I888487

(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 I888487 B**

(45)公告日： 中華民國 114 (2025) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：110105137 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 02 月 09 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C07K16/46 (2006.01)*
A61K39/395 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/02/14 日本 2020-023855

(71)申請人：日商協和麒麟股份有限公司 (日本) KYOWA KIRIN CO., LTD. (JP)
日本

(72)發明人：丹羽倫平 NIWA, RINPEI (JP) ；小川進也 OGAWA, SHINYA (JP) ；輪島摩珠 WAJIMA, MAMI (JP) ；久保田麗夫 KUBOTA, TSUGUO (JP)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201904998A KR 1020120129834A

期刊 LEONG STEVEN R ET AL: "An anti-CD3/anti-CLL-1 bispecific antibody for the treatment of acute myeloid leukemia", BLOOD, vol. 129, 2017-02-02, pages 609-618.

審查人員：蔡明憲

申請專利範圍項數：20 項 圖式數：46 共 543 頁

(54)名稱

與ＣＤ３結合之雙特異性抗體

(57)摘要

本發明之目的在於提供一種與 CD3 結合之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。本發明係關於一種與 CD3 結合之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、編碼該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之 DNA、包含該 DNA 之載體、生產該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之融合瘤及轉形株、該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法、包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷劑、使用該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷方法、以及包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之檢測或測定試劑。

I888487

【發明摘要】

【中文發明名稱】

與CD3結合之雙特異性抗體

【中文】

本發明之目的在於提供一種與CD3結合之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。本發明係關於一種與CD3結合之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、編碼該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之DNA、包含該DNA之載體、生產該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之融合瘤及轉形株、該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法、包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷劑、使用該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷方法、以及包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之檢測或測定試劑。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

與CD3結合之雙特異性抗體

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種與CD3結合之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、編碼該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之DNA、包含該DNA之載體、生產該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之融合瘤及轉形株、該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法、包含該雙特異性抗體或雙特異性抗體片段之治療及/或診斷藥、使用該雙特異性抗體或雙特異性抗體片段之治療及/或診斷方法、以及包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之檢測或測定用試劑。

【先前技術】

【0002】 已知目前得到批准之針對癌症之抗體醫藥具有各種作用機制(非專利文獻1)。具代表性的有：抑制生長因子等配體與受體結合之中和活性；使所結合之受體活化之促效劑活性；以及抗體依賴性細胞毒殺活性(antibody-dependent cellular cytotoxicity：以下記作ADCC活性)、補體依賴性細胞毒殺活性(complement-dependent cytotoxicity：以下記作CDC活性)等IgG型抗體分子所具有之效應物功能等。其中，根據利妥昔單抗、曲妥珠單抗之臨床試驗之生物標記分析，提示ADCC活性係抗體醫藥於臨床上之重要機制(非專利文獻2、3)。

【0003】 ADCC活性係自然殺手細胞(以下記作NK細胞)等由作為Fc受體其中一種之FcγRIIIA(CD16a)介導來識別與癌細胞表面之膜型抗原結合之IgG型抗體之Fc，從而引起細胞毒殺的機制(非專利文獻1)。

【0004】 在人類中，可與Fc受體較強地結合而引起ADCC活性的是IgG1亞型，於小鼠中是IgG2a亞型。因此，可藉由對抗體醫藥之人類IgG1型之Fc進行人工改型，使之與FcγRIIIA之結合能力上升而增強ADCC活性。

【0005】 已知，實際上藉由對Fc之胺基酸進行改型、或對與Fc結合之N-結合型複合型糖鏈之糖鏈進行改型，可增強ADCC活性(非專利文獻4)，尤其是利用糖鏈改型之ADCC活性增強技術被應用於莫格利珠單抗(mogamulizumab)(非專利文獻5)、奧比妥珠單抗(obinutuzumab)(非專利文獻6)等已得到批准之抗體醫藥。

【0006】 與天然抗體不同，雙特異性抗體係能夠與兩種不同之抗原結合之人工改型抗體分子，且報告有多種分子形態(非專利文獻7)。作為將上述雙特異性抗體應用於醫藥之例，可例舉如下技術：與癌細胞上之抗原及T細胞表面之CD3結合並使該兩者橋接，藉此毒殺癌細胞。

