Arg Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
225 230 235 240

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala
245 250 255

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
260 265 270

Lys Glu

<210> 187
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 示例性三價型分子的第三多肽鏈

<400> 187

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

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

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

Ala Leu Ile Tyr Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Phe 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 Pro His Tyr Asp Gly Tyr Tyr His Phe Phe Asp Ser Trp Gly
            100                 105                 110
```

Gln Gly Thr Leu 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 Arg 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 Pro 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 Ser Arg Glu Glu Met 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 Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
        435                 440                 445

Pro Gly Lys
    450
```

<210> 188
<211> 213
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 示例性三價型分子的第四多肽鏈

<400> 188

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Gly Ser Gln Asp Ile Asn Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asn Thr Asp Ile Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 189
<211> 280
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 DART-A-WT 雙抗體的結構但包含 CD3 mAb 1 變體 M1-M26 中的一種的 VL 和 VH 結構域的示例性 CD123 x CD3 DART-A-型雙抗體的第一多肽鏈

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (152)..(152)
<223> Xaa 是蘇氨酸(T)、天冬氨酸(D)、或谷氨酸(E)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (153)..(153)
<223> Xaa 是酪氨酸(Y)、天冬氨酸(D)、或蘇氨酸(T)

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (154)..(154)
<223> Xaa 是丙氨酸(A)或甘氨酸(G)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (189)..(189)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (223)..(223)
<223> Xaa 是甘氨酸(G)、天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、或賴氨酸(K)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (225)..(225)
<223> Xaa 是苯丙氨酸(F)或異亮氨酸(I)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (226)..(226)
<223> Xaa 是甘氨酸(G)或異亮氨酸(I)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (229)..(229)
<223> Xaa 是酪氨酸(Y)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、或穀氨醯胺(Q)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (231)..(231)
<223> Xaa 是絲氨酸(S)或蘇氨酸(T)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (232)..(232)
<223> Xaa 是色氨酸(W)、苯丙氨酸(F)、或酪氨酸(Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (235)..(235)
<223> Xaa 是酪氨酸(Y)或谷氨酸 (E)

<400> 189

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Xaa Xaa Xaa Met Asn Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Xaa Asn
210 215 220

Xaa Xaa Asn Ser Xaa Val Xaa Xaa Phe Ala Xaa Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala
245 250 255

Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
260 265 270

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
275 280

<210> 190
<211> 272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 DART-A-WT 雙抗體的結構但包含 CD3 mAb 1 變體 M1-M26 中的一種的 VL 和 VH 結構域的示例性 CD123 x CD3 DART-A-型雙抗體的第二多肽鏈

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(52)
<223> Xaa 是甘氨酸(G)或天冬氨酸(D)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (55)..(55)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或甘氨酸(G)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (92)..(92)
<223> Xaa 是亮氨酸(L)、谷氨酸(E)、或穀氨醯胺(Q)

<400> 190

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Xaa Thr Asn Xaa Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Xaa Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
        115                 120                 125
```

Leu Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
130 135 140

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met Lys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr
165 170 175

Phe Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Val Asp Lys
180 185 190

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp
210 215 220

Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225 230 235 240

Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

<210> 191
<211> 502
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19-WT 的第一多肽鏈

〈400〉 191

```
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1               5                  10                  15

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
    130                 135                 140

Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145                 150                 155                 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
                165                 170                 175
```

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225 230 235 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
275 280 285

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
290 295 300

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
305 310 315 320

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
325 330 335

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
340 345 350

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
355 360 365

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
370 375 380

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
385 390 395 400

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
405 410 415

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
420 425 430

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
435 440 445

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
450 455 460

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
465 470 475 480

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

〈210〉 192
〈211〉 271

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19-WT 的第二多肽鏈

<400> 192

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala
115 120 125

Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly
130 135 140

Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro
145 150 155 160

Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp
165 170 175

Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp
180 185 190

Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val
195 200 205

Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr
210 215 220

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
225 230 235 240

Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
245 250 255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 193
<211> 503
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19.1-M18 的第一多肽鏈

<400> 193

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Phe Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Thr Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
165 170 175

Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
275 280 285

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
290 295 300

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
305 310 315 320

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
325 330 335

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
340 345 350

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
355 360 365

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
370 375 380

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
385 390 395 400

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
405 410 415

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
420 425 430

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
435 440 445

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
450 455 460

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
465 470 475 480

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
485 490 495

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

〈210〉 194
〈211〉 272
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉

<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19.1-M18 的第二多肽鏈

<400> 194

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala
        115                 120                 125

Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly
    130                 135                 140

Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro
145                 150                 155                 160
```

```
Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp
                165                 170                 175

Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp
            180                 185                 190

Thr Ser Lys Asn Gln Val Phe Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val
        195                 200                 205

Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr
    210                 215                 220

Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
225                 230                 235                 240

Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255

Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265                 270
```

<210> 195
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD19 抗體 mAb 1 的可替選 VL 結構域

<400> 195

```
Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Thr Pro Gly
1               5                   10                  15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
            20                  25                  30
```

```
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
         35                  40                  45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
     50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Asp His Phe Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 196
<211> 506
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HIV x CD3 DART-B-型雙抗體 HIV-M18 的第一多肽鏈

<400> 196

```
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1               5                   10                  15

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
            20                  25                  30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
        35                  40                  45
```

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
130 135 140

Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr
165 170 175

Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
180 185 190

Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr
195 200 205

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn
210 215 220

Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240

Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu
245 250 255

Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
260 265 270

Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
275 280 285

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
290 295 300

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
305 310 315 320

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
325 330 335

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
340 345 350

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
355 360 365

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
370 375 380

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
385 390 395 400

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
405 410 415

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
420 425 430

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
435 440 445

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
450 455 460

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
465 470 475 480

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
485 490 495

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505

<210> 197
<211> 502
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19-M18 的第一多肽鏈

<400> 197

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

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

```
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
    130                 135                 140

Thr Tyr Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145                 150                 155                 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
                165                 170                 175

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
            180                 185                 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205
```

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225 230 235 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
275 280 285

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
290 295 300

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
305 310 315 320

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
325 330 335

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
340 345 350

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
355 360 365

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
370 375 380

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
385 390 395 400

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
405 410 415

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
420 425 430

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
435 440 445

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
450 455 460

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
465 470 475 480

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 198
<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-M13 的第一多肽鏈

<400> 198

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
            20                  25                  30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
    130                 135                 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
145                 150                 155                 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
                165                 170                 175
```

```
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
            180                 185                 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
        195                 200                 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
    210                 215                 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Glu Trp Gly Gln Gly Thr
225                 230                 235                 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
                245                 250                 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
            260                 265                 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
        275                 280                 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
    290                 295                 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305                 310                 315                 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
                325                 330                 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
            340                 345                 350
```

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505 510

<210> 199
<211> 510
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-M17 的第一多肽鏈

<400> 199

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
            20                  25                  30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
                85                  90                  95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
    130                 135                 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Thr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
```

145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
210 215 220

Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
275 280 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
290 295 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305 310 315 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

325 330 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
340 345 350

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

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

500 505 510

<210> 200
<211> 510
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD123 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD123-M19 的第一多肽鏈

<400> 200

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Gly Asn Gln Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
165 170 175

Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
180 185 190

Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
195 200 205

Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Lys Asn
210 215 220

Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr
275 280 285

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
290 295 300

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
305 310 315 320

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
325 330 335

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
340 345 350

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
355 360 365

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
370 375 380

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
385 390 395 400

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
405 410 415

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
420 425 430

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
435 440 445

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
450 455 460

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
465 470 475 480

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
485 490 495

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500 505 510

<210> 201
<211> 503
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19.1-M13 的第一多肽鏈

<400> 201

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Phe Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly

100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
165 170 175

Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

275 280 285

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
290 295 300

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
305 310 315 320

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
325 330 335

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
340 345 350

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
355 360 365

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
370 375 380

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
385 390 395 400

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
405 410 415

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
420 425 430

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
435 440 445

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

450 455 460

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
465 470 475 480

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
485 490 495

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 202
<211> 503
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19.1-M17 的第一多肽鏈

<400> 202

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Phe Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Thr Thr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
165 170 175

Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
225 230 235 240

Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
275 280 285

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
290 295 300

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
305 310 315 320

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
325 330 335

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
340 345 350

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
355 360 365

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
370 375 380

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
385 390 395 400

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
405 410 415

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
420 425 430

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
435 440 445

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
450 455 460

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
465 470 475 480

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
485 490 495

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 203
<211> 503
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體 CD19.1-M19 的第一多肽鏈

<400> 203

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Phe Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
165 170 175

Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly

225 230 235 240

Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
275 280 285

Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
290 295 300

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
305 310 315 320

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
325 330 335

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
340 345 350

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
355 360 365

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
370 375 380

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
385 390 395 400

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

405 410 415

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
420 425 430

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
435 440 445

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
450 455 460

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
465 470 475 480

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
485 490 495

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 204
<211> 502
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含 CD19 mAb 1 的 VL 結構域和 CD3 mAb 1 M13 的 VH 結構域的 CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體的第一多肽鏈

<400> 204

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

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

```
His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
        35                  40                  45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
        115                 120                 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
    130                 135                 140

Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145                 150                 155                 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
                165                 170                 175

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
            180                 185                 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205
```

```
Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
    210                 215                 220

Trp Phe Ala Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225                 230                 235                 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        275                 280                 285

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    290                 295                 300

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
305                 310                 315                 320

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                325                 330                 335

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
            340                 345                 350

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
        355                 360                 365

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
    370                 375                 380
```

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
385 390 395 400

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
405 410 415

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
420 425 430

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
435 440 445

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
450 455 460

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
465 470 475 480

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 205
<211> 502
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 包含 CD19 mAb 1 的 VL 結構域和 CD3 mAb 1 M17 的 VH 結構域的 CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體的第一多肽鏈

<400> 205

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

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Thr Thr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
165 170 175

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
180 185 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser
210 215 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225 230 235 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
275 280 285

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
290 295 300

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
305 310 315 320

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
325 330 335

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
340 345 350

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
355 360 365

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
370 375 380

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
385 390 395 400

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
405 410 415

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
420 425 430

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
435 440 445

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
450 455 460

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
465 470 475 480

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 206
<211> 502
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 包含 CD19 mAb 1 的 VL 結構域和 CD3 mAb 1 M19 的 VH 結構域的 CD19 x CD3 DART-B-型雙抗體的第一多肽鏈

<400> 206

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

Glu Lys Ala Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
35 40 45

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

```
Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145                 150                 155                 160

Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr
                165                 170                 175

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys
            180                 185                 190

Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Lys Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
    210                 215                 220

Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225                 230                 235                 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
                245                 250                 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        275                 280                 285

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    290                 295                 300

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
305                 310                 315                 320
```

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
325 330 335

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
340 345 350

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
355 360 365

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
370 375 380

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
385 390 395 400

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
405 410 415

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
420 425 430

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
435 440 445

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
450 455 460

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
465 470 475 480

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 207
<211> 125
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(125)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的變體的 VH 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(31)
<223> Xaa 是蘇氨酸(T)、天冬氨酸(D)、或谷氨酸(E)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (32)..(32)
<223> Xaa 是酪氨酸(Y)、天冬氨酸(D)或蘇氨酸(T)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (68)..(68)
<223> Xaa 是天冬氨酸(D)或甘氨酸(G)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (102)..(102)
<223> Xaa 是甘氨酸(G)、天冬氨酸(D)、谷氨酸(E)、或賴氨酸(K)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (104)..(104)
<223> Xaa 是苯丙氨酸(F)或異亮氨酸(I)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (105)..(105)

<223> Xaa 是甘氨酸(G)或異亮氨酸(I)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (108)..(108)
<223> Xaa 是酪氨酸(Y)、丙氨酸(A)、甘氨酸(G)、或穀氨醯胺(Q)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (111)..(111)
<223> Xaa 是色氨酸(W)、苯丙氨酸(F)、或酪氨酸(Y)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (114)..(114)
<223> Xaa 是酪氨酸(Y)或谷氨酸(E)

<400> 207

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

Ser Val Lys Xaa Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80

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

Tyr Cys Val Arg His Xaa Asn Xaa Xaa Asn Ser Xaa Ser Thr Xaa Phe
```

100 105 110

Ala Xaa Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 208
<211> 110
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(110)
<223> 抗人 CD3 抗體 CD3 mAb 1 的變體的 VL 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(52)
<223> Xaa 是甘氨酸(G)或天冬氨酸(D)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (55)..(55)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或甘氨酸(G)

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (92)..(92)
<223> Xaa 是亮氨酸(L)、谷氨酸(E)或穀氨醯胺(Q)

<400> 208

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly

35 40 45

Leu Ile Gly Xaa Thr Asn Xaa Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Xaa Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 209
<211> 123
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(123)
<223> 人抗 HIV(env)抗體 A32 的 VH 結構域，其中殘基 118 是亮氨酸(L)

<400> 209

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

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ser Gly
20 25 30

Ala His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Tyr Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

```
Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
    50                  55                  60

Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu Asn Gln Phe
65                  70                  75                  80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95

Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala Phe Asp Ile
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

【發明申請專利範圍】

【第1項】一種疾病抗原x CD3(DA x CD3)結合分子，其包含能夠結合CD3的表位的CD3-結合結構域和能夠結合疾病抗原的表位的疾病抗原-結合結構域，其中所述疾病抗原是B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、EGRF、EphA2、gpA33、HER2/neu、VEGF、5T4、IL13Rα2或CD19；和

其中所述CD3-結合結構域包括：

(I) (A) 包含選自由**SEQ ID NO:99**、**SEQ ID NO:91**、**SEQ ID NO:93**、**SEQ ID NO:95** 和 **SEQ ID NO:97**組成的組的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(II) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含選自由**SEQ ID NO:69**、**SEQ ID NO:71**、**SEQ ID NO:73**、**SEQ ID NO:75**、**SEQ ID NO:77**、**SEQ ID NO:79**、**SEQ ID NO:81**、**SEQ ID NO:83**、**SEQ ID NO:85**、**SEQ ID NO:87**、**SEQ ID NO:89**、**SEQ ID NO:101**、**SEQ ID NO:103**、**SEQ ID NO:105**和**SEQ ID NO:107**組成的組的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(III) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含選自由**SEQ ID NO:109**或**SEQ ID NO:111**組成的組的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(IV) (A) 包含**SEQ ID NO:57**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含選自由**SEQ ID NO:113**和**SEQ ID NO:115**組成的組的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【第2項】如請求項1所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述CD3-結合結構域包括：

(A) 包含**SEQ ID NO：99**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO：58**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO：59**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO：60**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO：61**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO：62**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【第3項】 如請求項1所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述CD3-結合結構域包括：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:56**的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含選自由**SEQ ID NO:98**、**SEQ ID NO:68**、**SEQ ID NO:70**、**SEQ ID NO:72**、**SEQ ID NO:74**、**SEQ ID NO:76**、**SEQ ID NO:78**、**SEQ ID NO:80**、**SEQ ID NO:82**、**SEQ ID NO:84**、**SEQ ID NO:86**、**SEQ ID NO:88**、**SEQ ID NO:90**、**SEQ ID NO: 92**、**SEQ ID NO:94**、**SEQ ID NO:96**、**SEQ ID NO:100**、**SEQ ID NO:102**、**SEQ ID NO:104**和**SEQ ID NO:106**組成的組的氨基酸序列的VH結構域；或

(II) (A) 包含選自由**SEQ ID NO:108**、**SEQ ID NO:110**、**SEQ ID NO:112**和**SEQ ID NO:114**組成的組的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:55**的氨基酸序列的VH結構域。

【第4項】 如請求項3所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述CD3-結合結構域包括：

(A) 包含**SEQ ID NO：**56的氨基酸序列的VL結構域；和

(B) 包含選自由**SEQ ID NO：98**組成的組的氨基酸序列的VH結構域。

【第5項】 如請求項1-4中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**是雙特異性抗體、雙特異性雙抗體、雙特異性scFv、雙特異性TandAb或三價結合分子。

【第6項】 如請求項5所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**能夠結合多於一個的疾病抗原和/或效應細胞的不同細胞表面分子。

【第7項】 如請求項6所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述疾病抗原是5T4或CD19。

【第8項】 如請求項5所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**包含：相互共價結合的第一多肽鏈和第二多肽鏈，其中：

(A) 所述第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向上包含：

(i) 結構域1，其包含：

(1) 亞結構域(1A)，其包含能夠結合至所述疾病抗原的表位的單克隆抗體的VL結構域 (VL_{DA})；和

(2) 亞結構域(1B)，其包含能夠結合至所述CD3的表位的單克隆抗體的VH結構域(VH_{CD3})；

其中所述亞結構域1A和1B通過肽連接體彼此分開；和

(ii) 結構域2，其中所述結構域2是異源二聚體-促進結構域；

(B) 所述第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向上包含：

(i) 結構域1，其包含：

(1) 亞結構域(1A)，其包含能夠結合至所述CD3的表位的單克隆抗體的VL結構域(VL_{CD3})；和

(2) 亞結構域(1B)，其包含能夠結合至所述疾病抗原的表位的單克隆抗體的VH結構域 (VH_{DA})；

其中所述亞結構域1A和1B通過肽連接體彼此分開；

(ii) 結構域2，其中所述結構域2是異源二聚體-促進結構域，其中所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域和所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域不同；

和其中

所述第一多肽鏈的所述VL結構域和所述第二多肽鏈的所述VH結構域締合以形成所述疾病抗原-結合結構域，並且所述第一多肽鏈的所述VH結構域和所述第二多肽鏈的所述VL結構域締合以形成所述CD3-結合結構域。

【第9項】 如請求項8所述的**DA x CD3結合分子**，其中：

(a) 所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是E-螺旋結構域，並且所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是K-螺旋結構域；或

(b) 所述第一多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是K-螺旋結構域，並且所述第二多肽鏈的所述異源二聚體-促進結構域是E-螺旋結構域。

【第10項】 如請求項8所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述第一多肽鏈或所述第二多肽鏈另外包含結構域3，其包含免疫球蛋白Fc結構域的CH2和CH3結構域。

【第11項】 如請求項10所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**進一步包含第三多肽鏈，其包含免疫球蛋白Fc結構域的CH2和CH3結構域。

【第12項】 如請求項8所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**進一步包含CD8-結合結構域。

【第13項】 如請求項8**所述的DA x CD3結合分子**，其中所述**DA x CD3結合分子**包含：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:184**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:181**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(Ⅱ) (A) 包含**SEQ ID NO:197**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:192**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(Ⅲ) (A) 包含**SEQ ID NO:193**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:194**的第二多肽；和

(C) 包含**SEQ ID NO:176**的第三多肽；或

(Ⅳ) (A) 包含**SEQ ID NO:184**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:181**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽；或

(V) (A) 包含**SEQ ID NO:193**的第一多肽；

(B) 包含**SEQ ID NO:194**的第二多肽；

(C) 包含**SEQ ID NO:187**的第三多肽；和

(D) 包含**SEQ ID NO:188**的第四多肽。

【第14項】 如請求項1-4中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述疾病抗原-結合結構域包括：