【0007】 此處，將由CD3/癌抗原雙特異性抗體與T細胞上之CD3結合而產生之經T細胞介導的細胞毒殺活性記載為ADTC活性(Antibody-dependent T-cell-mediated cytotoxicity，抗體依賴性T細胞介導之細胞毒殺活性)。

【0008】 作為CD3/癌抗原雙特異性抗體之例，可例舉：對於CD3及癌抗原EpCAM之IgG型雙特異性抗體卡妥索單抗(catumaxomab)(非專利文獻8)、雙特異性T細胞銜接器(bispecific T cell engager)[BiTE(註冊商標)](非專利文獻9)及對於CD3及癌抗原CEA之IgG型雙特異性抗體RG7802等。

【0009】 此處，還存在多個分子形態(非專利文獻7)，但該等抗CD3

雙特異性抗體一般具有如下結構，即僅具有ADTC活性而不具有ADCC活性或ADCC活性受到抑制。

【0010】 例如BiTE(註冊商標)係將被稱為單鏈Fv(scFv，single chain FV)之與CD3及癌抗原結合之兩種不同之抗體片段以肽連接子結合而成者，由於不包含Fc，故不具有如ADCC活性之經Fc介導之作用機理[圖1(C)]。又，RG7802雖具有Fc，但藉由將P329G之突變導入至Fc而去除了與Fc受體之結合能力，依然未顯示ADCC活性(非專利文獻10)。

【0011】 已知卡妥索單抗(Catumaxomab)是個例外，該抗CD3雙特異性抗體具有與Fc受體結合之小鼠IgG2a/大鼠IgG2b之雜交型Fc，藉此引起ADCC活性(非專利文獻8)。然而，源自嚙齒類之Fc與通常用於抗體醫藥之源自人類之Fc相比，引起ADCC活性之能力較弱(非專利文獻11)。

【0012】 並未研究將對於抗CD3雙特異性抗體具有強Fc受體結合能力之Fc加以組合，認為其原因在於：因Fc受體介導之CD3簇集(細胞膜上之凝集)而引起T細胞活化，對隨此產生之副作用有所顧慮。

【0013】 例如，抑制器官移植時之排斥時所使用之抗CD3抗體OKT3會引起細胞激素釋放症候群之副作用，但認為其原因為OKT3之小鼠IgG2a型Fc介導的具有Fc受體之白血球上的CD3簇集(非專利文獻12)。

【0014】 卡妥索單抗(Catumaxomab)係CD3與EpCAM之雙特異性抗體且具有與Fc受體之結合能力，關於投予該卡妥索單抗後之伴隨細胞激素釋放症候群之嚴重副作用，推測其原因是由具有Fc受體之肝臟Kupffer細胞介導之T細胞活化(非專利文獻13)。

【0015】 又，作為具有Fc之雙特異性抗體之型式(format)，一般使用用於以一價具有CD3結合部位之異源二聚物型結構，以避免對由CD3之

非特異性活化導致之副作用的顧慮(專利文獻1～4)。

【0016】 亦製作使用對於CD3之親和力較低之抗CD3抗體的抗CD3雙特異性抗體。作為此種雙特異性抗體，臨床開發出對於CD3之親和力為$K_D = 1.0 \times 10^{-7}$之RG7802(非專利文獻14、15)。RG7802包含不具有與Fc受體之結合能力之Fc區，而不具有以ADCC活性為代表之效應活性(非專利文獻15)。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0017】 專利文獻1：國際公開第2011/028952號

專利文獻2：國際公開第2014/151910號

專利文獻3：國際公開第2015/048272號

專利文獻4：國際公開第2014/054804號

[非專利文獻]

【0018】 非專利文獻1：Carter P. Nat Rev Cancer. 1: 118-129, 2001

非專利文獻2：Cartron G, Dacheux L, Salles G, et al. Blood. 99: 754-758, 2002

非專利文獻3：Weng WK, Levy R. J Clin Oncol. 21: 3940-3947, 2003

非專利文獻4：Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, et al. J Biol Chem. 278: 3466-3473, 2003

非專利文獻5：Beck A, Reichert JM. MAbs. 4: 419-425, 2012

非專利文獻6：Gagez AL, Cartron G. Curr Opin Oncol. 26: 484-491, 2014

非專利文獻7：Carter PJ, Lazar GA. Nat Rev Drug Disc. 17: 197-223, 2018

非專利文獻8：Bokemeyer C. Expert Opin Biol Ther. 10: 1259-1269, 2010

非專利文獻9：Nagorsen D, Kufer P, Baeuerle PA, Bargou R. Pharmacol Ther. 136: 334-342, 2012

非專利文獻10：Lehmann S, et al. Clin Cancer Res. 22: 4417-4427, 2016

非專利文獻11：Bergman I, Basse P, Barmada M, Griffin J, Cheung N. Cancer Immunol Immunother. 49: 259-266, 2010

非專利文獻12：Ceuppens JL, Bloemmen FJ, Van Wauwe JP. J Immunol. 135: 3882-3886, 1985

非專利文獻13：Borlak J, Langer F, Spanel R., Schondorfer G., Dittrich C. Oncotarget. 7: 28059-28074, 2016

非專利文獻14：Bacac M, Klein C., Umana P Oncoimmunology. 5 (8): e1203498, 2016

非專利文獻15：Bacac M, Fauti T, Sam J, et al. Clin Cancer Res. 22(13): 3286-97, 2016

【發明內容】

【0019】

[發明所欲解決之問題]

此前已知與CD3及特定抗原結合之各種抗CD3雙特異性抗體，但未獲得充分之藥效，又，存在細胞激素釋放症候群等由過度之免疫反應導致之嚴重副作用的課題。

【0020】 又，對於發揮ADCC活性或高ADCC活性之異源二聚物型CD3/癌抗原雙特異性抗體、及其細胞毒殺活性並未進行詳細之研究，不知具有高細胞毒殺活性且過度之細胞激素產生誘導得到抑制之抗CD3雙特

異性抗體。

【0021】另一方面，已知包含藉由胺基酸殘基改型Fc或糖鏈改型Fc而增強了對於Fc受體之親和力的Fc區之抗體有助於單株抗體之高ADCC活性，但未必有動機，對於存在嚴重副作用課題之抗CD3雙特異性抗體，使用藉由胺基酸殘基改型Fc或糖鏈改型Fc而增強了對於Fc受體之親和力的Fc區來提高ADCC活性，從而增強利用雙特異性抗體之免疫反應。

【0022】本發明之目的在於提供一種細胞激素產生誘導得到抑制之抗CD3雙特異性抗體、與CD3及疾病相關抗原特異性地結合之雙特異性抗體。又，本發明之目的在於提供一種包含與CD3結合之抗原結合域及與疾病相關抗原結合之抗原結合域的雙特異性抗體、該雙特異性抗體片段、編碼該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之DNA、包含該DNA之載體、生產該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之融合瘤及轉形株、該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法、包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷劑、使用該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷方法、以及包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之檢測或測定用試劑、用以製造抗CD3雙特異性抗體之對於CD3之親和力減弱的CD3結合域、用以抑制抗CD3雙特異性抗體之細胞激素產生誘導的對於CD3之親和力減弱之CD3結合域。

[解決問題之技術手段]

【0023】本發明係關於以下。

1.一種抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合有1個對於CD3之親和力減弱之CD3結合域，上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片

段還包含疾病相關抗原結合域。

2.一種抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合有1個CD3結合域，上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段還包含疾病相關抗原結合域，且於CD3陽性T細胞及疾病相關抗原陽性細胞之存在下，與使用抗CD3單株抗體SP34之抗CD3雙特異性抗體相比，細胞激素產生誘導能力低。

3.如上述1或2記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域對於CD3之解離常數(K_D)為6×10^{-8}以上。

4.如上述1至3中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域對於CD3之解離常數大於作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14。

5.如上述1至4中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14之CD3結合域之胺基酸序列具有90%以上之同源性，且與該抗CD3單株抗體SP34或KM14相比，對於CD3之親和力低10%以上。

6.如上述1至5中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含1或2個上述疾病相關抗原結合域。

7.如上述1至6中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域及上述疾病相關抗原結合域分別為選自scFv、Fab及VHH中之任一者。

8.如上述1至7中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域及/或上述疾病相關抗原結合域經由連接子

與上述Fc區結合。

9.如上述1至8中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域包含重鏈可變區(heavy chain variable region；簡稱為VH)及輕鏈可變區(light chain variable region；簡稱為VL)，上述重鏈可變區包含抗體重鏈之互補決定區(complementarity determining region；簡稱為CDR)1～3，上述輕鏈可變區包含抗體輕鏈之CDR1～3。