(I) (A) (i) **SEQ ID NO：122**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，(ii) **SEQ ID NO：123**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，(iii) **SEQ ID NO：126**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，(iv) **SEQ ID NO：128**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，或(v) **SEQ ID NO：130**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和 (B) (i) **SEQ ID NO：124**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，(ii) **SEQ ID NO：125**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，(iii) **SEQ ID NO：127**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，(iv) **SEQ ID NO：129**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(i) **SEQ ID NO：131**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(II) (A) (i) **SEQ ID NO：132**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：134**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) (i) **SEQ ID NO：133**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：135**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(III) (A) (i) **SEQ ID NO：136**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：138**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) (i) **SEQ ID NO：137** 的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：139**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(IV) (A) (i) **SEQ ID NO：140**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，(ii) **SEQ ID NO：142**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，或(iii) **SEQ ID NO：144** 的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) (i) **SEQ ID NO：141**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，(ii) **SEQ ID NO：143**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(iii) **SEQ ID NO：145**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(V) (A) **SEQ ID NO：146**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) **SEQ ID NO：147**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(VI) (A) (i) **SEQ ID NO：148**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，(ii) **SEQ ID NO：150**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，或(iii) **SEQ ID NO：152**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) (i) **SEQ ID NO：149**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域 ，(ii) **SEQ ID NO：151**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(iii) **SEQ ID NO：153**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(VII) (A) **SEQ ID NO：154**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) **SEQ ID NO：155**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(VIII) (A) (i) **SEQ ID NO：156**的 CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：158**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) (i) **SEQ ID NO：157**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：159**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；

(IX) (A) **SEQ ID NO：160**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) **SEQ ID NO：161**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域；或

(X) (A) (i) **SEQ ID NO：164**的CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域；和

(B) (i) **SEQ ID NO：165**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域，或(ii) **SEQ ID NO：166**的CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域。

【第15項】 如請求項1-4中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述所述疾病抗原-結合結構域包括：

(I) (A) (i) 包含 **SEQ ID NO：122**的氨基酸序列的VH結構域，(ii) 包含**SEQ ID NO：123**的氨基酸序列的VH結構域，(iii) 包含**SEQ ID NO：126**的氨基酸序列的VH結構域，(iv) 包含**SEQ ID NO：128**的氨基酸序列的VH結構域，或(v) 包含**SEQ ID NO：130**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：124**的氨基酸序列的VL結構域，(ii) 包含**SEQ ID NO：125**的氨基酸序列的VL結構域，(iii) 包含**SEQ ID NO：127**的氨基酸序列的VL結構域，(iv) 包含**SEQ ID NO：129**的氨基酸序列的VL結構域，或(i) 包含**SEQ ID NO：131**的氨基酸序列的VL結構域；

(II) (A) (i) 包含**SEQ ID NO：132**的氨基酸序列的VH結構域，或(ii) 包含**SEQ ID NO：134**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：133**的氨基酸序列的VL結構域，或(ii) 包含**SEQ ID NO：135**的氨基酸序列的VL結構域；

(III) (A) (i) 包含**SEQ ID NO：136**的氨基酸序列的VH結構域，或(ii) 包含**SEQ ID NO：138**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：137**的氨基酸序列的VL結構域，或(ii) 包含**SEQ ID NO：139**的氨基酸序列的VL結構域；

(IV) (A) (i) 包含**SEQ ID NO：140**的氨基酸序列的VH結構域，(ii) 包含**SEQ ID NO：142**的氨基酸序列的VH結構域，或(iii) 包含**SEQ ID NO：144**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：141**的氨基酸序列的VL結構域，(ii) 包含**SEQ ID NO：143**的氨基酸序列的VL結構域，或(iii) 包含**SEQ ID NO：145**的氨基酸序列的VL結構域；

(V) (A) 包含**SEQ ID NO：146**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) 包含**SEQ ID NO：147**的氨基酸序列的VL結構域；

(VI) (A) (i) 包含**SEQ ID NO：148**的氨基酸序列的VH結構域，(ii) 包含**SEQ ID NO：150**的氨基酸序列的VH結構域，或(iii) 包含**SEQ ID NO：152**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：149**的氨基酸序列的VL結構域，(ii) 包含**SEQ ID NO：151**的氨基酸序列的VL結構域，或(iii) 包含**SEQ ID NO：153**的氨基酸序列的VL結構域；

(VII) (A) 包含**SEQ ID NO：154**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) 包含**SEQ ID NO：155**的氨基酸序列的VL結構域；

(VIII) (A) (i) 包含**SEQ ID NO：156**的氨基酸序列的VH結構域，或(ii) 包含**SEQ ID NO：158**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：157**的氨基酸序列的VL結構域，或(ii)包含**SEQ ID NO：159**的氨基酸序列的VL結構域；

(IX) (A) 包含**SEQ ID NO：160**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) 包含**SEQ ID NO：161**的氨基酸序列的VL結構域；或

(X) (A) (i) 包含**SEQ ID NO：164**的氨基酸序列的VH結構域；和

(B) (i) 包含**SEQ ID NO：165**的氨基酸序列VL結構域，或(ii)包含**SEQ ID NO：166**的氨基酸序列VL結構域。

【第16項】 如請求項1-4中任一項所述的**DA x CD3結合分子**，用於治療疾病。

【第17項】 如請求項16所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述疾病是癌症。

【第18項】 如請求項17所述的**DA x CD3結合分子**，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【第19項】 一種藥物組合物，用於治療與B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、EGRF、EphA2、gpA33、HER2/neu、VEGF、5T4、IL13Rα2或CD19相關的疾病，所述藥物組合物包括有效量的如請求項1-15中任一項所述的**DA x CD3結合分子**和藥學上可接受的載體。

【第20項】 如請求項19所述的藥物組合物，其中所述疾病是癌症。

【第21項】 如請求項20所述的藥物組合物，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、

非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【第22項】 一種如請求項1-15中任一項所述的**DA x CD3結合分子**或如請求項19所述的藥物組合物在製造用於治療與B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、EGRF、EphA2、gpA33、HER2/neu、VEGF、5T4、IL13Rα2或CD19相關的疾病的藥物中的用途。

【第23項】 如請求項22所述的用途，其中所述疾病是癌症。

【第24項】 如請求項23所述的用途，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結腸直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、血液癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【發明圖式】

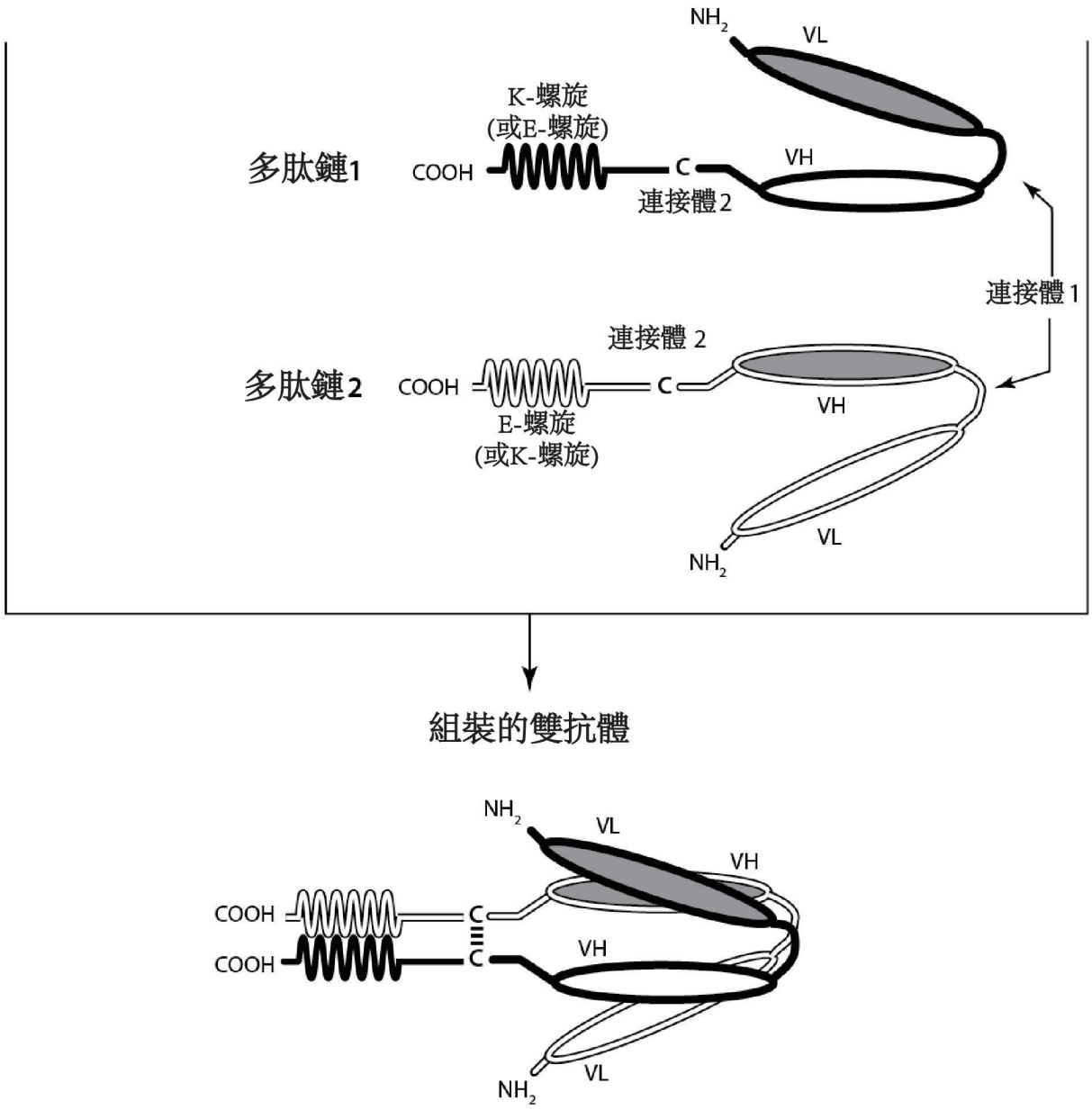
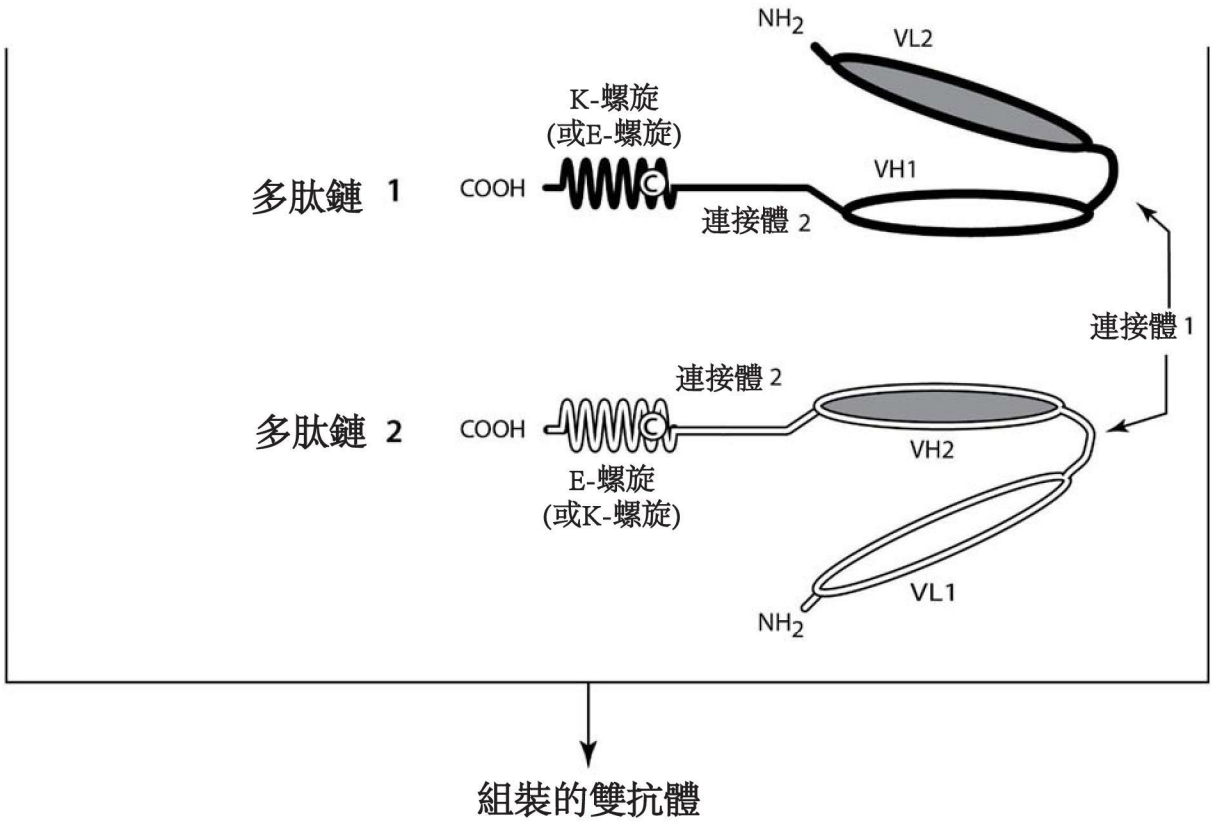

NH2
VL
K-螺旋
(或E-螺旋)
多肽鏈1
COOH
C
VH
連接體2
連接體1
連接體 2
多肽鏈2
COOH
C
VH
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL
NH2
組裝的雙抗體
NH2
VL
VH
COOH
C
COOH
C
VH
VL
NH2

圖1A


NH2
VL2
K-螺旋
(或E-螺旋)
多肽鏈 1
COOH
C
VH1
連接體 2
連接體 1
連接體 2
多肽鏈 2
COOH
C
VH2
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL1
NH2
組裝的雙抗體

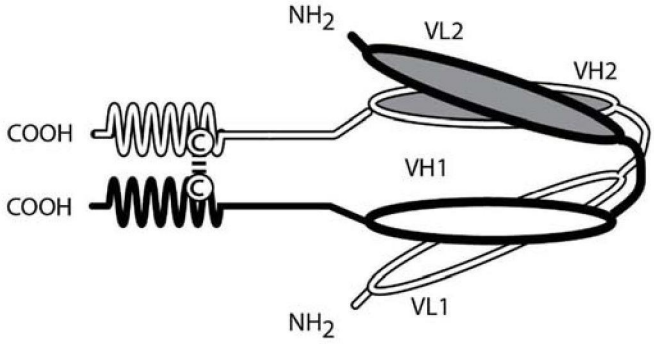

NH2
VL2
VH2
COOH
C
VH1
COOH
C
NH2
VL1

圖1B

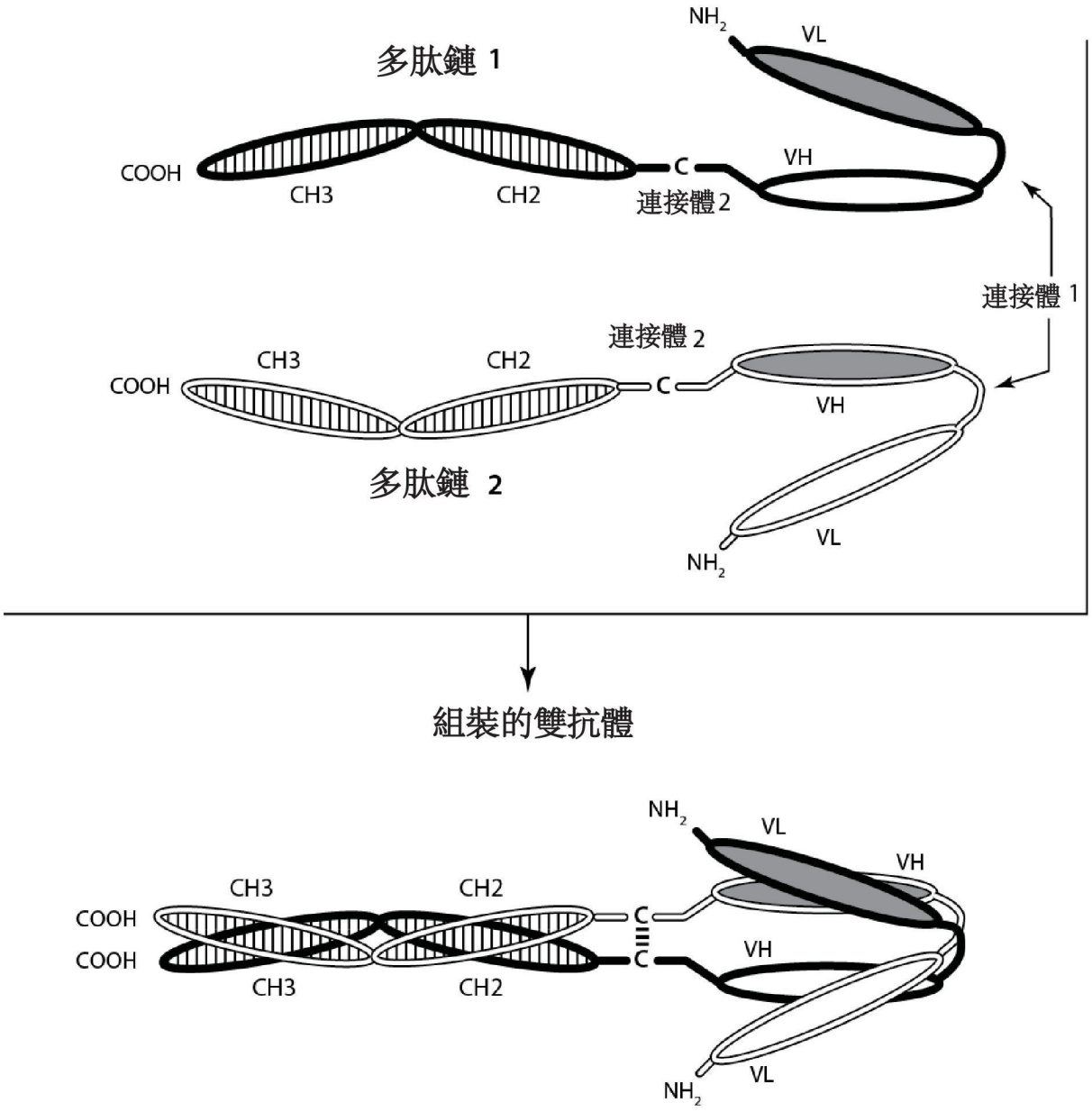

多肽鏈 1
NH2
VL
COOH
CH3
CH2
C
連接體2
VH
連接體 1
連接體 2
CH3
CH2
COOH
C
VH
多肽鏈 2
VL
NH2
組裝的雙抗體
NH2
VL
VH
CH3
CH2
COOH
COOH
C
C
VH
CH3
CH2
VL
NH2

圖2

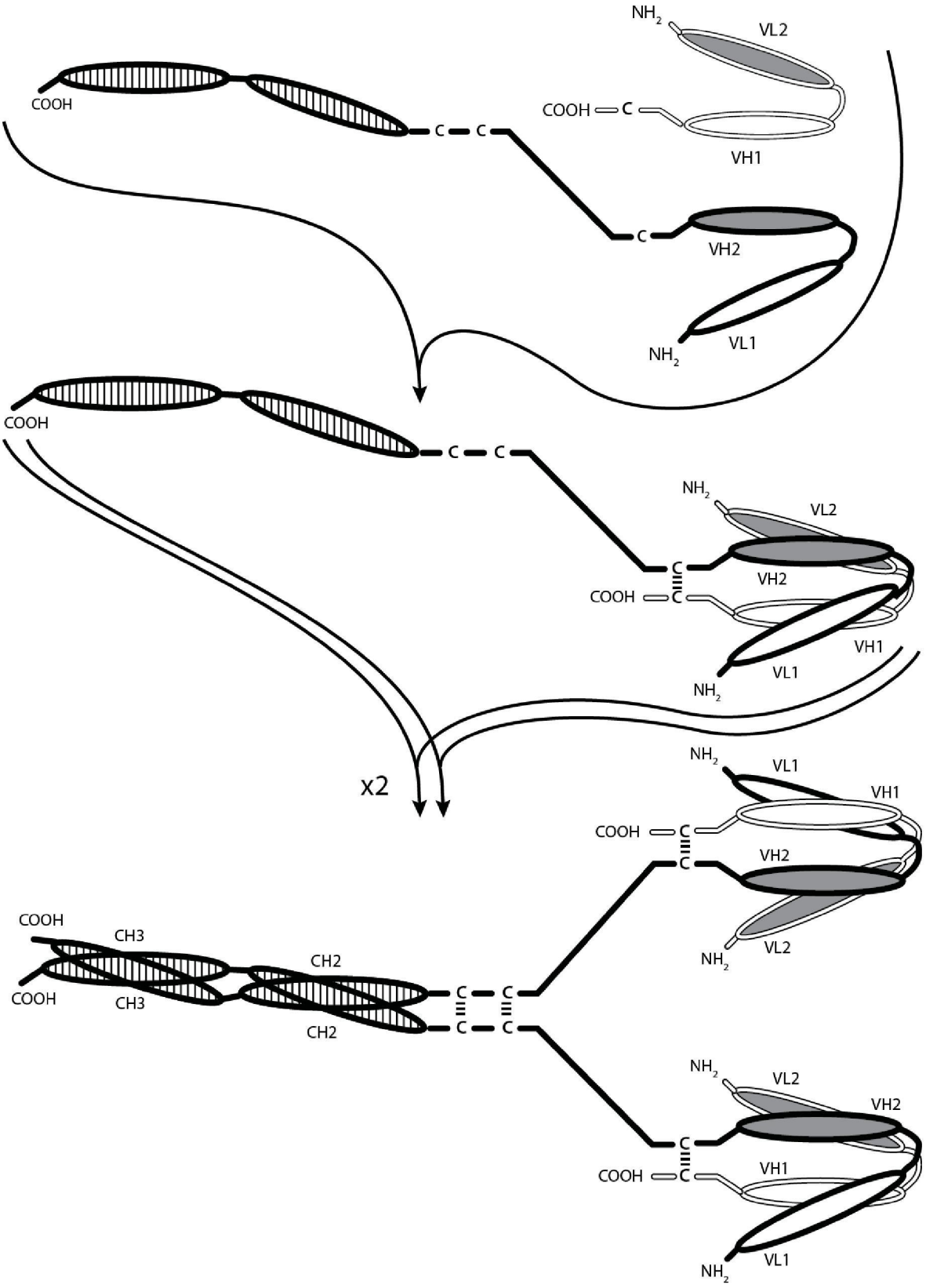

NH2
VL2
COOH
C
VH1
C
VH2
VL1
NH2
COOH
C C
NH2
VL2
VH2
COOH
C
C
VH1
VL1
NH2
x2
NH2
VL1
VH1
COOH
C
C
VH2
NH2
VL2
COOH
CH3
CH2
C C
COOH
CH3
CH2
C C
NH2
VL2
VH2
C
COOH
C
VH1
NH2
VL1

圖3A

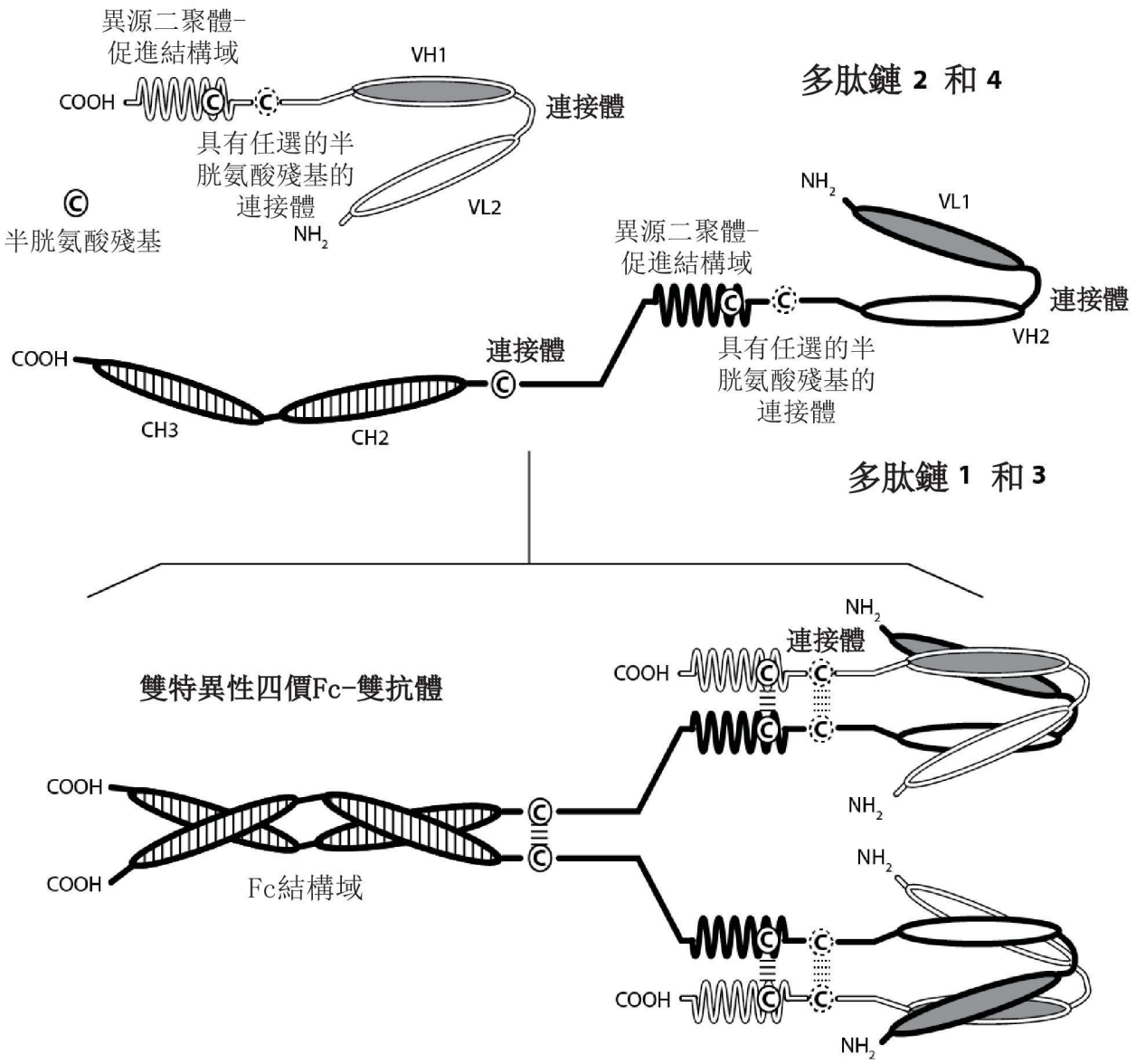

異源二聚體-
促進結構域
VH1
COOH
連接體
具有任選的半
胱氨酸殘基的
連接體
VL2
NH2
半胱氨酸殘基
多肽鏈 2 和 4
NH2
VL1
異源二聚體-
促進結構域
連接體
VH2
具有任選的半
胱氨酸殘基的
連接體
COOH
連接體
CH3
CH2
多肽鏈 1 和 3
雙特異性四價Fc-雙抗體
NH2
連接體
COOH
COOH
COOH
Fc結構域
NH2
NH2
COOH
NH2

圖 3B

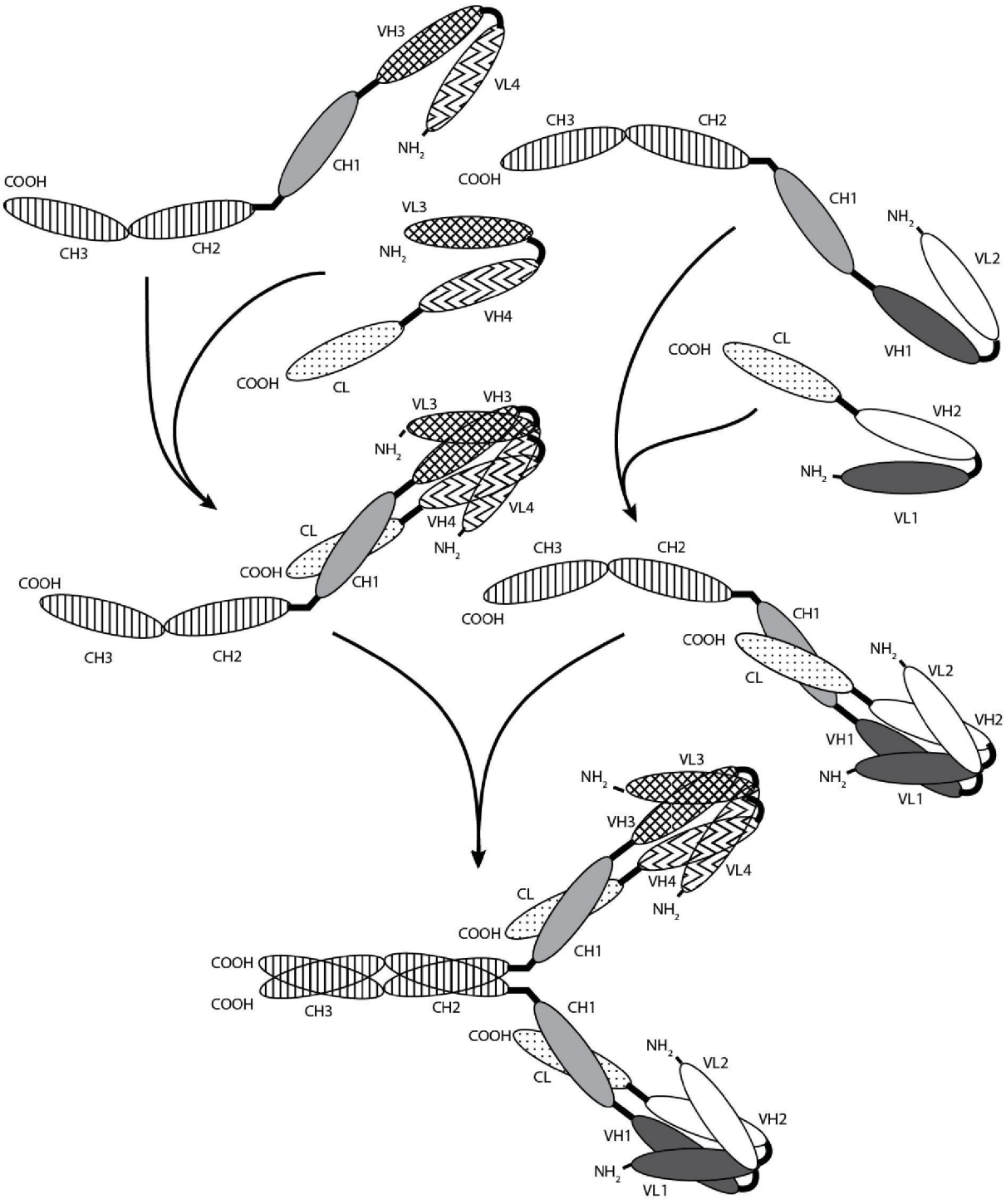

VH3
VL4
NH2
CH1
COOH
CH3
CH2
VL3
NH2
VH4
COOH
CL
CH3
CH2
COOH
CH1
NH2
VL2
VH1
COOH
CL
VH2
NH2
VL1
VL3
VH3
NH2
VH4
VL4
NH2
CL
COOH
CH1
COOH
CH3
CH2
CH3
CH2
COOH
CH1
COOH
CL
NH2
VL2
VH2
VH1
NH2
VL1
VL3
NH2
VH3
VH4
VL4
NH2
CL
COOH
CH1
COOH
COOH
CH3
CH2
CH1
COOH
CL
NH2
VL2
VH2
VH1
NH2
VL1

圖3C

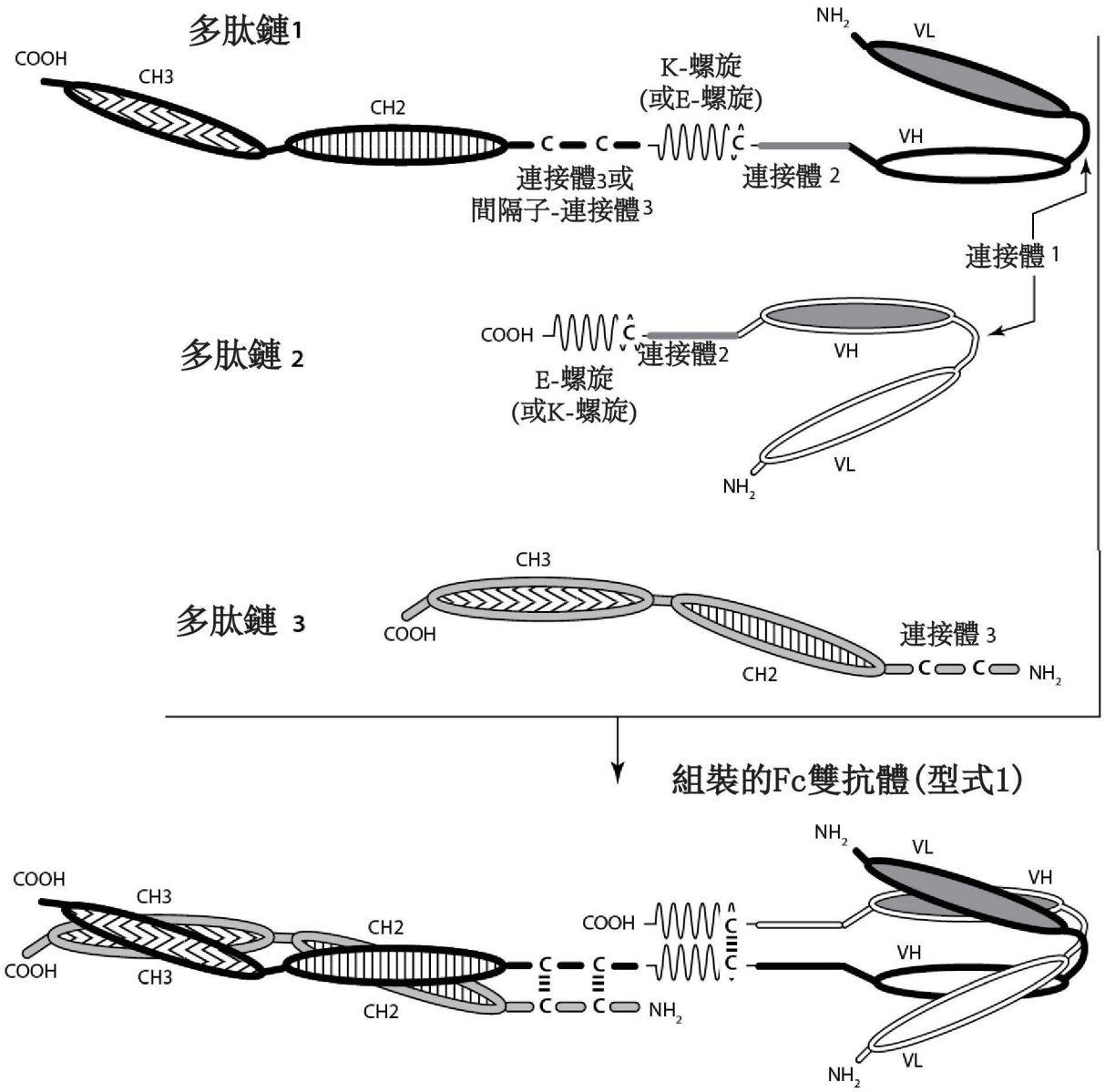

多肽鏈1
COOH
CH3
CH2
K-螺旋
(或E-螺旋)
NH2
VL
VH
連接體3或
間隔子-連接體3
連接體 2
連接體 1
多肽鏈 2
COOH
連接體2
VH
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL
NH2
多肽鏈 3
CH3
COOH
連接體 3
CH2
NH2
組裝的Fc雙抗體(型式1)
COOH
CH3
CH2
COOH
CH3
CH2
NH2
NH2
VL
VH
VH
VL
NH2

圖4A

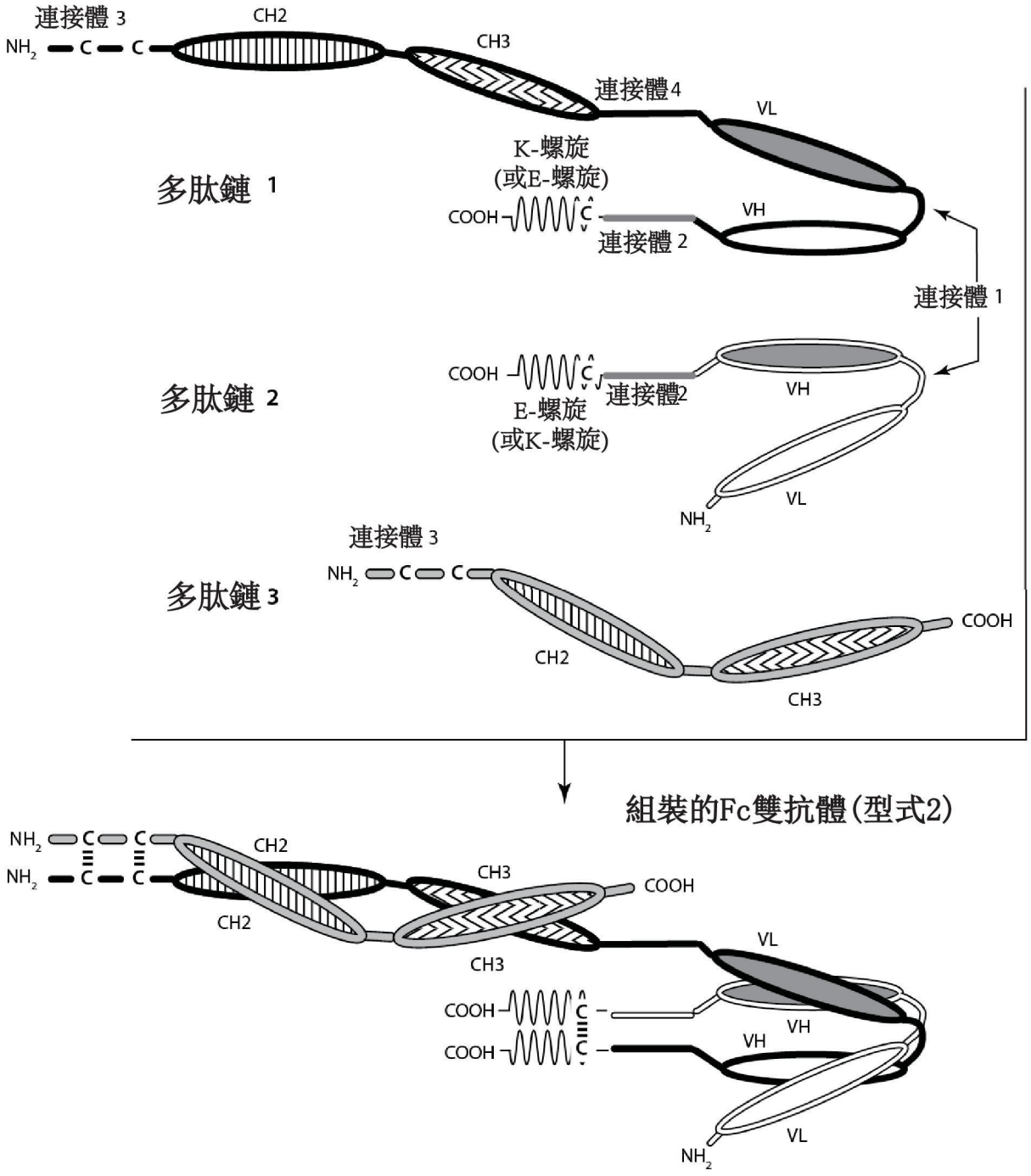

連接體 3
CH2
CH3
連接體4
VL
K-螺旋
(或E-螺旋)
多肽鏈 1
COOH
VH
連接體 2
連接體 1
多肽鏈 2
COOH
連接體2
VH
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL
連接體 3
多肽鏈 3
CH2
COOH
CH3
組裝的Fc雙抗體(型式2)
CH2
CH3
COOH
CH2
CH3
VL
COOH
VH
COOH
VH
VL

圖4B

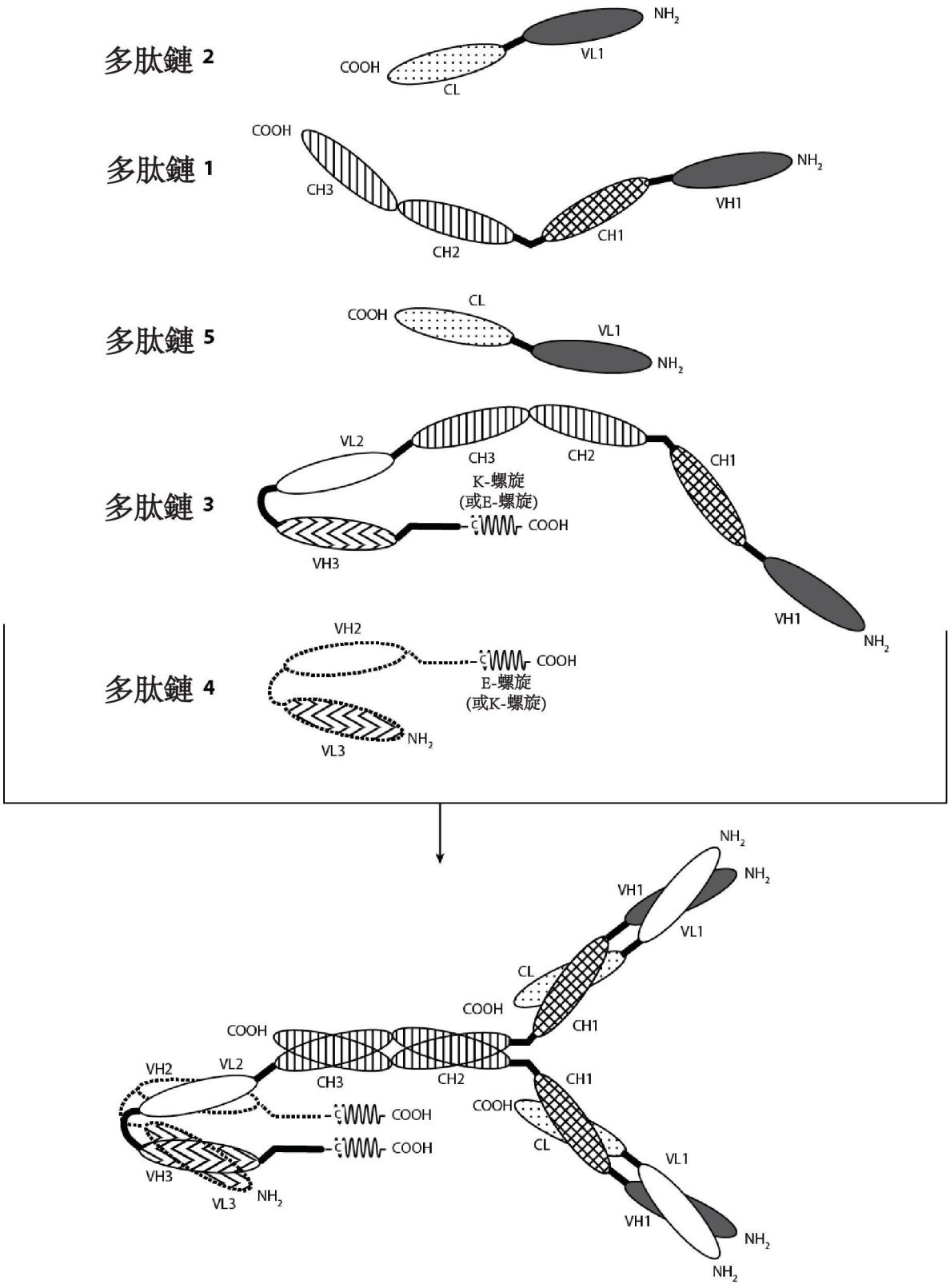

多肽鏈 2
NH2
VL1
COOH
CL
多肽鏈 1
COOH
CH3
NH2
VH1
CH2
CH1
多肽鏈 5
CL
COOH
VL1
NH2
多肽鏈 3
VL2
CH3
CH2
CH1
K-螺旋
(或E-螺旋)
COOH
VH3
VH1
NH2
多肽鏈 4
VH2
COOH
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL3
NH2
NH2
NH2
VH1
VL1
CL
COOH
CH1
COOH
CH3
CH2
VH2
VL2
CH1
COOH
COOH
CL
VL1
VH3
VL3
NH2
VH1
NH2
NH2

圖5

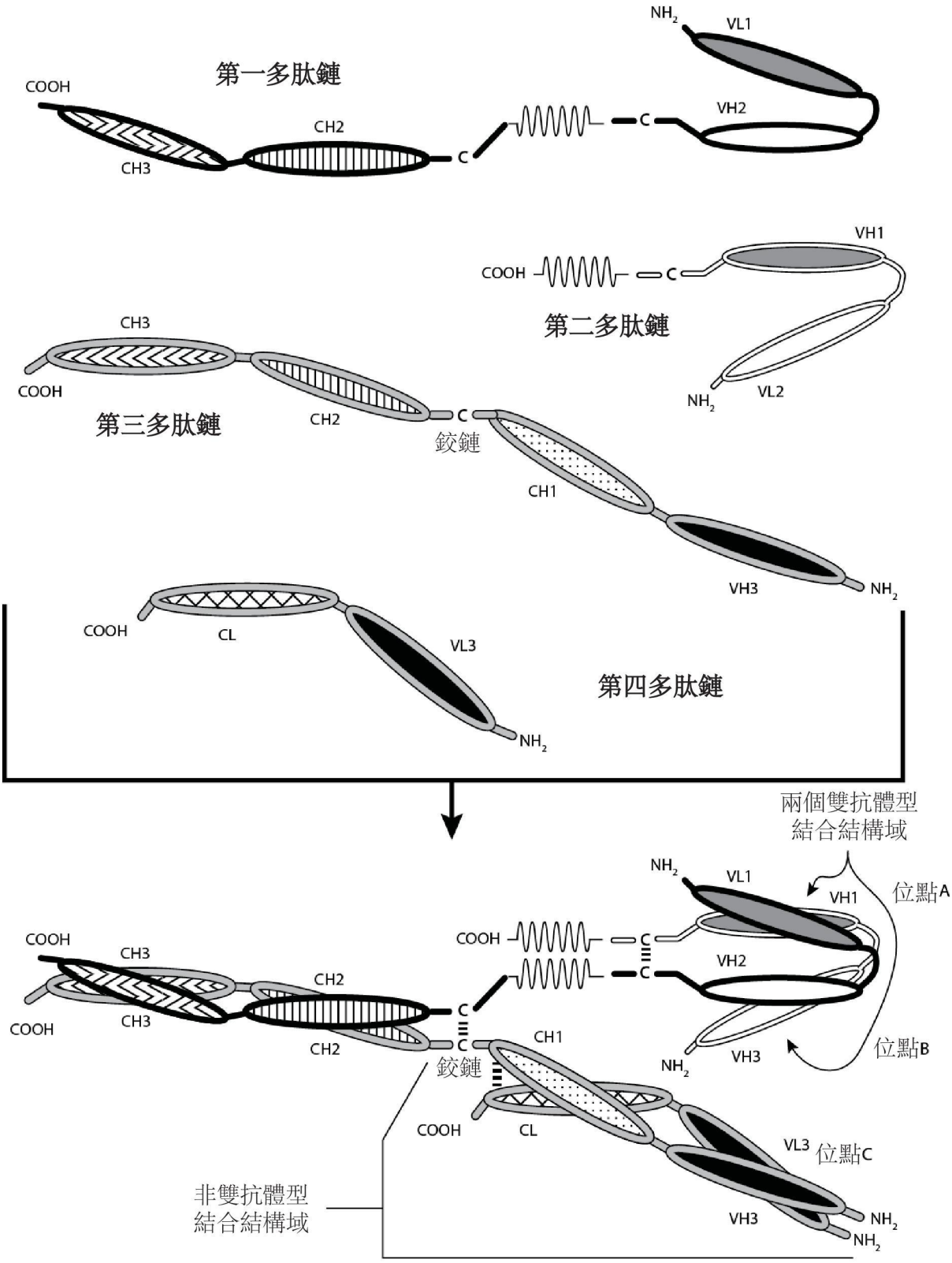

第一多肽鏈
COOH
CH2
CH3
C
NH2
VL1
VH2
第二多肽鏈
VH1
COOH
C
NH2
VL2
第三多肽鏈
CH3
COOH
CH2
C
鉸鏈
CH1
VH3
NH2
第四多肽鏈
COOH
CL
VL3
NH2
兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
位點B
位點C
非雙抗體型
結合結構域

圖6A

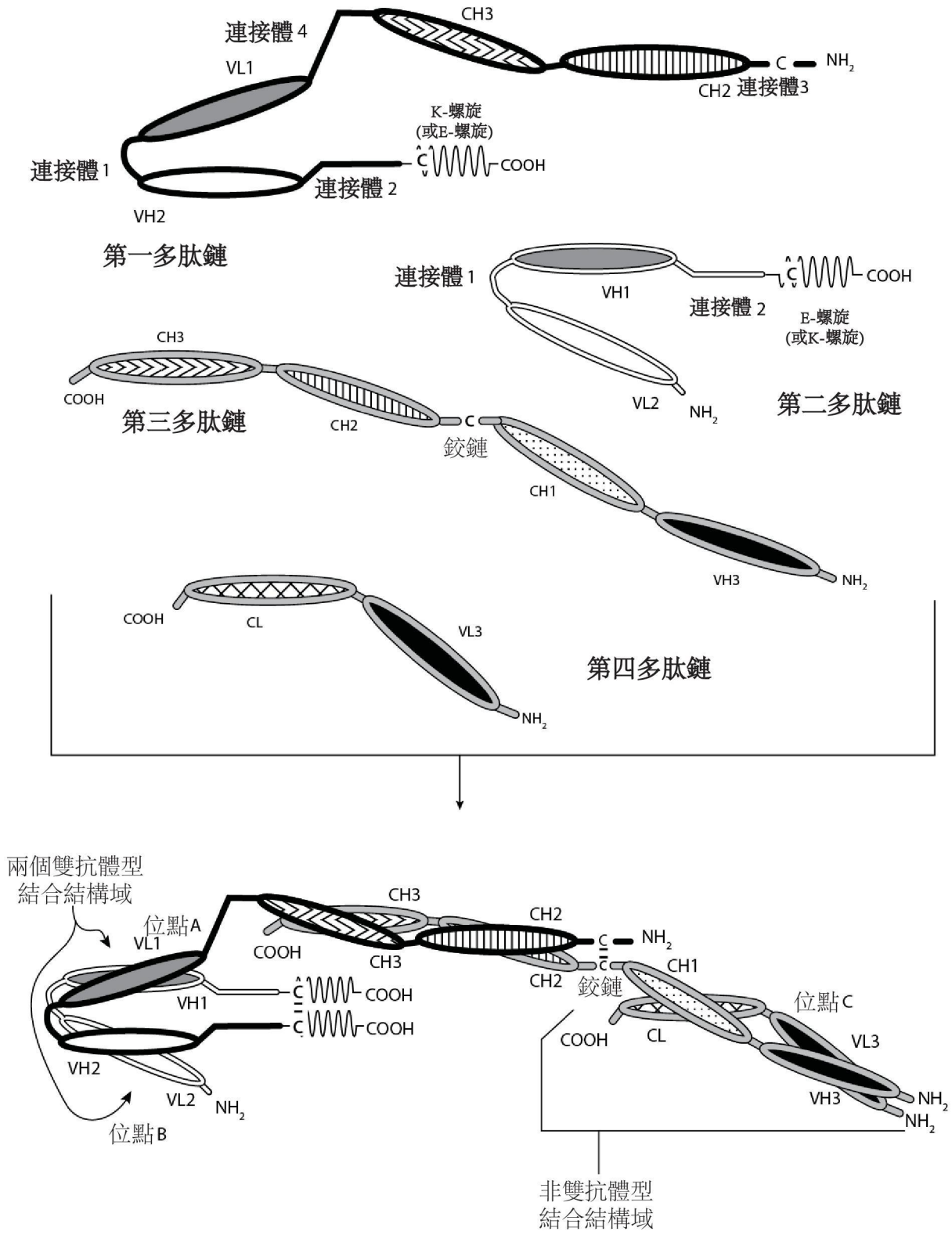

連接體4
CH3
VL1
C
NH2
CH2
連接體3
K-螺旋
(或E-螺旋)
連接體1
COOH
連接體2
VH2
第一多肽鏈
連接體1
VH1
COOH
連接體2
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL2
NH2
第二多肽鏈
CH3
COOH
第三多肽鏈
CH2
C
鉸鏈
CH1
VH3
NH2
COOH
CL
VL3
NH2
第四多肽鏈
兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
VL1
CH3
CH2
COOH
C
NH2
CH3
CH1
VH1
COOH
COOH
CH2
鉸鏈
位點C
COOH
CL
VL3
VH2
VH3
NH2
VL2
NH2
NH2
位點B
非雙抗體型
結合結構域

圖6B

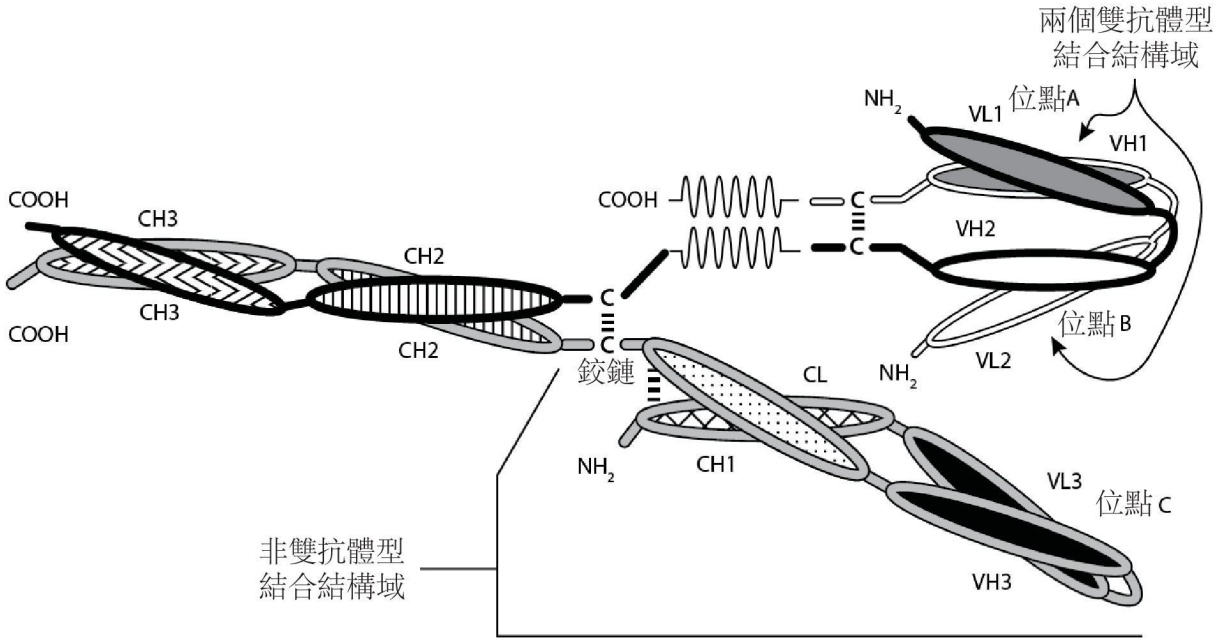

兩個雙抗體型
結合結構域
NH2
VL1
位點A
VH1
COOH
CH3
COOH
VH2
CH2
CH3
位點B
COOH
CH2
鉸鏈
CL
NH2
VL2
NH2
CH1
VL3
位點C
非雙抗體型
結合結構域
VH3

圖6C

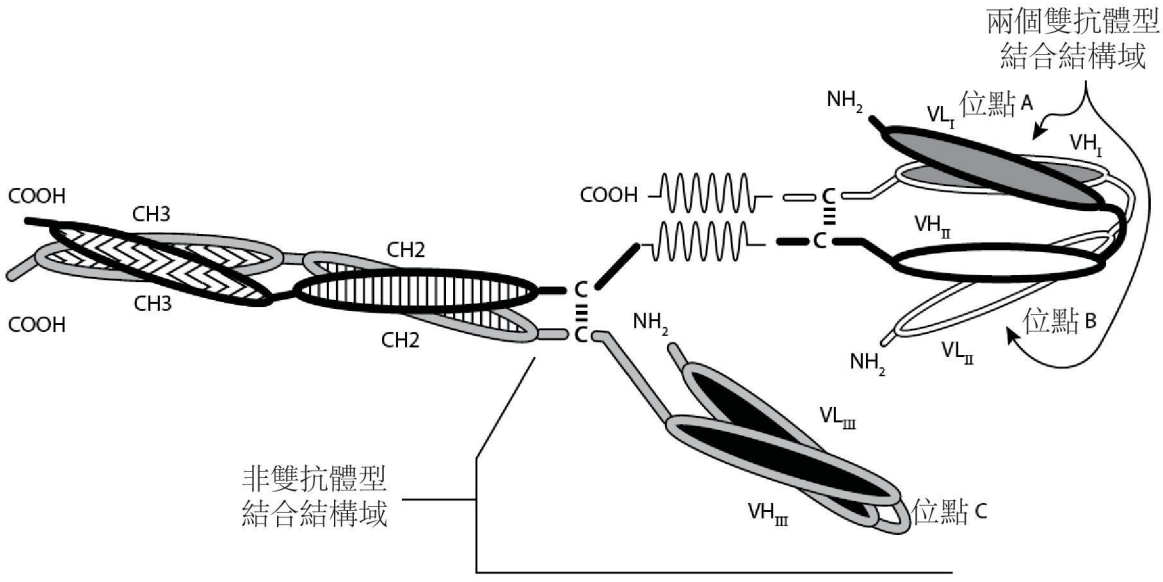

兩個雙抗體型
結合結構域
NH2
VLI
位點A
VHI
COOH
CH3
COOH
VHII
CH2
CH3
位點B
COOH
CH2
NH2
NH2
VLII
VLIII
非雙抗體型
結合結構域
VHIII
位點C

圖6D

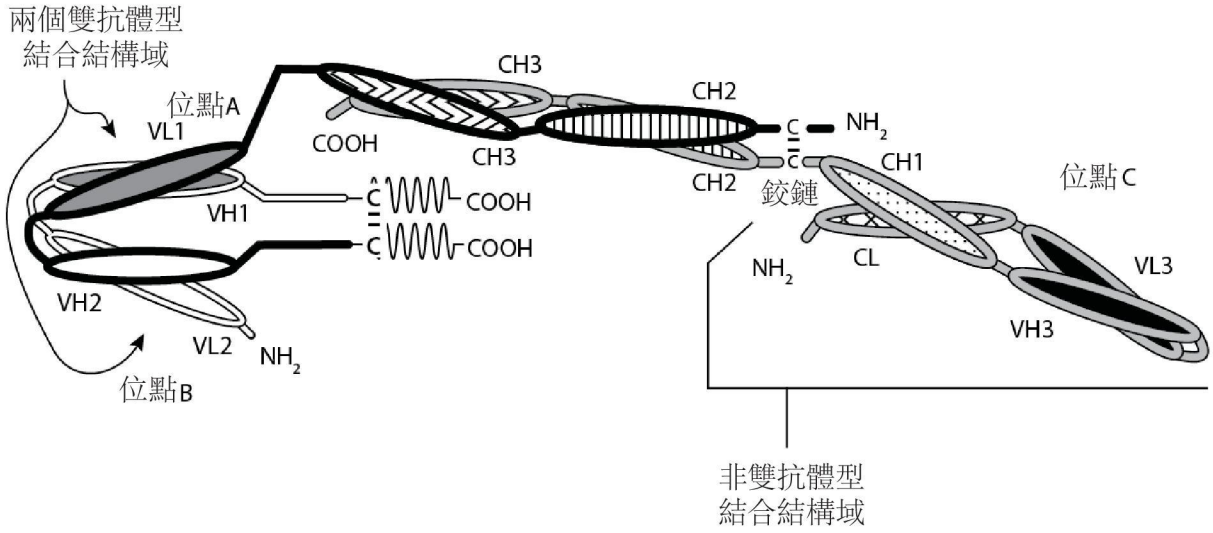

兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
VL1
VH1
VH2
VL2
NH2
位點B
COOH
CH3
CH3
CH2
CH2
NH2
CH1
鉸鏈
位點C
CL
NH2
VL3
VH3
非雙抗體型
結合結構域

圖6E

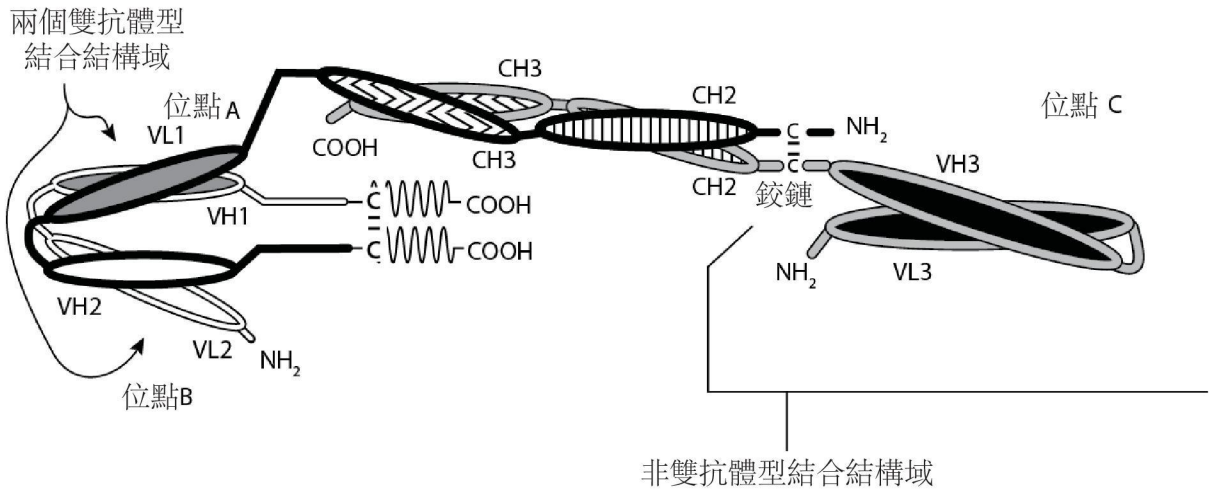

兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
VL1
VH1
VH2
VL2
NH2
位點B
COOH
CH3
CH3
CH2
CH2
NH2
鉸鏈
位點 C
VH3
NH2
VL3
非雙抗體型結合結構域

圖6F

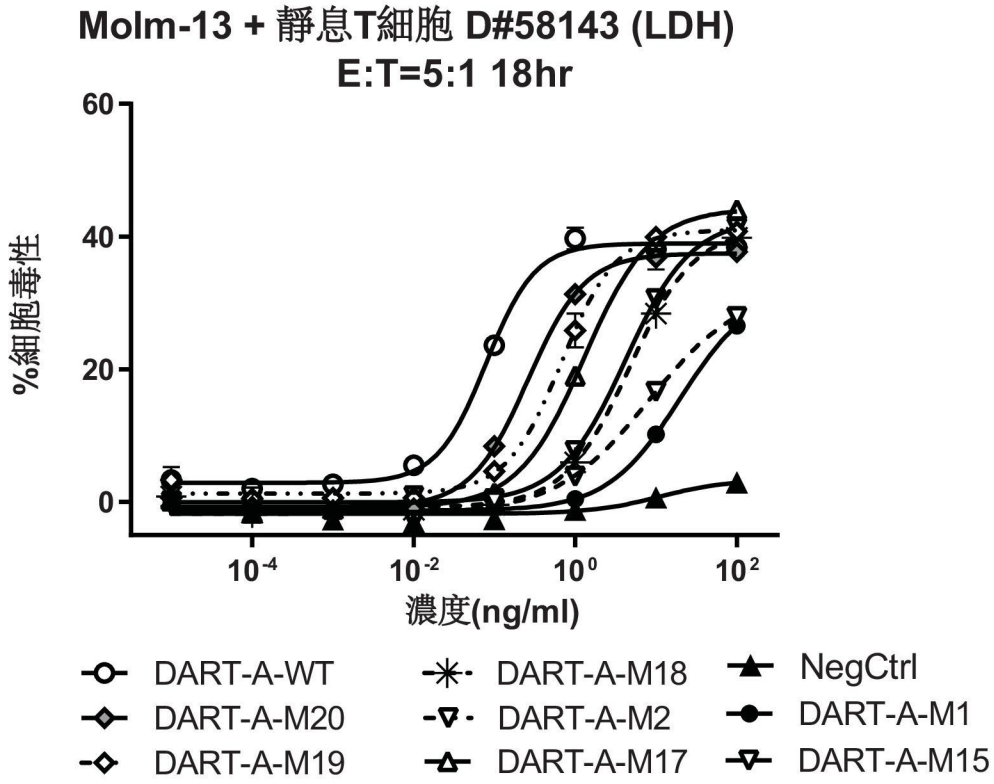

Molm-13 + 靜息T細胞 D#58143 (LDH)
E:T=5:1 18hr
%細胞毒性
60
40
20
0
10^{-4}
10^{-2}
10^{0}
10^{2}
濃度(ng/ml)
DART-A-WT
DART-A-M20
DART-A-M19
DART-A-M18
DART-A-M2
DART-A-M17
NegCtrl
DART-A-M1
DART-A-M15

圖7A

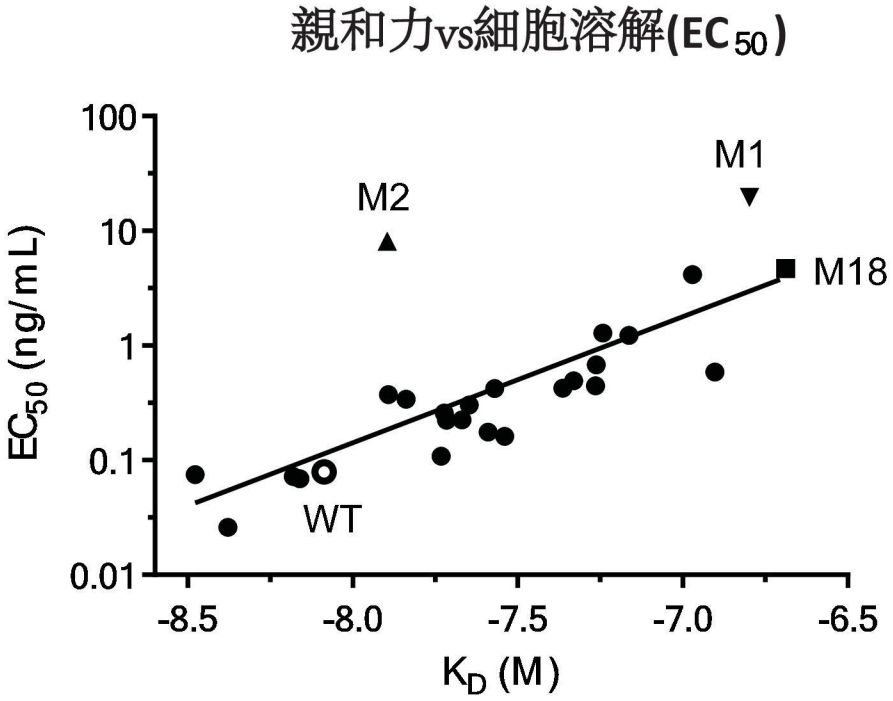

親和力vs細胞溶解(EC_{50})
100
10
1
0.1
0.01
EC_{50} (ng/mL)
M1
M2
M18
WT
-8.5
-8.0
-7.5
-7.0
-6.5
K_D (M)

圖7B

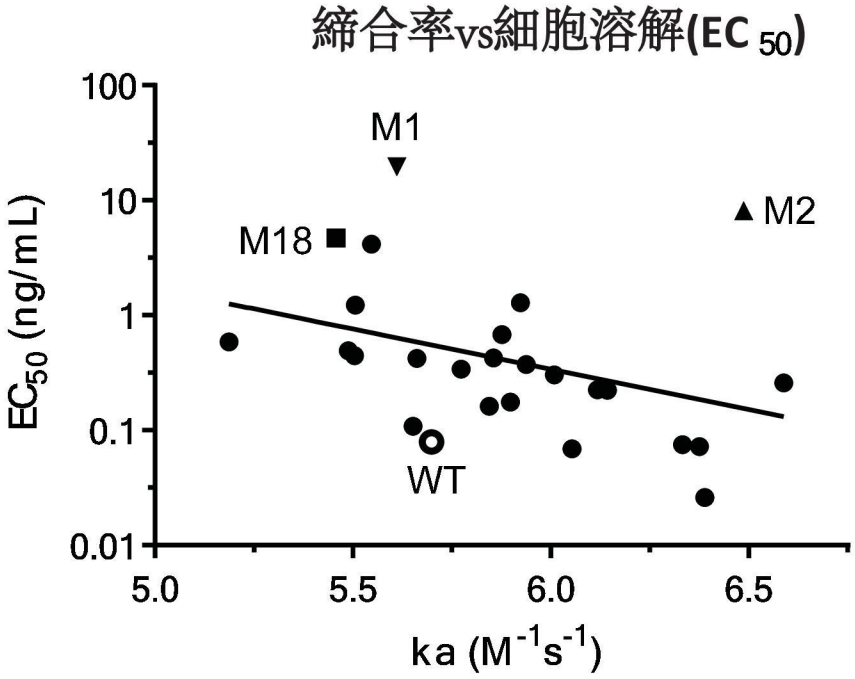

締合率vs細胞溶解(EC 50)
100
10
1
0.1
0.01
EC50 (ng/mL)
M1
M2
M18
WT
5.0
5.5
6.0
6.5
ka (M-1s-1)

圖7C

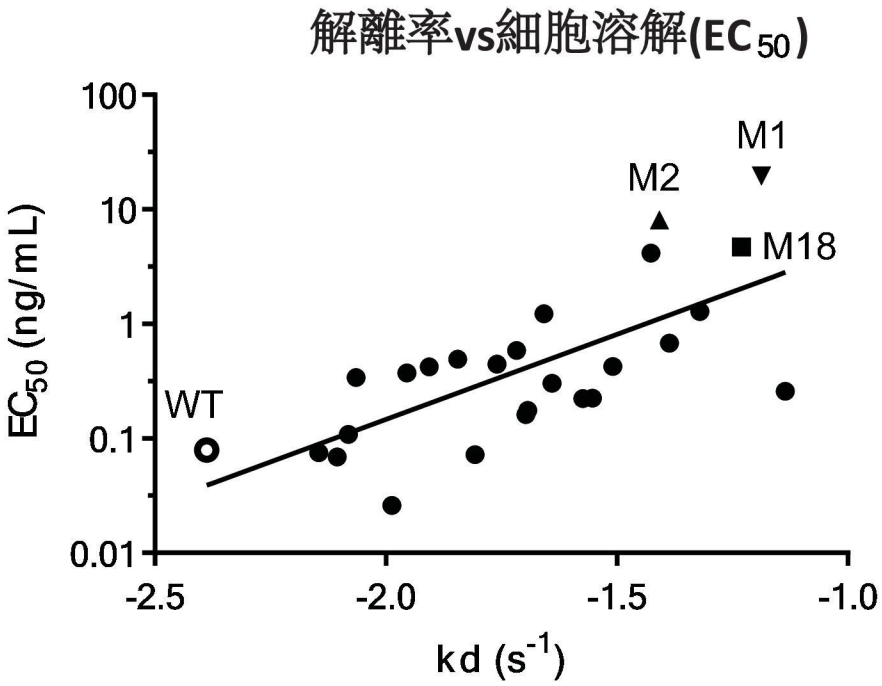
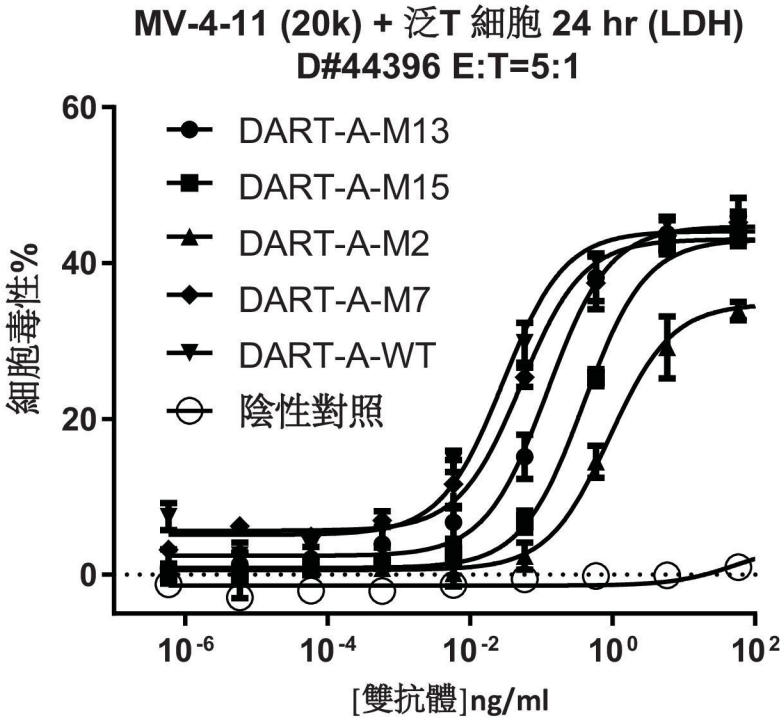

解離率vs細胞溶解(EC50)
100
10
1
0.1
0.01
EC50 (ng/mL)
M1
M2
M18
WT
-2.5
-2.0
-1.5
-1.0
kd (s-1)

圖7D



	EC50
DART-A-M13	0.12
DART-A-M15	0.39
DART-A-M2	0.92
DART-A-M7	0.052
DART-A-WT	0.029

圖 8A

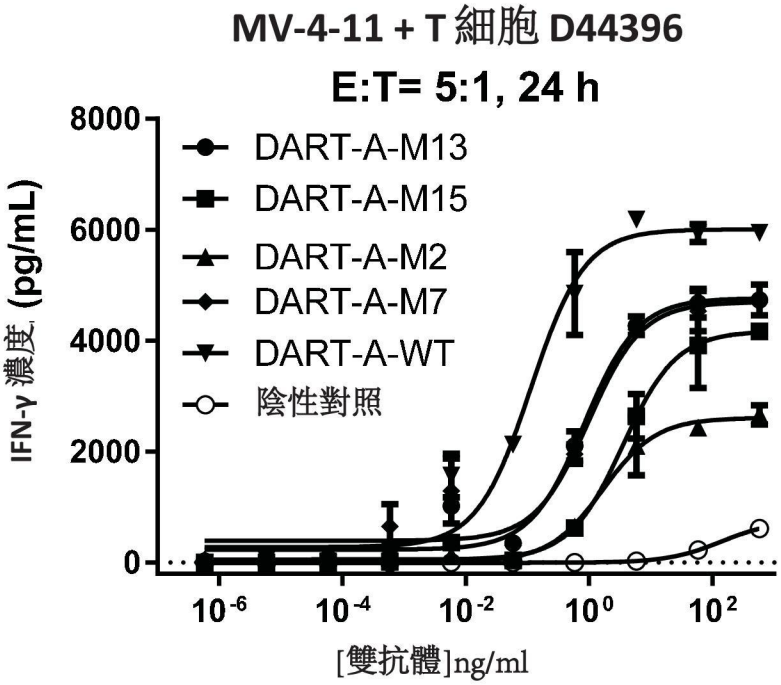


圖 8B

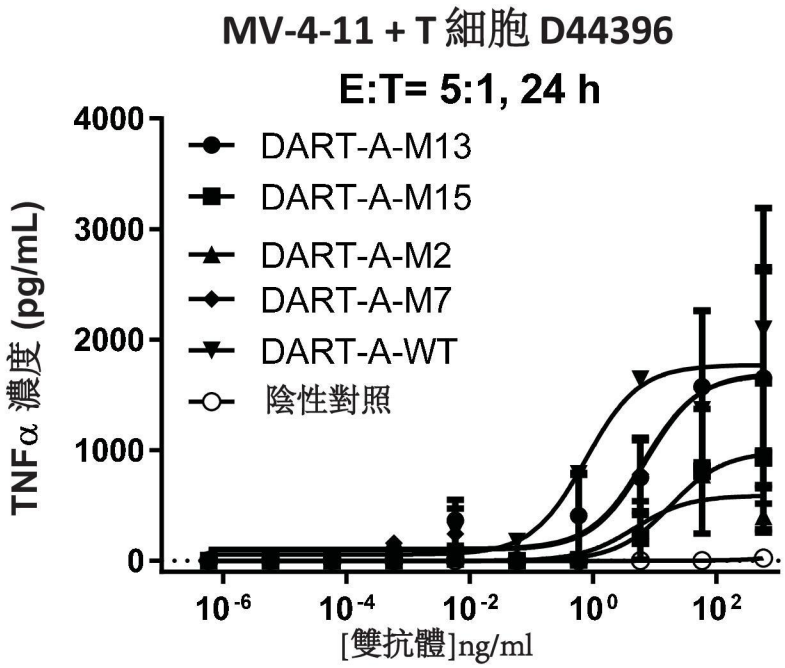

MV-4-11 + T 細胞 D44396
E:T= 5:1, 24 h
DART-A-M13
DART-A-M15
DART-A-M2
DART-A-M7
DART-A-WT
陰性對照
TNFα 濃度 (pg/mL)
4000
3000
2000
1000
0
10-6
10-4
10-2
100
102
[雙抗體]ng/ml

圖 8C

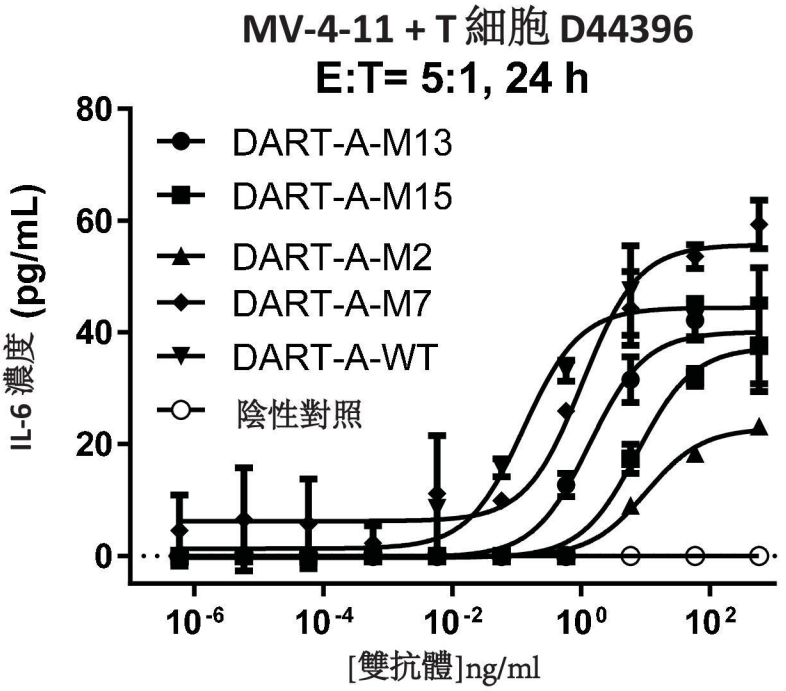

MV-4-11 + T 細胞 D44396
E:T= 5:1, 24 h
DART-A-M13
DART-A-M15
DART-A-M2
DART-A-M7
DART-A-WT
陰性對照
IL-6 濃度 (pg/mL)
80
60
40
20
0
10-6
10-4
10-2
100
102
[雙抗體]ng/ml

圖 8D

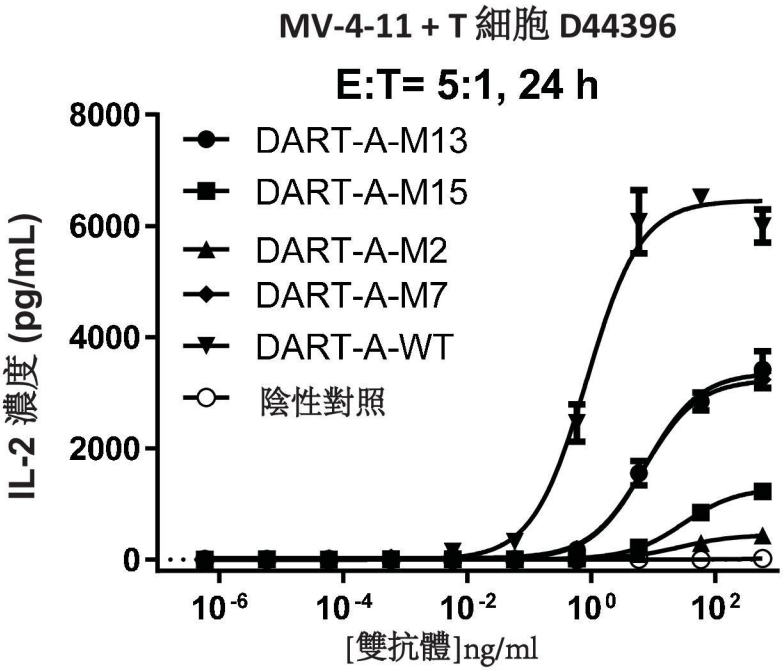

MV-4-11 + T 細胞 D44396
E:T= 5:1, 24 h
IL-2 濃度 (pg/mL)
8000
6000
4000
2000
0
DART-A-M13
DART-A-M15
DART-A-M2
DART-A-M7
DART-A-WT
陰性對照
10-6
10-4
10-2
100
102
[雙抗體]ng/ml

圖 8E

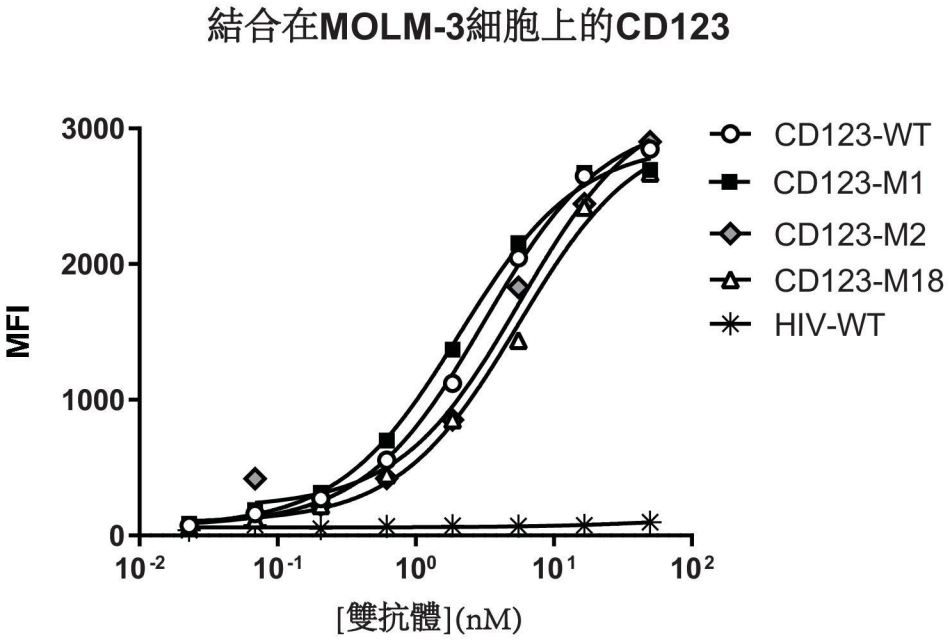

結合在MOLM-3細胞上的CD123
MFI
3000
2000
1000
0
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-M18
HIV-WT
10-2
10-1
100
101
102
[雙抗體](nM)

圖 9A

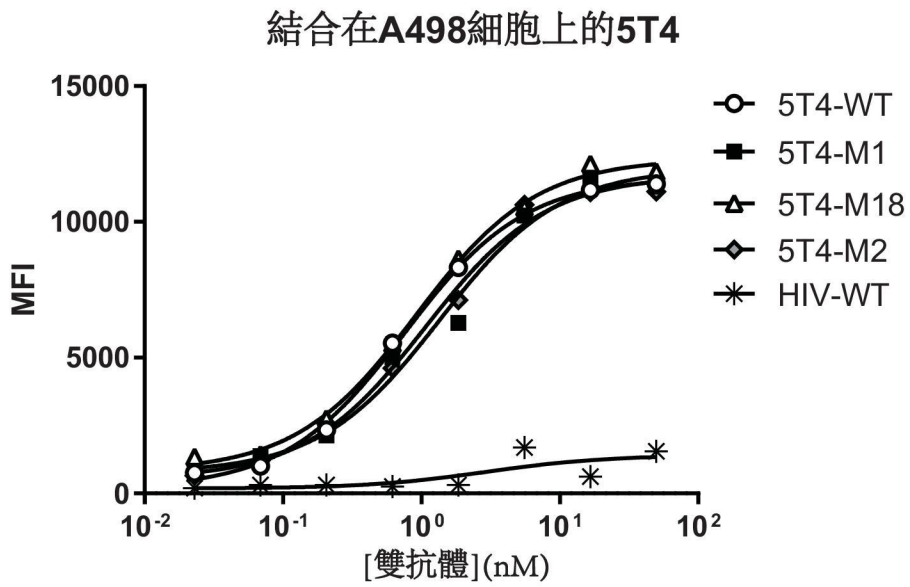

結合在A498細胞上的5T4
15000
10000
5000
0
MFI
10-2
10-1
100
101
102
[雙抗體](nM)
5T4-WT
5T4-M1
5T4-M18
5T4-M2
HIV-WT

圖9B

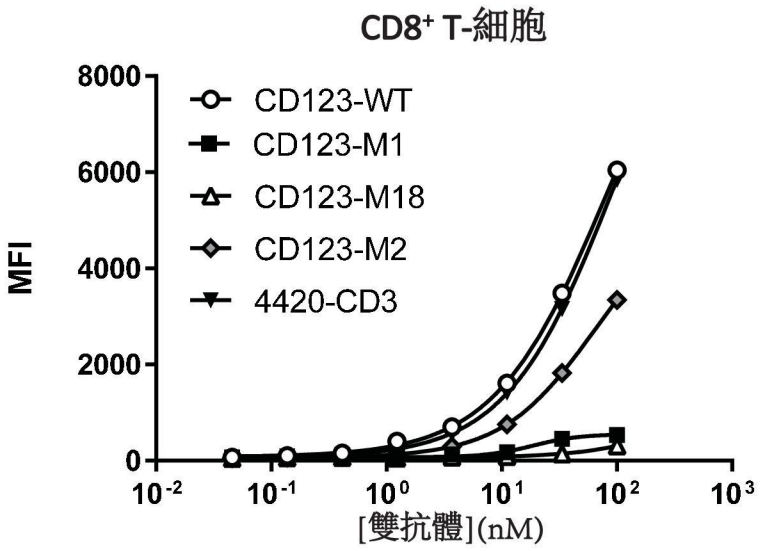

CD8+ T-細胞
8000
6000
4000
2000
0
MFI
10-2
10-1
100
101
102
103