10.如上述1至9中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域為scFv。

11.如上述1至10中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域之VH之CDR1～3(HCDR1～3)及VL之CDR1～3(LCDR1～3)之胺基酸序列與選自下述(a)～(h)中之任一個HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列分別具有90%以上的同源性。

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

12.如上述1至11中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域之VH及VL之胺基酸序列與選自下述(aa)～(rr)中之任一個VH及VL之胺基酸序列分別具有80%以上之同源性。

(aa)包含序列編號124所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號125所表示之胺基酸序列之VL

(bb)包含序列編號115所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號116所表示之胺基酸序列之VL

(cc)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號126所表示之胺基酸序列之VL

(dd)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號127所表示之胺基酸序列之VL

(ee)包含序列編號128所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ff)包含序列編號129所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(gg)包含序列編號130所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(hh)包含序列編號131所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ii)包含序列編號159所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(jj)包含序列編號160所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(kk)包含序列編號161所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(ll)包含序列編號162所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(mm)包含序列編號168所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號180所表示之胺基酸序列之VL

(nn)包含序列編號169所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號181所表示之胺基酸序列之VL

(oo)包含序列編號170所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號182所表示之胺基酸序列之VL

(pp)包含序列編號171所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號183所表示之胺基酸序列之VL

(qq)包含序列編號172所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號184所表示之胺基酸序列之VL

(rr)包含序列編號173所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號185所表示之胺基酸序列之VL

13.如上述1至12中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性

抗體片段，其中上述CD3結合域之HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列係選自下述(a)～(h)中之任一者。

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

14.如上述1至13中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述CD3結合域之VH及VL之胺基酸序列係選自下述(aa)～(rr)中之任一者。

(aa)包含序列編號124所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號125所表示之胺基酸序列之VL

(bb)包含序列編號115所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號116所表示之胺基酸序列之VL

(cc)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號126所表示之胺基酸序列之VL

(dd)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號127所表示之胺基酸序列之VL

(ee)包含序列編號128所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ff)包含序列編號129所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(gg)包含序列編號130所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(hh)包含序列編號131所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ii)包含序列編號159所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(jj)包含序列編號160所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(kk)包含序列編號161所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(ll)包含序列編號162所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(mm)包含序列編號168所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號

180所表示之胺基酸序列之VL

(nn)包含序列編號169所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號181所表示之胺基酸序列之VL

(oo)包含序列編號170所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號182所表示之胺基酸序列之VL

(pp)包含序列編號171所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號183所表示之胺基酸序列之VL

(qq)包含序列編號172所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號184所表示之胺基酸序列之VL

(rr)包含序列編號173所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號185所表示之胺基酸序列之VL

15.如上述1至14中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述Fc區係與Fc受體之結合活性得到增強之Fc區。

16.如上述15記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述與Fc受體之結合活性得到增強之Fc區係包含胺基酸殘基改型及/或糖鏈改型之Fc區。

17.如上述15或16記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述與Fc受體之結合活性得到增強之Fc區係包含胺基酸殘基改型及糖鏈改型兩者之Fc區。

18.如上述16或17記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述胺基酸殘基改型係包含至少1個使與Fc受體之結合活性增強之胺基酸殘基改型者。

19.如上述16或17記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片

段，其中上述糖鏈改型係使以α1,6-鍵結於N結合型糖鏈之還原末端之N-乙醯葡萄糖胺上之岩藻糖缺損的糖鏈改型，上述N結合型糖鏈與Fc區之EU編號第297號之Asn結合。

20.如上述1至19中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含2個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且各Fab之重鏈(VH-CH1)之C末端直接與上述Fc區結合或經由連接子與上述Fc區結合。

21.如上述1至19中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含1個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且Fab之重鏈(VH-CH1)及輕鏈(VL-CL)之C末端直接與上述Fc區結合或經由連接子與上述Fc區結合。

22.如上述1至19或21中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含1個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且在與Fab之重鏈(VH-CH1)結合之側之Fc鏈上直接或經由連接子結合有上述CD3結合域。

23.如上述1至19或21中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含1個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且在與Fab之輕鏈(VL-CL)結合之側之Fc鏈上直接或經由連接子結合有上述CD3結合域。