[雙抗體](nM)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M18
CD123-M2
4420-CD3

圖10A

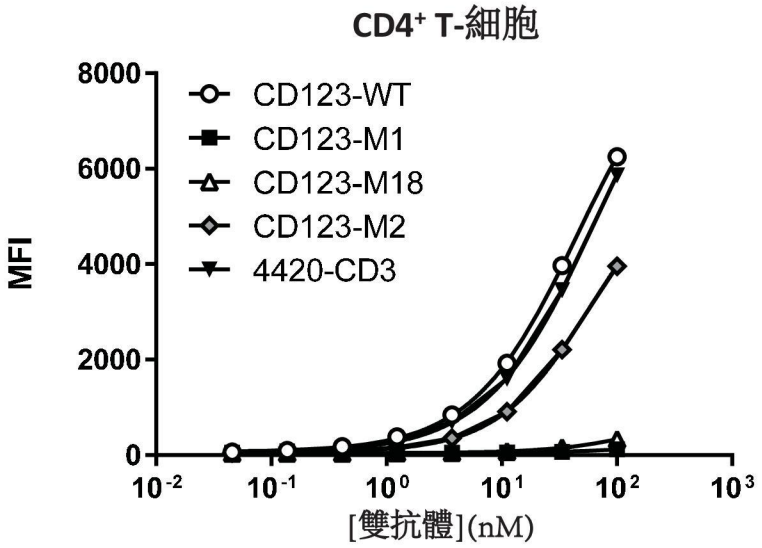

CD4+ T-細胞
8000
6000
4000
2000
0
MFI
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M18
CD123-M2
4420-CD3
10-2
10-1
100
101
102
103
[雙抗體](nM)

圖10B

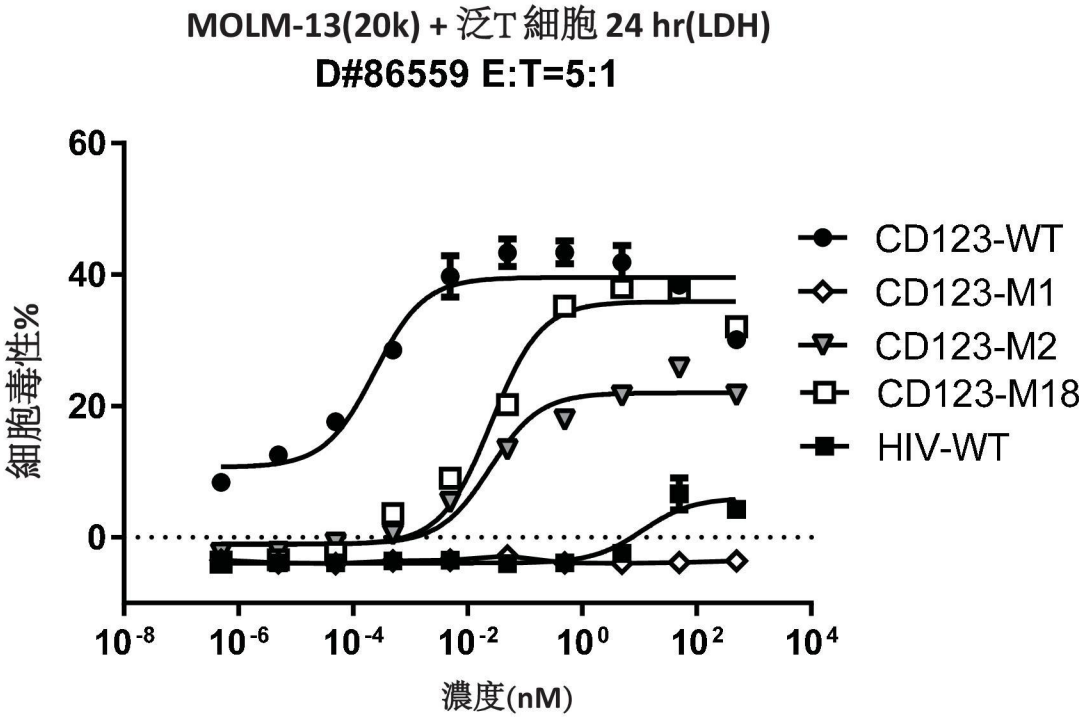

MOLM-13(20k) + 泛T 細胞 24 hr(LDH)
D#86559 E:T=5:1
60
40
20
0
細胞毒性%
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-M18
HIV-WT
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(nM)

圖11A

	EC50
CD123-WT - CTL	0.00024
IFN-g	0.0020

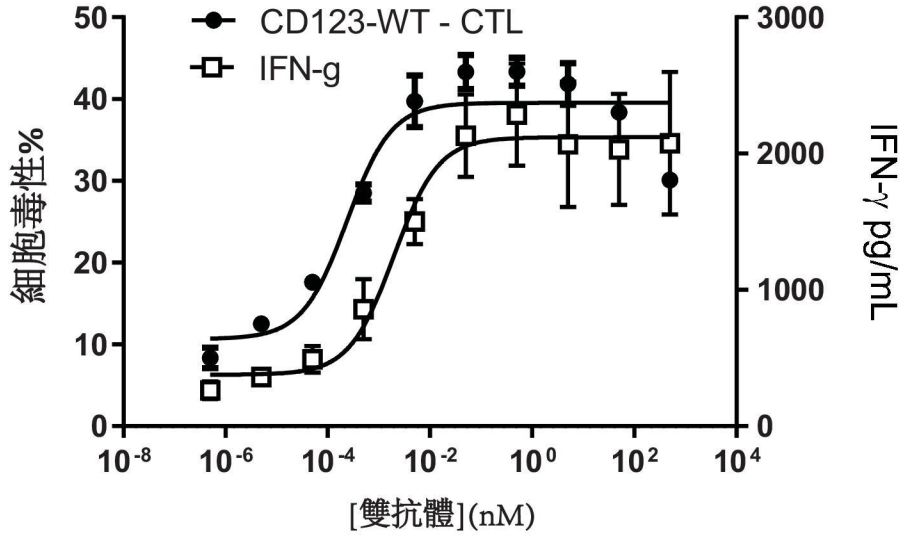


圖11B

	EC50
CD123-M2 - CTL	0.025
IFN-g	0.073

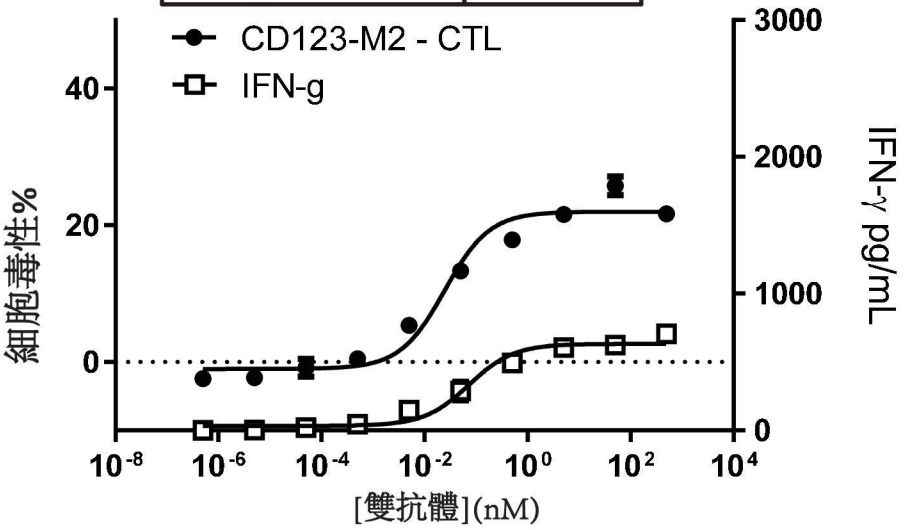


圖11C

	EC50
CD123-M18 - CTL	0.026
IFN-g	0.071

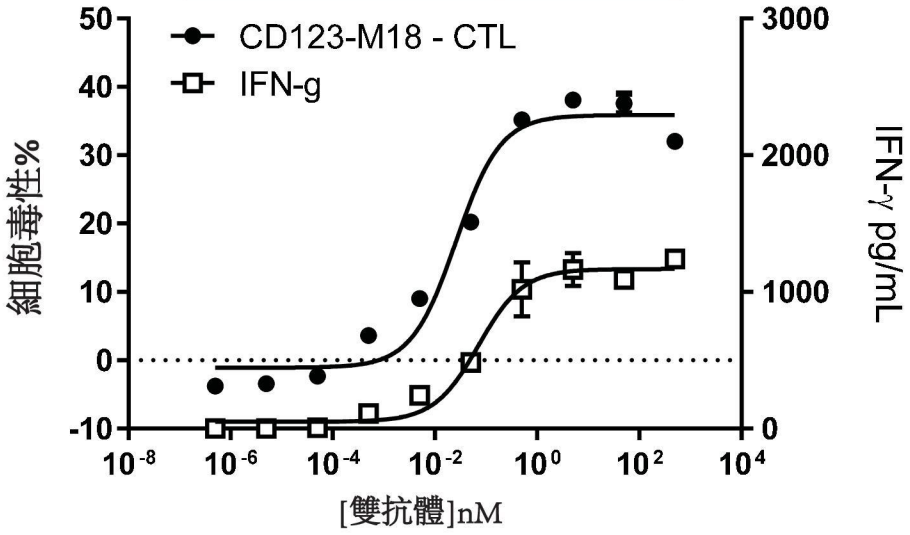


圖11D

	EC50
HIV-WT - CTL	11
IFN-g	36

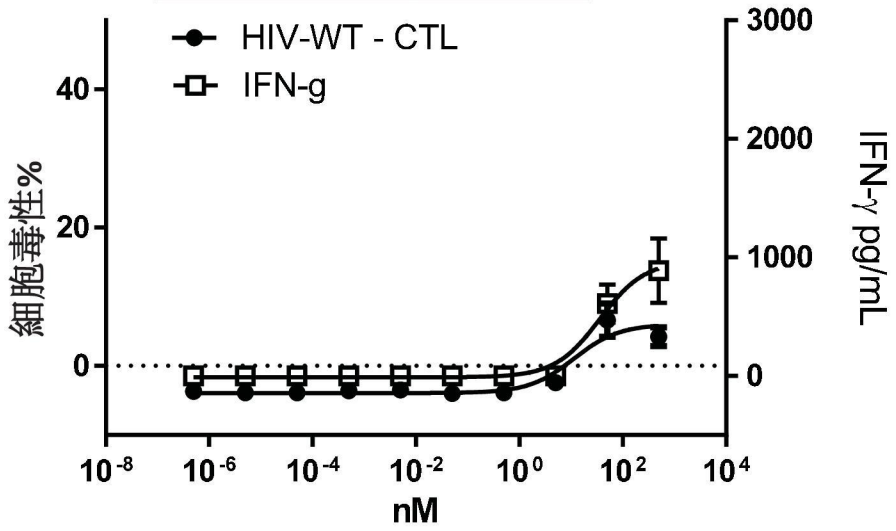


圖11E

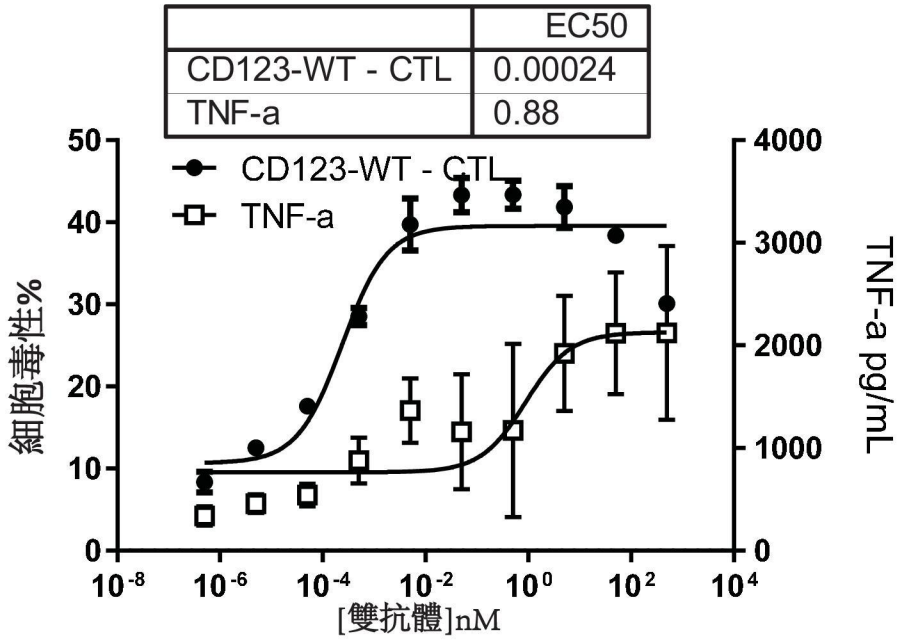

EC50
CD123-WT - CTL 0.00024
TNF-a 0.88
CD123-WT - CTL
TNF-a
細胞毒性%
TNF-a pg/mL
[雙抗體]nM

圖11F

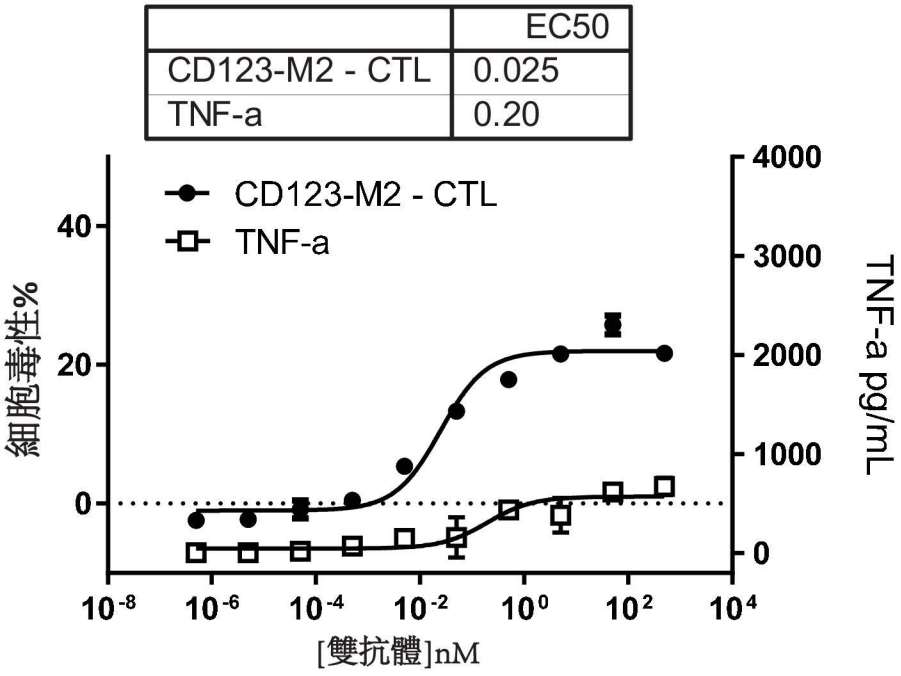

EC50
CD123-M2 - CTL 0.025
TNF-a 0.20
CD123-M2 - CTL
TNF-a
細胞毒性%
TNF-a pg/mL
[雙抗體]nM

圖11G

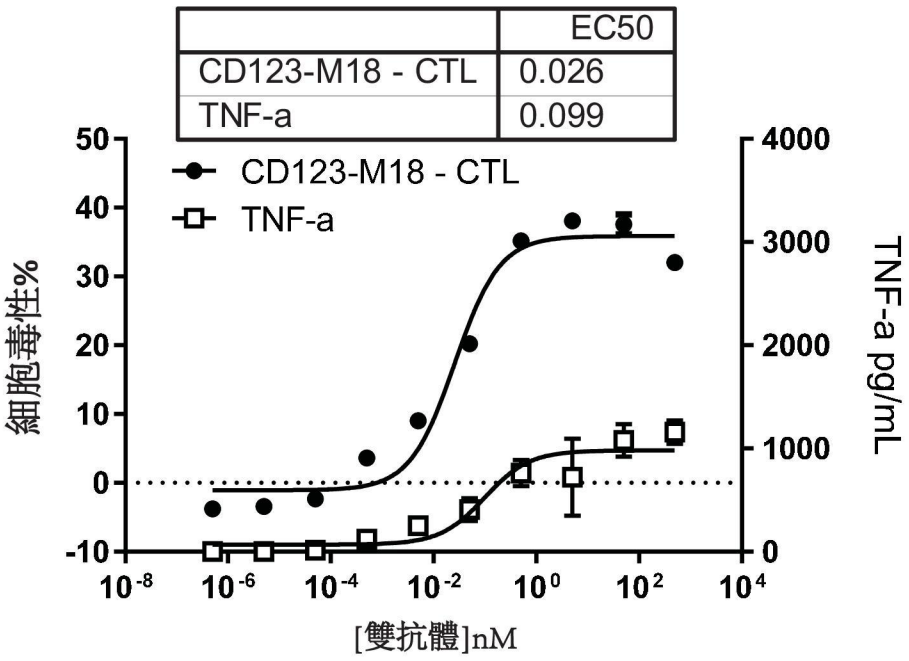

EC50
CD123-M18 - CTL 0.026
TNF-a 0.099
CD123-M18 - CTL
TNF-a
細胞毒性%
TNF-a pg/mL
[雙抗體]nM

圖11H

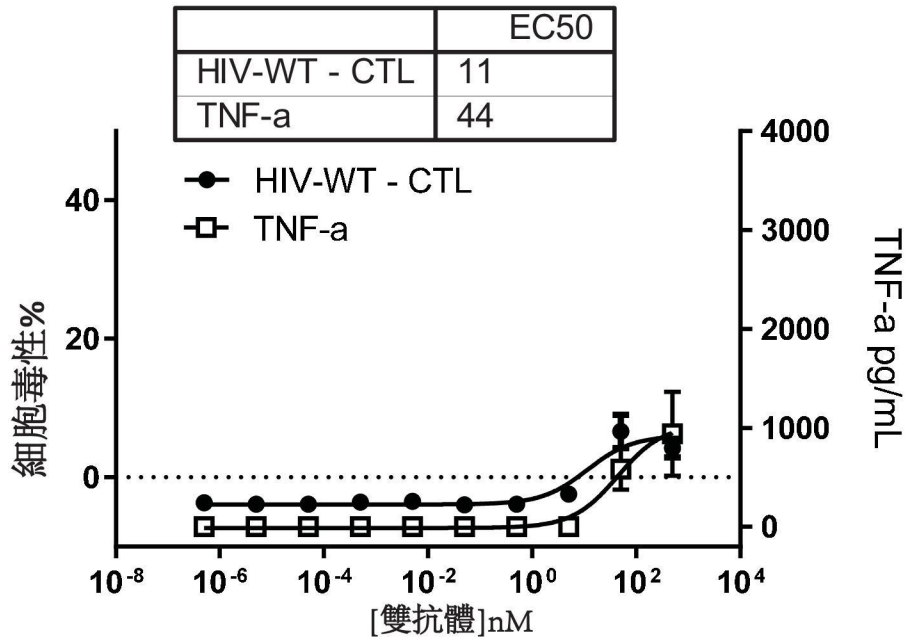

EC50
HIV-WT - CTL 11
TNF-a 44
HIV-WT - CTL
TNF-a
細胞毒性%
TNF-a pg/mL
[雙抗體]nM

圖11I

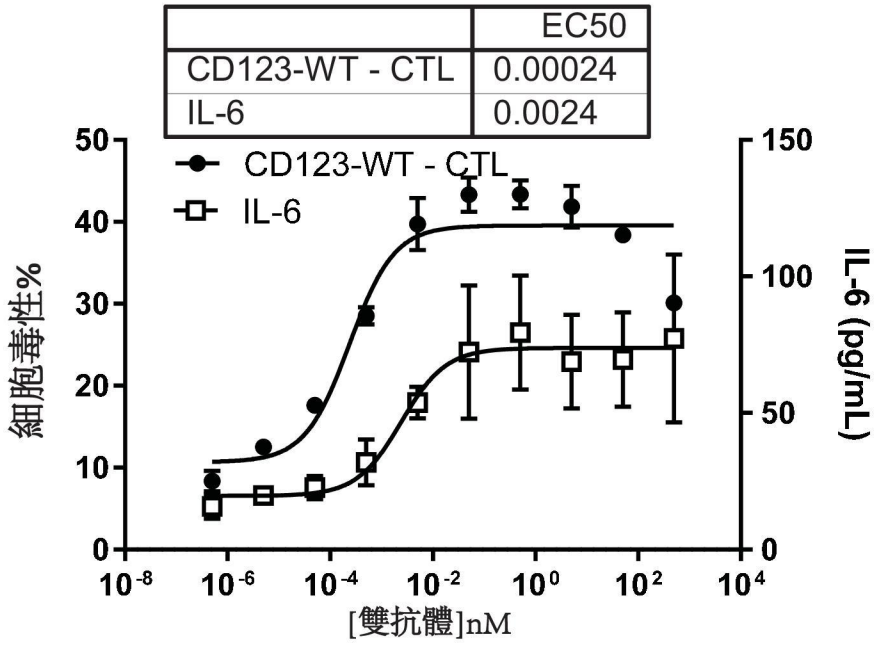

EC50
CD123-WT - CTL 0.00024
IL-6 0.0024
CD123-WT - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11J

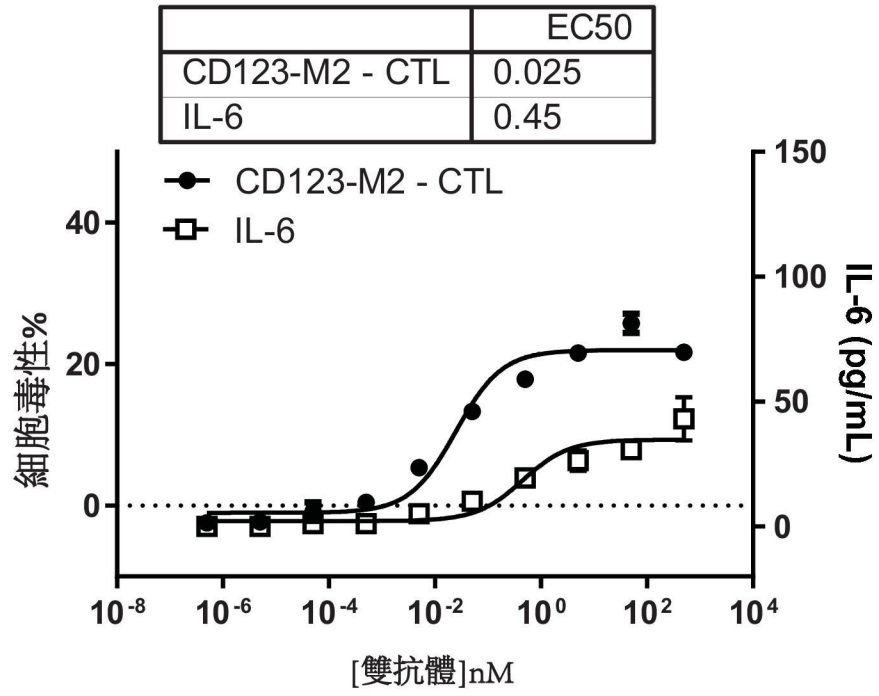

EC50
CD123-M2 - CTL 0.025
IL-6 0.45
CD123-M2 - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11K

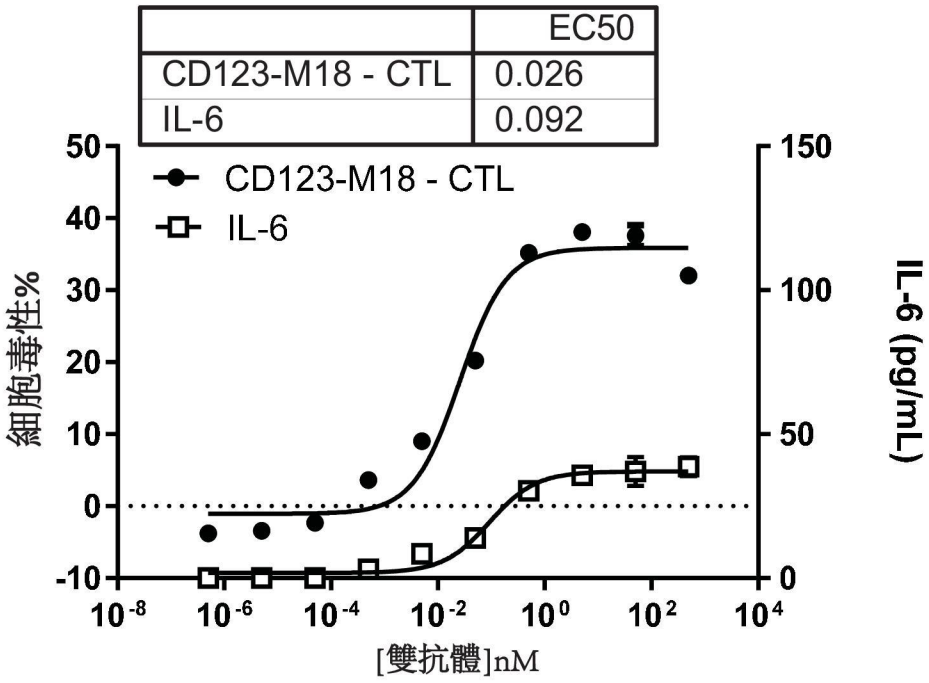

EC50
CD123-M18 - CTL 0.026
IL-6 0.092
CD123-M18 - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11L

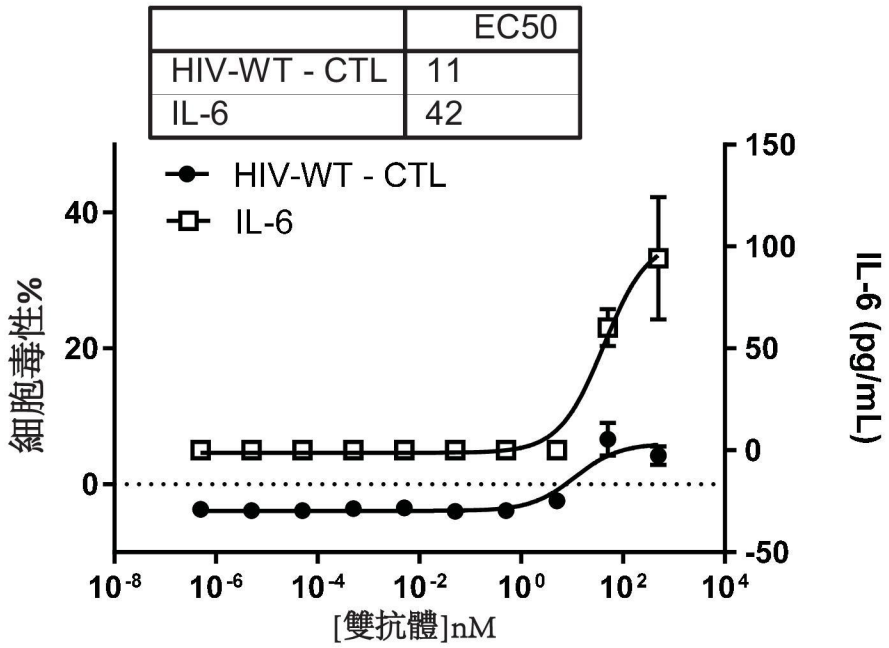

EC50
HIV-WT - CTL 11
IL-6 42
HIV-WT - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11M

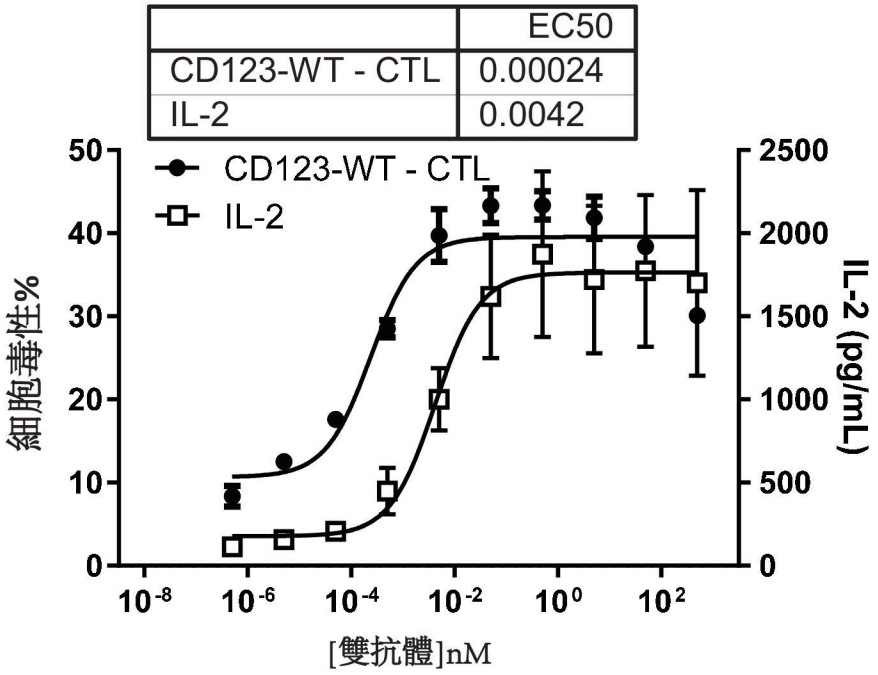

EC50
CD123-WT - CTL 0.00024
IL-2 0.0042
CD123-WT - CTL
IL-2
細胞毒性%
IL-2 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11N

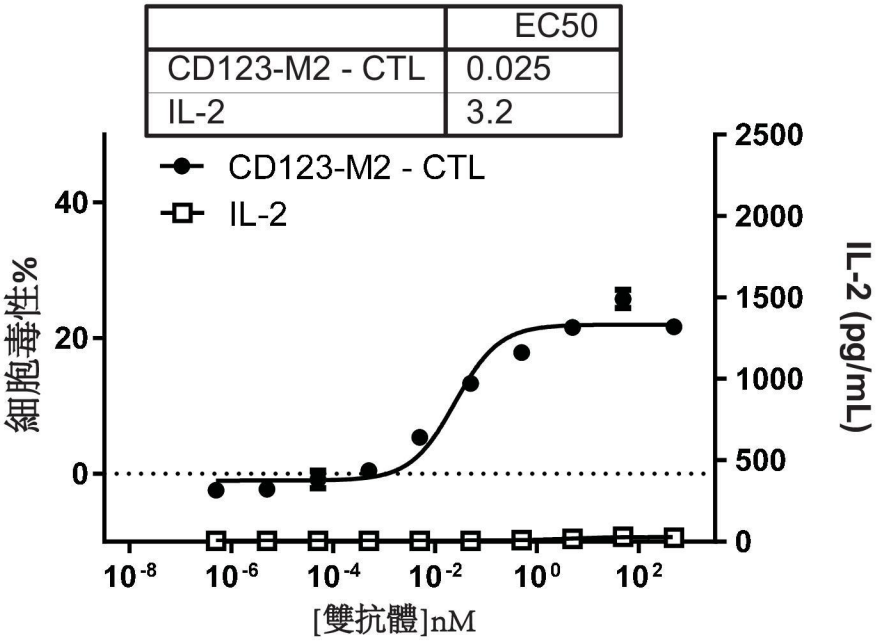

EC50
CD123-M2 - CTL 0.025
IL-2 3.2
CD123-M2 - CTL
IL-2
細胞毒性%
IL-2 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11O

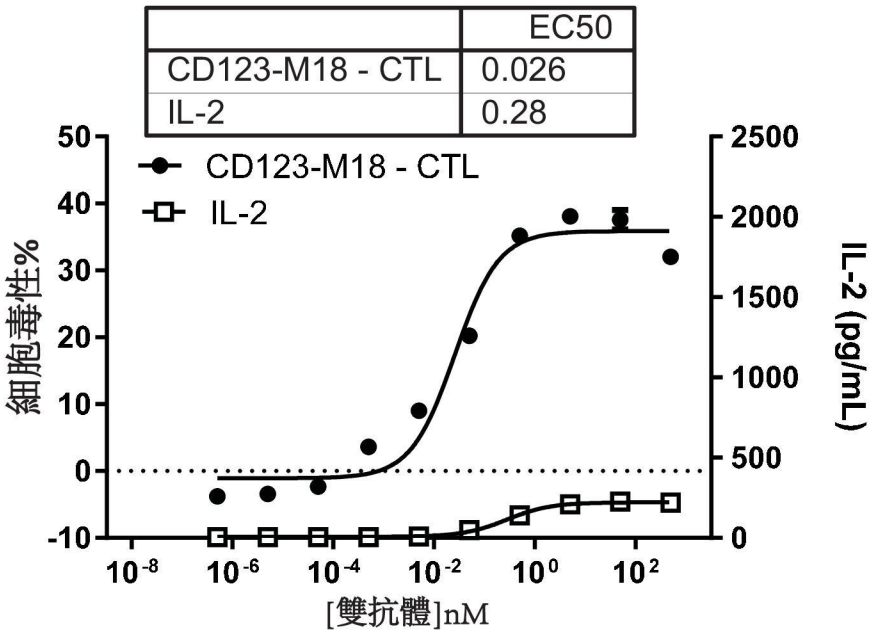

EC50
CD123-M18 - CTL 0.026
IL-2 0.28
CD123-M18 - CTL
IL-2
細胞毒性%
IL-2 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11P

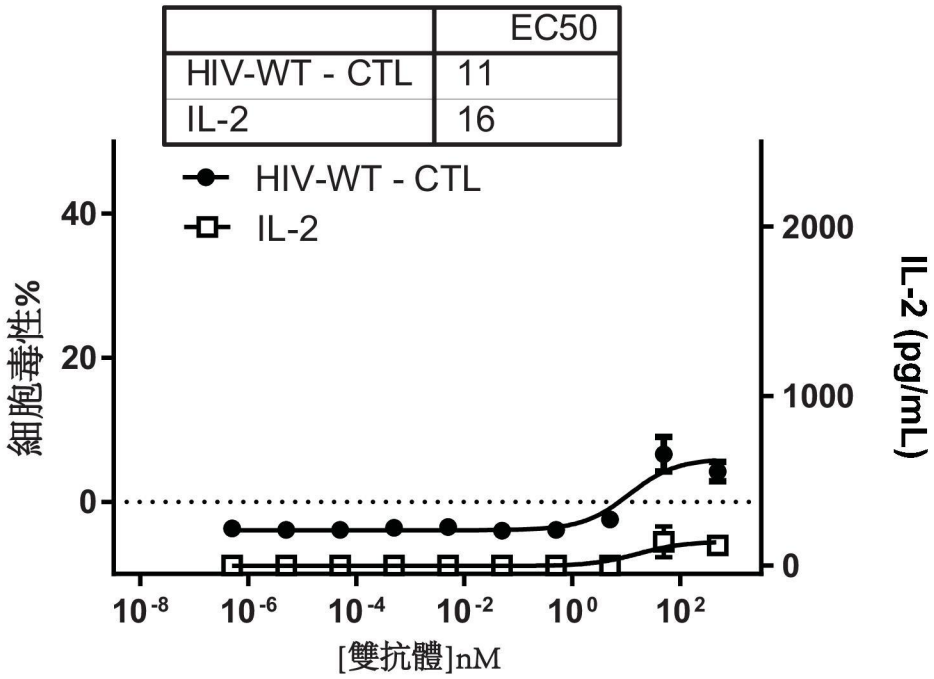
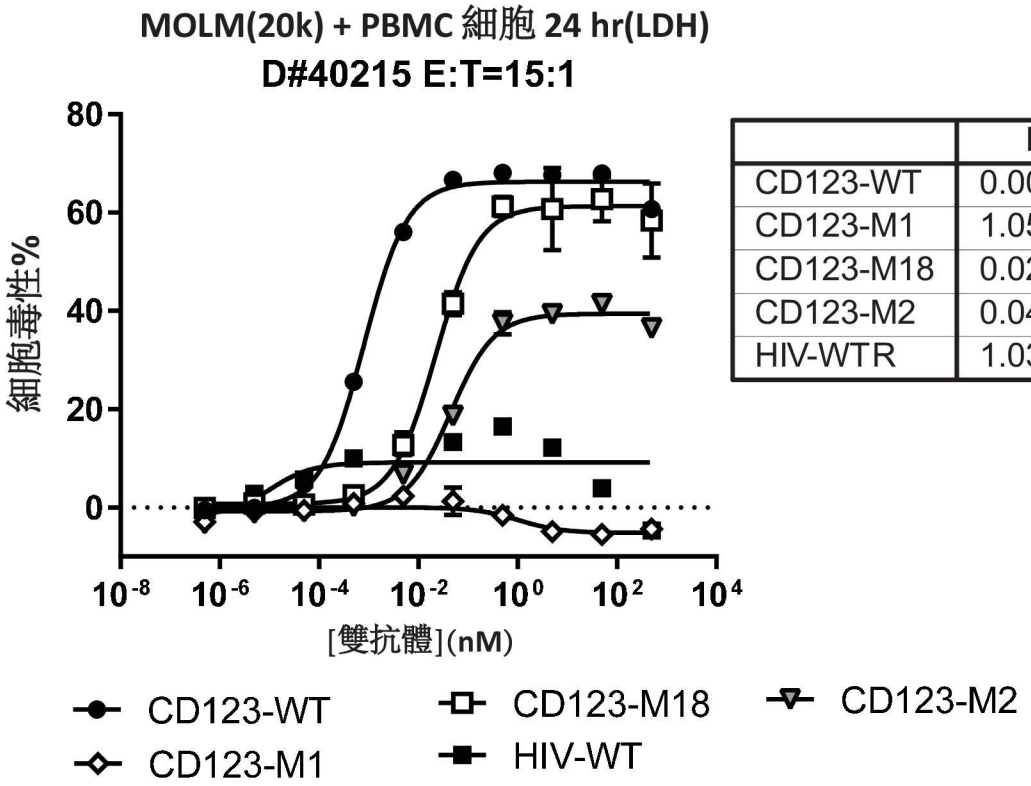
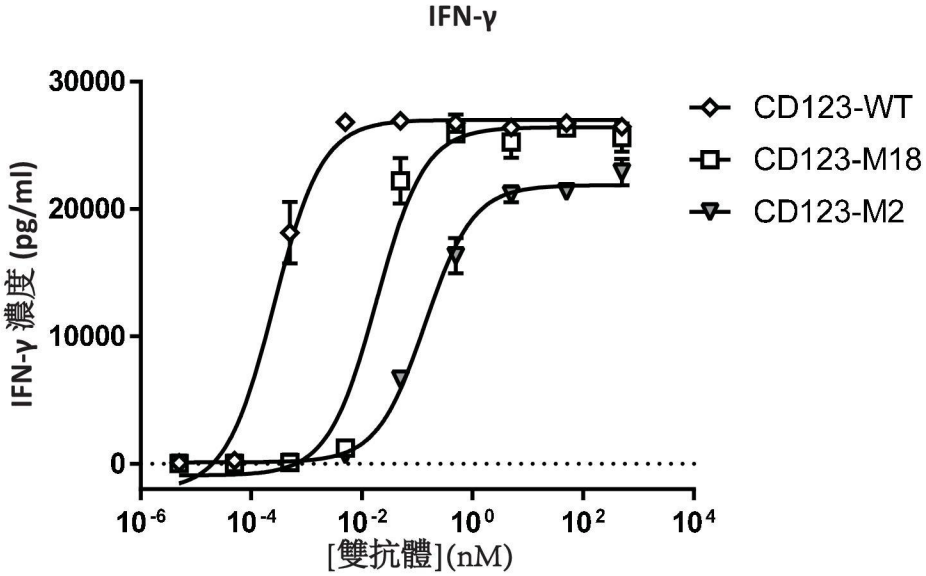

EC50
HIV-WT - CTL 11
IL-2 16
HIV-WT - CTL
IL-2
細胞毒性%
IL-2 (pg/mL)
[雙抗體]nM

圖11Q



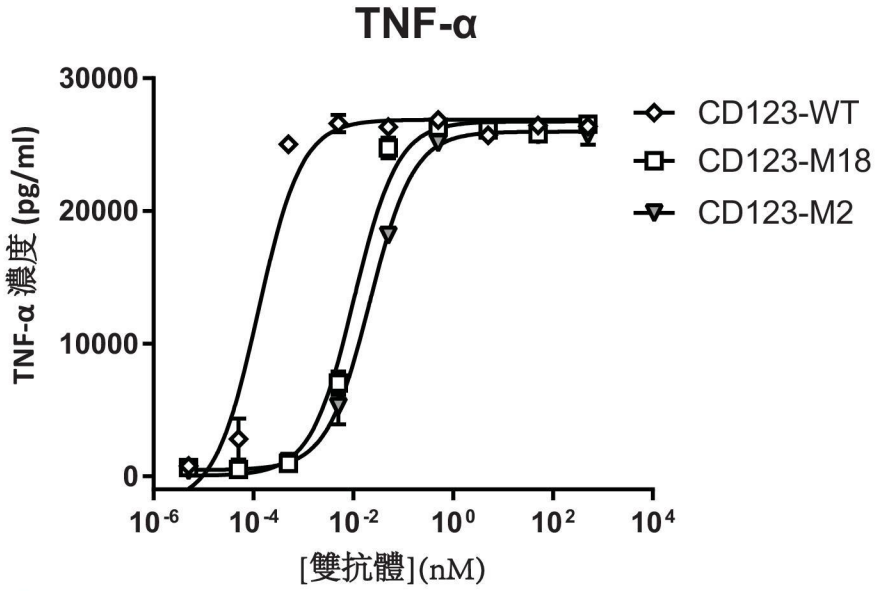
	EC50
CD123-WT	0.0008035
CD123-M1	1.050
CD123-M18	0.02238
CD123-M2	0.04500
HIV-WTR	1.033e-005

圖12A



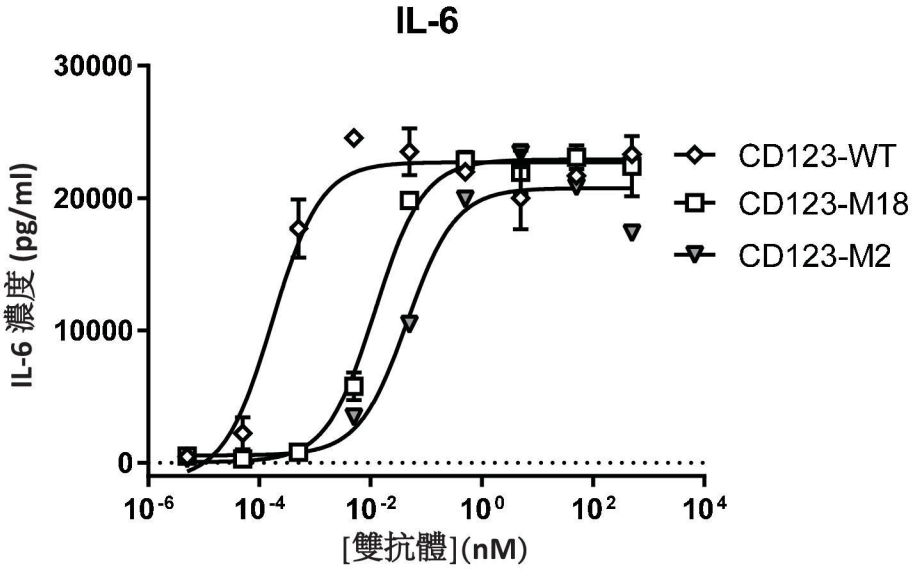
	CD123-WT	CD123-M18	CD123-M2
EC50	0.0002582	0.01826	0.1391

圖12B



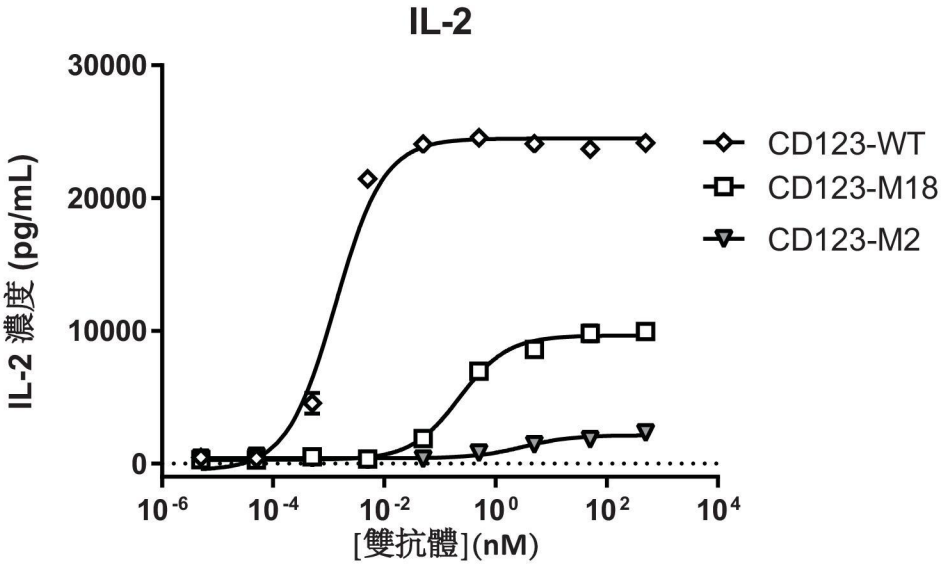
	CD123-WT	CD123-M18	CD123-M2
EC50	0.0001247	0.01043	0.02177

圖12C



	CD123-WT	CD123-M18	CD123-M2
EC50	0.0001708	0.01198	0.04549

圖12D



	CD123-WT	CD123-M18	CD123-M2
EC50	0.001316	0.2249	3.164

圖12E

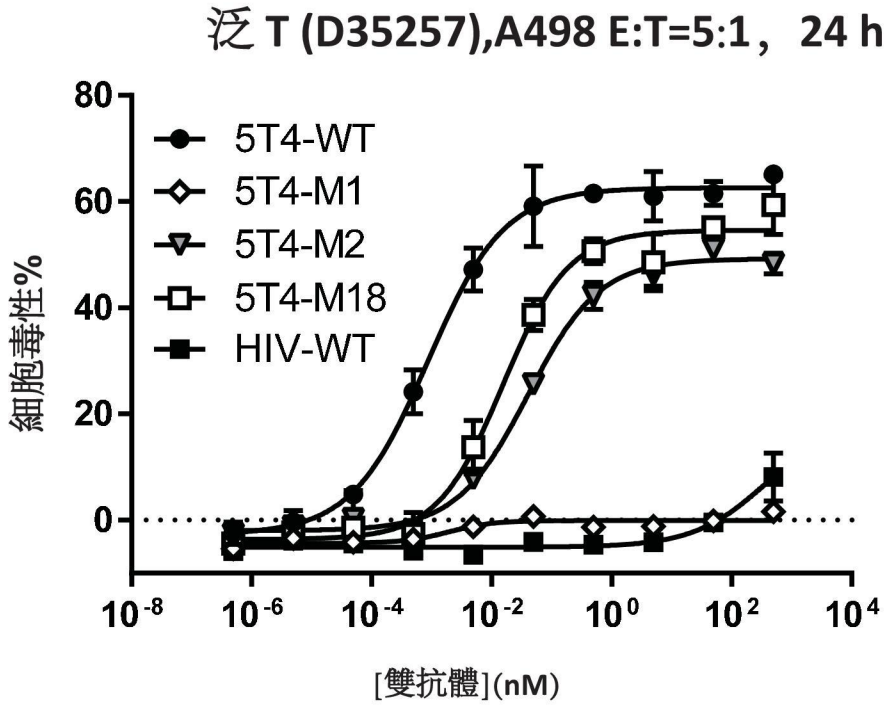


圖13A

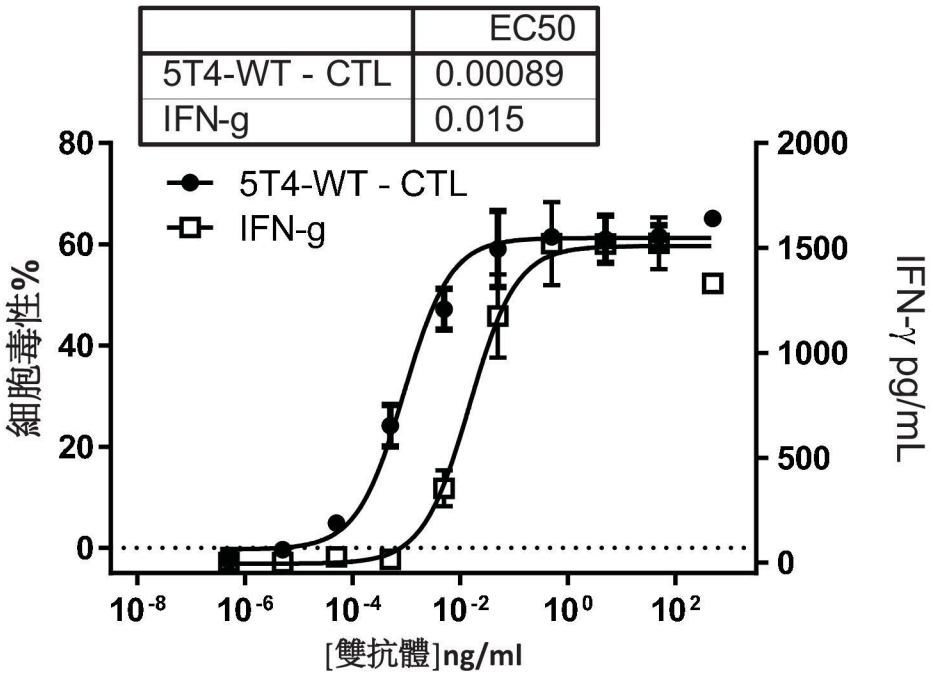

EC50
5T4-WT - CTL 0.00089
IFN-g 0.015
5T4-WT - CTL
IFN-g
細胞毒性%
IFN-γ pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13B

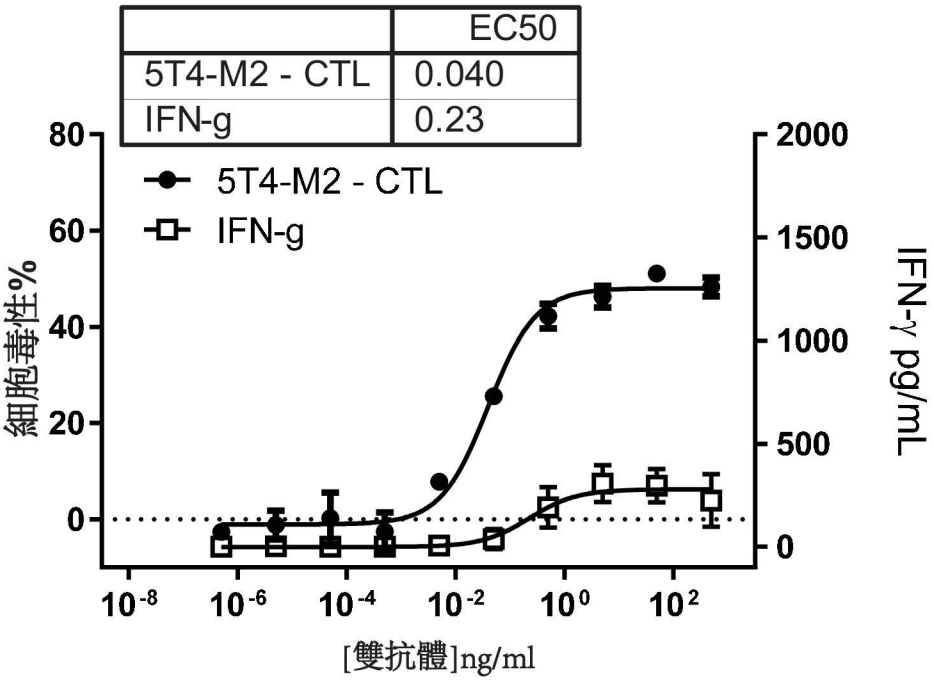

EC50
5T4-M2 - CTL 0.040
IFN-g 0.23
5T4-M2 - CTL
IFN-g
細胞毒性%
IFN-γ pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13C

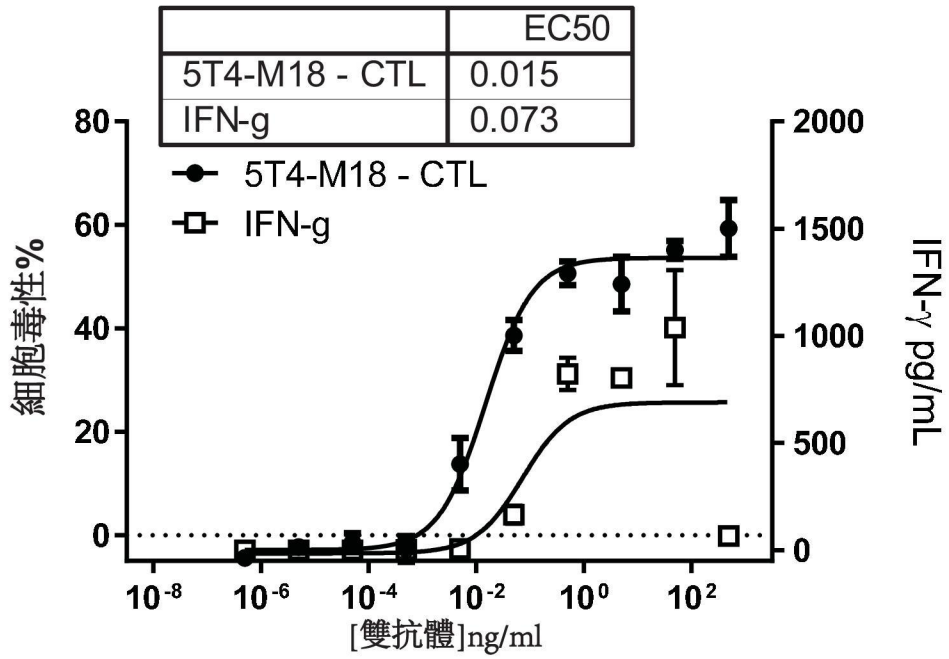

EC50
5T4-M18 - CTL 0.015
IFN-g 0.073
5T4-M18 - CTL
IFN-g
細胞毒性%
IFN-γ pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13D

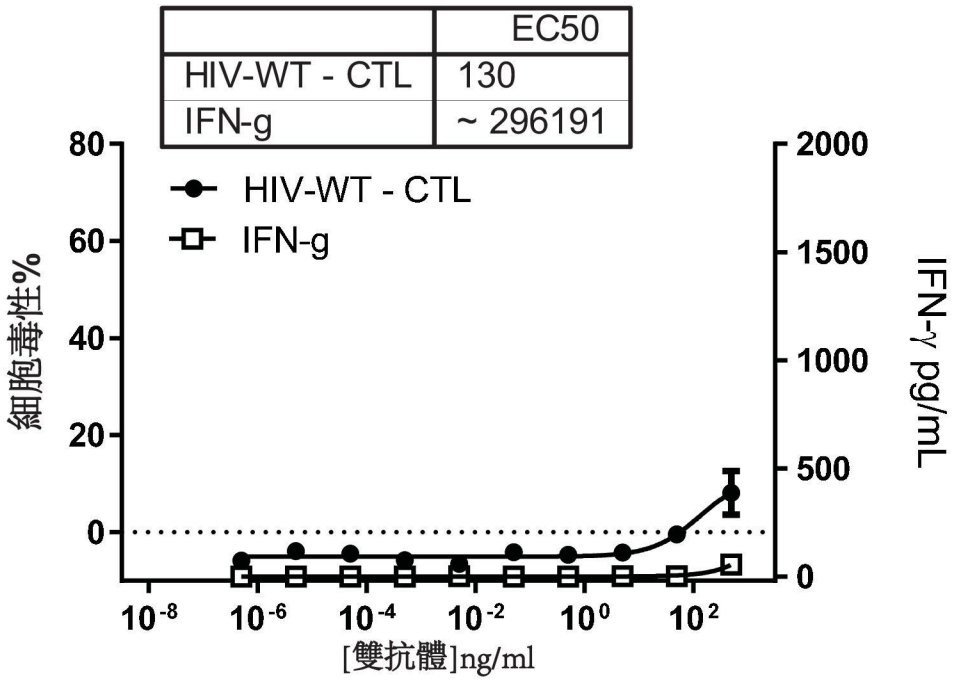

EC50
HIV-WT - CTL 130
IFN-g ~ 296191
HIV-WT - CTL
IFN-g
細胞毒性%
IFN-γ pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13E

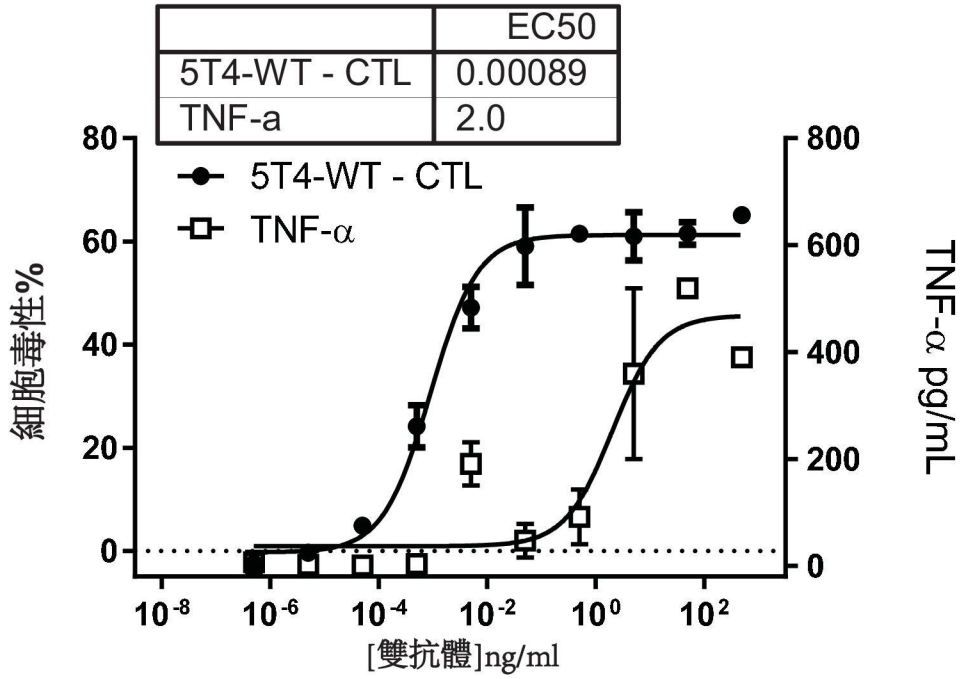

EC50
5T4-WT - CTL 0.00089
TNF-a 2.0
5T4-WT - CTL
TNF-α
細胞毒性%
TNF-α pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13F

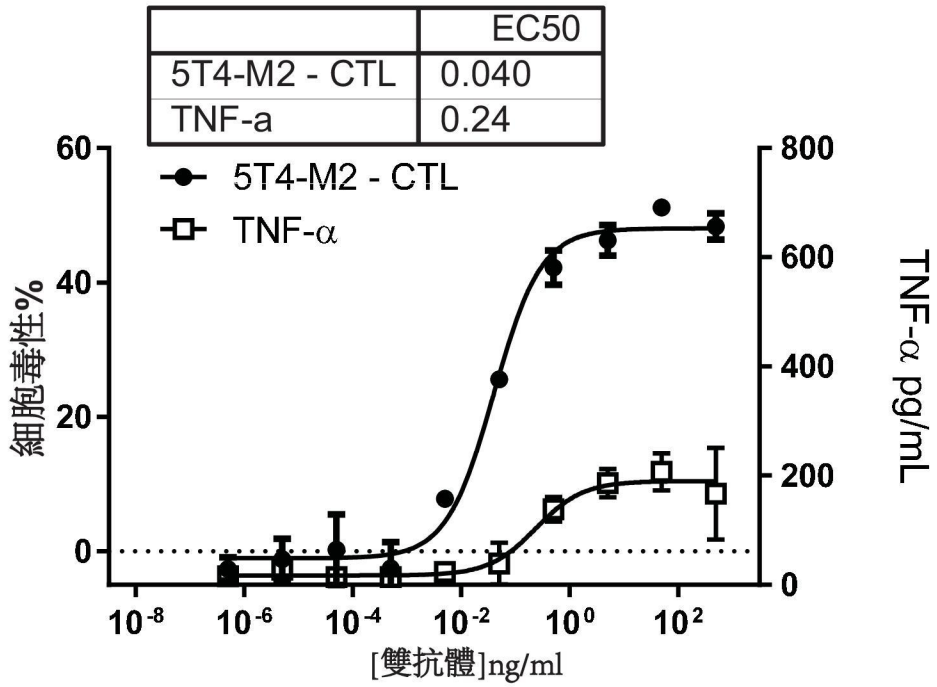

EC50
5T4-M2 - CTL 0.040
TNF-a 0.24
5T4-M2 - CTL
TNF-α
細胞毒性%
TNF-α pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13G

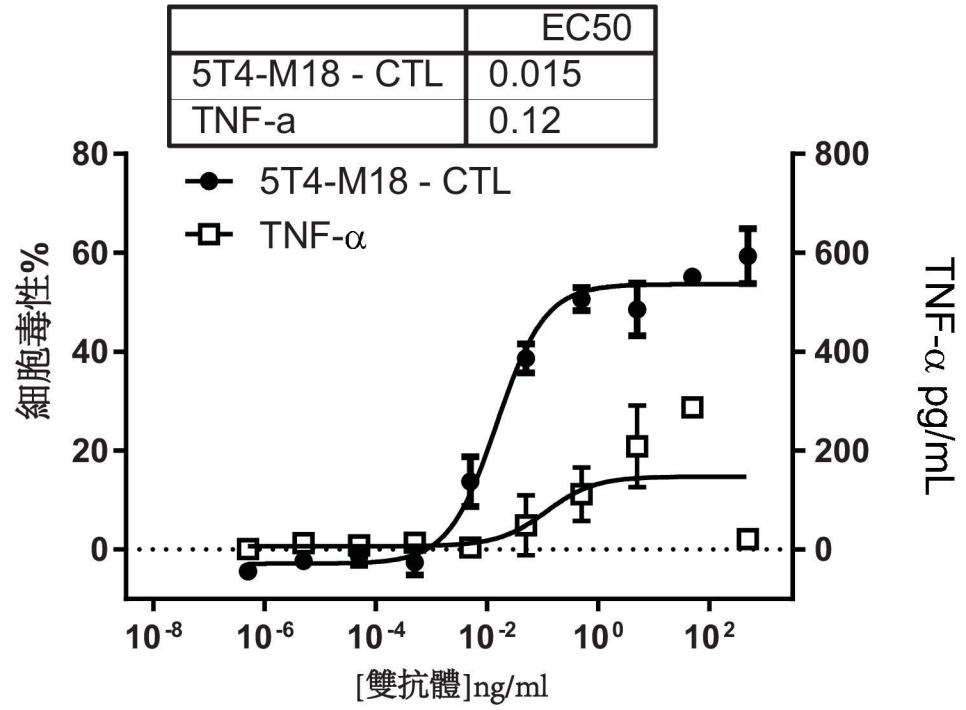

EC50
5T4-M18 - CTL 0.015
TNF-a 0.12
5T4-M18 - CTL
TNF-α
細胞毒性%
TNF-α pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13H

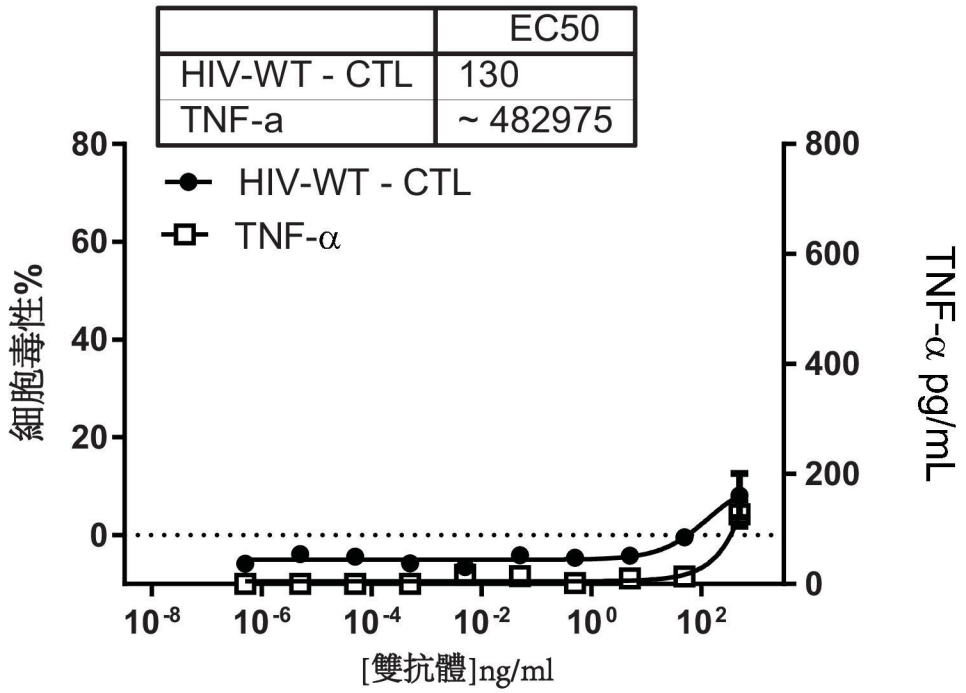

EC50
HIV-WT - CTL 130
TNF-a ~ 482975
HIV-WT - CTL
TNF-α
細胞毒性%
TNF-α pg/mL
[雙抗體]ng/ml

圖13I

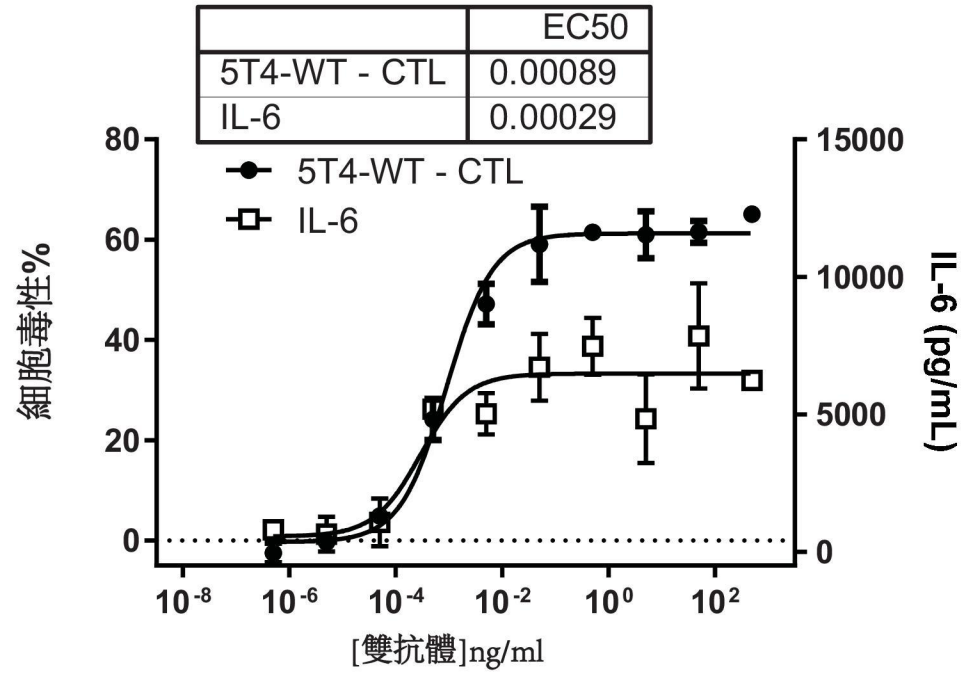

EC50
5T4-WT - CTL 0.00089
IL-6 0.00029
5T4-WT - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]ng/ml

圖13J

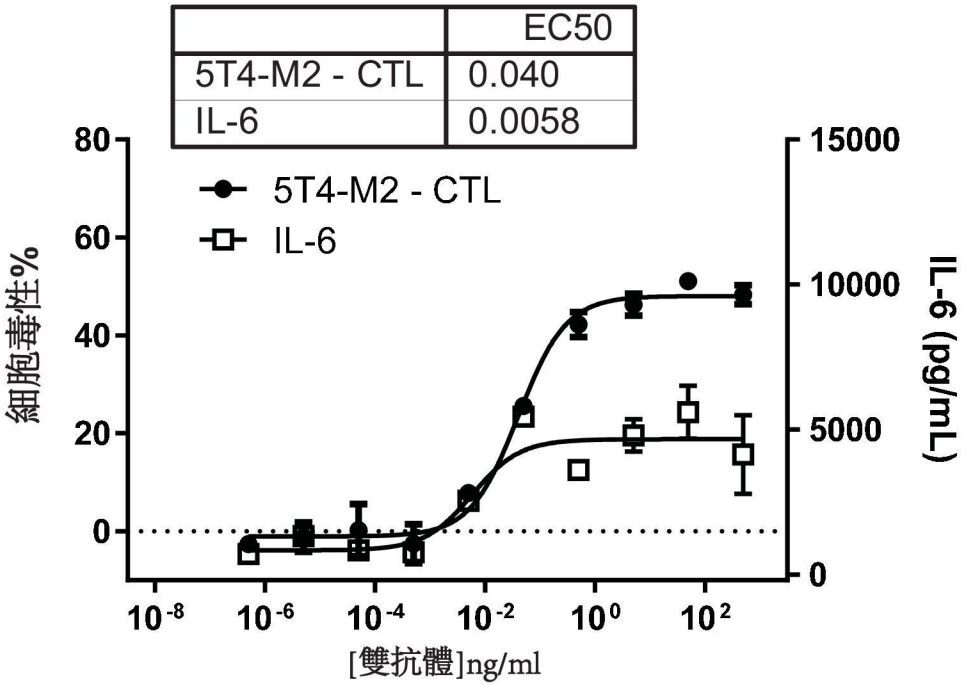

EC50
5T4-M2 - CTL 0.040
IL-6 0.0058
5T4-M2 - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]ng/ml

圖13K

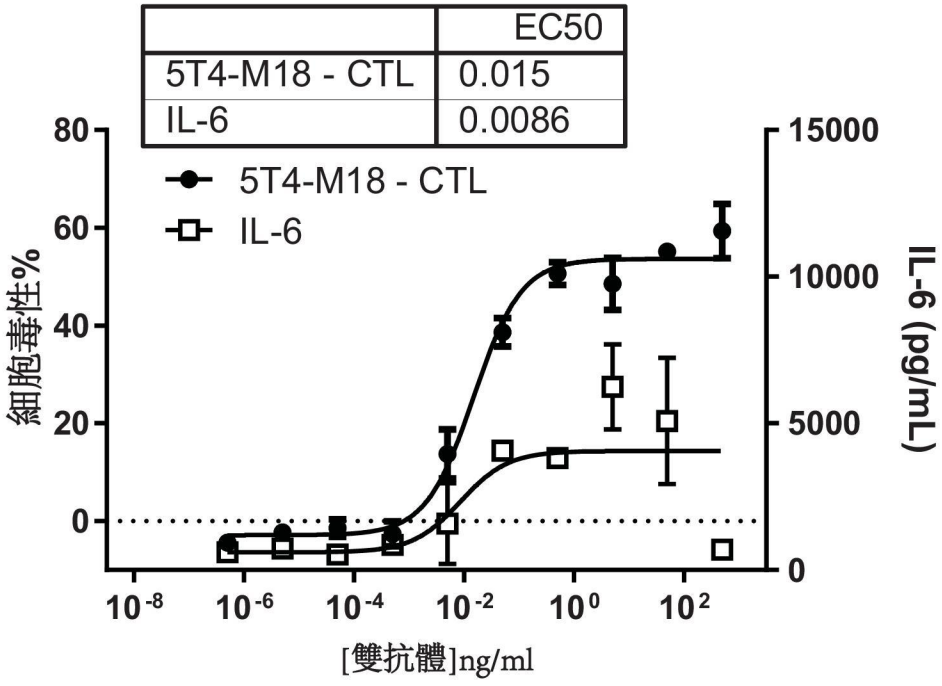

EC50
5T4-M18 - CTL 0.015
IL-6 0.0086
5T4-M18 - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]ng/ml

圖13L

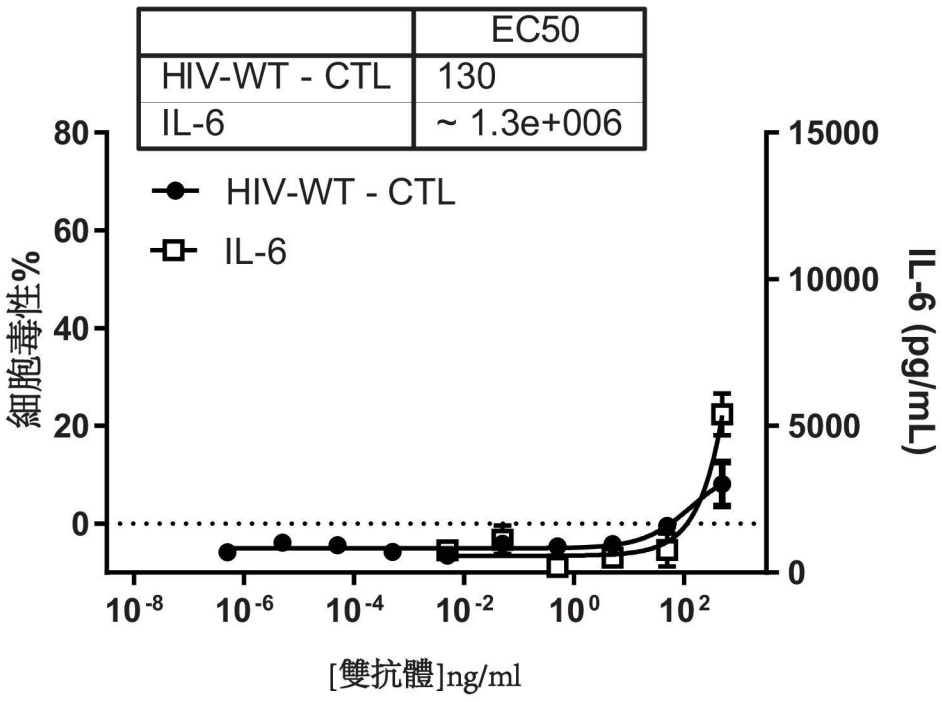

EC50
HIV-WT - CTL 130
IL-6 ~ 1.3e+006
HIV-WT - CTL
IL-6
細胞毒性%
IL-6 (pg/mL)
[雙抗體]ng/ml

圖13M

	EC50
5T4-WT - CTL	0.00089
IL-2	0.033

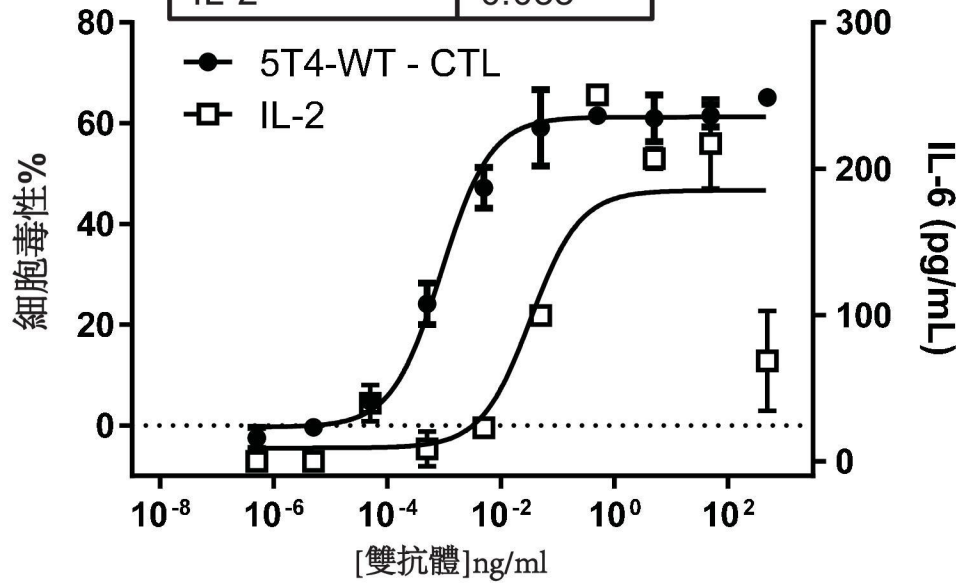


圖13N

	EC50
5T4-M2 - CTL	0.040
IL-2	0.51

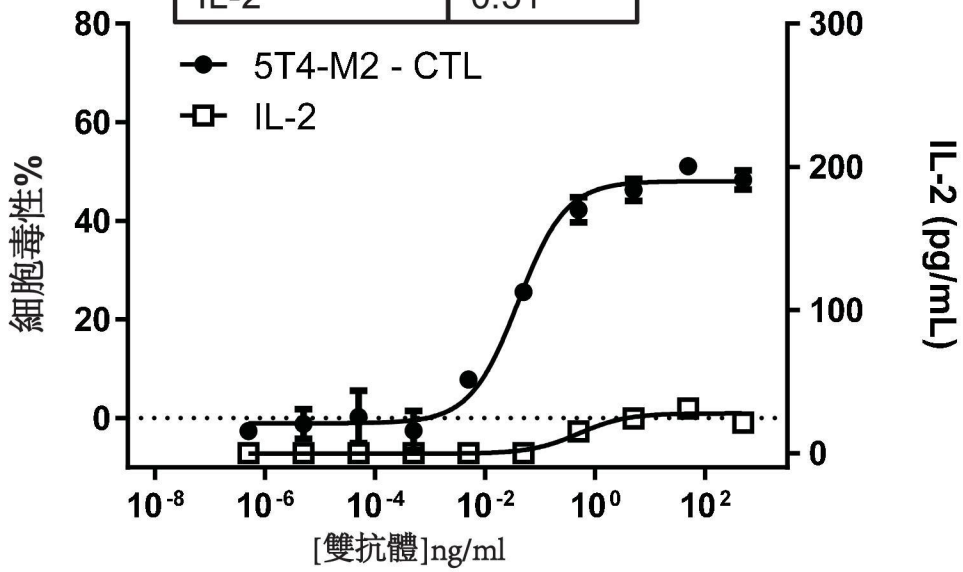


圖13O

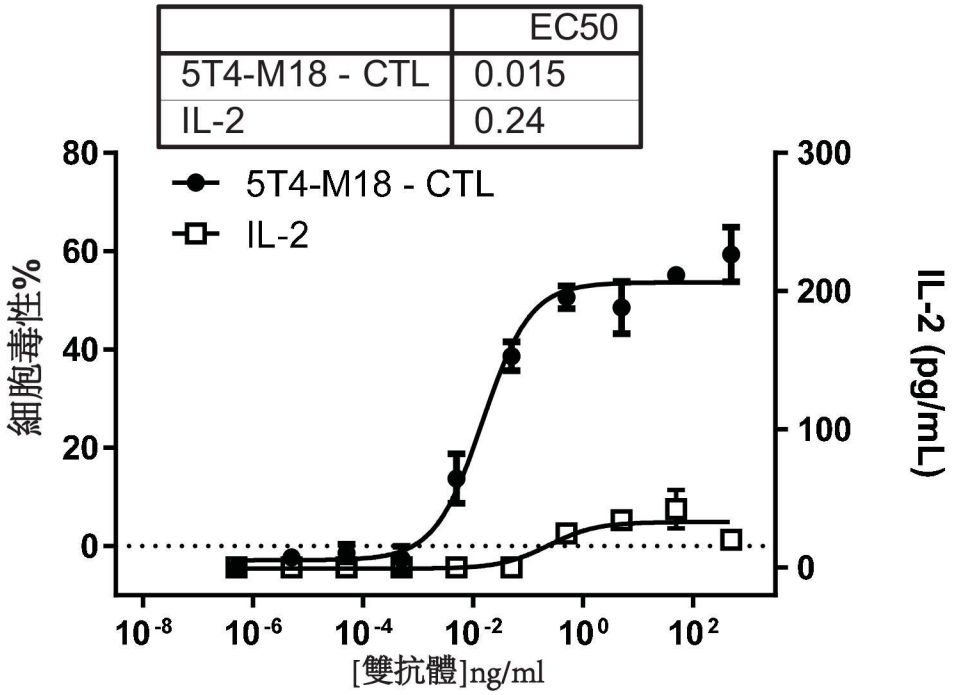

EC50
5T4-M18 - CTL 0.015
IL-2 0.24
5T4-M18 - CTL
IL-2
細胞毒性%
IL-2 (pg/mL)
[雙抗體]ng/ml

圖13P

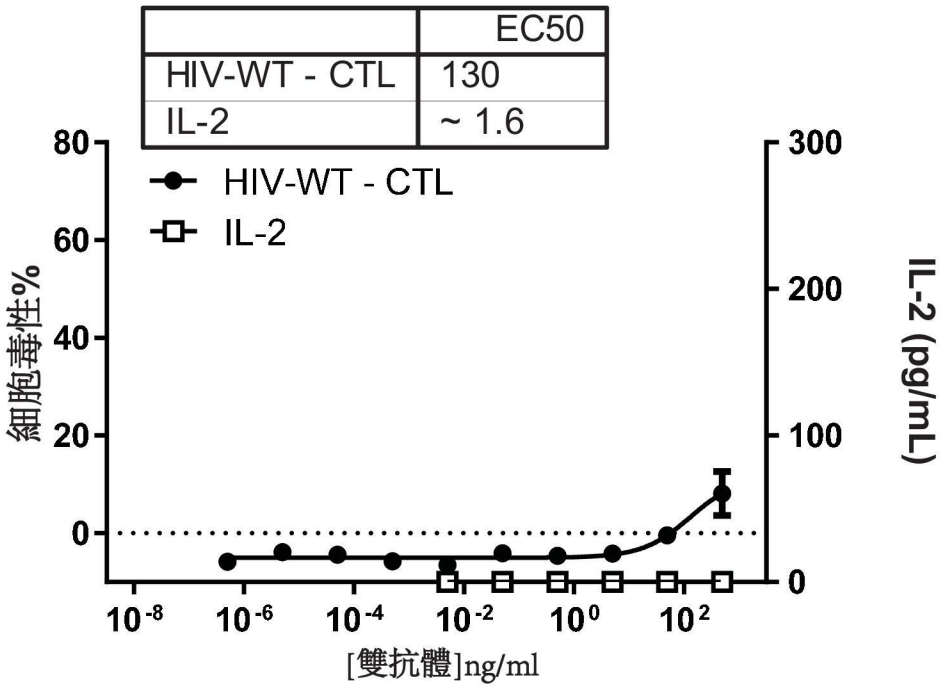

EC50
HIV-WT - CTL 130
IL-2 ~ 1.6
HIV-WT - CTL
IL-2
細胞毒性%
IL-2 (pg/mL)
[雙抗體]ng/ml

圖13Q

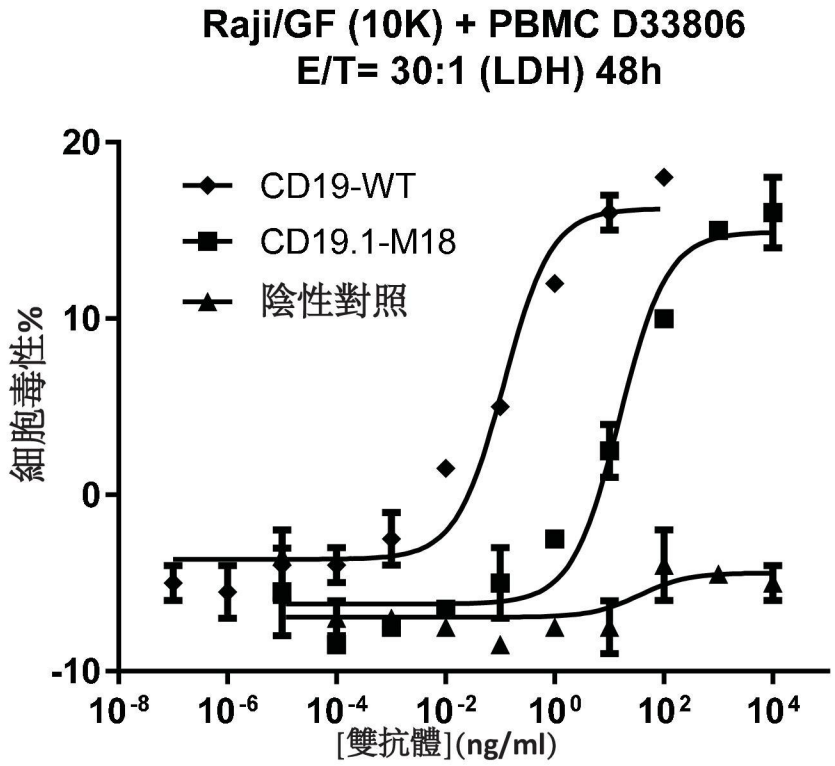

Raji/GF (10K) + PBMC D33806
E/T= 30:1 (LDH) 48h
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
細胞毒性%
20
10
0
-10
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](ng/ml)

圖14A

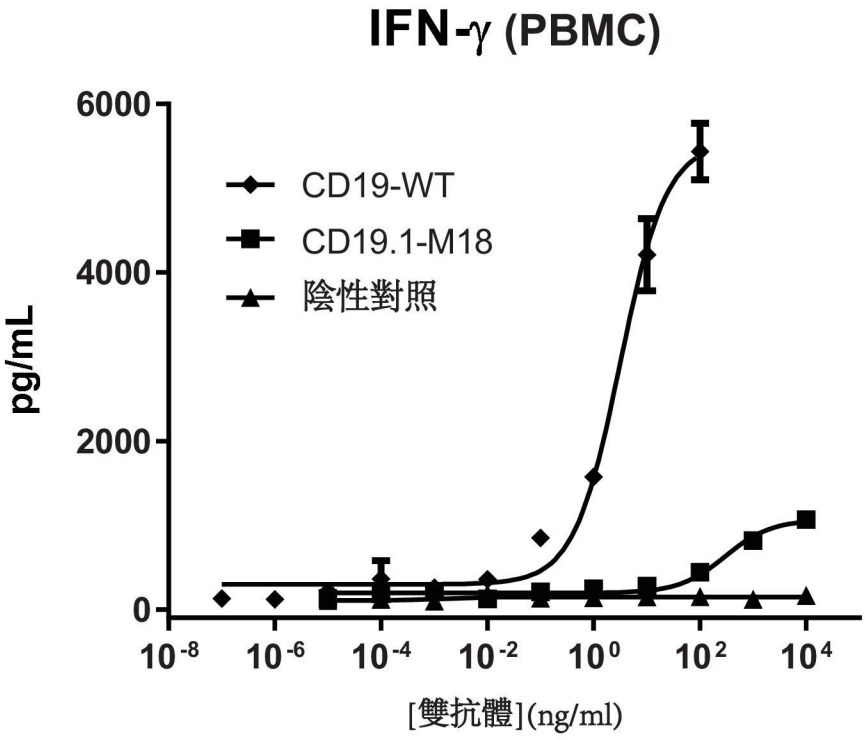

IFN-γ (PBMC)
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
pg/mL
6000
4000
2000
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](ng/ml)

圖14B

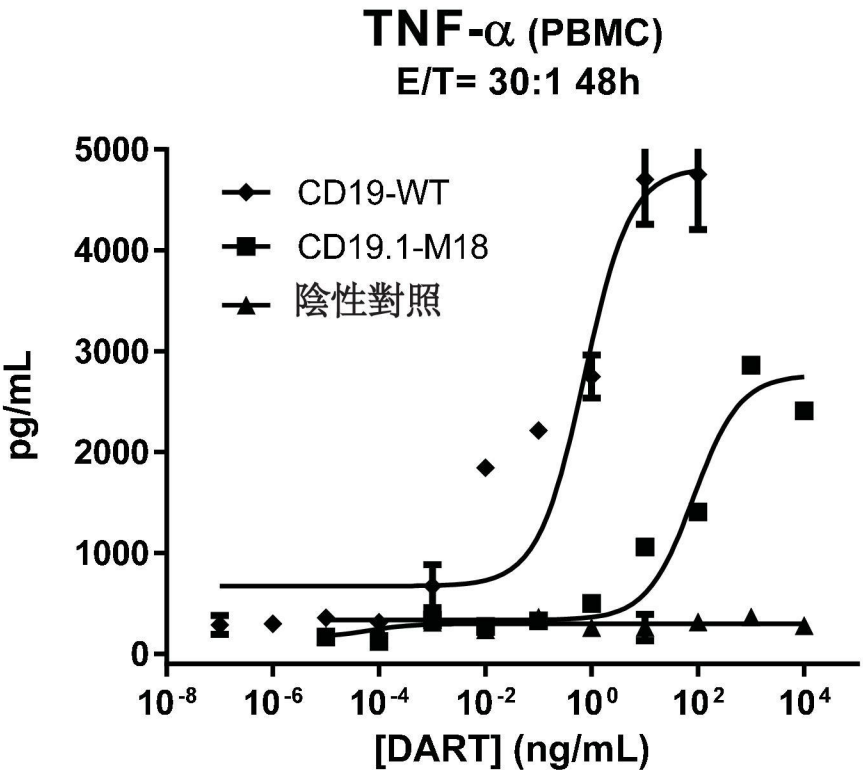

TNF-α (PBMC)
E/T= 30:1 48h
5000
4000
3000
2000
1000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[DART] (ng/mL)

圖14C

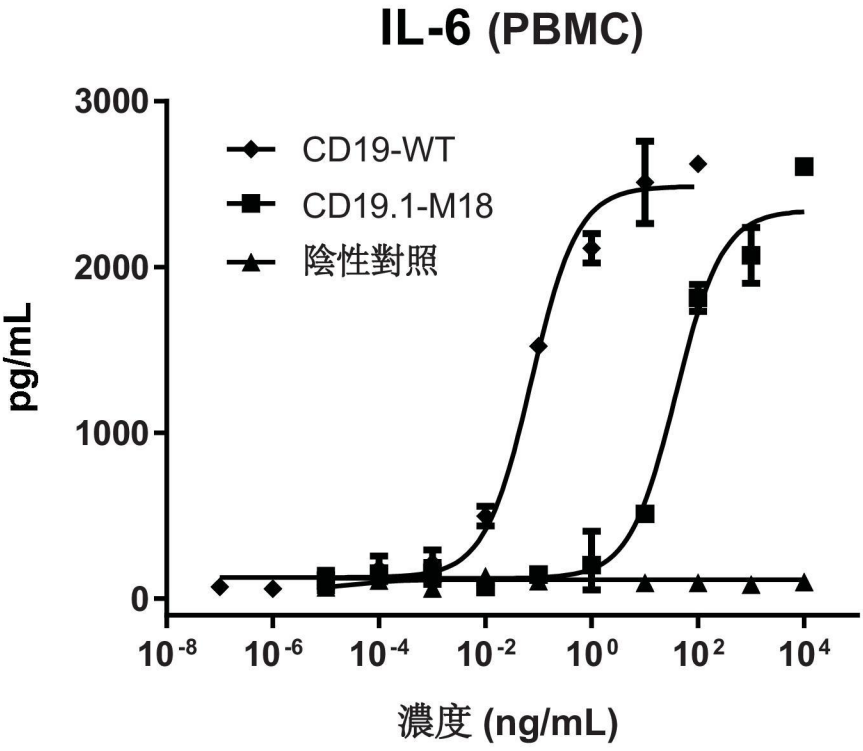

IL-6 (PBMC)
3000
2000
1000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度 (ng/mL)

圖14D

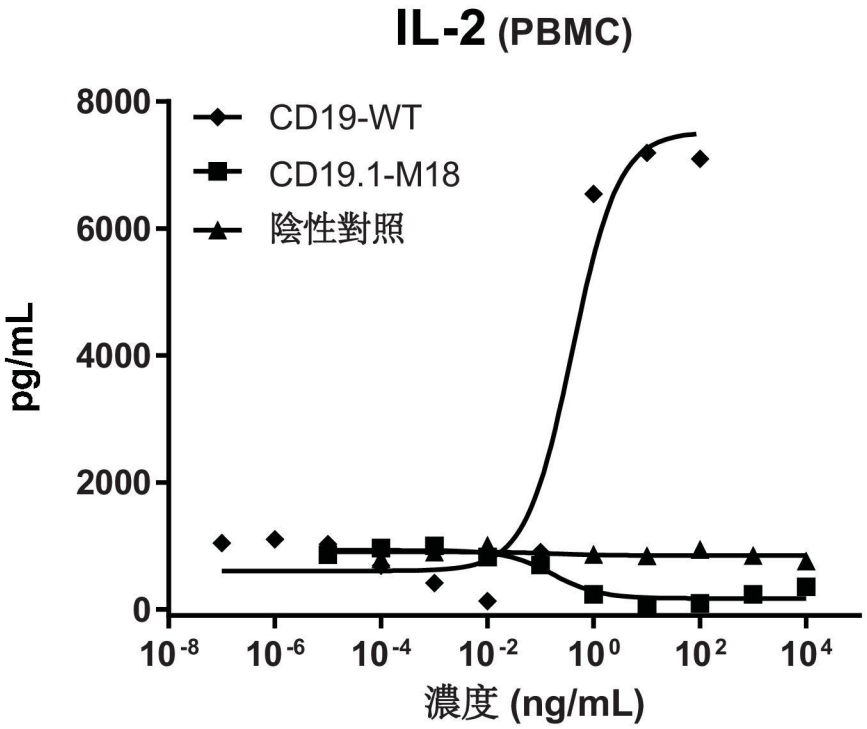

IL-2 (PBMC)
8000
6000
4000
2000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度 (ng/mL)

圖14E

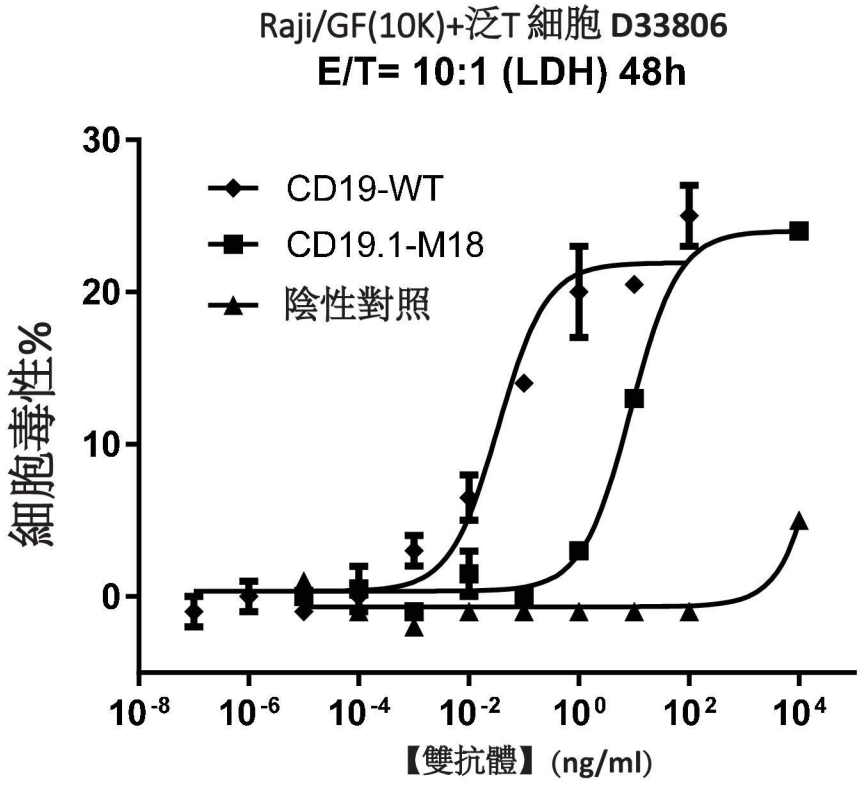

Raji/GF(10K)+泛T 細胞 D33806
E/T= 10:1 (LDH) 48h
30
20
10
0
細胞毒性%
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
【雙抗體】(ng/ml)

圖14F

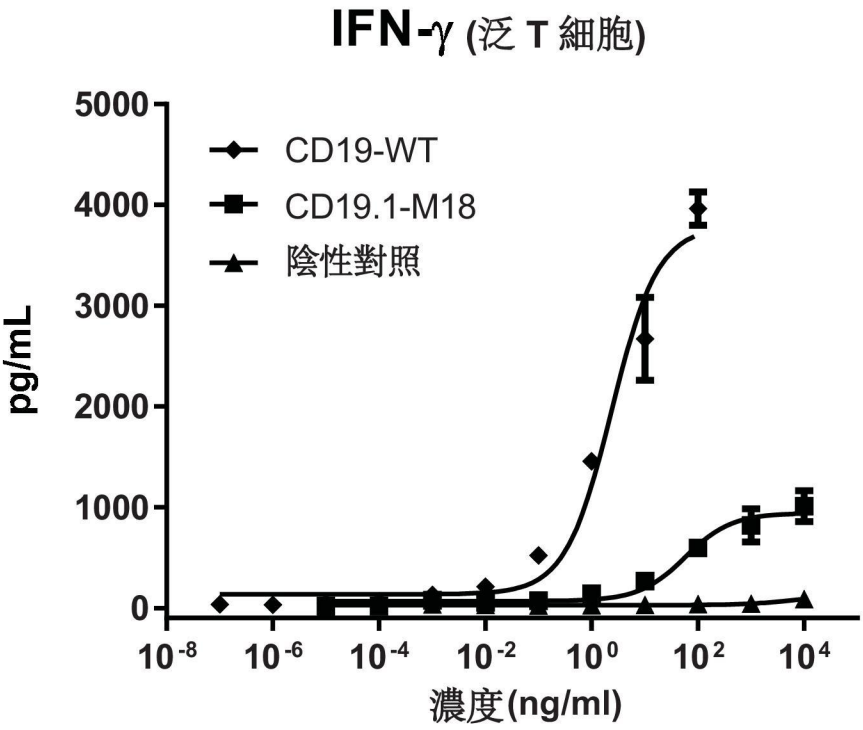

IFN-γ (泛 T 細胞)
5000
4000
3000
2000
1000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(ng/ml)

圖14G

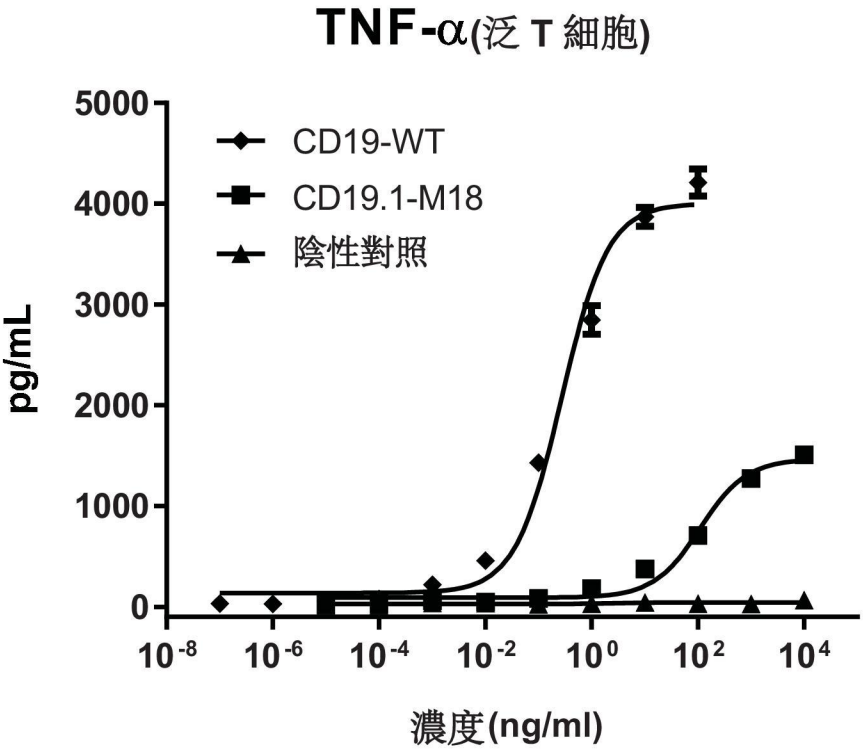

TNF-α(泛 T 細胞)
5000
4000
3000
2000
1000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(ng/ml)

圖14H

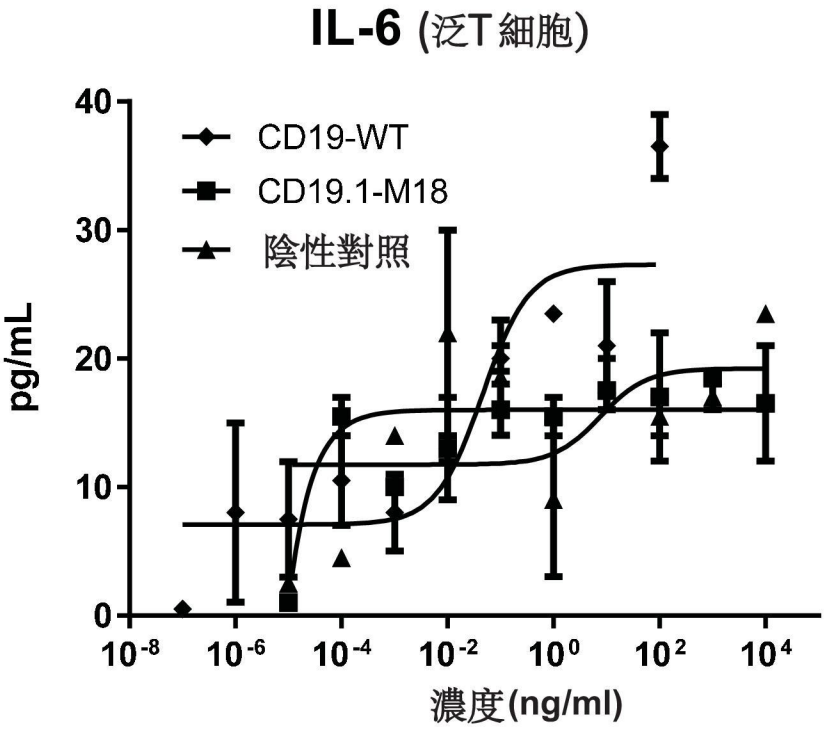

IL-6 (泛T細胞)
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
pg/mL
40
30
20
10
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(ng/ml)

圖14I

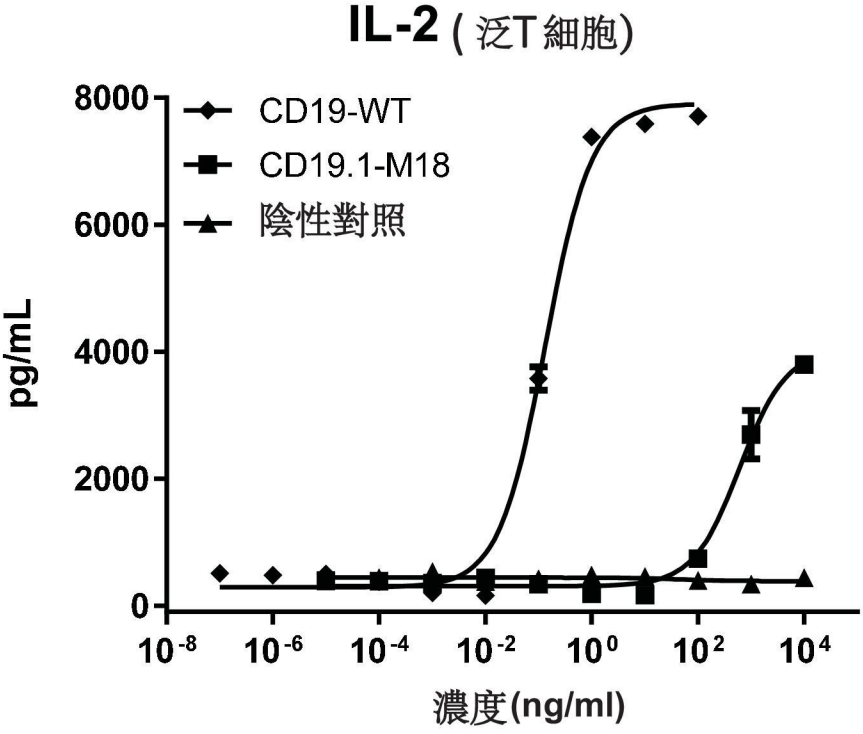

IL-2 (泛T細胞)
CD19-WT
CD19.1-M18
陰性對照
pg/mL
8000
6000
4000
2000
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(ng/ml)

圖14J

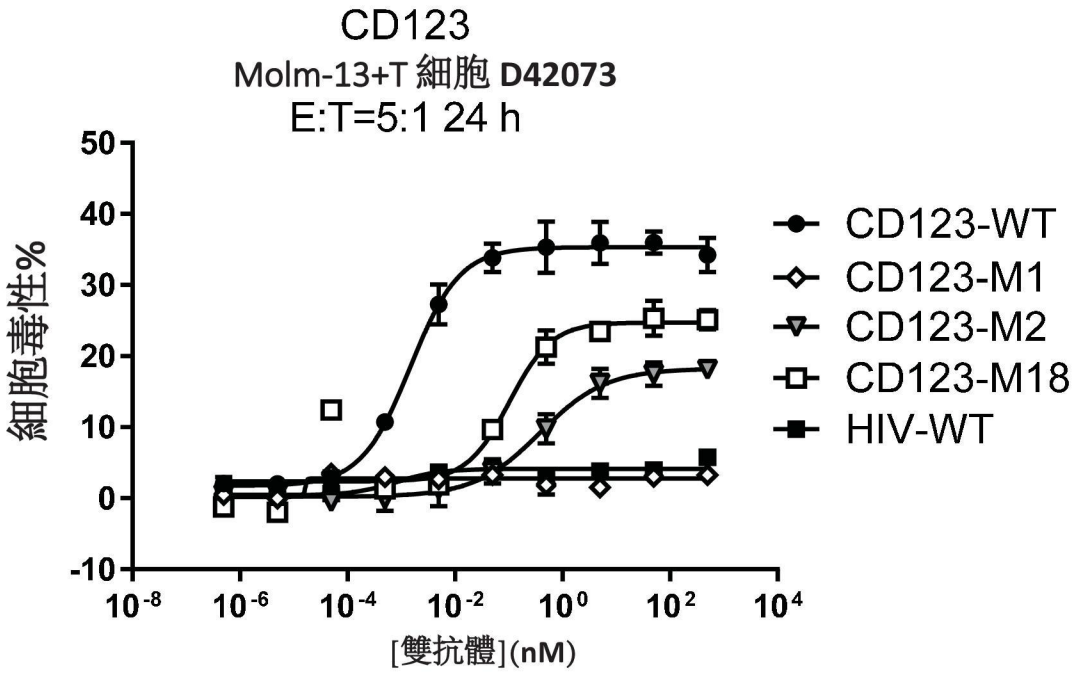

CD123
Molm-13+T 細胞 D42073
E:T=5:1 24 h
細胞毒性%
50
40
30
20
10
0
-10
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-M18
HIV-WT

圖15A

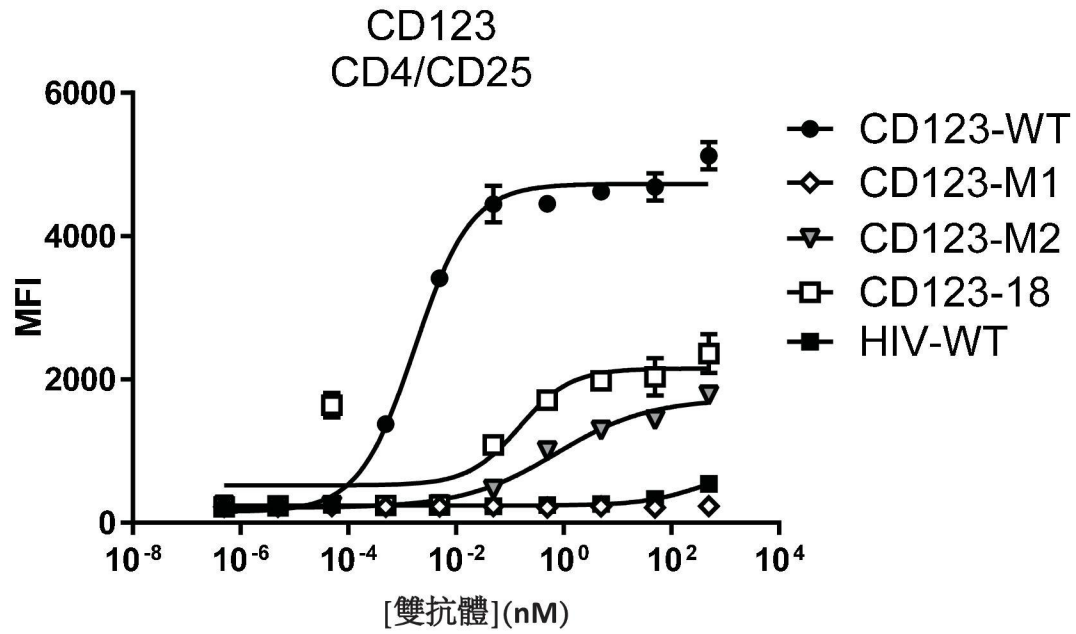

CD123
CD4/CD25
MFI
6000
4000
2000
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-18
HIV-WT

圖15B

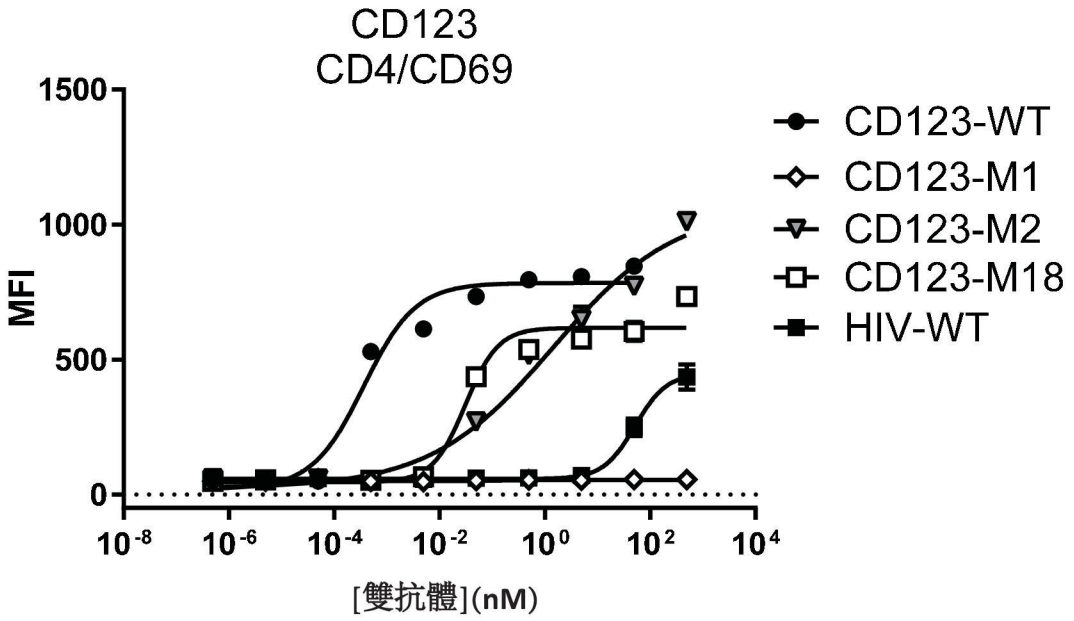

CD123
CD4/CD69
1500
1000
500
0
MFI
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-M18
HIV-WT

圖15C

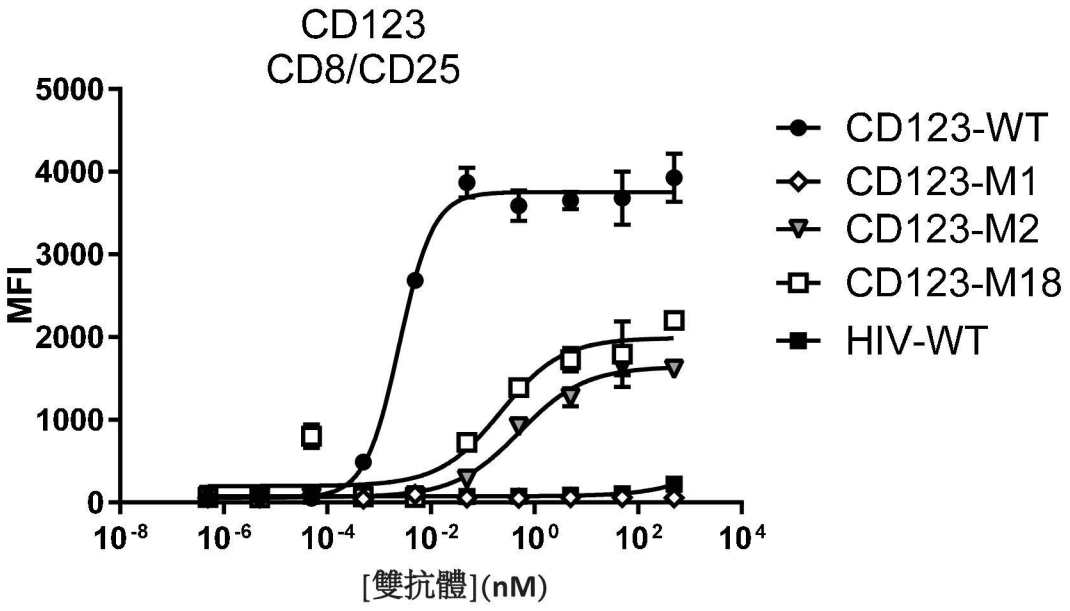

CD123
CD8/CD25
5000
4000
3000
2000
1000
0
MFI
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-M18
HIV-WT

圖15D

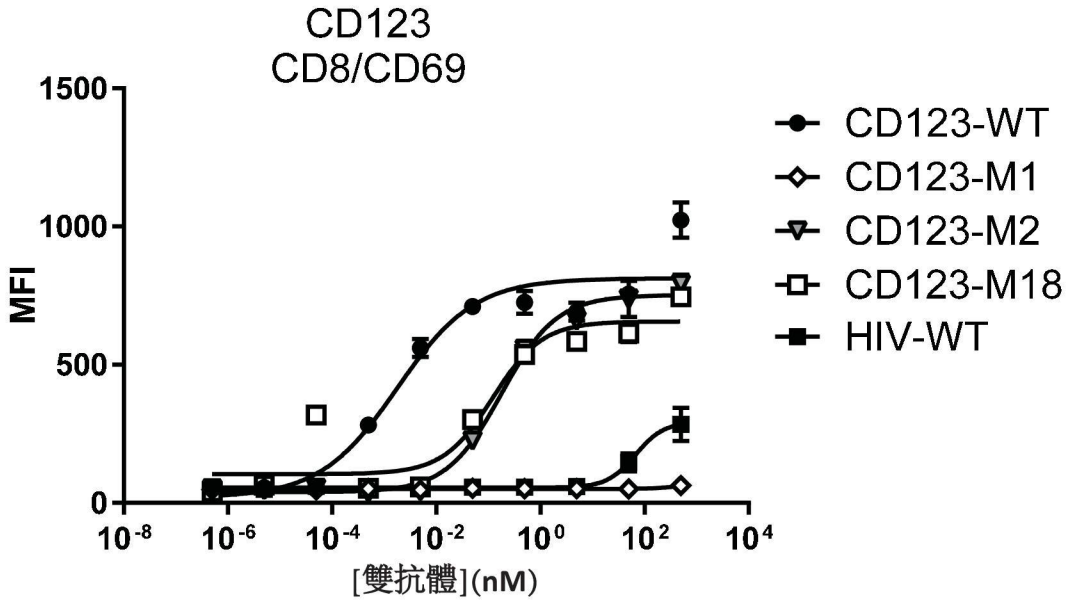

CD123
CD8/CD69
MFI
1500
1000
500
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M2
CD123-M18
HIV-WT

圖15E

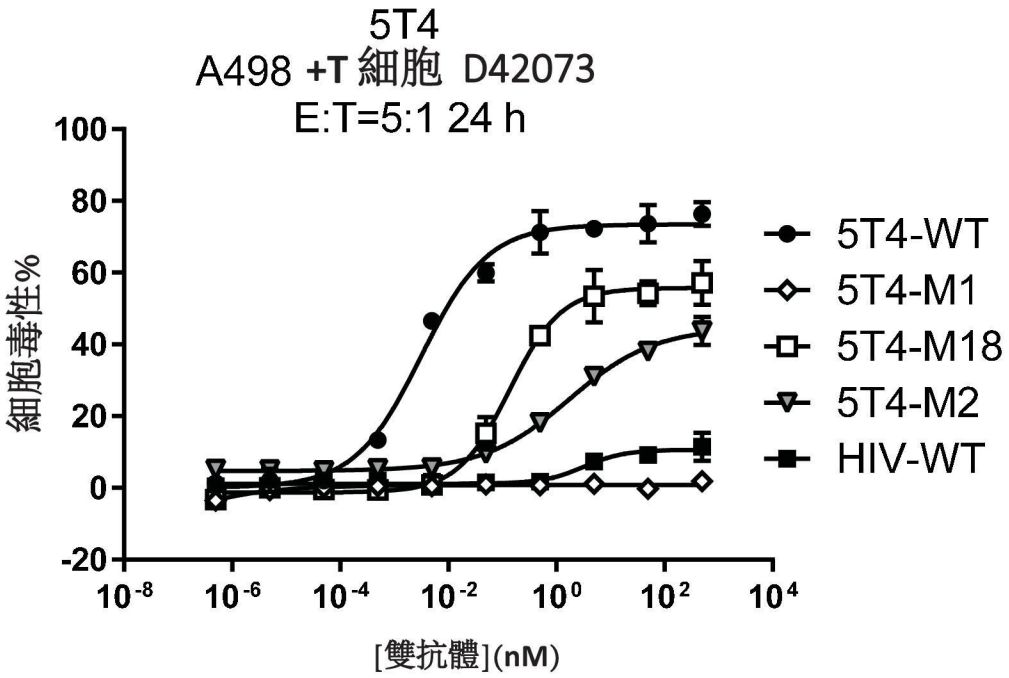

5T4
A498 +T 細胞 D42073
E:T=5:1 24 h
細胞毒性%
100
80
60
40
20
0
-20
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
5T4-WT
5T4-M1
5T4-M18
5T4-M2
HIV-WT

圖16A

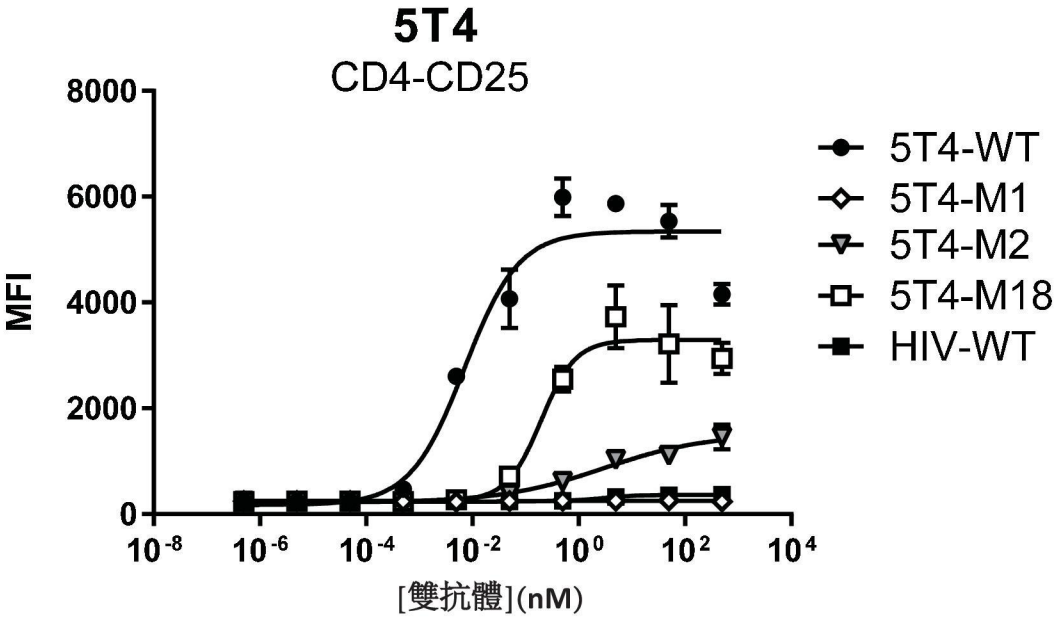

5T4
CD4-CD25
MFI
8000
6000
4000
2000
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
5T4-WT
5T4-M1
5T4-M2
5T4-M18
HIV-WT

圖16B

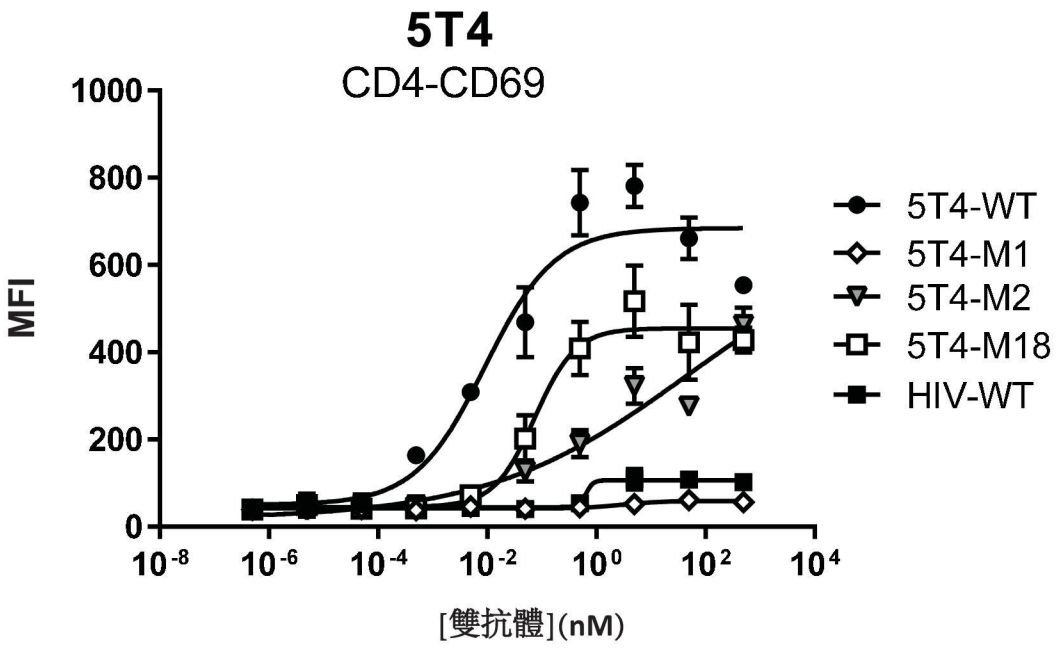

5T4
CD4-CD69
MFI
1000
800
600
400
200
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
5T4-WT
5T4-M1
5T4-M2
5T4-M18
HIV-WT

圖16C

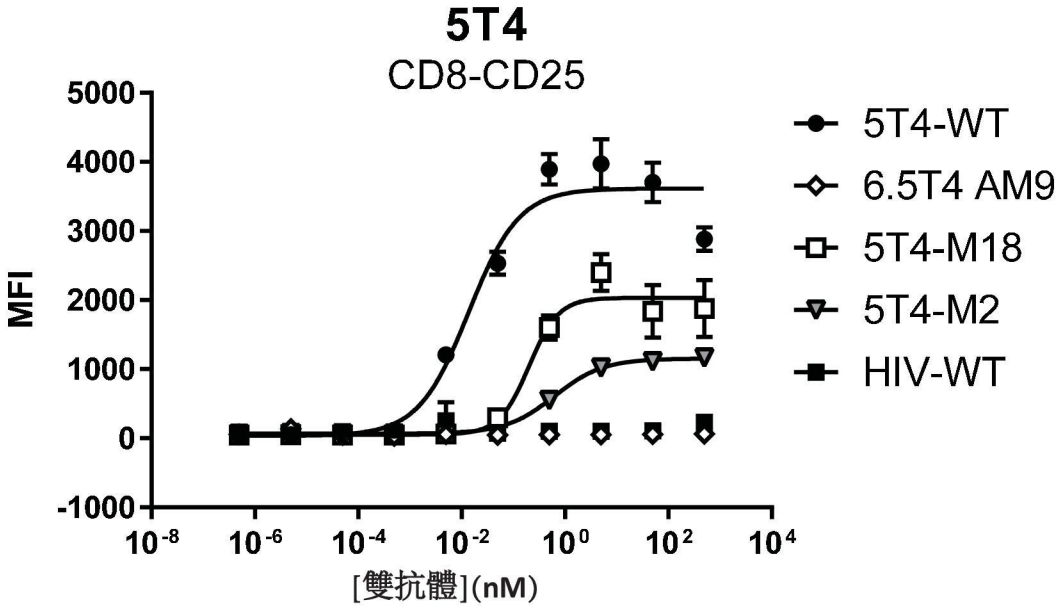

5T4
CD8-CD25
MFI
5000
4000
3000
2000
1000
0
-1000
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
5T4-WT
6.5T4 AM9
5T4-M18
5T4-M2
HIV-WT

圖16D

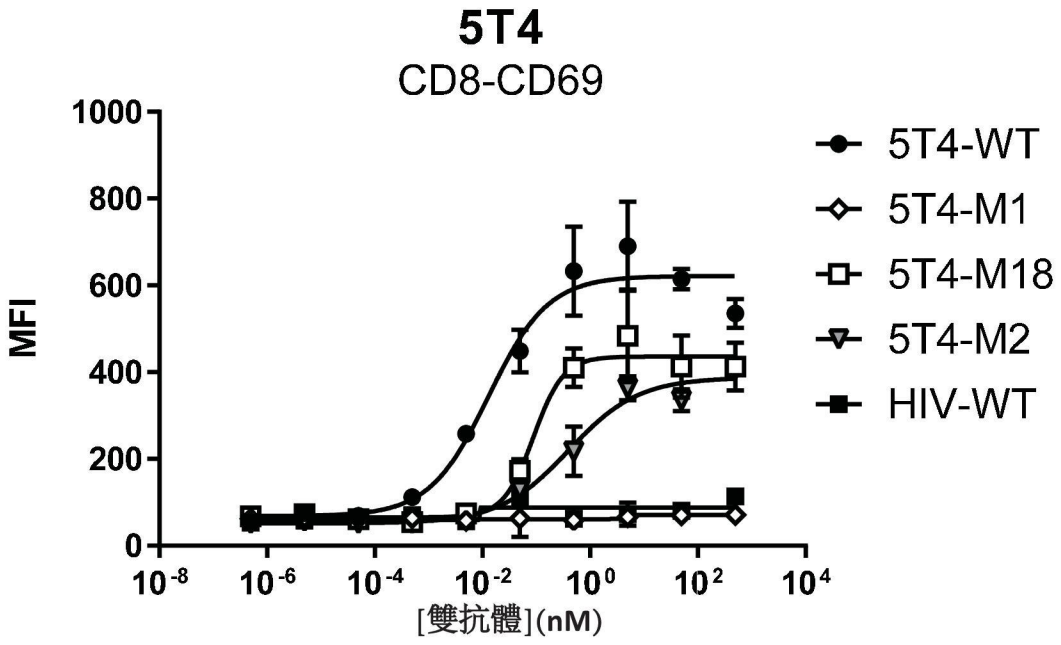

5T4
CD8-CD69
MFI
1000
800
600
400
200
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
[雙抗體](nM)
5T4-WT
5T4-M1
5T4-M18
5T4-M2
HIV-WT

圖16E

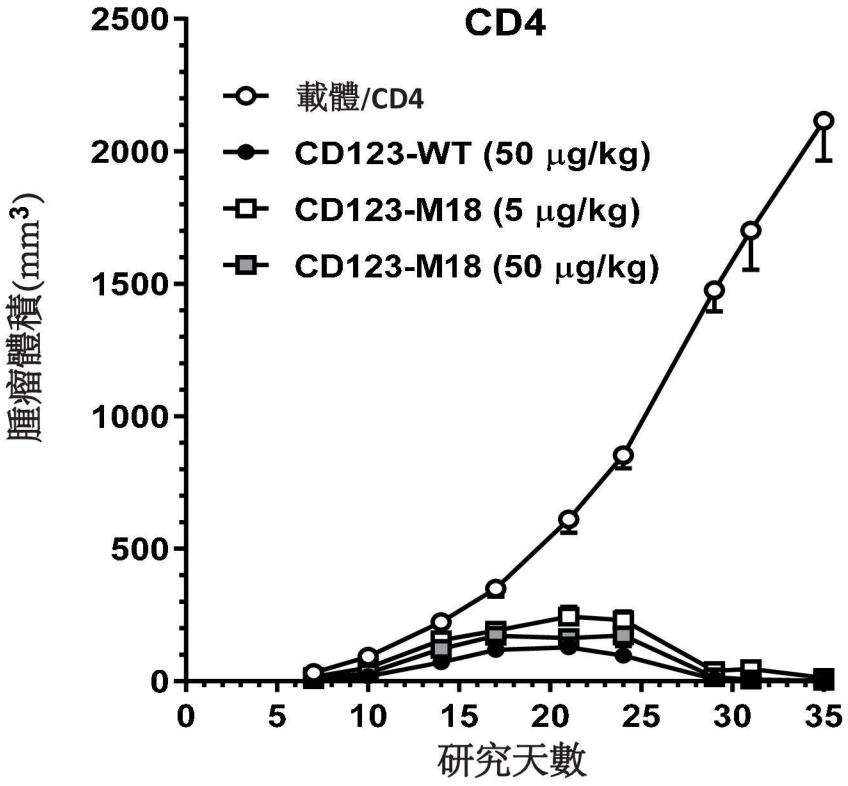

CD4
載體/CD4
CD123-WT (50 μg/kg)
CD123-M18 (5 μg/kg)
CD123-M18 (50 μg/kg)
腫瘤體積(mm3)
研究天數
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35

圖17A

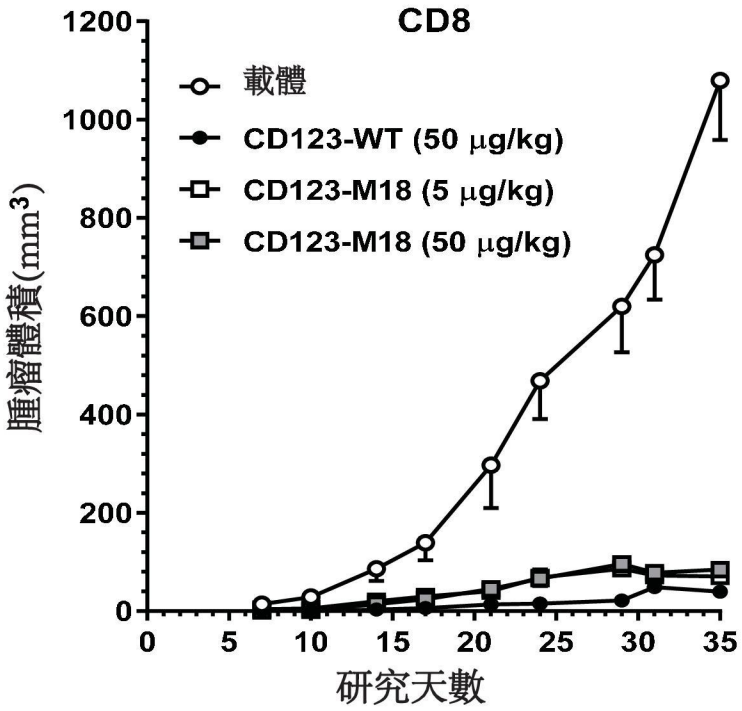

CD8
載體
CD123-WT (50 μg/kg)
CD123-M18 (5 μg/kg)
CD123-M18 (50 μg/kg)
腫瘤體積(mm3)
研究天數
1200
1000
800
600
400
200
0
0
5
10
15
20
25
30
35

圖17B

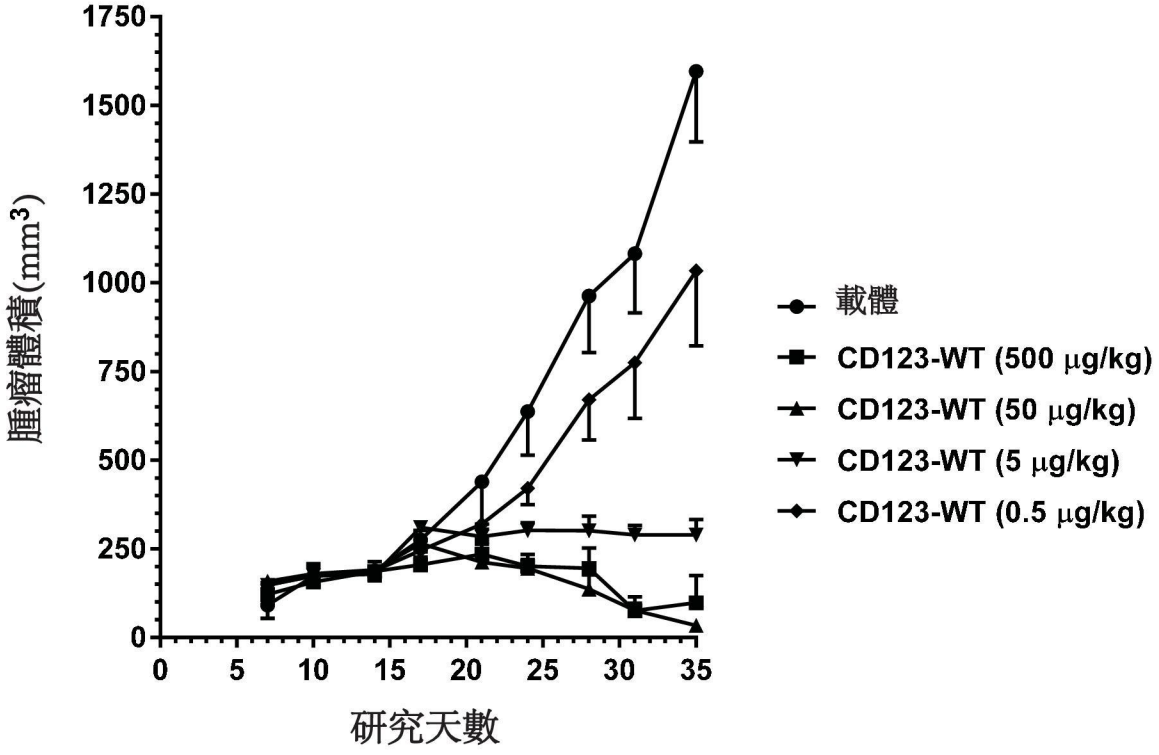

腫瘤體積(mm3)
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0 5 10 15 20 25 30 35
研究天數
載體
CD123-WT (500 μg/kg)
CD123-WT (50 μg/kg)
CD123-WT (5 μg/kg)
CD123-WT (0.5 μg/kg)

圖18A

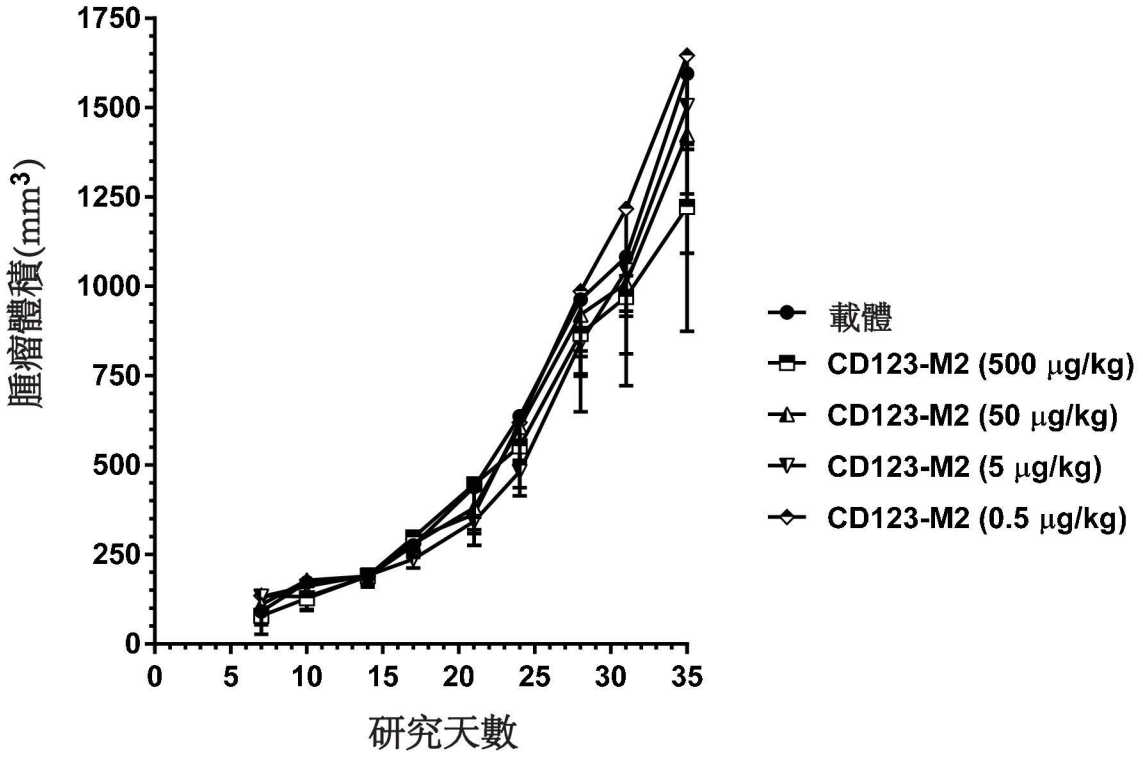

腫瘤體積(mm3)
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0 5 10 15 20 25 30 35
研究天數
載體
CD123-M2 (500 μg/kg)
CD123-M2 (50 μg/kg)
CD123-M2 (5 μg/kg)
CD123-M2 (0.5 μg/kg)

圖18B

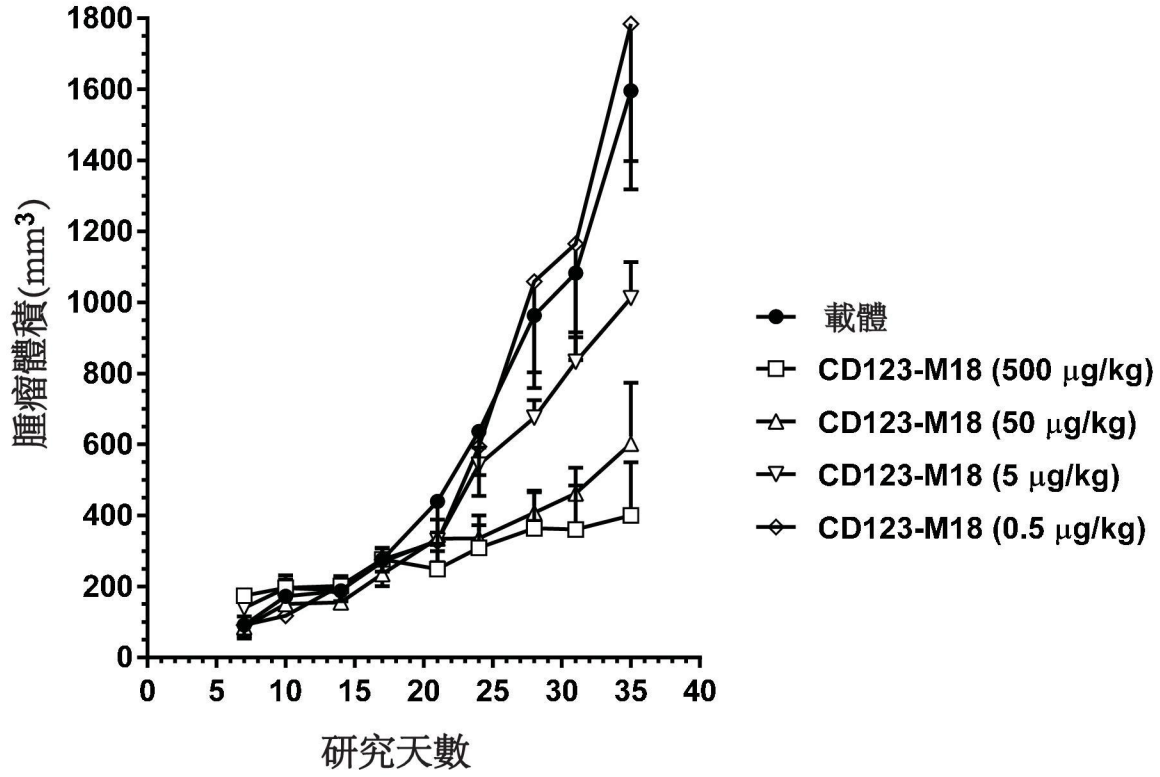

腫瘤體積(mm3)
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40
研究天數
載體
CD123-M18 (500 μg/kg)
CD123-M18 (50 μg/kg)
CD123-M18 (5 μg/kg)
CD123-M18 (0.5 μg/kg)

圖18C

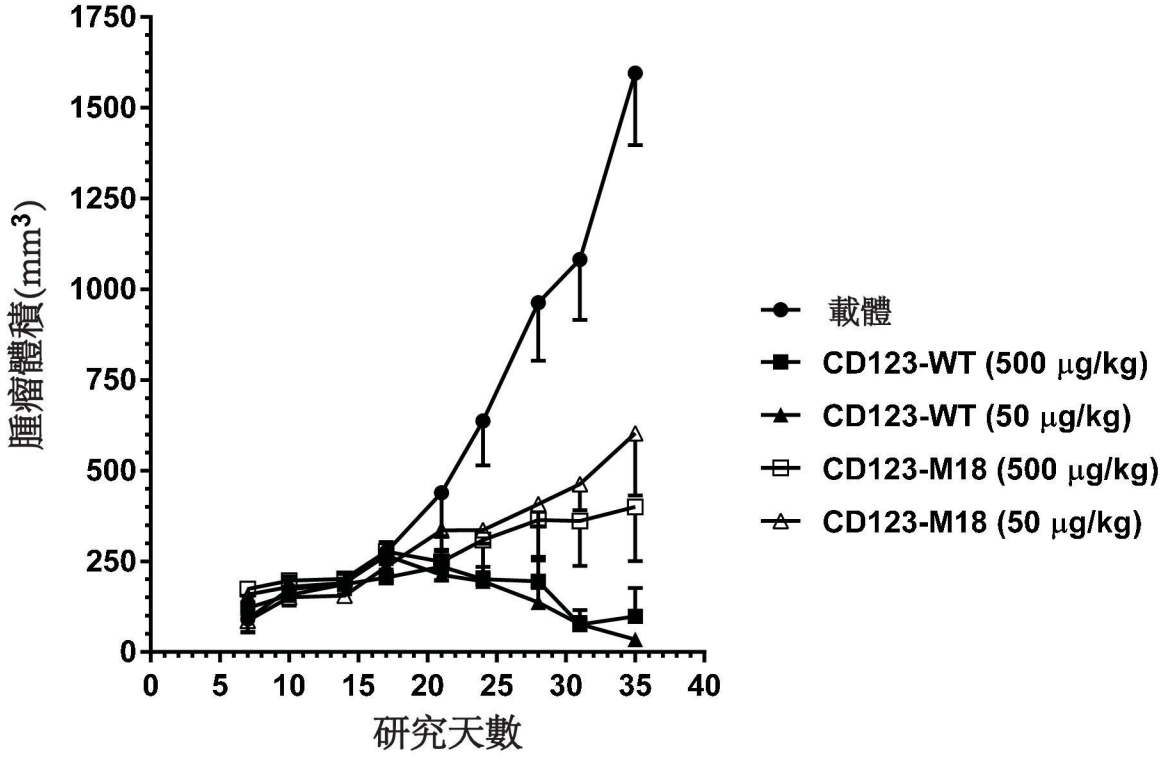

腫瘤體積(mm3)
1750
1500
1250
1000
750
500
250
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40
研究天數
載體
CD123-WT (500 μg/kg)
CD123-WT (50 μg/kg)
CD123-M18 (500 μg/kg)
CD123-M18 (50 μg/kg)

圖18D

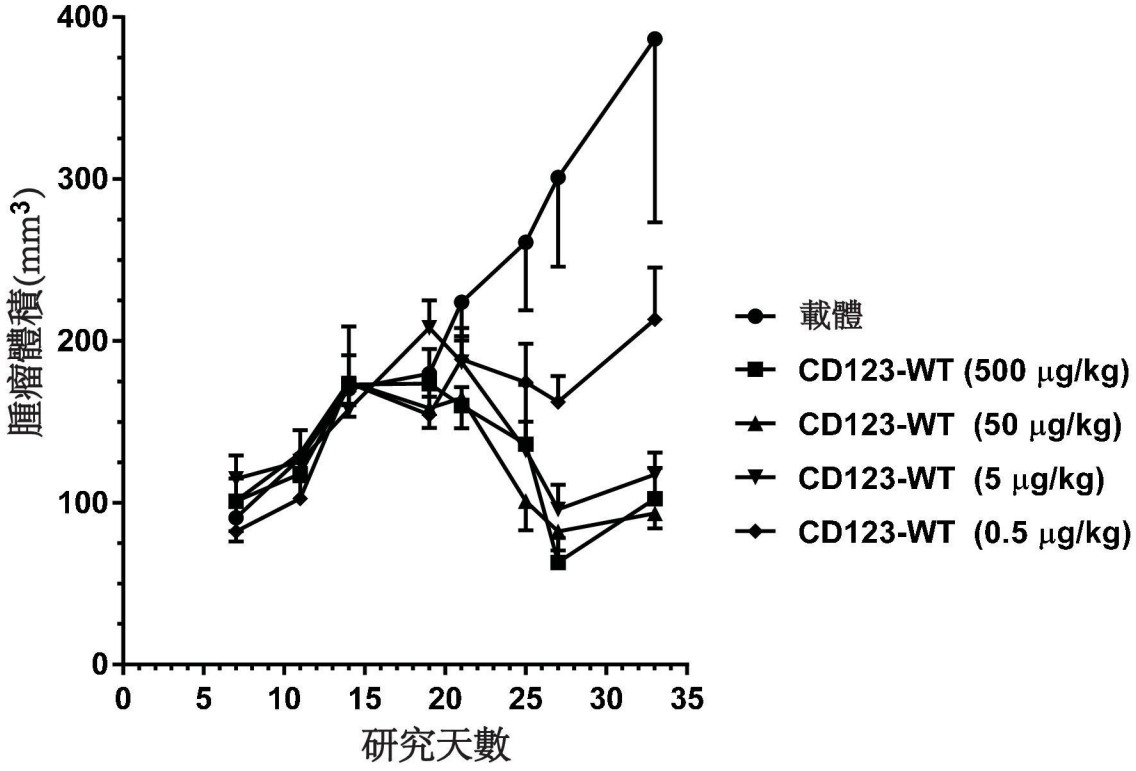

腫瘤體積(mm3)
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
30
35
研究天數
載體
CD123-WT (500 μg/kg)
CD123-WT (50 μg/kg)
CD123-WT (5 μg/kg)
CD123-WT (0.5 μg/kg)

圖19A

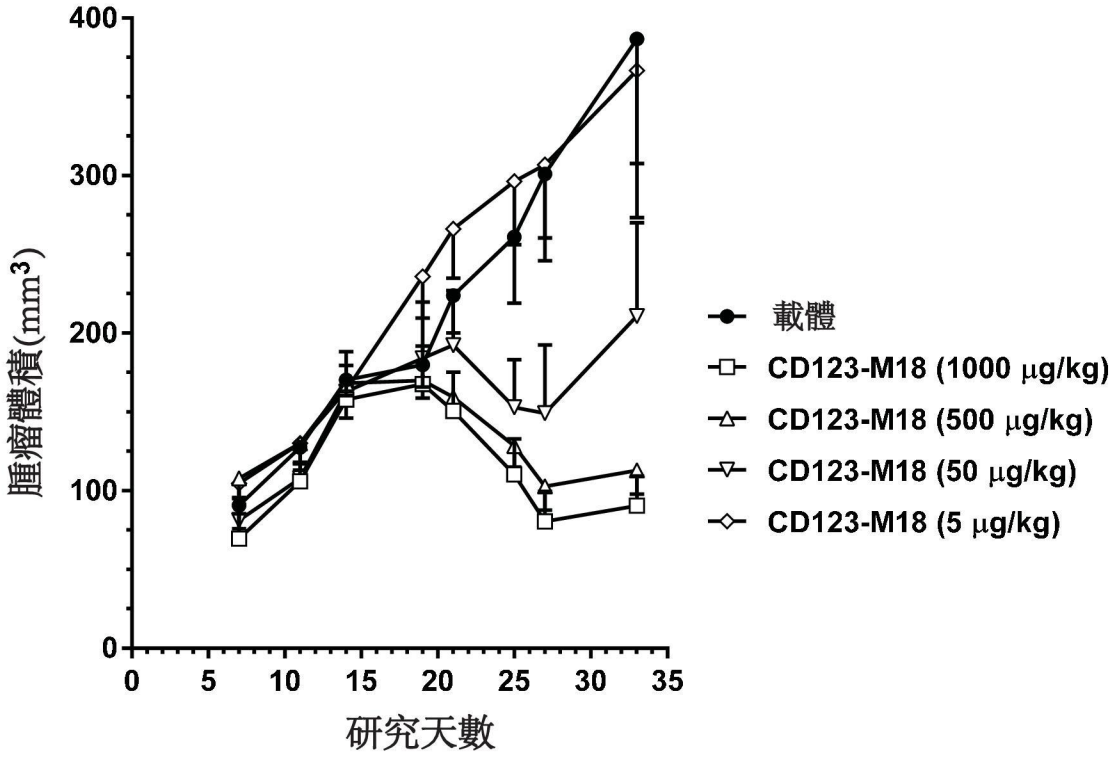

腫瘤體積(mm3)
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
30
35
研究天數
載體
CD123-M18 (1000 μg/kg)
CD123-M18 (500 μg/kg)
CD123-M18 (50 μg/kg)
CD123-M18 (5 μg/kg)

圖19B

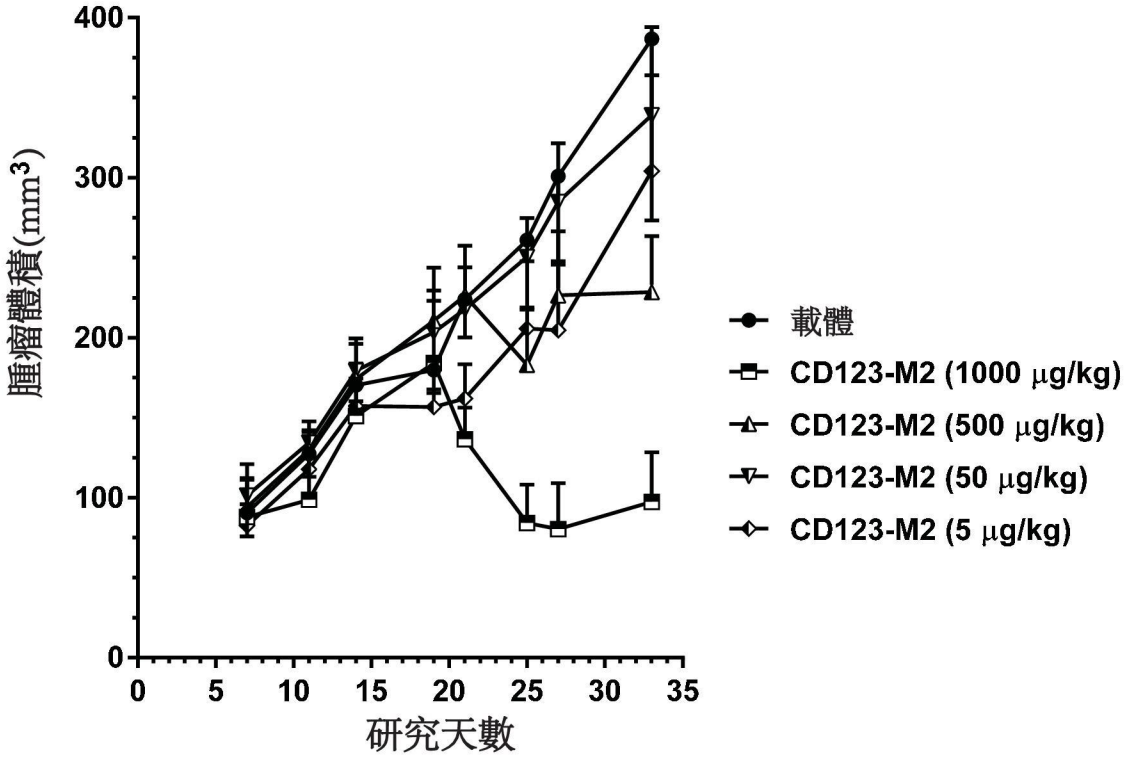

腫瘤體積(mm3)
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
30
35
研究天數
載體
CD123-M2 (1000 μg/kg)
CD123-M2 (500 μg/kg)
CD123-M2 (50 μg/kg)
CD123-M2 (5 μg/kg)

圖19C

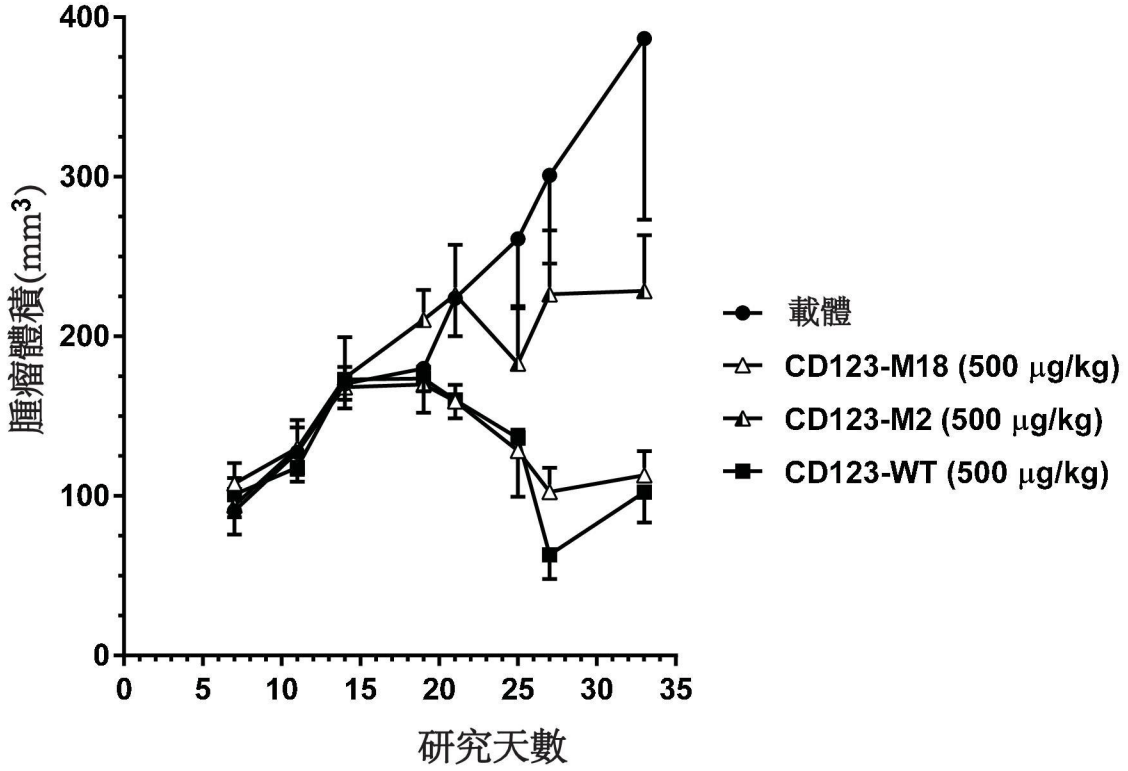

腫瘤體積(mm3)
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
30
35
研究天數
載體
CD123-M18 (500 μg/kg)
CD123-M2 (500 μg/kg)
CD123-WT (500 μg/kg)

圖19D

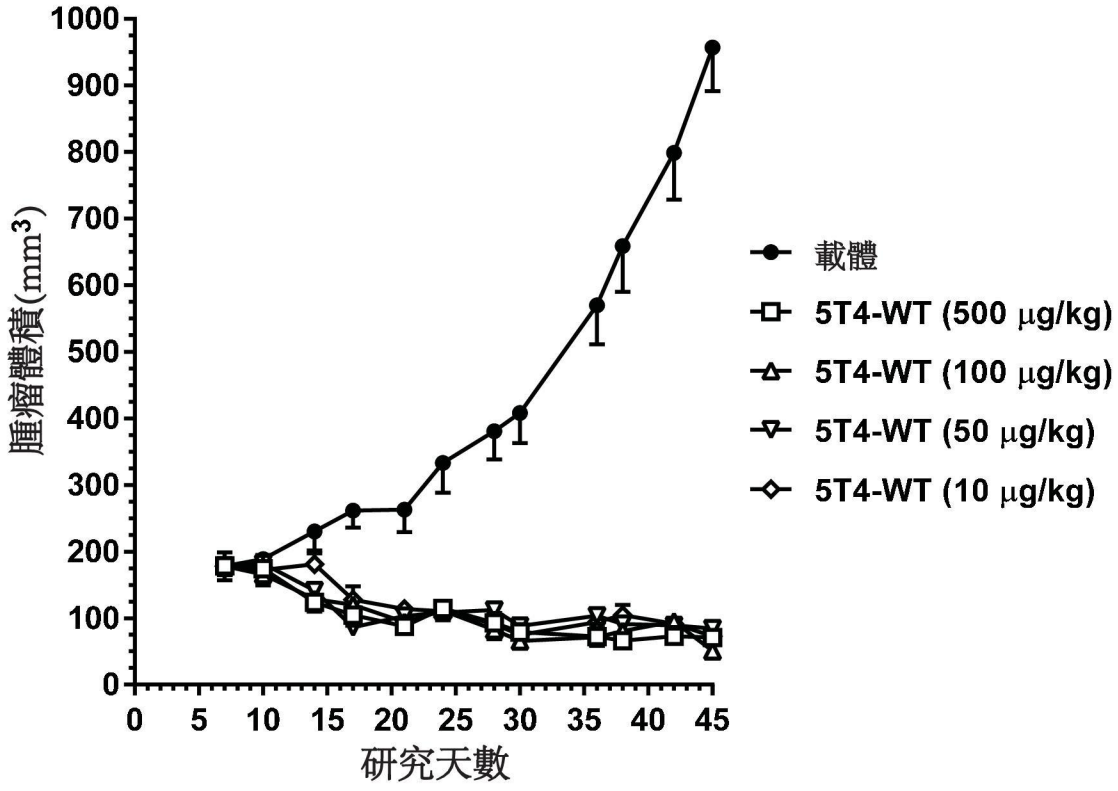

腫瘤體積(mm3)
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45
研究天數
載體
5T4-WT (500 μg/kg)
5T4-WT (100 μg/kg)
5T4-WT (50 μg/kg)
5T4-WT (10 μg/kg)

圖20A

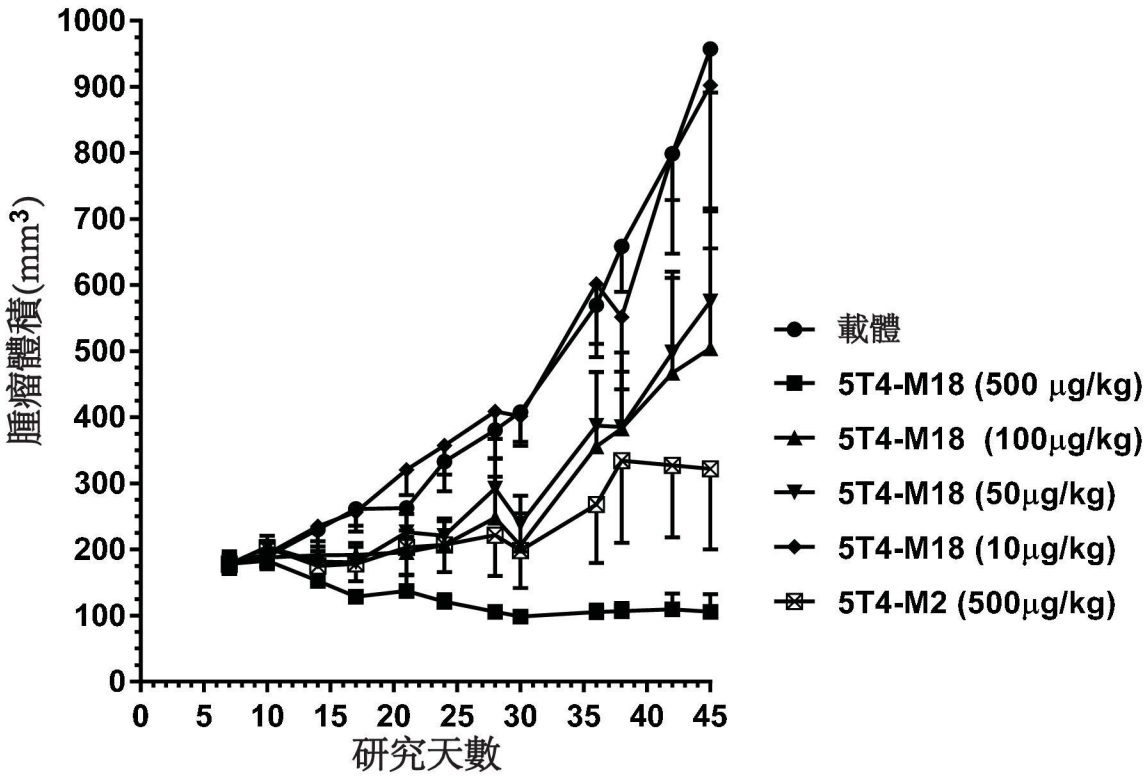

腫瘤體積(mm3)
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45
研究天數
載體
5T4-M18 (500 μg/kg)
5T4-M18 (100μg/kg)
5T4-M18 (50μg/kg)
5T4-M18 (10μg/kg)
5T4-M2 (500μg/kg)

圖20B

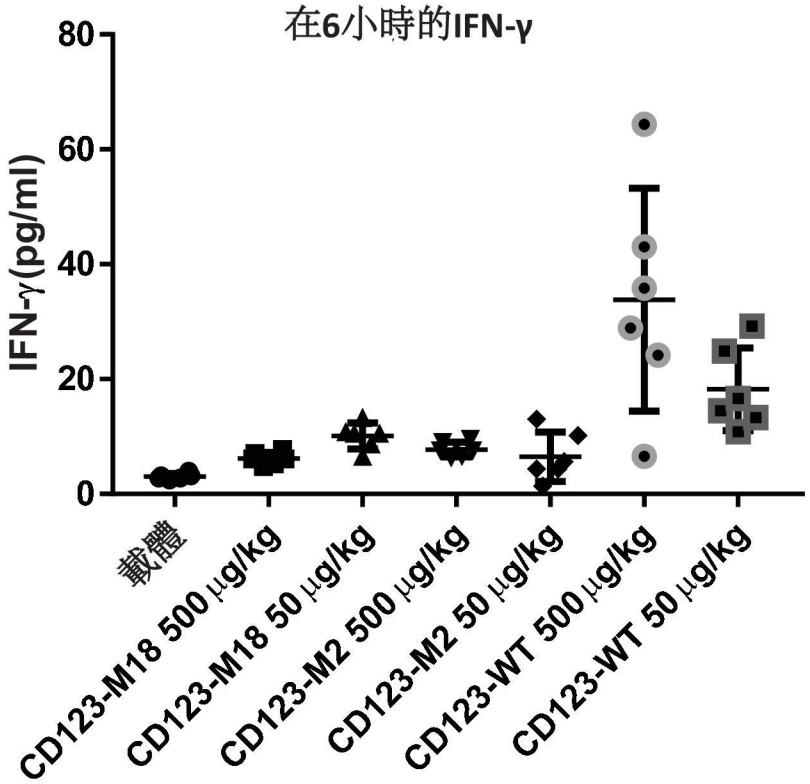

在6小時的IFN-γ
IFN-γ(pg/ml)
80
60
40
20
0
載體
CD123-M18 500 μg/kg
CD123-M18 50 μg/kg
CD123-M2 500 μg/kg
CD123-M2 50 μg/kg
CD123-WT 500 μg/kg
CD123-WT 50 μg/kg

圖21A

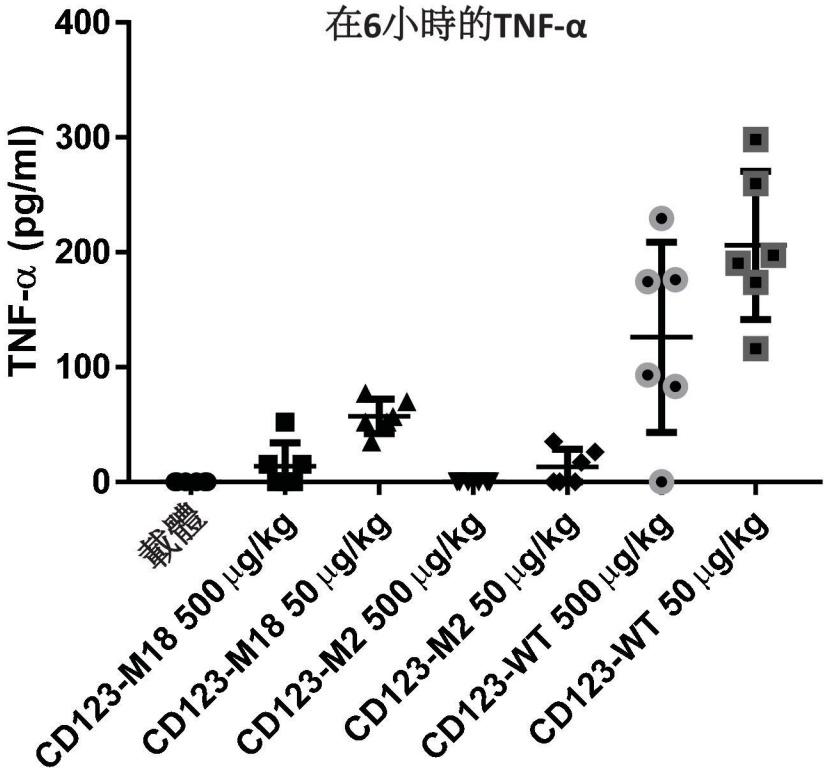

在6小時的TNF-α
TNF-α (pg/ml)
400
300
200
100
0
載體
CD123-M18 500 μg/kg
CD123-M18 50 μg/kg
CD123-M2 500 μg/kg
CD123-M2 50 μg/kg
CD123-WT 500 μg/kg
CD123-WT 50 μg/kg

圖21B

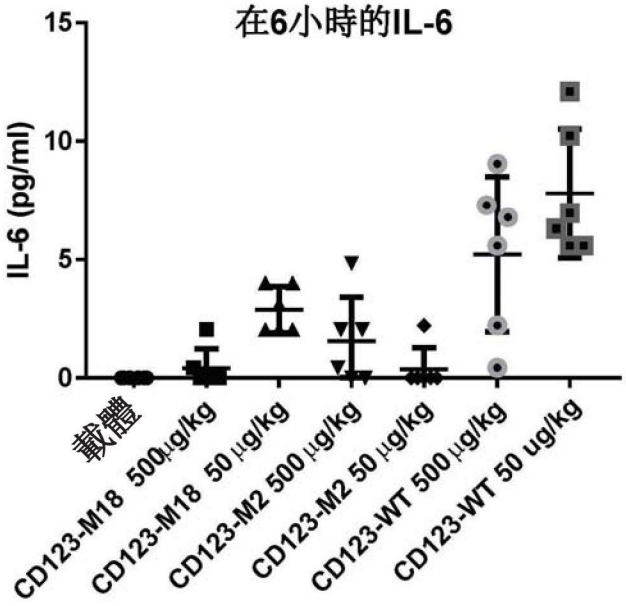

在6小時的IL-6
IL-6 (pg/ml)
15
10
5
0
載體
CD123-M18 500μg/kg
CD123-M18 50 μg/kg
CD123-M2 500 μg/kg
CD123-M2 50 μg/kg
CD123-WT 500 μg/kg
CD123-WT 50 ug/kg

圖21C

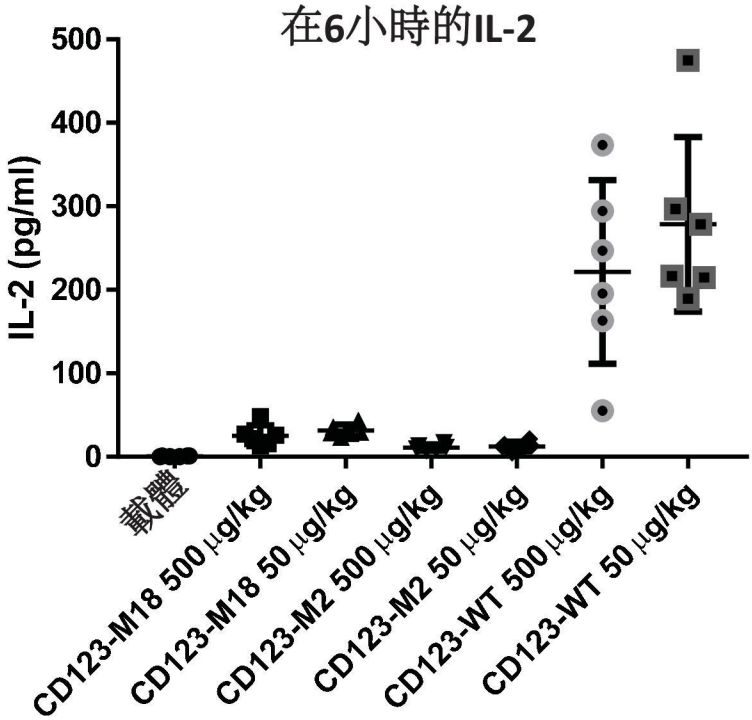

在6小時的IL-2
IL-2 (pg/ml)
500
400
300
200
100
0
載體
CD123-M18 500 μg/kg
CD123-M18 50 μg/kg
CD123-M2 500 μg/kg
CD123-M2 50 μg/kg
CD123-WT 500 μg/kg
CD123-WT 50 μg/kg

圖21D

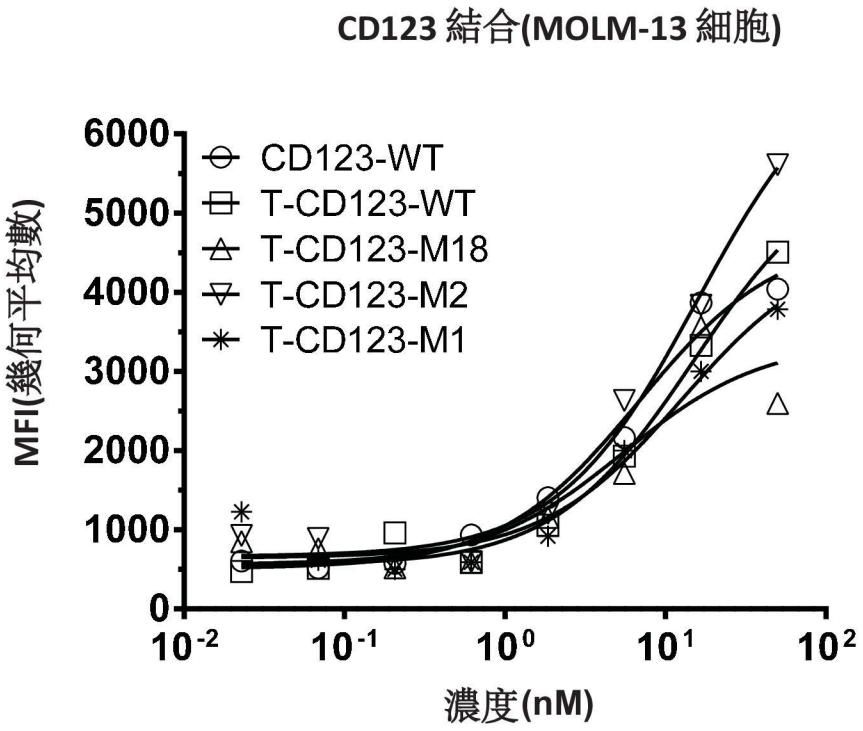

CD123 結合(MOLM-13 細胞)
MFI(幾何平均數)
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
10-2
10-1
100
101
102
濃度(nM)

圖22A

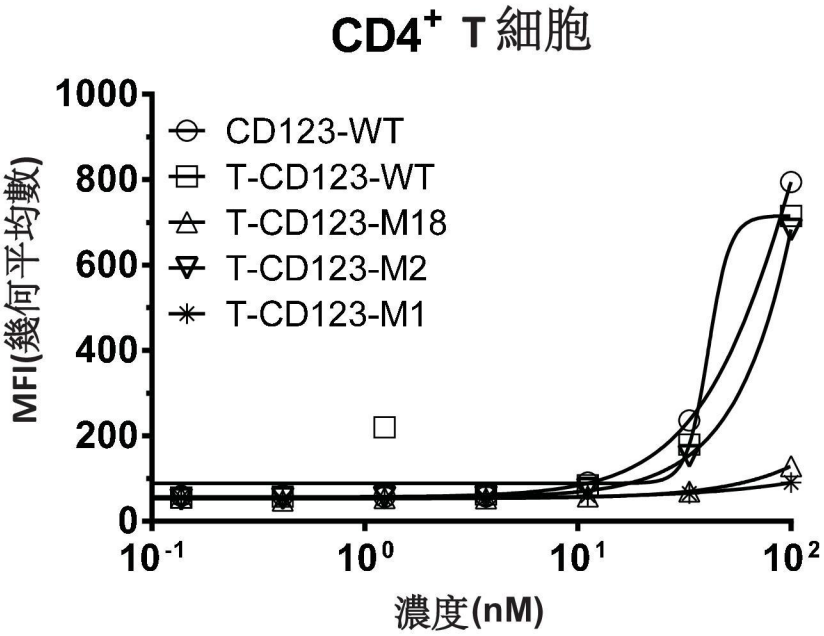

CD4+ T 細胞
MFI(幾何平均數)
1000
800
600
400
200
0
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
10-1
100
101
102
濃度(nM)

圖22B

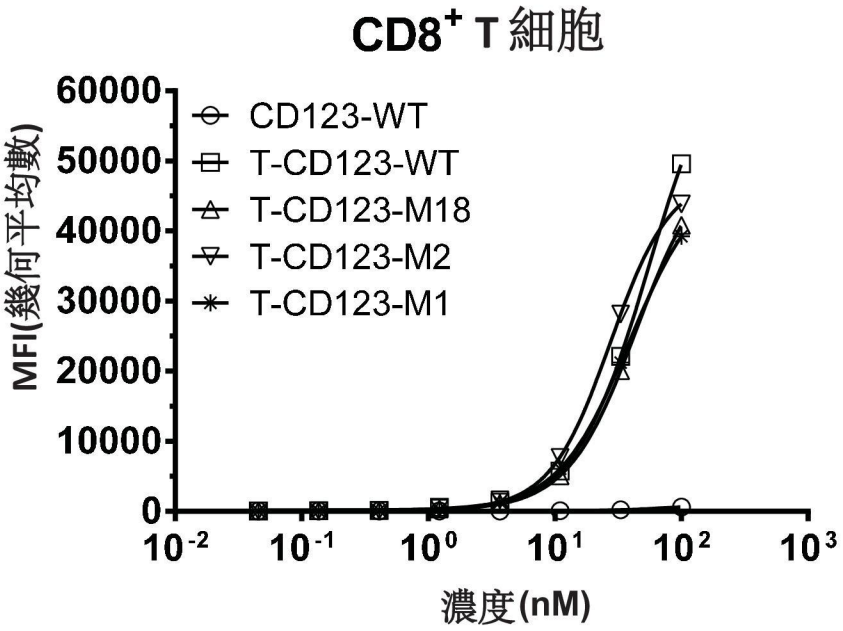

CD8+ T細胞
MFI(幾何平均數)
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
10-2
10-1
100
101
102
103
濃度(nM)

圖22C

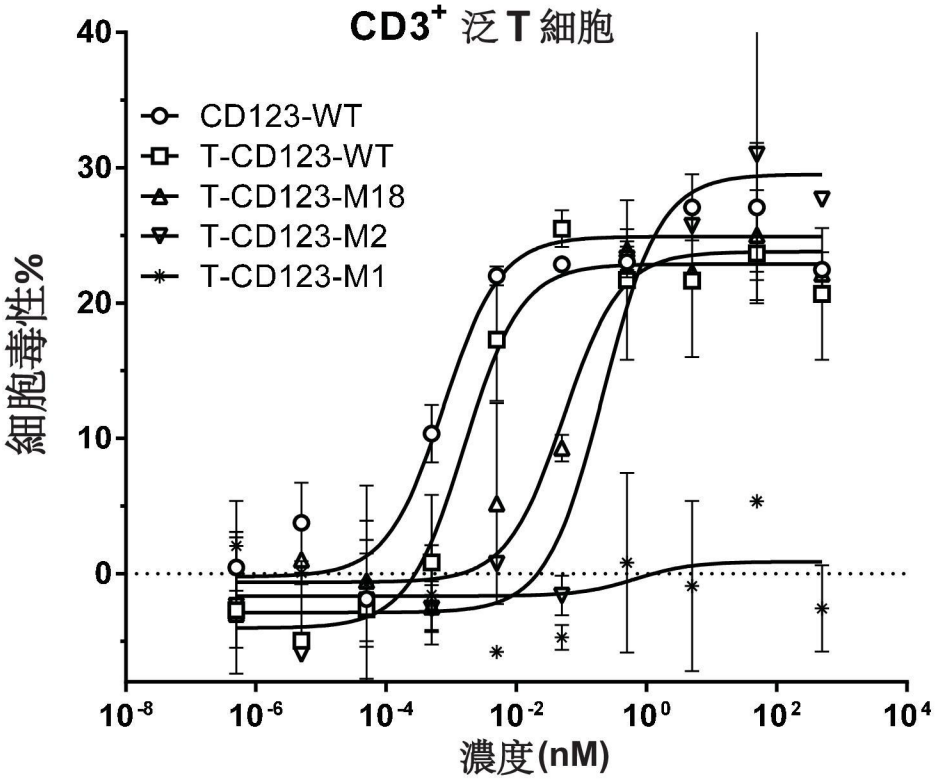

CD3+ 泛T細胞
細胞毒性%
40
30
20
10
0
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(nM)

圖23A

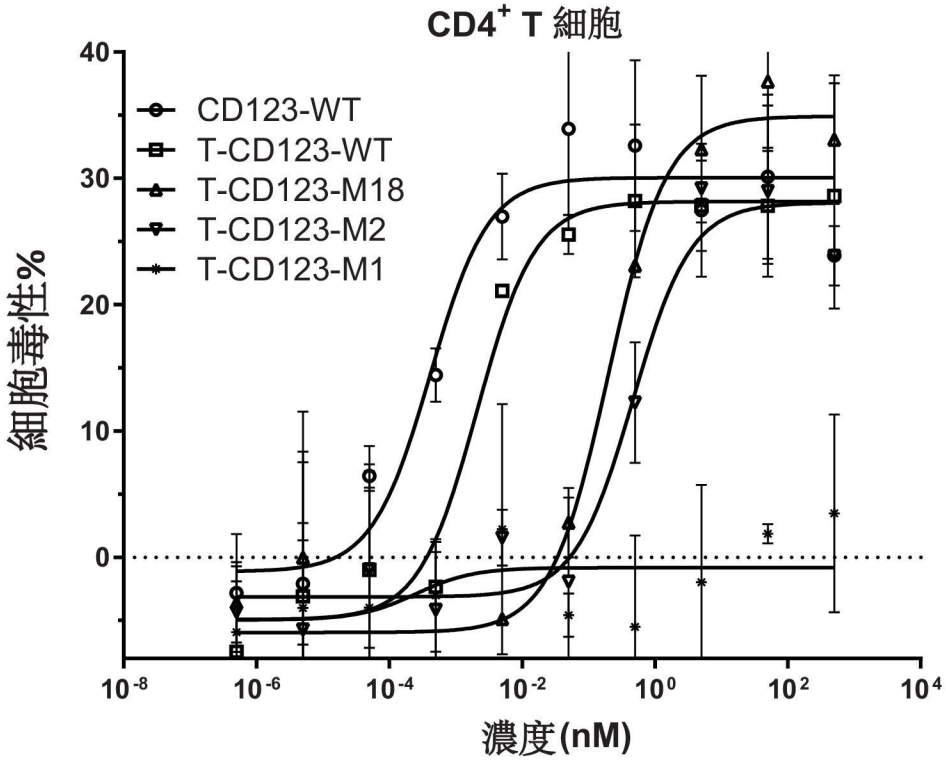

CD4+ T 細胞
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
細胞毒性%
濃度(nM)

圖23B

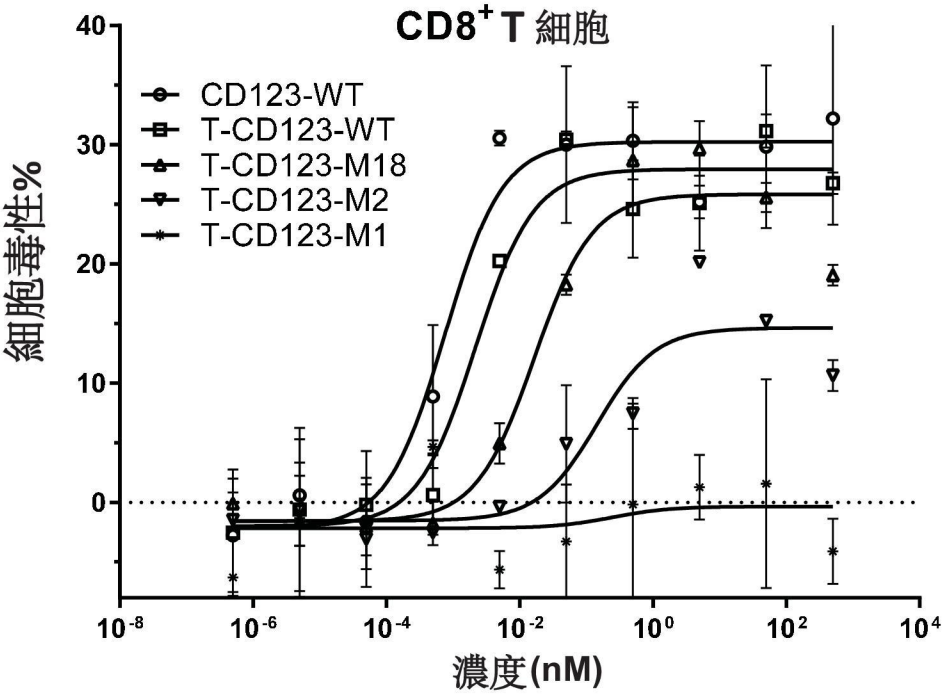

CD8+ T 細胞
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
細胞毒性%
濃度(nM)

圖23C

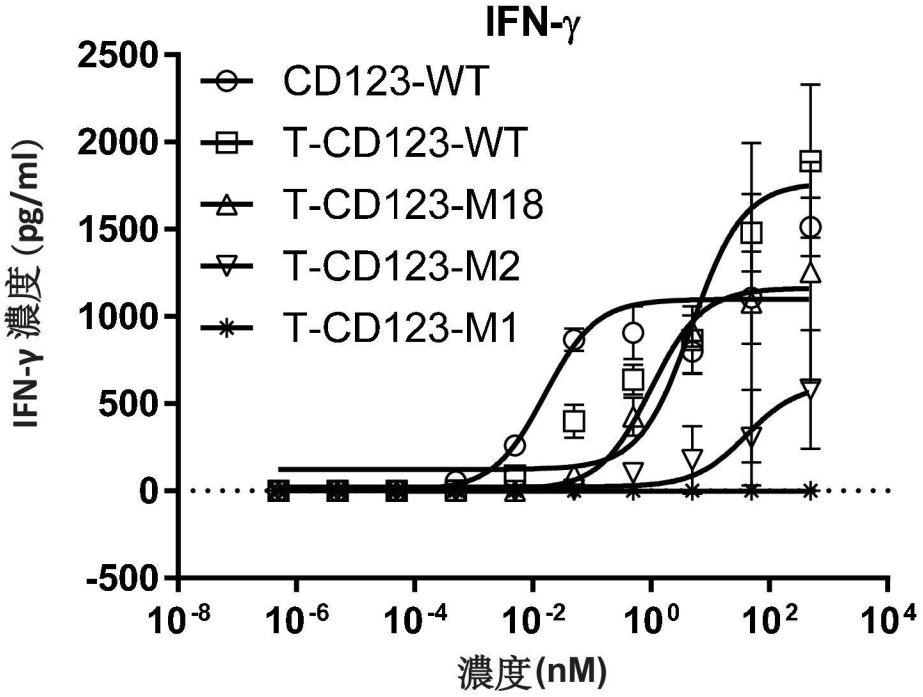

IFN-γ
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
IFN-γ 濃度 (pg/ml)
2500
2000
1500
1000
500
0
-500
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(nM)

圖23D

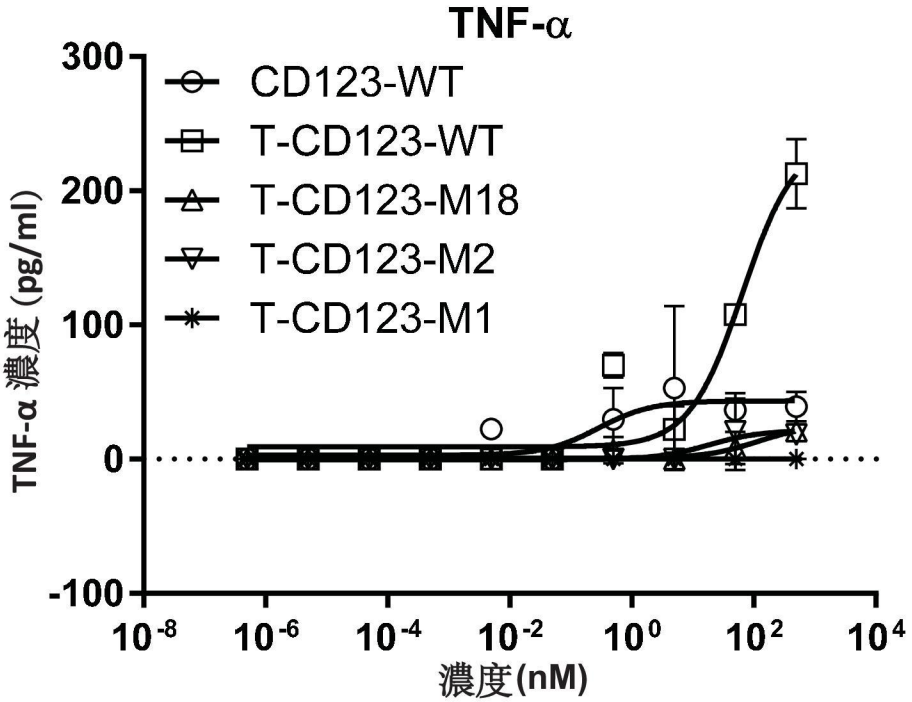

TNF-α
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
TNF-α 濃度 (pg/ml)
300
200
100
0
-100
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(nM)

圖23E

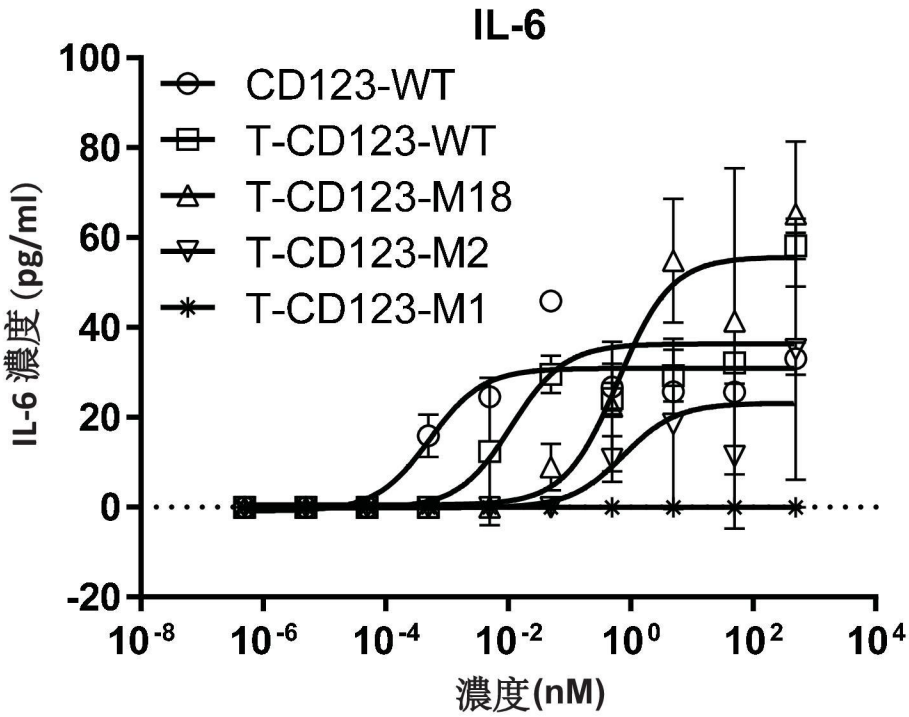

IL-6
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
IL-6 濃度 (pg/ml)
100
80
60
40
20
0
-20
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(nM)

圖23F

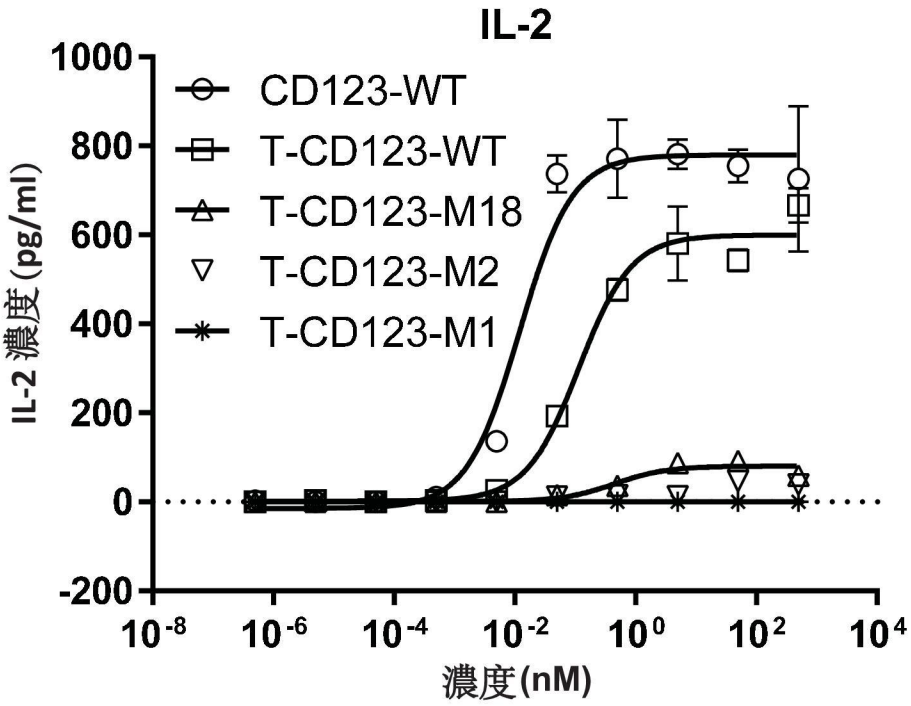

IL-2
CD123-WT
T-CD123-WT
T-CD123-M18
T-CD123-M2
T-CD123-M1
IL-2 濃度 (pg/ml)
1000
800
600
400
200
0
-200
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
104
濃度(nM)

圖23G

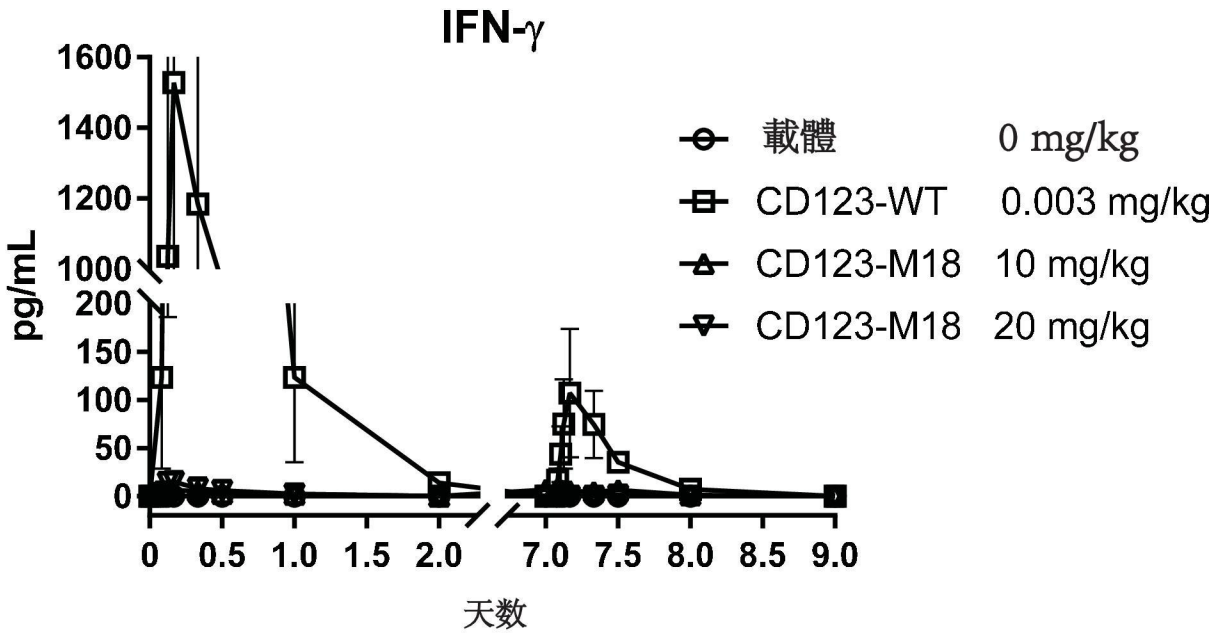

IFN-γ
pg/mL
1600
1400
1200
1000
200
150
100
50
0
0 0.5 1.0 1.5 2.0 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0
天数
載體 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24A

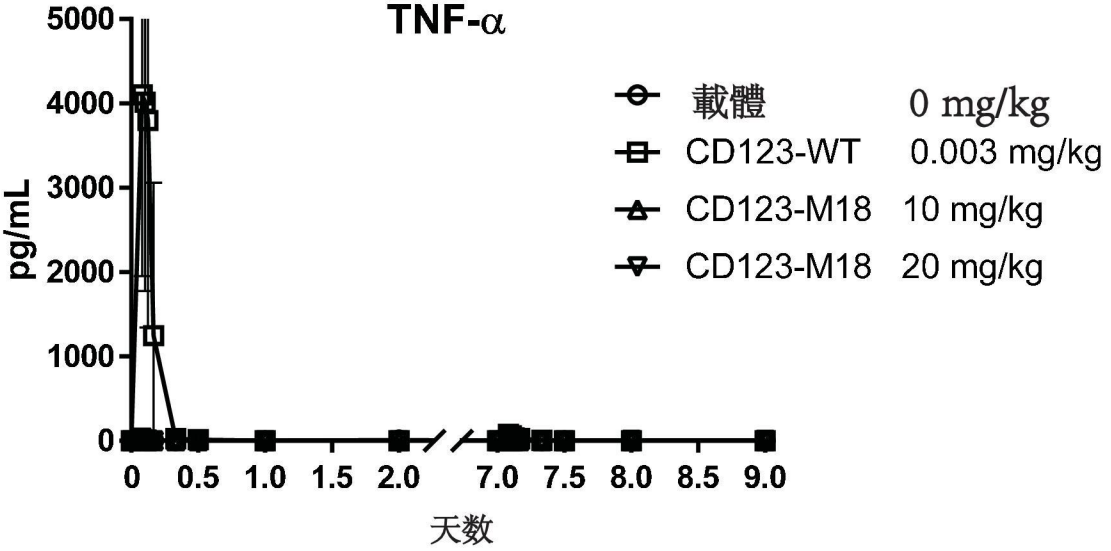

TNF-α
pg/mL
5000
4000
3000
2000
1000
0
0 0.5 1.0 1.5 2.0 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0
天数
載體 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24B

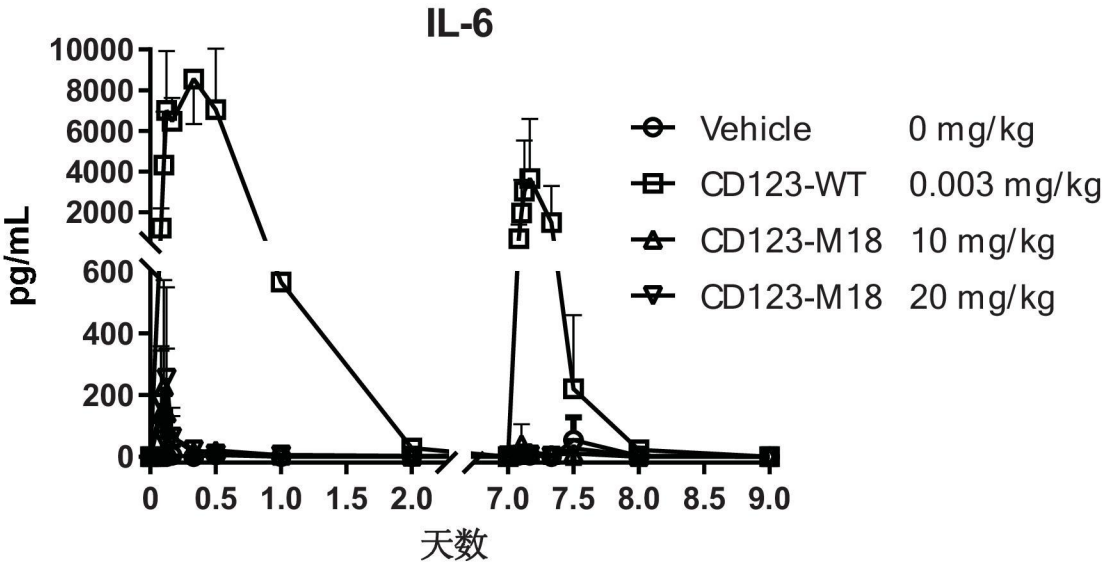

IL-6
pg/mL
10000
8000
6000
4000
2000
600
400
200
0
0 0.5 1.0 1.5 2.0 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0
天数
Vehicle 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24C

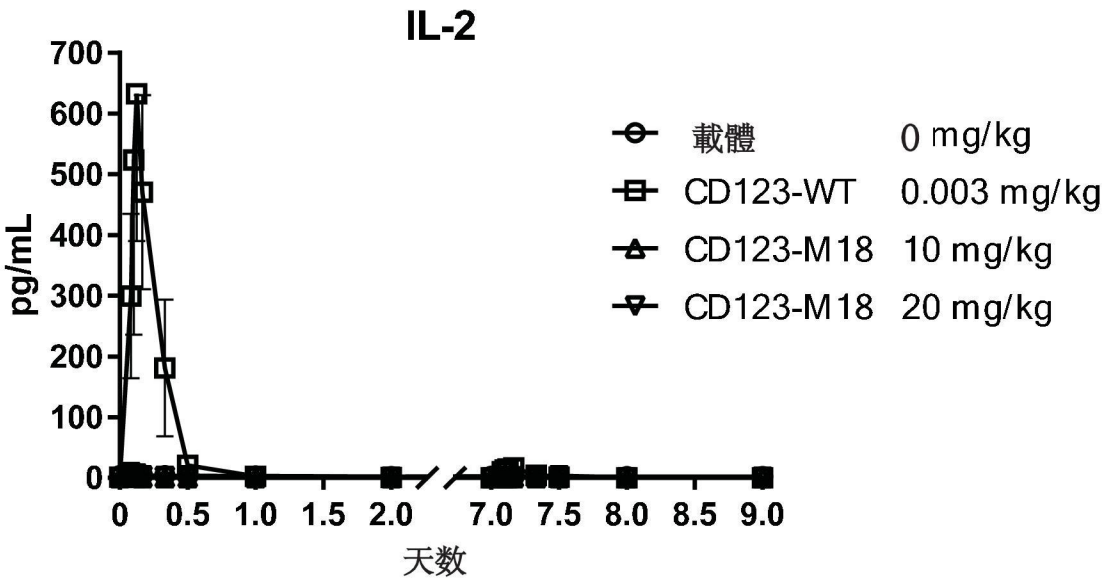

IL-2
pg/mL
700
600
500
400
300
200
100
0
0 0.5 1.0 1.5 2.0 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0
天数
載體 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24D

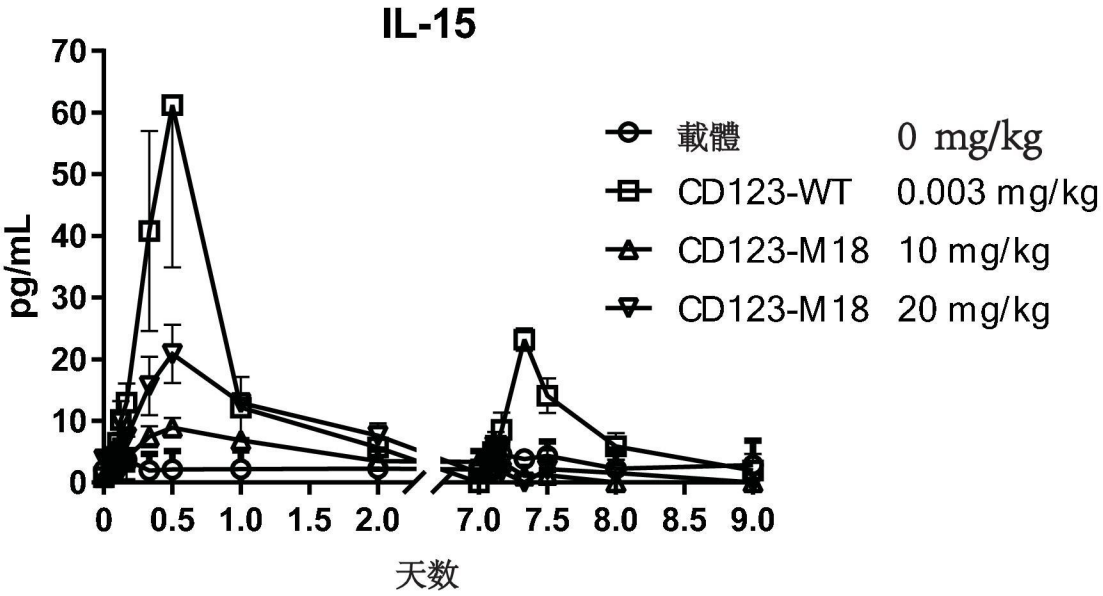

IL-15
pg/mL
70
60
50
40
30
20
10
0
0 0.5 1.0 1.5 2.0 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0
天数
載體 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24E

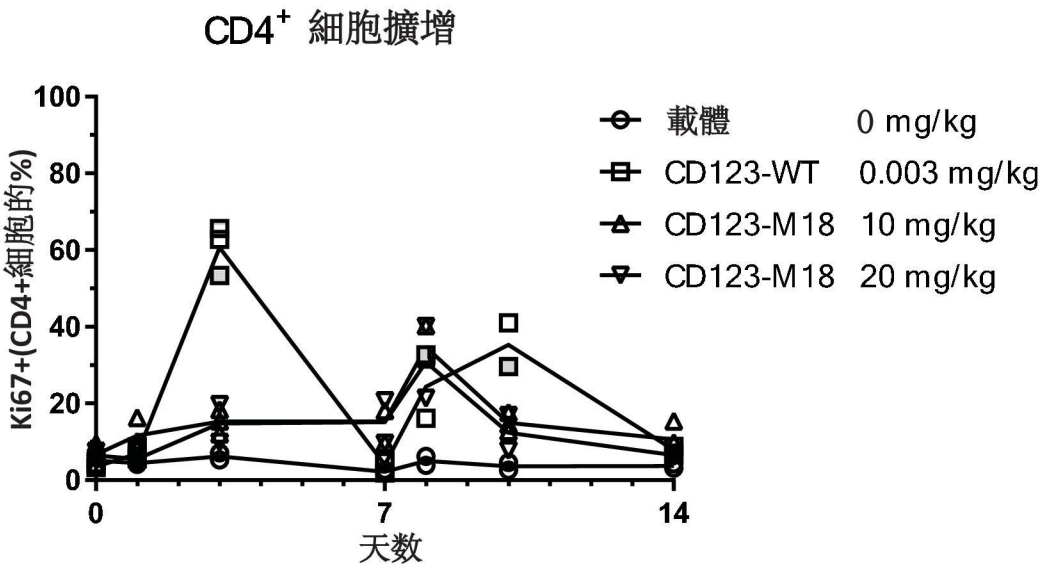

CD4+ 細胞擴增
Ki67+(CD4+細胞的%)
100
80
60
40
20
0
0 7 14
天數
載體 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24F

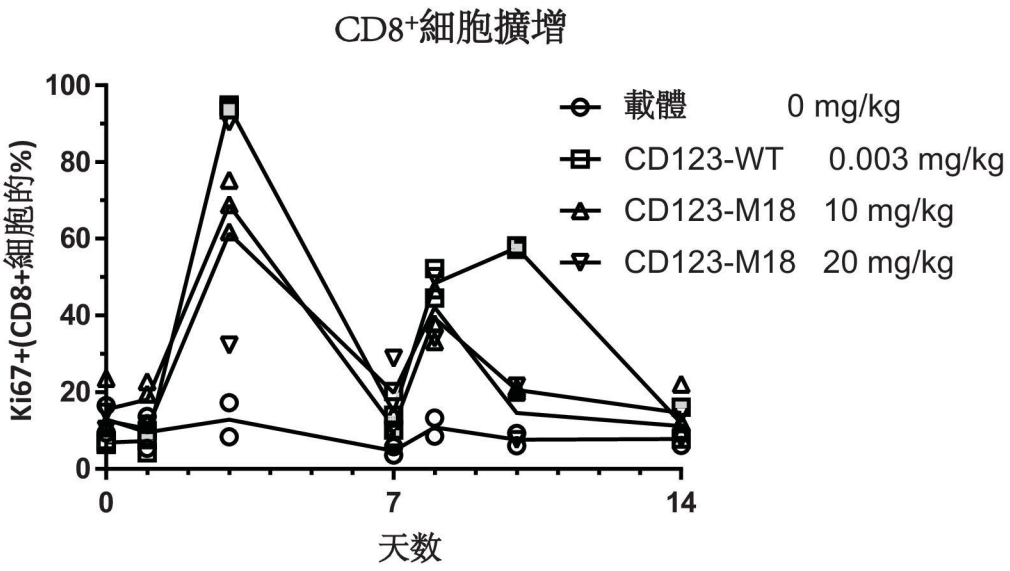

CD8+細胞擴增
Ki67+(CD8+細胞的%)
100
80
60
40
20
0
0
7
14
天数
載體 0 mg/kg
CD123-WT 0.003 mg/kg
CD123-M18 10 mg/kg
CD123-M18 20 mg/kg

圖24G

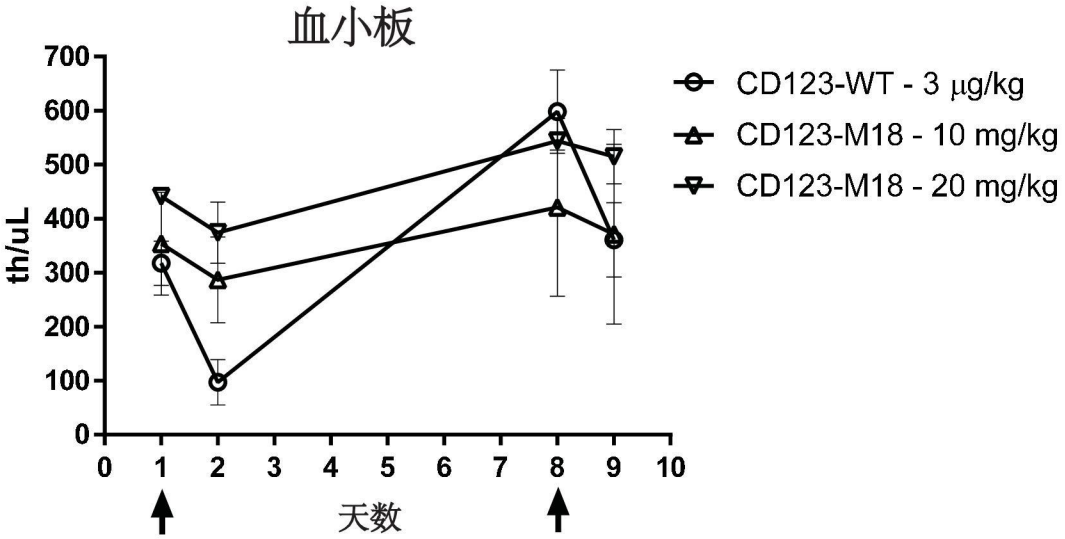

血小板
th/uL
700
600
500
400
300
200
100
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
天数
CD123-WT - 3 μg/kg
CD123-M18 - 10 mg/kg
CD123-M18 - 20 mg/kg

圖24H

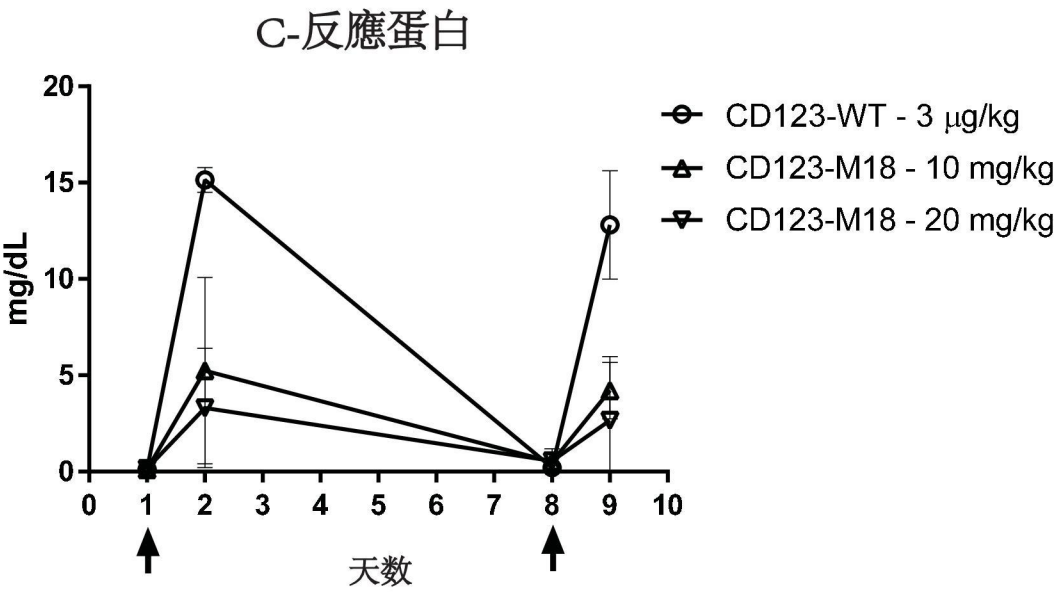

C-反應蛋白
mg/dL
20
15
10
5
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
天数
CD123-WT - 3 μg/kg
CD123-M18 - 10 mg/kg
CD123-M18 - 20 mg/kg

圖24I

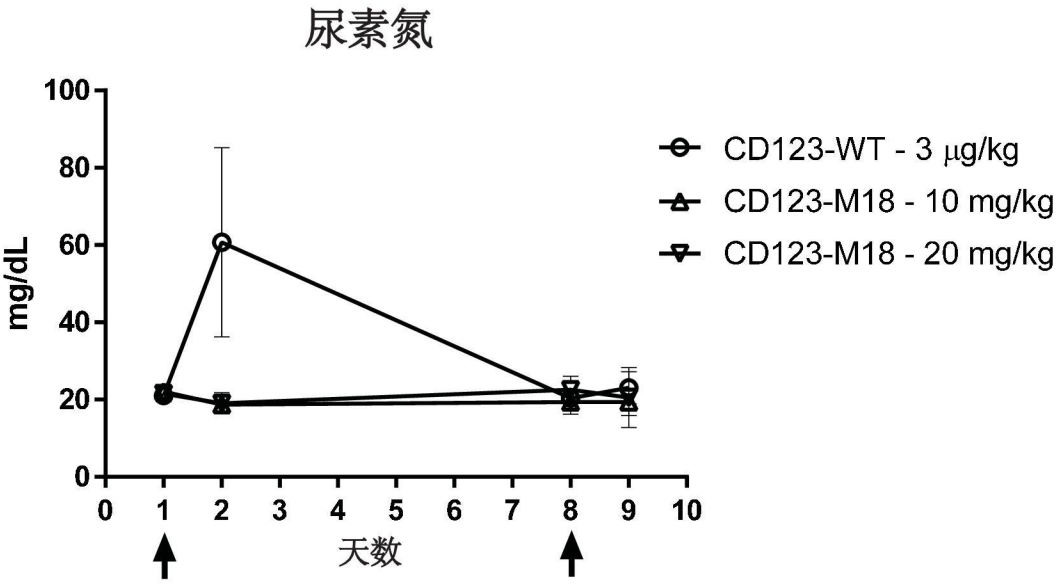

尿素氮
mg/dL
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
天数
CD123-WT - 3 μg/kg
CD123-M18 - 10 mg/kg
CD123-M18 - 20 mg/kg

圖24J

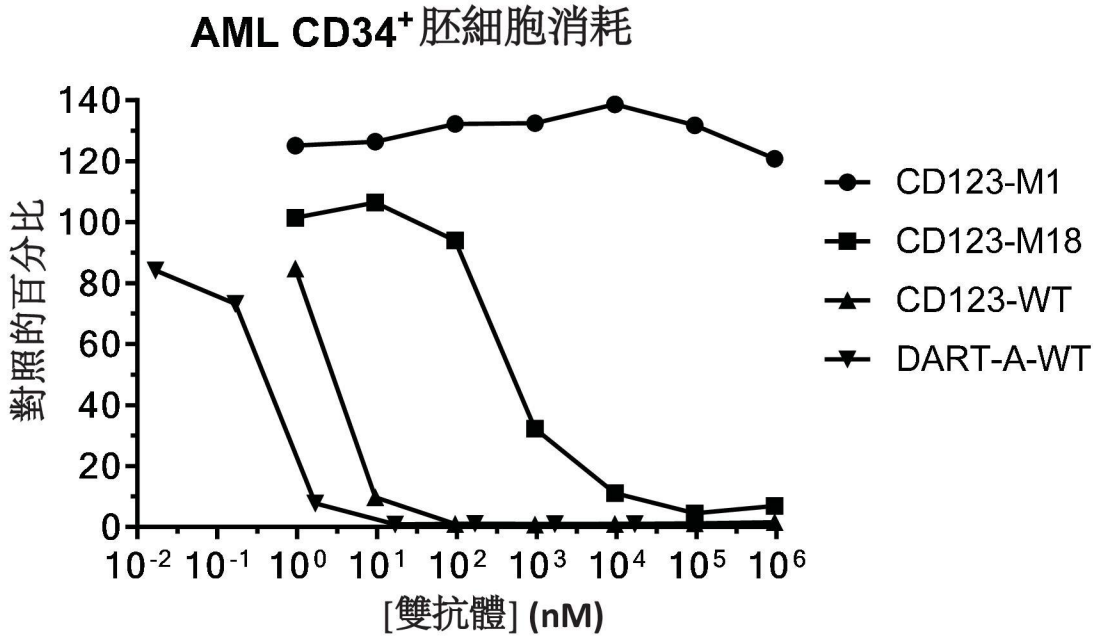

AML CD34+胚細胞消耗
對照的百分比
140
120
100
80
60
40
20
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
[雙抗體] (nM)
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT

圖25A

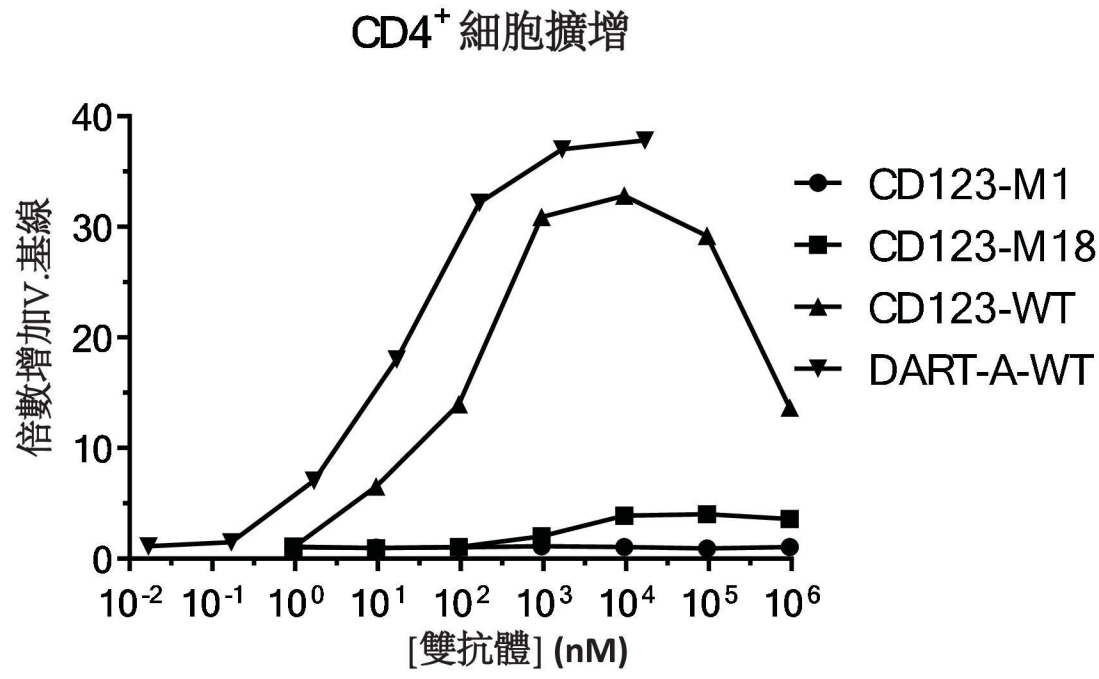

CD4+細胞擴增
倍數增加V.基線
40
30
20
10
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
[雙抗體] (nM)
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT

圖25B

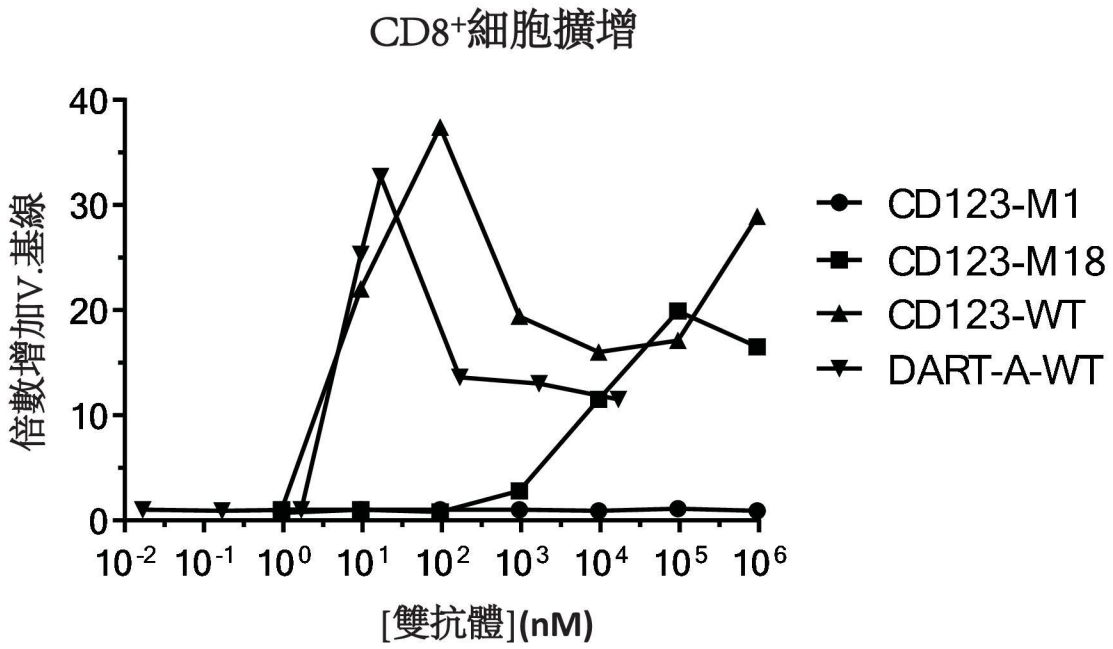

CD8+細胞擴增
倍數增加V.基線
40
30
20
10
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
[雙抗體](nM)
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT

圖25C

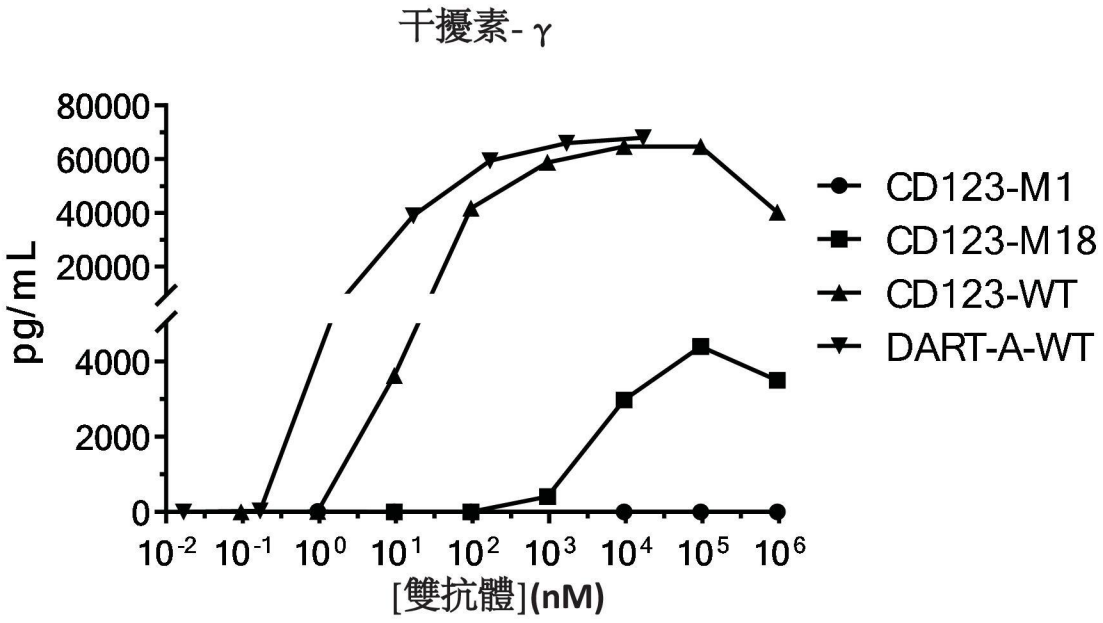

干擾素-γ
pg/mL
80000
60000
40000
20000
4000
2000
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
[雙抗體](nM)
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT

圖25D

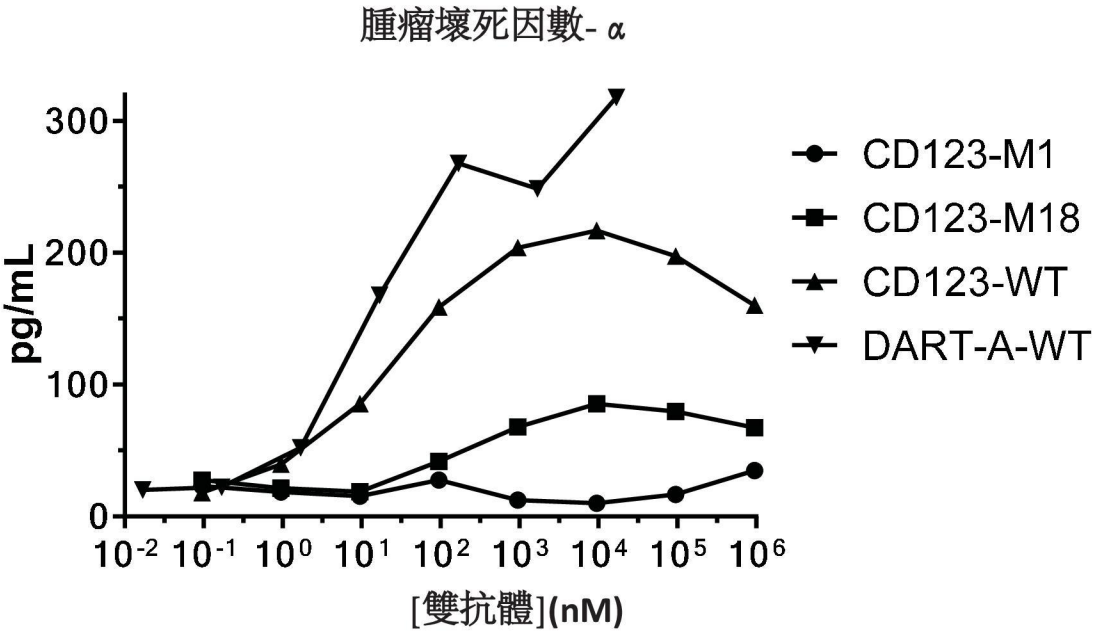

腫瘤壞死因數-α
300
200
100
0
pg/mL
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
[雙抗體](nM)
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT

圖25E

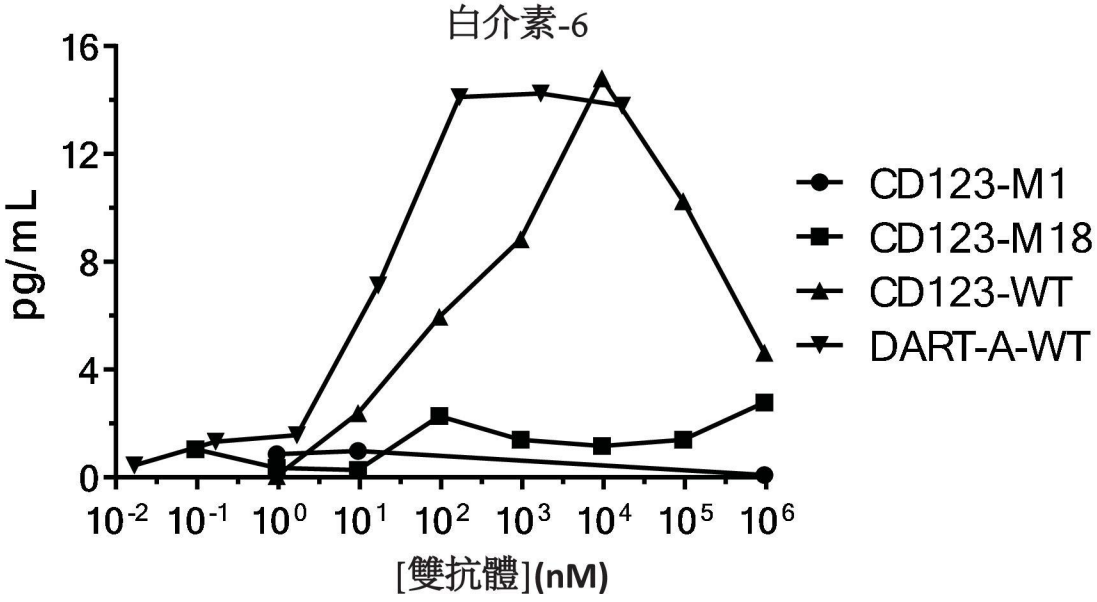

白介素-6
16
12
8
4
0
pg/mL
10-2 10-1 100 101 102 103 104 105 106
[雙抗體](nM)
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT

圖25F

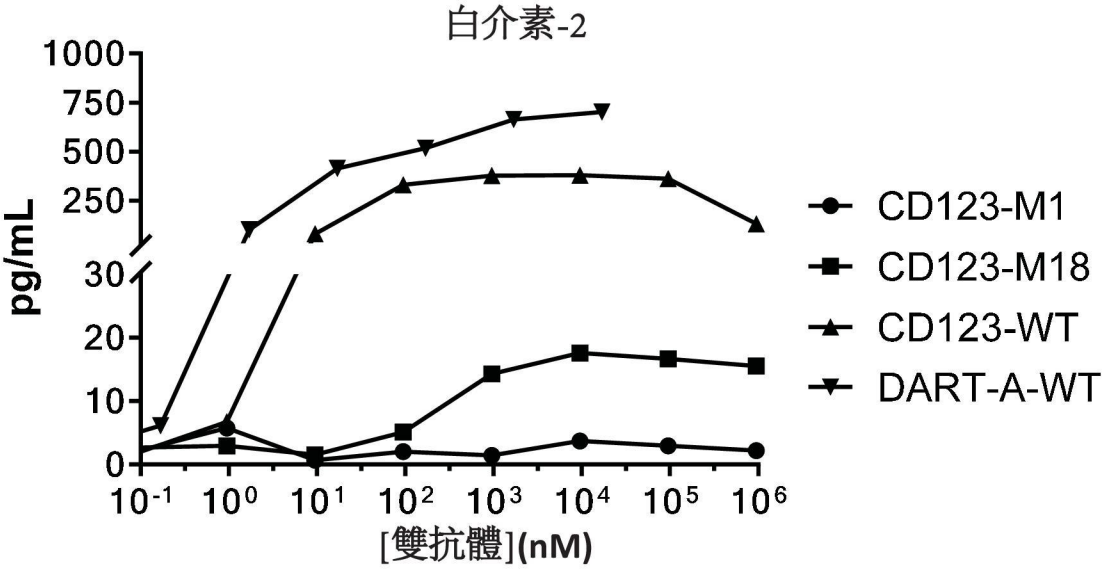

白介素-2
1000
750
500
250
30
20
10
0
pg/mL
CD123-M1
CD123-M18
CD123-WT
DART-A-WT
10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3} 10^{4} 10^{5} 10^{6}
[雙抗體](nM)

圖25G

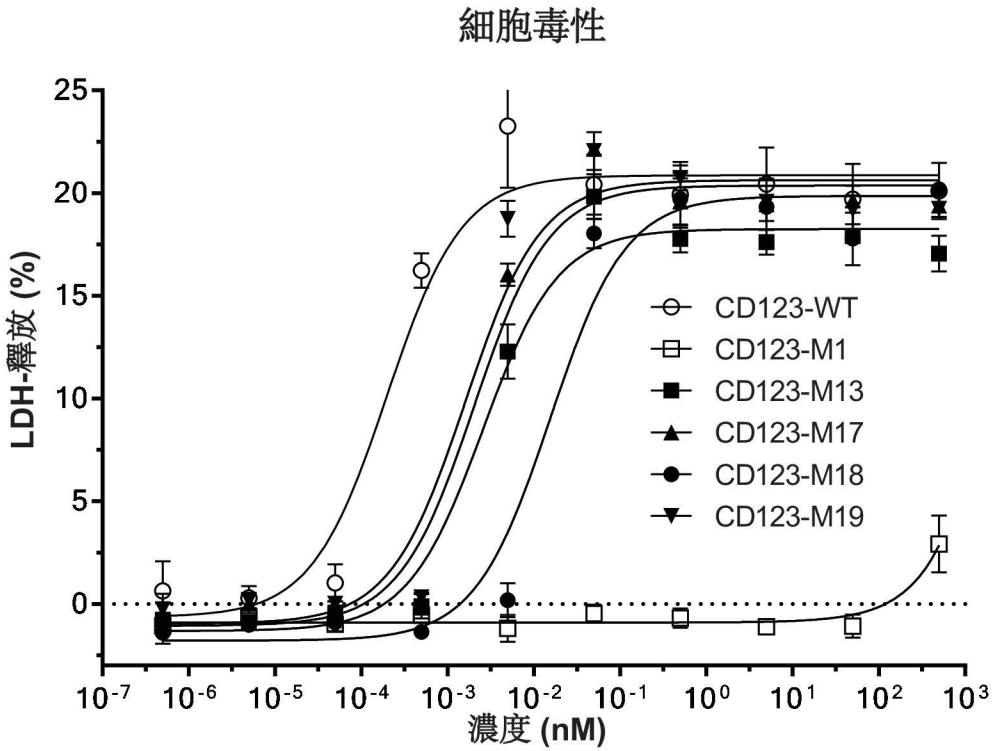

細胞毒性
25
20
15
10
5
0
LDH-釋放 (%)
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
10^{-7} 10^{-6} 10^{-5} 10^{-4} 10^{-3} 10^{-2} 10^{-1} 10^{0} 10^{1} 10^{2} 10^{3}
濃度 (nM)

圖26A

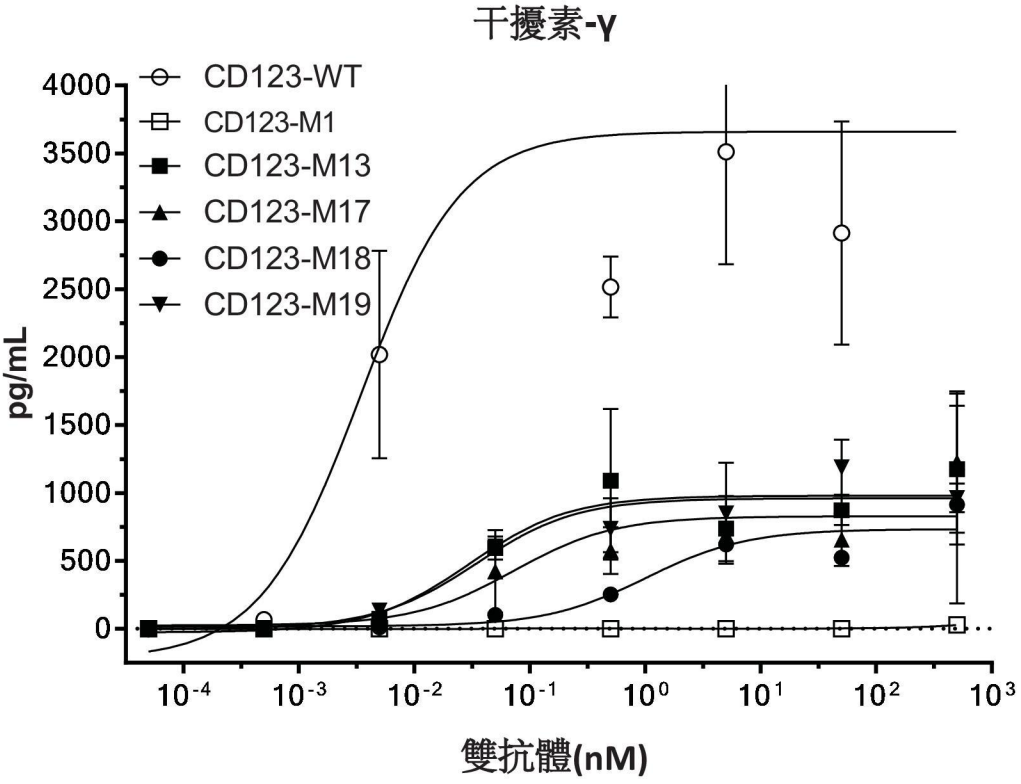

干擾素-γ
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
pg/mL
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
雙抗體(nM)

圖26B

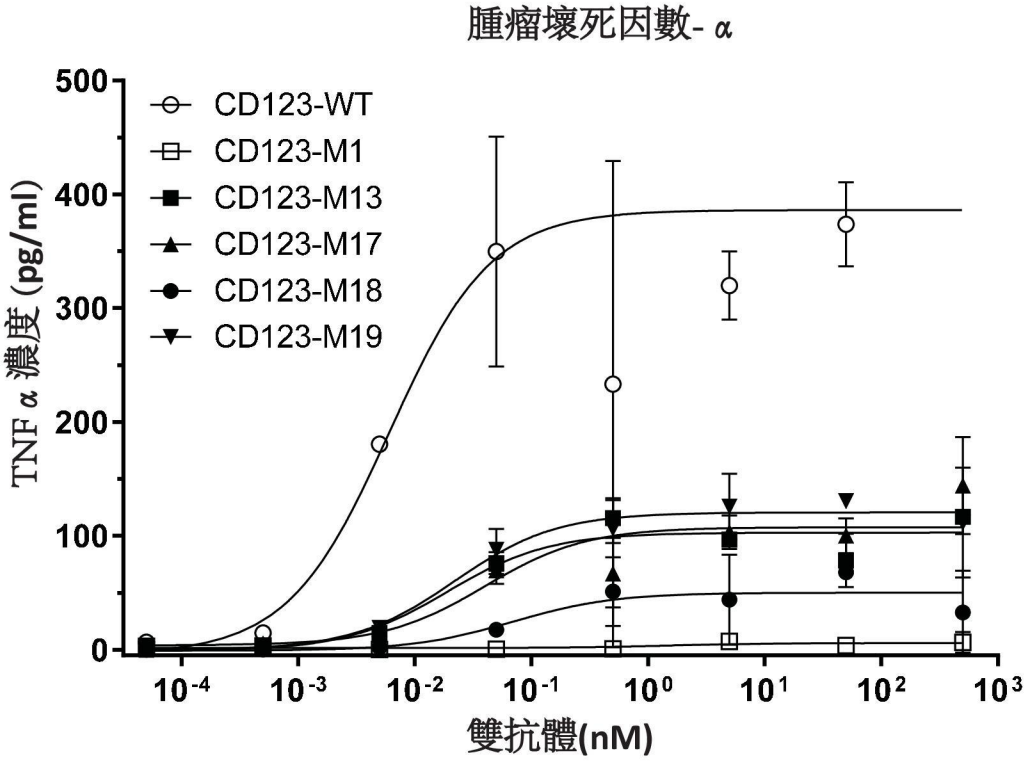

腫瘤壞死因數-α
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
TNFα濃度(pg/ml)
500
400
300
200
100
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
雙抗體(nM)

圖26C

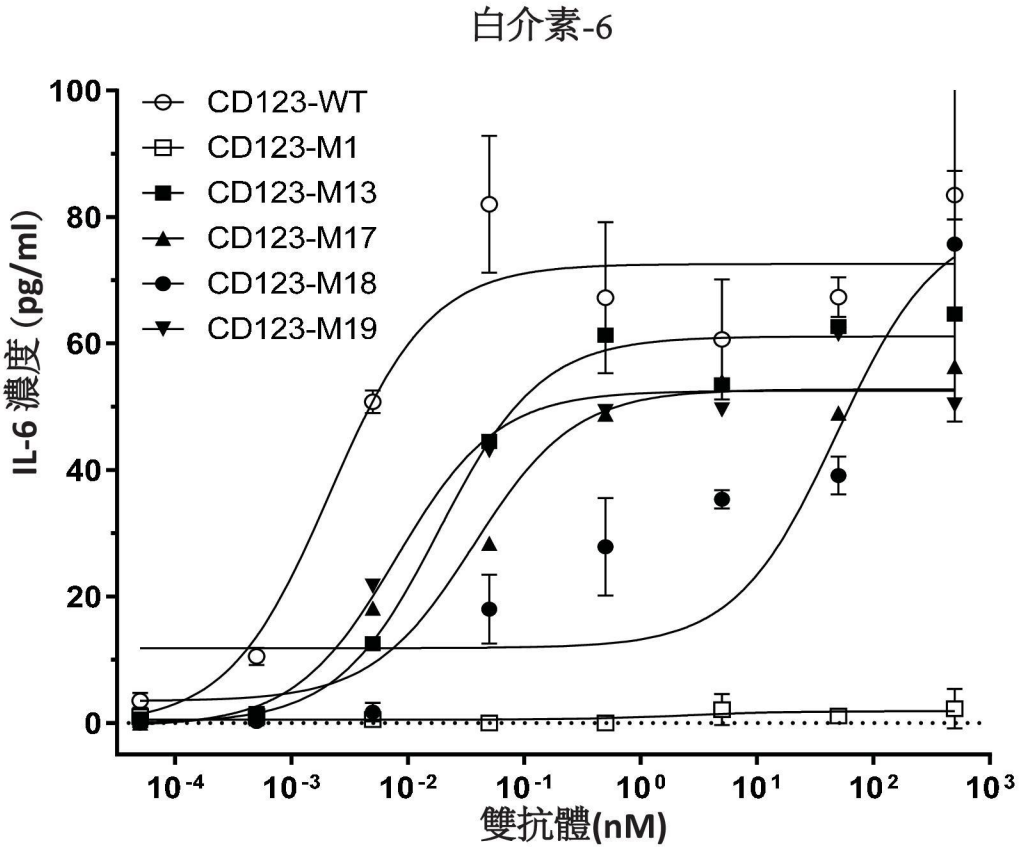

白介素-6
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
IL-6 濃度 (pg/ml)
100
80
60
40
20
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
雙抗體(nM)

圖26D

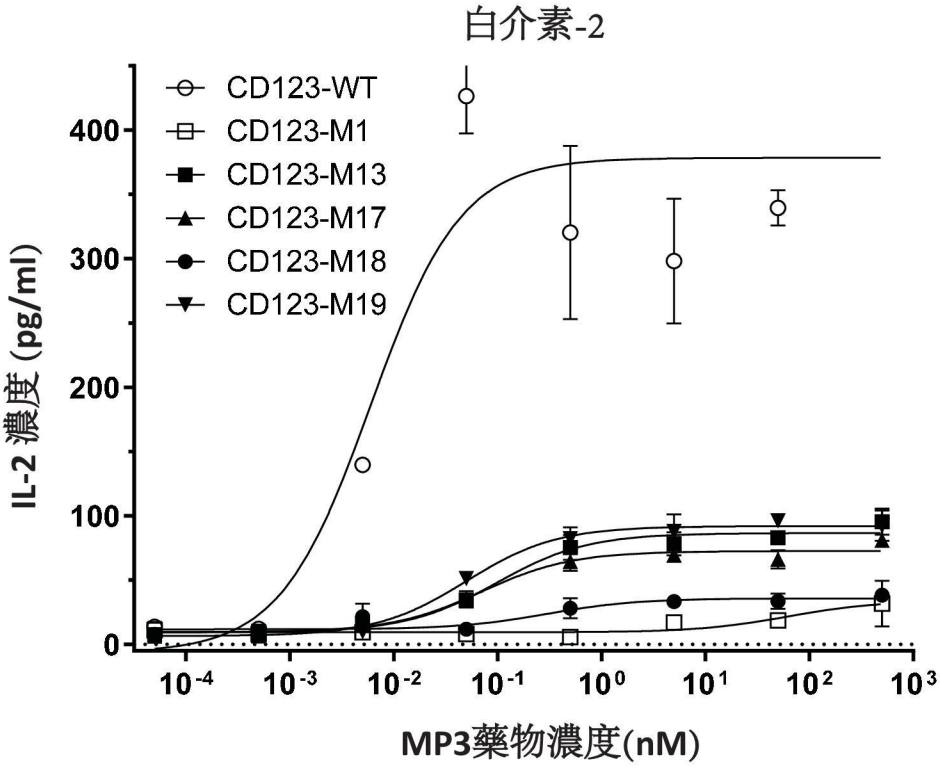

白介素-2
CD123-WT
CD123-M1
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
IL-2 濃度 (pg/ml)
400
300
200
100
0
10-4
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
MP3藥物濃度(nM)

圖26E

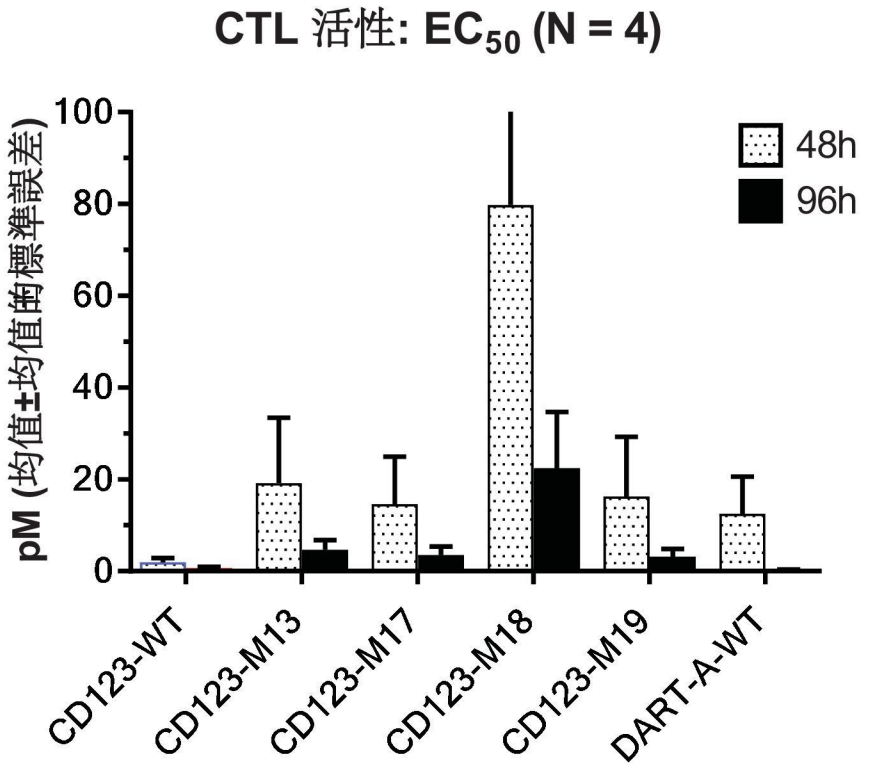

CTL 活性: EC50 (N = 4)
pM (均值±均值的標準誤差)
100
80
60
40
20
0
48h
96h
CD123-WT
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
DART-A-WT

圖27A

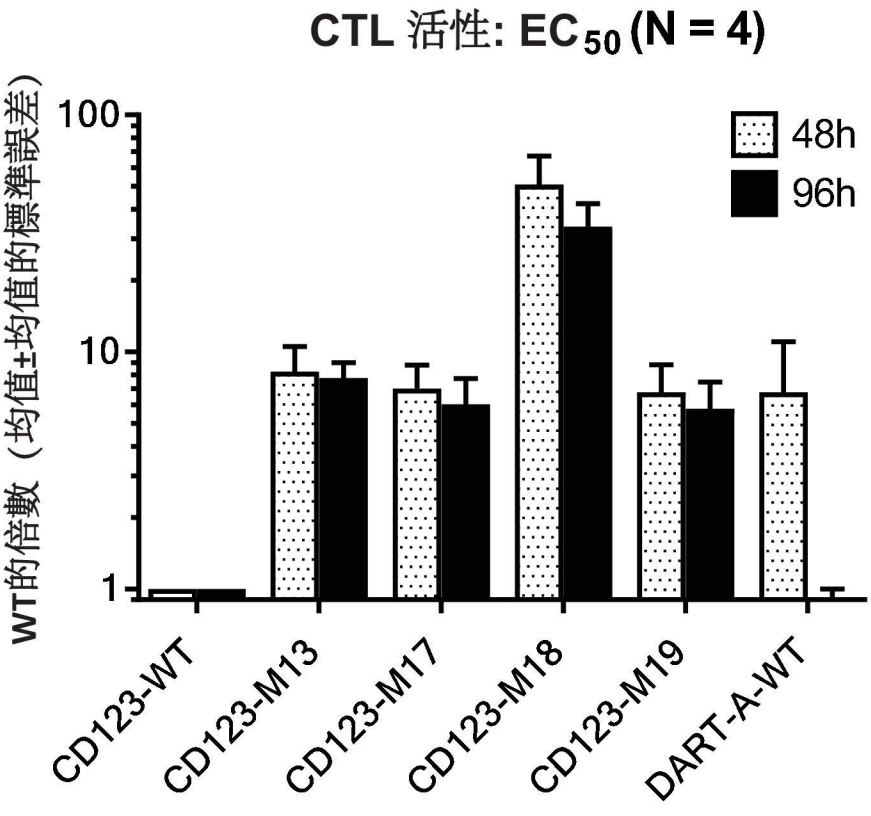

CTL 活性: EC50 (N = 4)
WT的倍數（均值±均值的標準誤差）
100
10
1
48h
96h
CD123-WT
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
DART-A-WT

圖27B

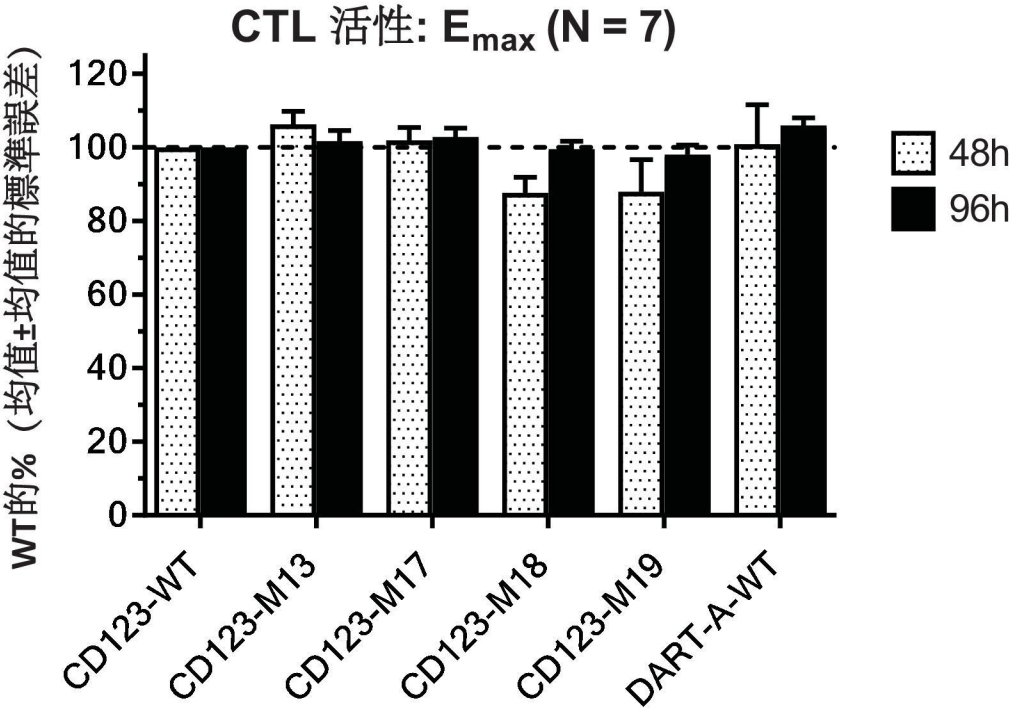

CTL 活性: E_{max} (N = 7)
WT的%（均值±均值的標準誤差）
120
100
80
60
40
20
0
48h
96h
CD123-WT
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
DART-A-WT

圖27C

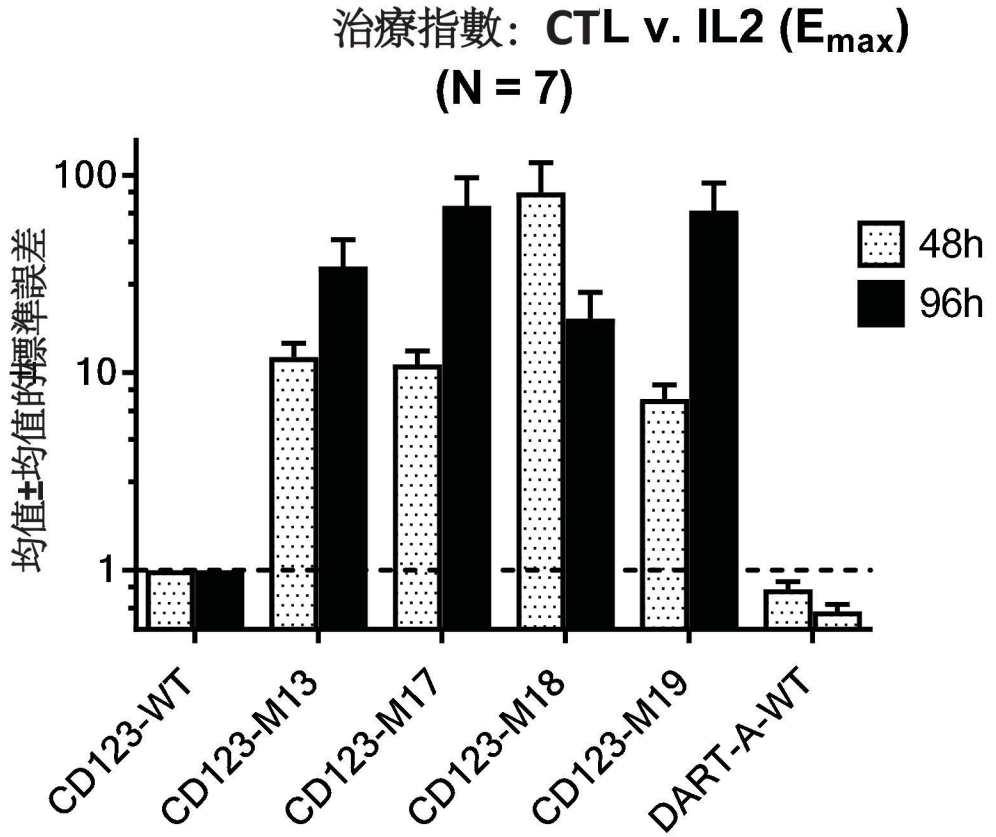

治療指數: CTL v. IL2 (E_{max})
(N = 7)
均值±均值的標準誤差
100
10
1
48h
96h
CD123-WT
CD123-M13
CD123-M17
CD123-M18
CD123-M19
DART-A-WT

圖27D

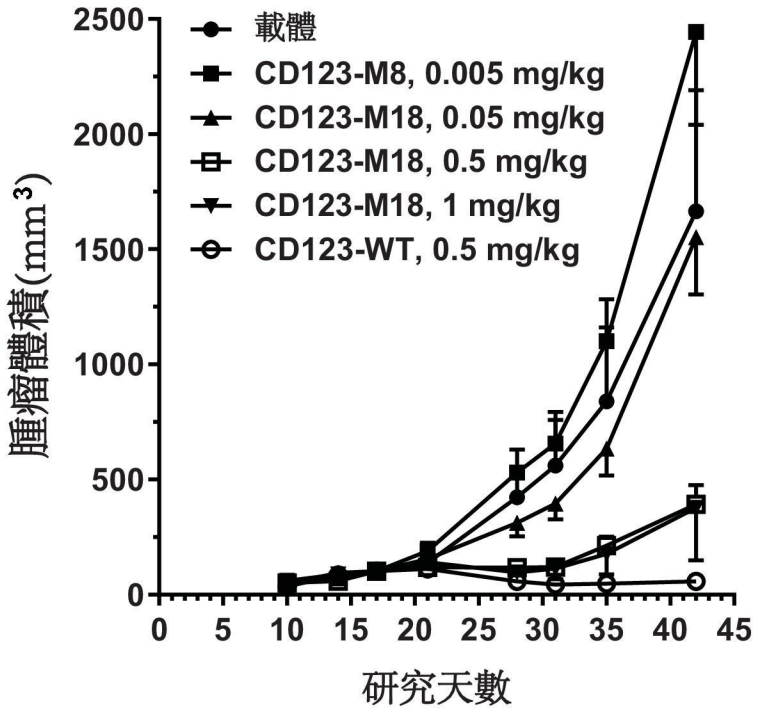

載體
CD123-M8, 0.005 mg/kg
CD123-M18, 0.05 mg/kg
CD123-M18, 0.5 mg/kg
CD123-M18, 1 mg/kg
CD123-WT, 0.5 mg/kg
腫瘤體積(mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45
研究天數

圖28A

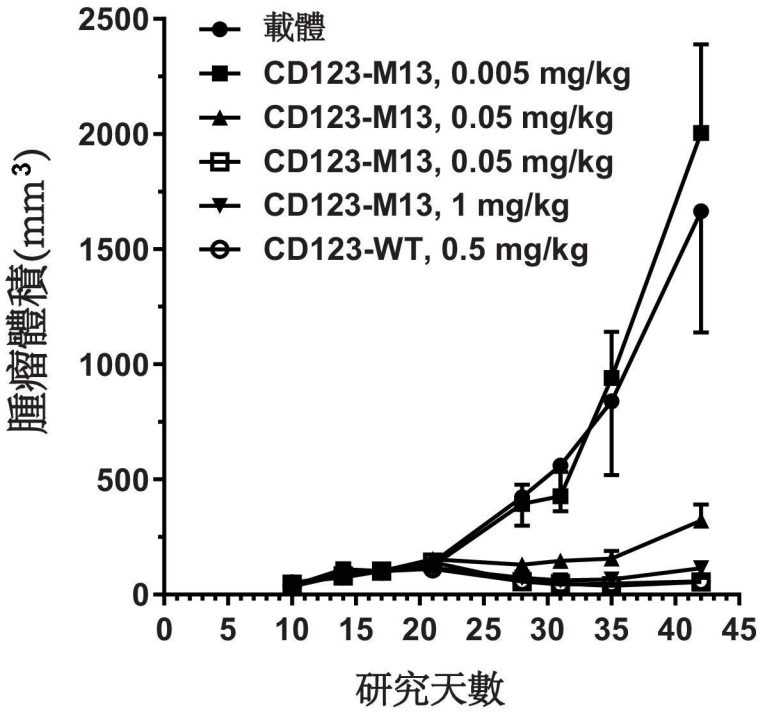

載體
CD123-M13, 0.005 mg/kg
CD123-M13, 0.05 mg/kg
CD123-M13, 0.05 mg/kg
CD123-M13, 1 mg/kg
CD123-WT, 0.5 mg/kg
腫瘤體積(mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45
研究天數

圖28B

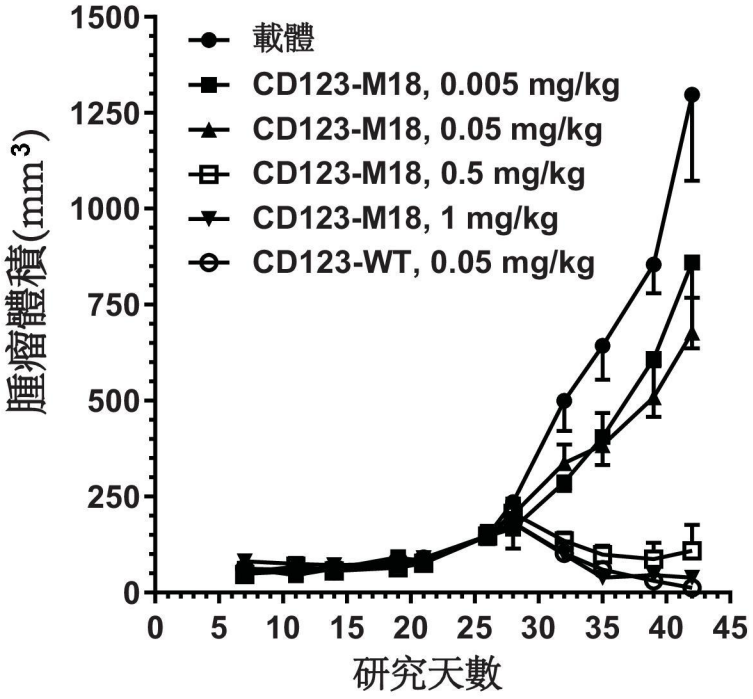

載體
CD123-M18, 0.005 mg/kg
CD123-M18, 0.05 mg/kg
CD123-M18, 0.5 mg/kg
CD123-M18, 1 mg/kg
CD123-WT, 0.05 mg/kg
腫瘤體積(mm3)
研究天數
0
250
500
750
1000
1250
1500
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45

圖29A

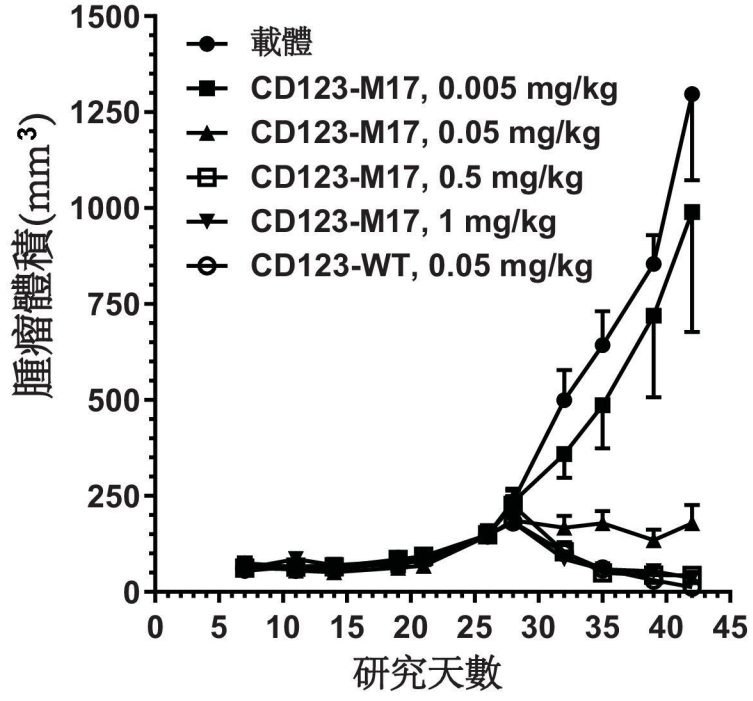

載體
CD123-M17, 0.005 mg/kg
CD123-M17, 0.05 mg/kg
CD123-M17, 0.5 mg/kg
CD123-M17, 1 mg/kg
CD123-WT, 0.05 mg/kg
腫瘤體積(mm3)
研究天數
0
250
500
750
1000
1250
1500
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45

圖29B

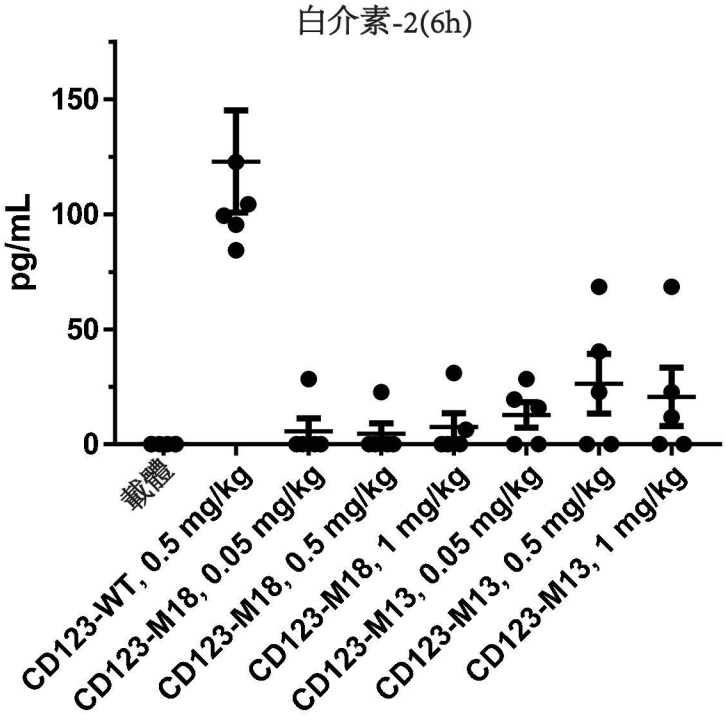

白介素-2(6h)
pg/mL
150
100
50
0
載體
CD123-WT, 0.5 mg/kg
CD123-M18, 0.05 mg/kg
CD123-M18, 0.5 mg/kg
CD123-M18, 1 mg/kg
CD123-M13, 0.05 mg/kg
CD123-M13, 0.5 mg/kg
CD123-M13, 1 mg/kg

圖30A

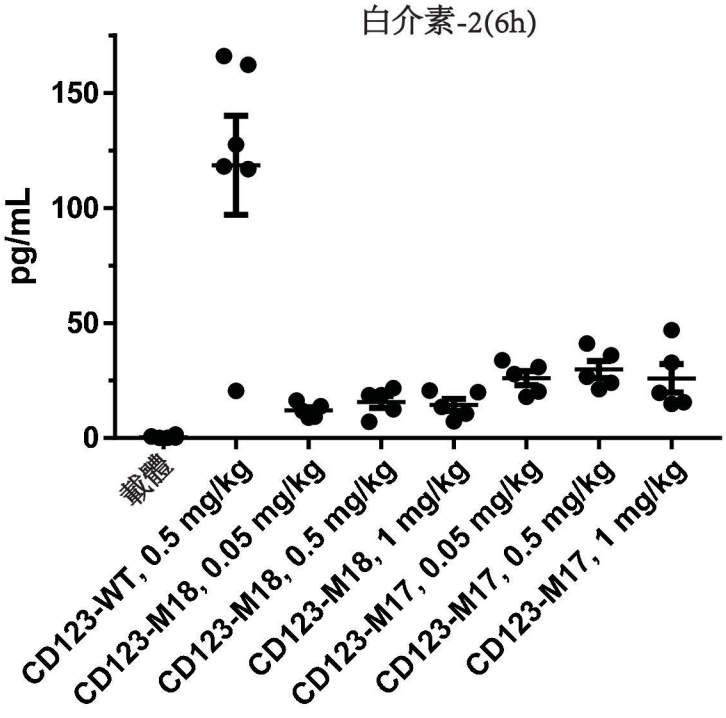

白介素-2(6h)
pg/mL
150
100
50
0
載體
CD123-WT, 0.5 mg/kg
CD123-M18, 0.05 mg/kg
CD123-M18, 0.5 mg/kg
CD123-M18, 1 mg/kg
CD123-M17, 0.05 mg/kg
CD123-M17, 0.5 mg/kg
CD123-M17, 1 mg/kg

圖30B

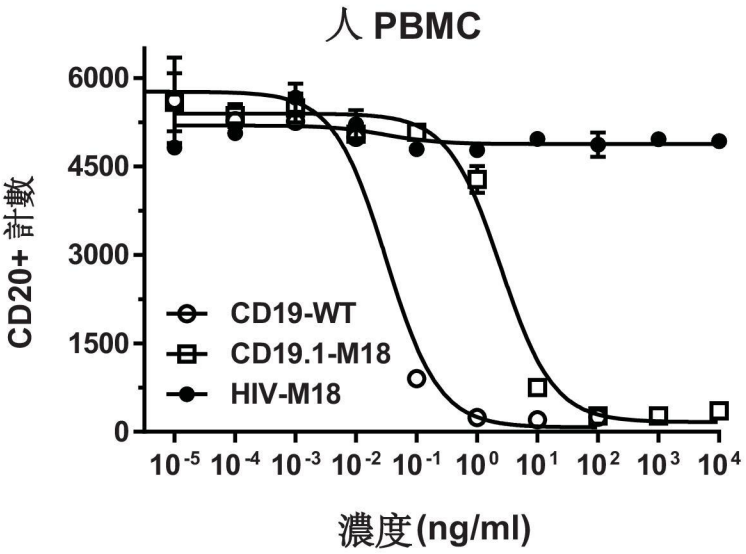

人 PBMC
CD20+ 計數
6000
4500
3000
1500
0
CD19-WT
CD19.1-M18
HIV-M18
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103 104
濃度(ng/ml)

圖31A

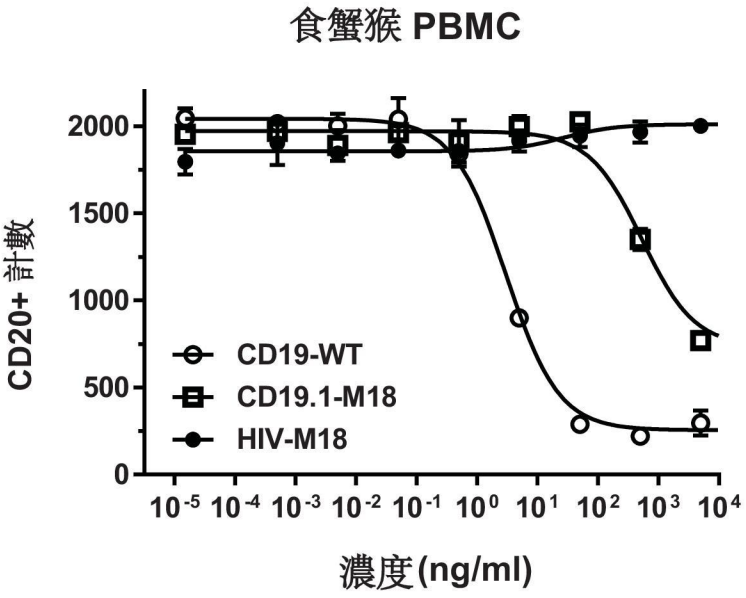

食蟹猴 PBMC
CD20+ 計數
2000
1500
1000
500
0
CD19-WT
CD19.1-M18
HIV-M18
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103 104
濃度(ng/ml)

圖31B

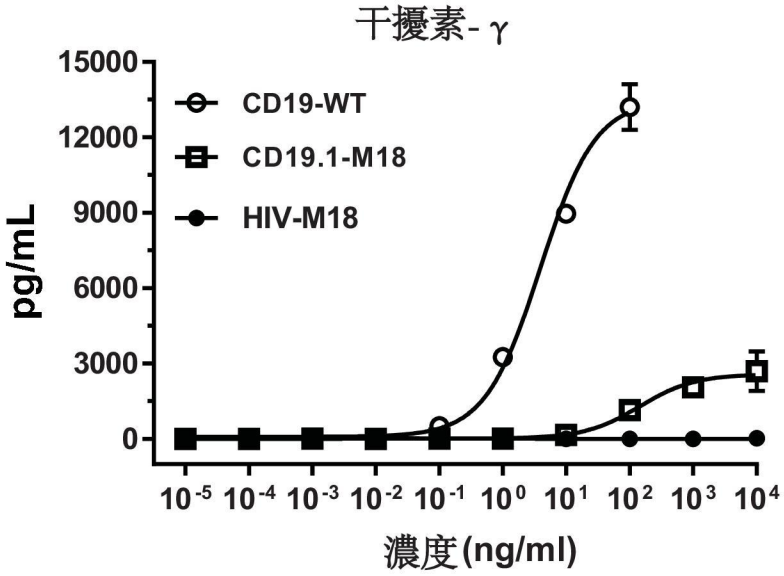

干擾素-γ
15000
12000
9000
6000
3000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
HIV-M18
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103 104
濃度(ng/ml)

圖31C

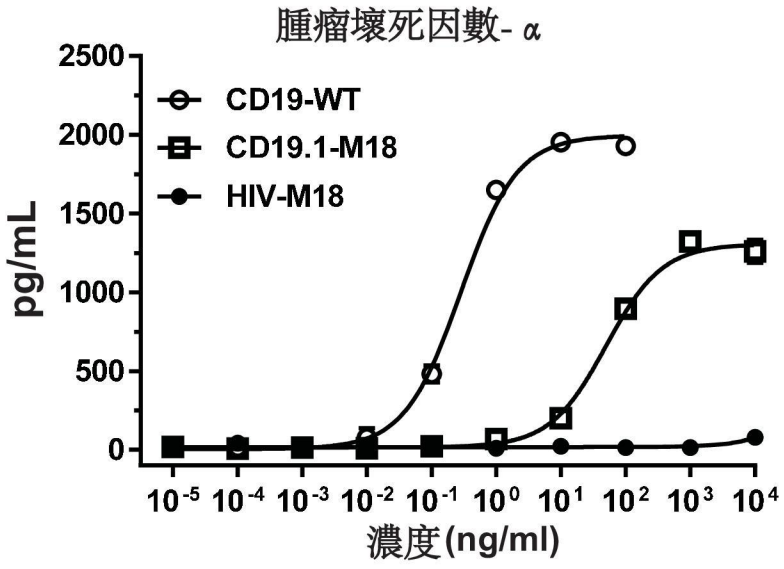

腫瘤壞死因數-α
2500
2000
1500
1000
500
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M18
HIV-M18
10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102 103 104
濃度(ng/ml)

圖31D

白介素-6

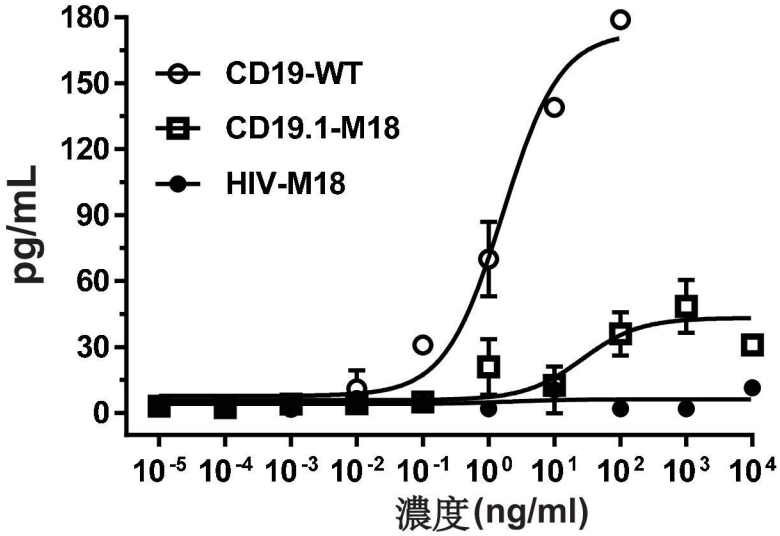


圖31E

白介素-2

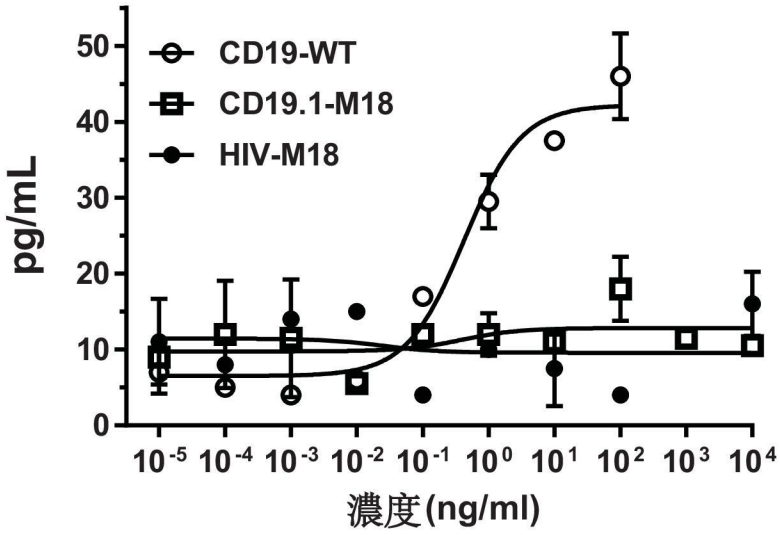


圖31F

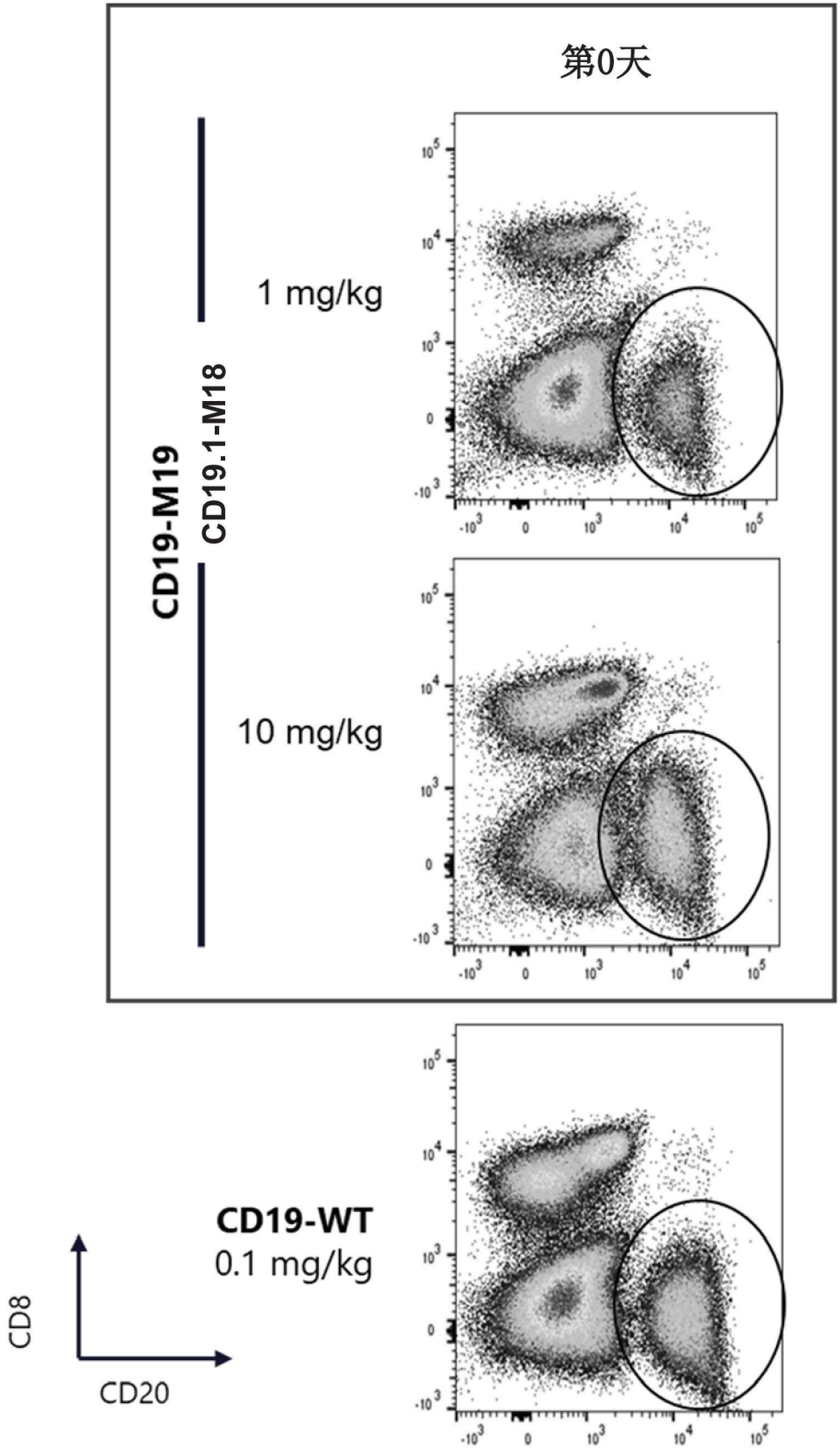


圖32A

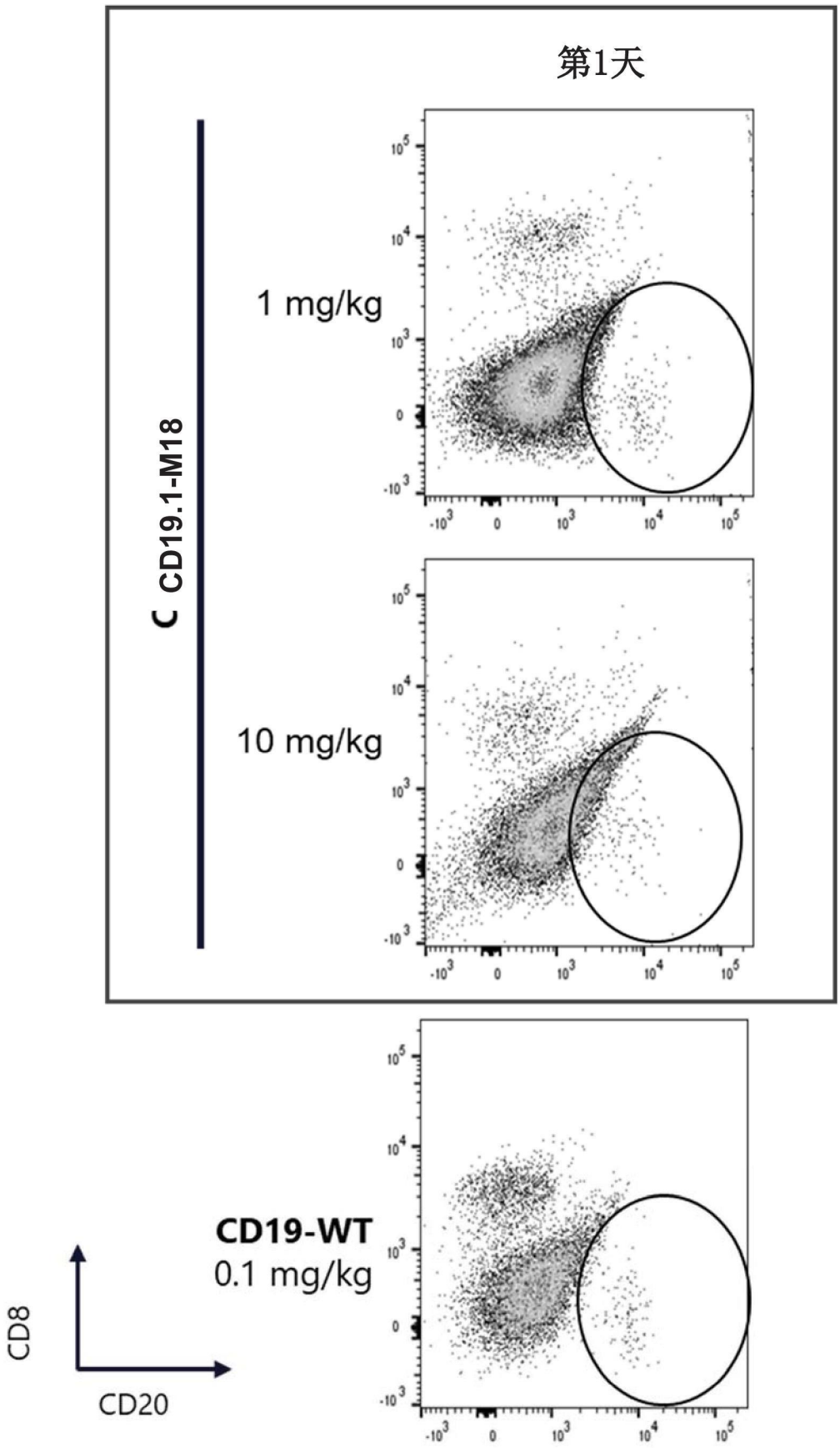


圖32B

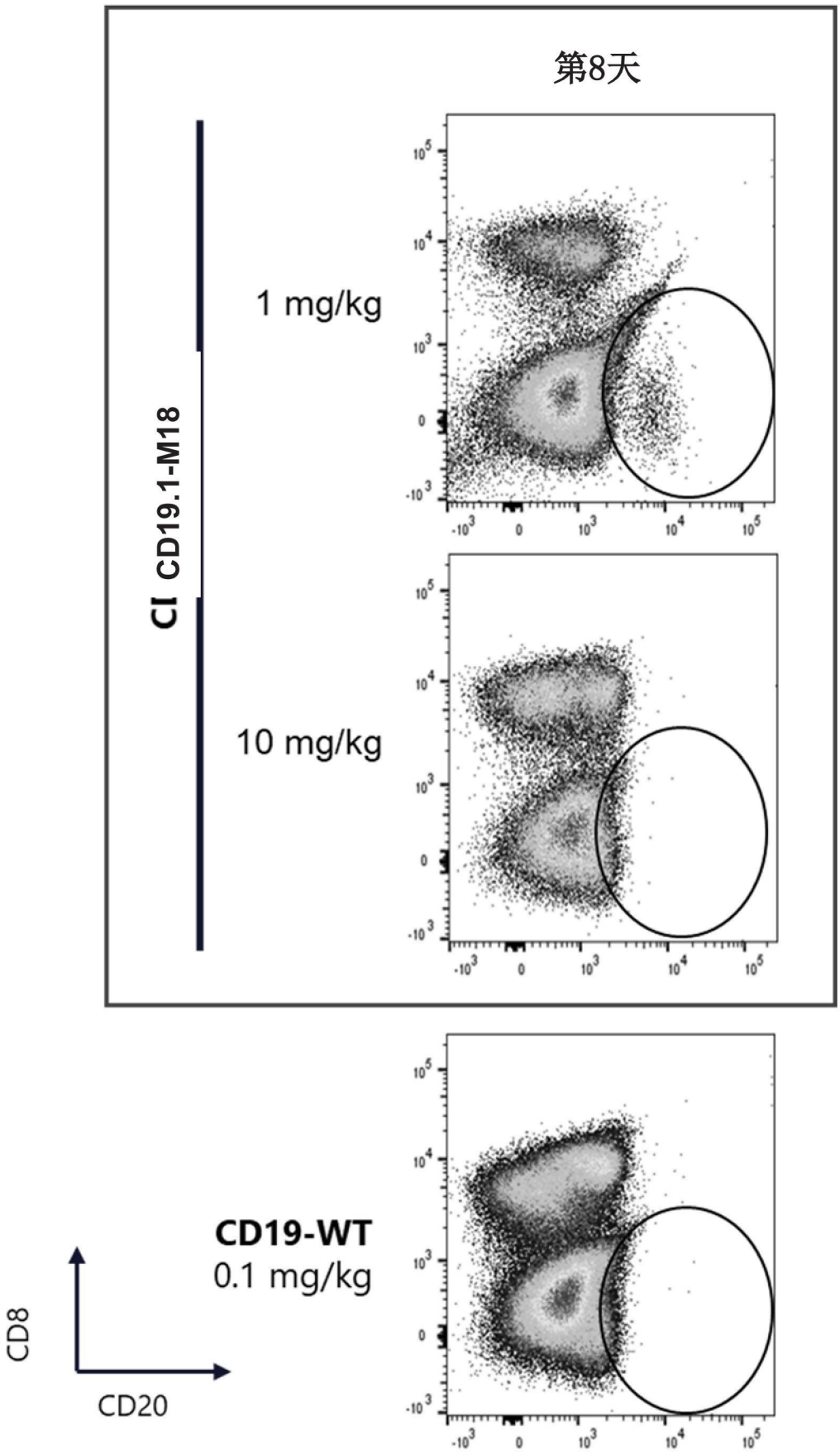


圖32C

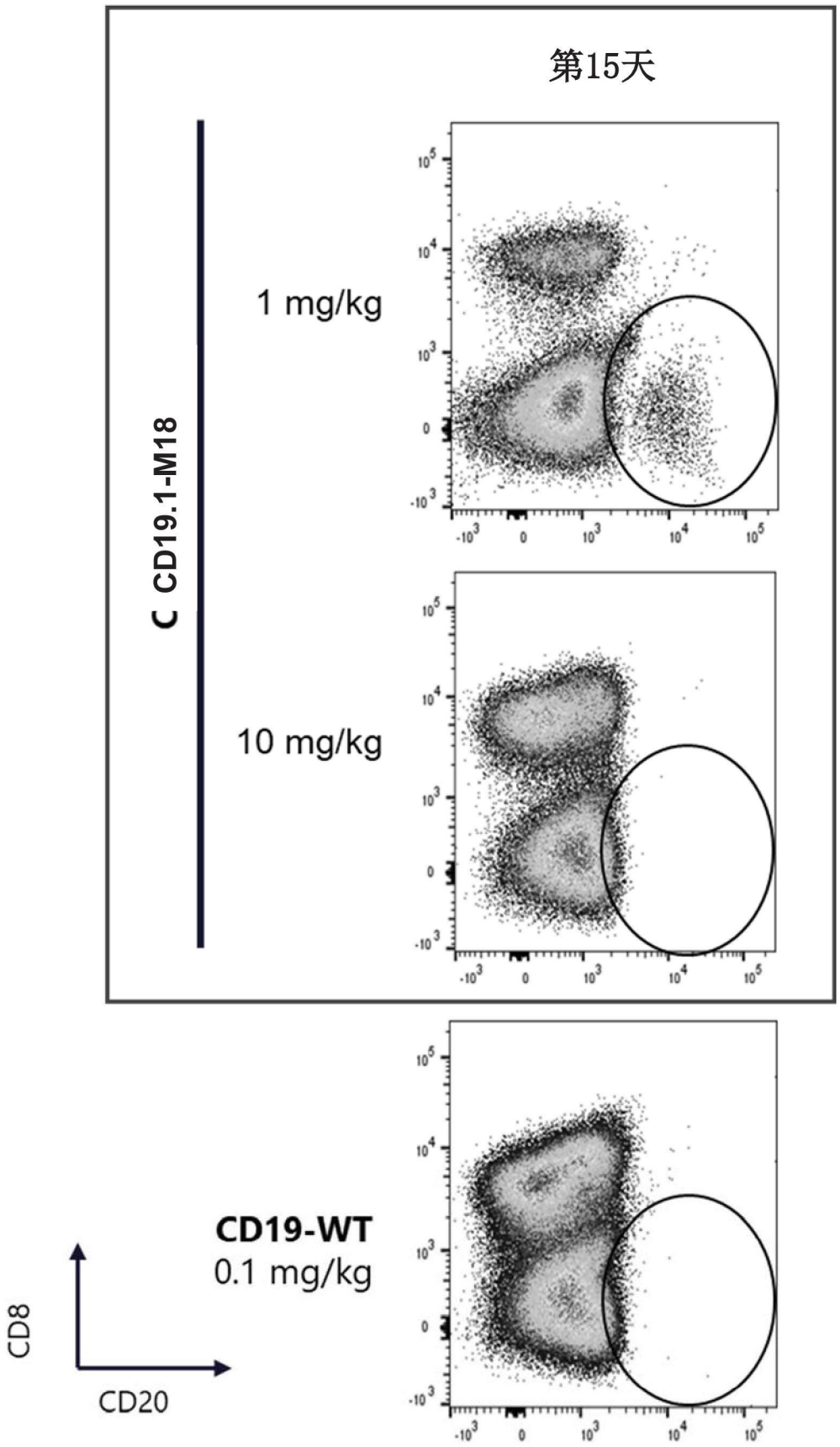
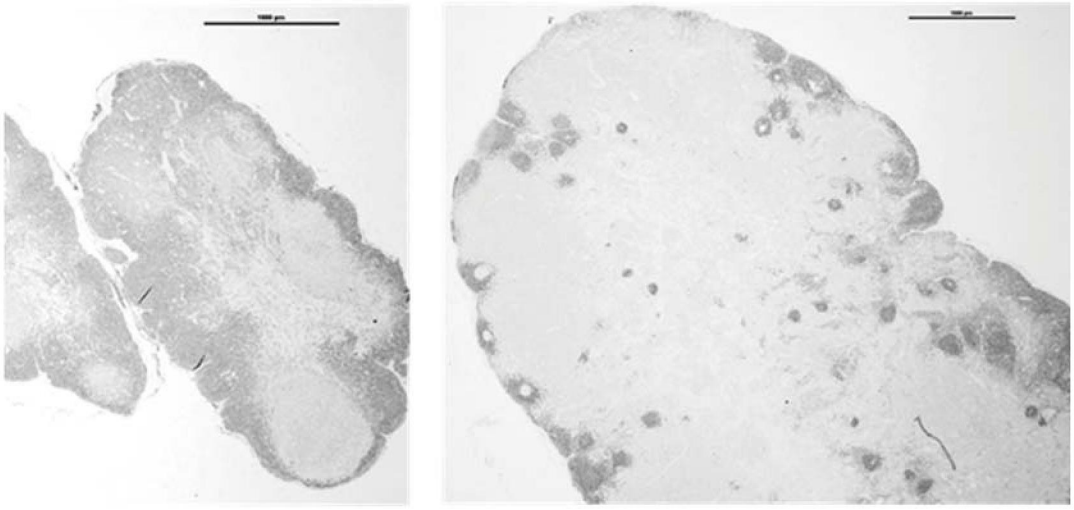


圖32D

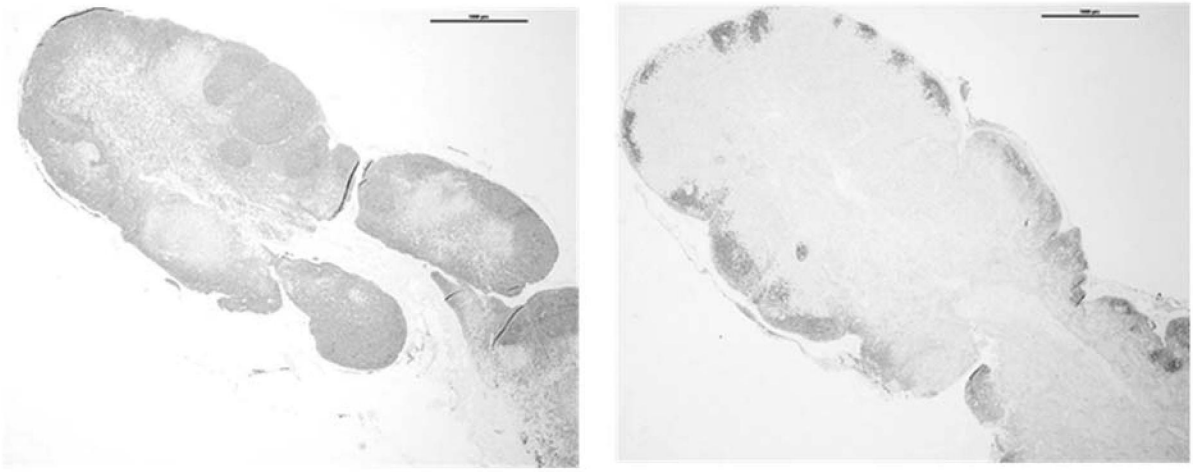
CD19-WT, 0.1 mg/kg
（陽性對照 ）



給藥前　　第7天

圖33A

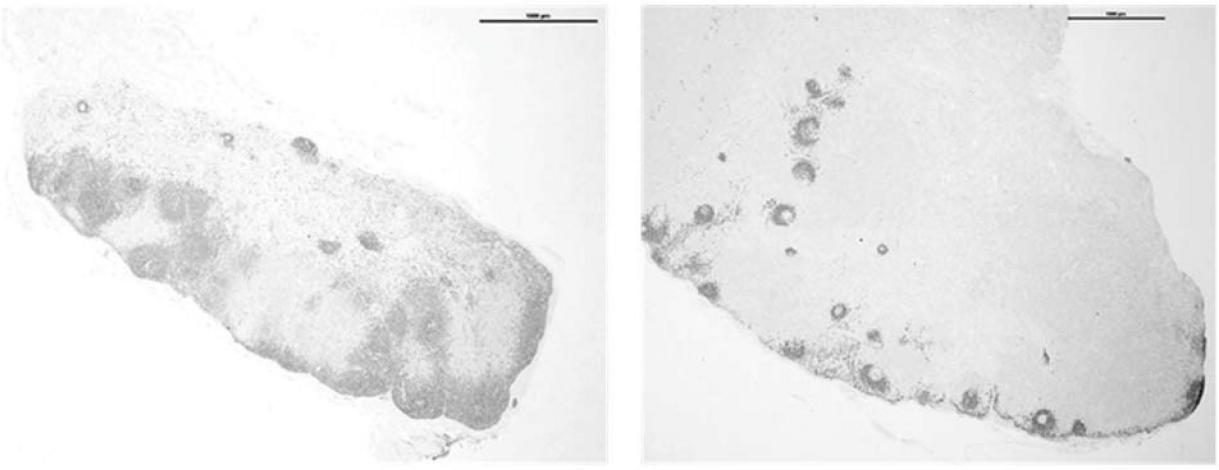
CD19.1-M18, 10 mg/kg



給藥前　　第7天

圖33B

CD19.1-M18, 30 mg/kg



給藥前　　第7天

圖33C

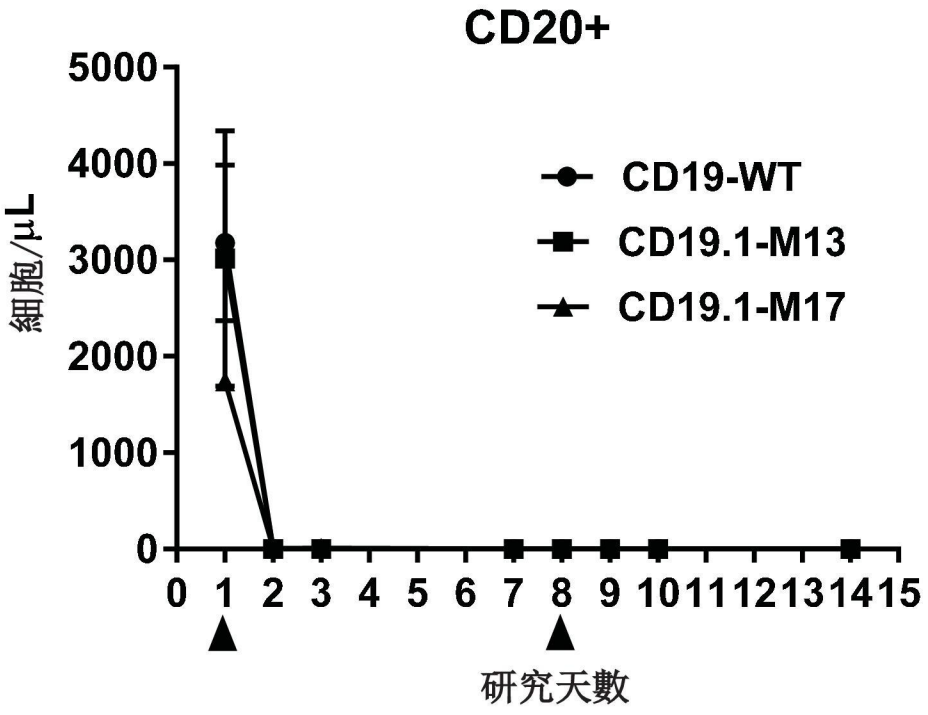

CD20+
5000
4000
3000
2000
1000
0
細胞/μL
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
研究天數

圖34

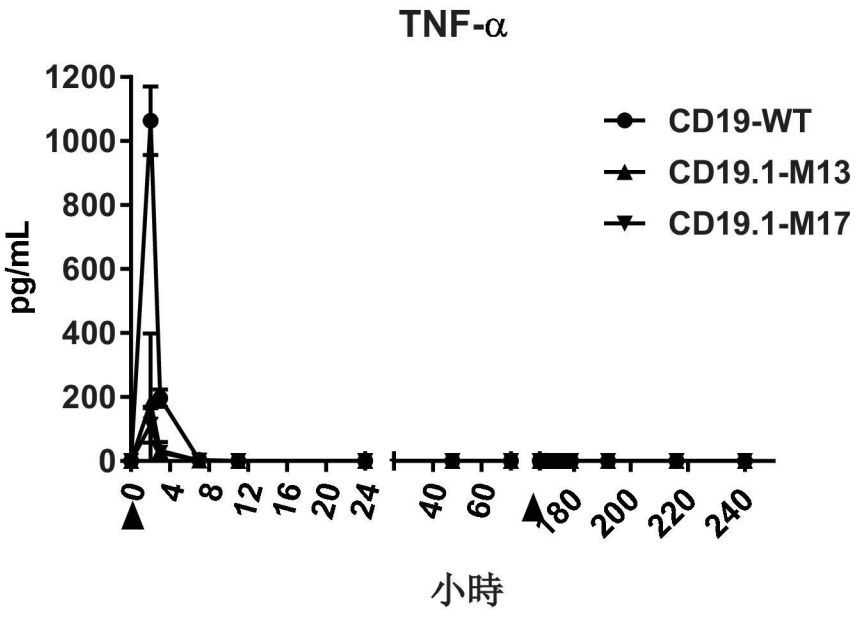

TNF-α
1200
1000
800
600
400
200
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
0 4 8 12 16 20 24 40 60 180 200 220 240
小時

圖35A

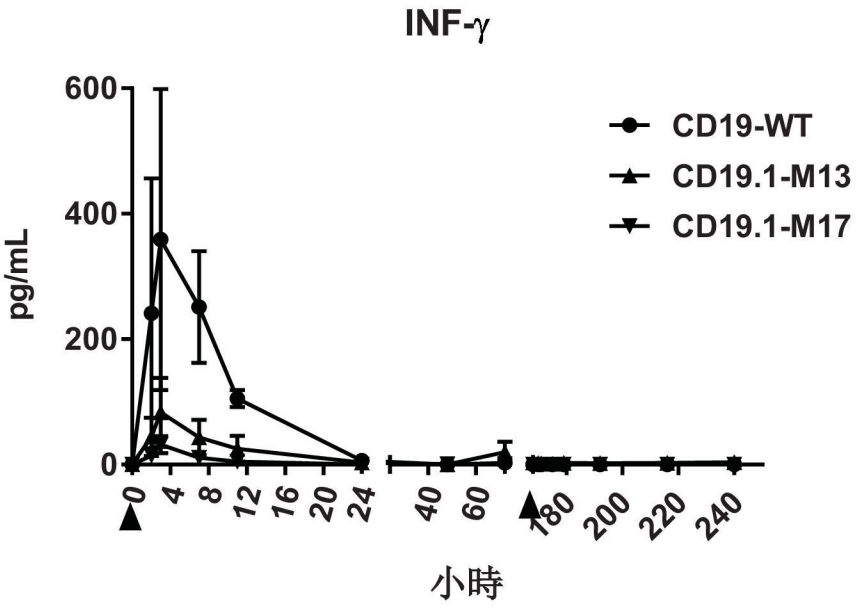

INF-γ
600
400
200
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
0
4
8
12
16
20
24
40
60
180
200
220
240
小時

圖35B

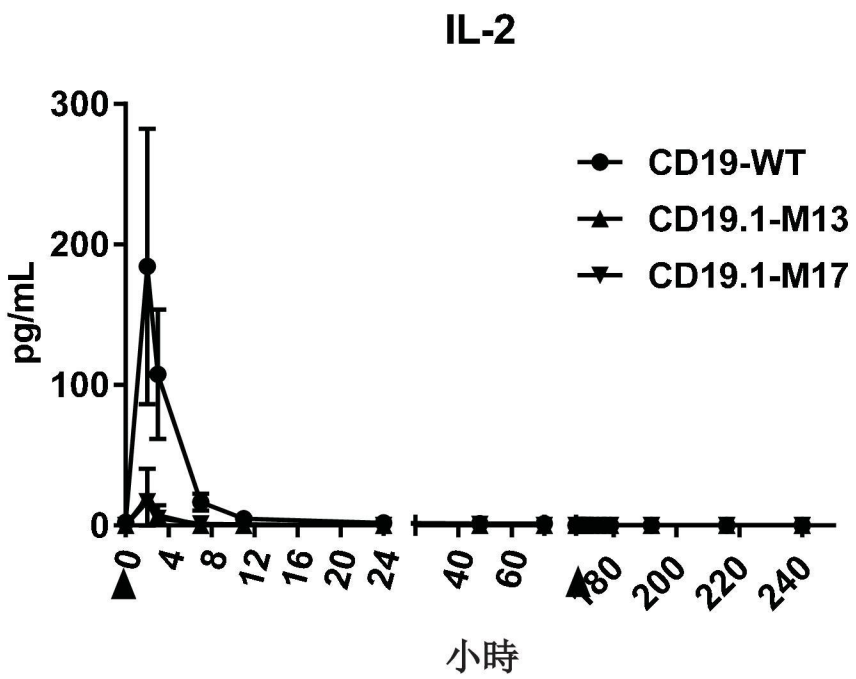

IL-2
300
200
100
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
0
4
8
12
16
20
24
40
60
180
200
220
240
小時

圖35C

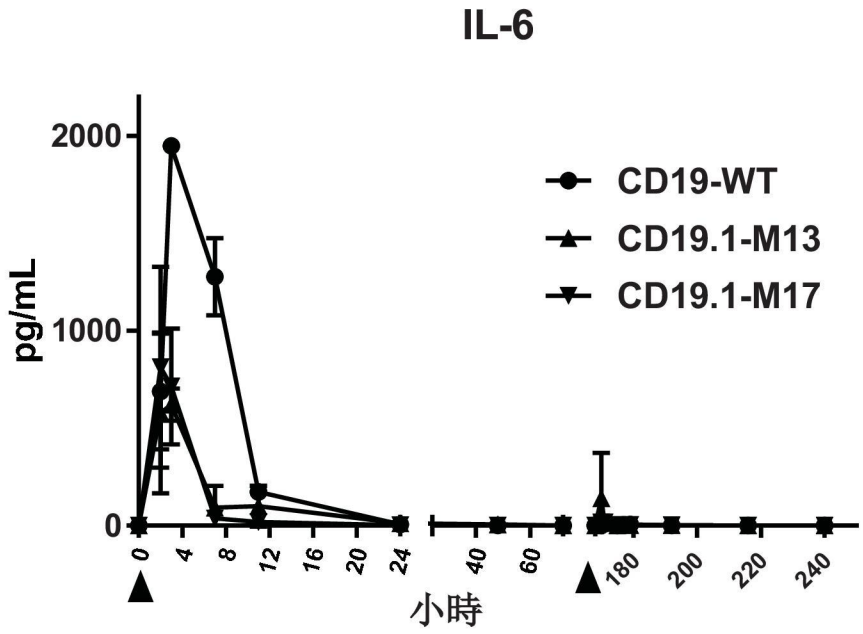

IL-6
2000
1000
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
0
4
8
12
16
20
24
40
60
180
200
220
240
小時

圖35D

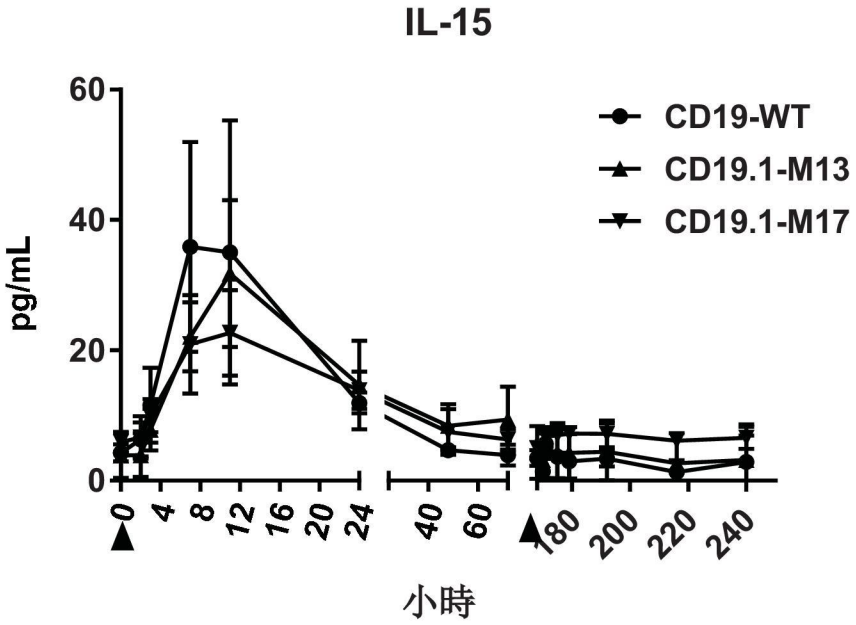

IL-15
60
40
20
0
pg/mL
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
0
4
8
12
16
20
24
40
60
180
200
220
240
小時

圖35E

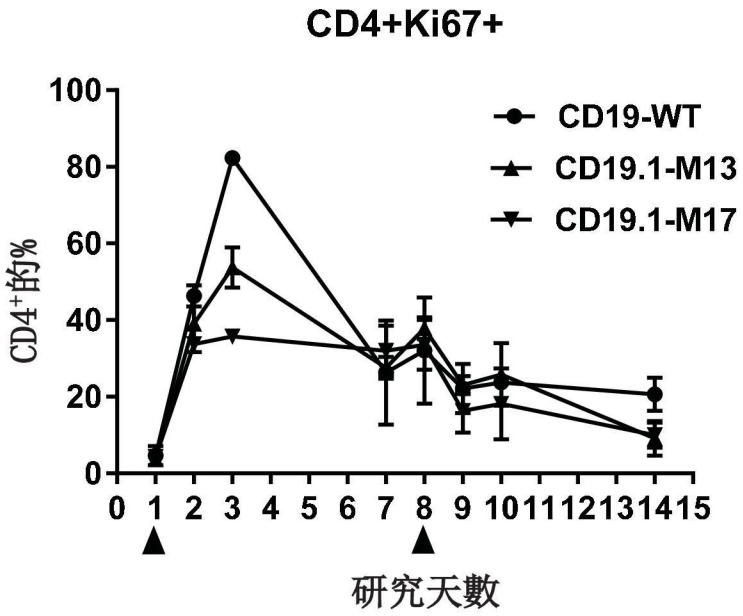

CD4+Ki67+
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
CD4+的%
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
研究天數

圖36A

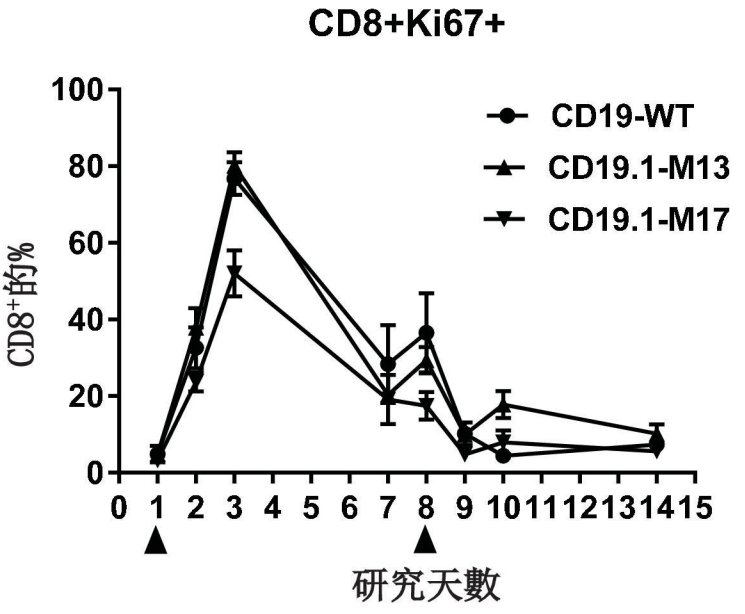

CD8+Ki67+
CD19-WT
CD19.1-M13
CD19.1-M17
CD8+的%
100
80
60
40
20
0
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15
研究天數

圖36B