24.如上述20至23中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述連接子為鉸鏈或其改型體。

25.一種DNA，其編碼如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

26.一種重組體載體，其含有如上述25記載之DNA。

27.一種轉形株，其係將如上述26記載之重組體載體導入宿主細胞中而獲得。

28.一種如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法，其特徵在於：將如上述27記載之轉形株於培養基中進行培養，於培養物中生產蓄積如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，自該培養物中採集該抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

29.一種與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之治療及/或診斷藥，其含有如上述1至24中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段作為有效成分。

30.如上述29記載之治療及/或診斷藥，其中與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病為癌症。

31.一種與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之治療及/或診斷方法，其使用如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

32.如上述31記載之治療及/或診斷方法，其中與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病為癌症。

33.如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其用以治療及/或診斷與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病。

34.如上述33記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病為癌症。

35.一種如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特

異性抗體片段之用途，其用以製造與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之治療及/或診斷劑。

36.如上述35記載之用途，其中與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病為癌症。

37.一種用以檢測或測定上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者之試劑，其包含如上述1至24中任一項記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

38.一種抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法，該抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區及疾病相關抗原結合域，該製造方法之特徵在於：使對於CD3之親和力減弱之CD3結合域與Fc區結合。

39.一種抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之細胞激素產生誘導之抑制方法，該抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區及疾病相關抗原結合域，該抑制方法之特徵在於：使用對於CD3之親和力減弱之CD3結合域。

40.如上述38或39記載之方法，其中上述CD3結合域對於CD3之解離常數(K_D)為6×10^{-8}以上。

41.如上述38至40中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域對於CD3之解離常數大於作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14。

42.如上述38至41中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14之CD3結合域之胺基酸序列具有90%以上之同源性，且與抗CD3抗體SP34或KM14相比，親和力低10%以上。

43.如上述38至42中任一項記載之方法，其中上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含1或2個疾病相關抗原結合域。

44.如上述38至43中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域及上述疾病相關抗原結合域分別為選自scFv、Fab及VHH中之任一者。

45.如上述38至44中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域及/或上述疾病相關抗原結合域經由連接子與Fc區結合。

46.如上述38至45中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域包含VH及VL，上述VH包含抗體重鏈之CDR1～3，上述VL包含抗體輕鏈之CDR1～3。

47.如上述38至46中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域為scFv。

48.如上述38至47中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域之VH之CDR1～3(HCDR1～3)及VL之CDR1～3(LCDR1～3)之胺基酸序列與選自下述(a)～(h)中之任一個HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列分別具有90%以上之同源性。

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1

～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

49.如上述38至48中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域之VH及VL之胺基酸序列與選自下述(aa)～(rr)中之任一個VH及VL之胺基酸序列分別具有80%以上之同源性。

(aa)包含序列編號124所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號125所表示之胺基酸序列之VL

(bb)包含序列編號115所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號116所表示之胺基酸序列之VL

(cc)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號126所表示之胺基酸序列之VL

(dd)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號127所表示之胺基酸序列之VL

(ee)包含序列編號128所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ff)包含序列編號129所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(gg)包含序列編號130所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號

93所表示之胺基酸序列之VL

(hh)包含序列編號131所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ii)包含序列編號159所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(jj)包含序列編號160所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(kk)包含序列編號161所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(ll)包含序列編號162所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(mm)包含序列編號168所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號180所表示之胺基酸序列之VL

(nn)包含序列編號169所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號181所表示之胺基酸序列之VL

(oo)包含序列編號170所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號182所表示之胺基酸序列之VL

(pp)包含序列編號171所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號183所表示之胺基酸序列之VL

(qq)包含序列編號172所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號184所表示之胺基酸序列之VL

(rr)包含序列編號173所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號185所表示之胺基酸序列之VL

50.如上述38至49中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域之HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列係選自下述(a)～(h)中之任一者。

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

51.如上述38至50中任一項記載之方法，其中上述CD3結合域之VH及VL之胺基酸序列係選自下述(aa)～(rr)中之任一者。

(aa)包含序列編號124所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號125所表示之胺基酸序列之VL

(bb)包含序列編號115所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號

116所表示之胺基酸序列之VL

(cc)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號126所表示之胺基酸序列之VL

(dd)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號127所表示之胺基酸序列之VL

(ee)包含序列編號128所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ff)包含序列編號129所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(gg)包含序列編號130所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(hh)包含序列編號131所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ii)包含序列編號159所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(jj)包含序列編號160所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(kk)包含序列編號161所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(ll)包含序列編號162所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(mm)包含序列編號168所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號180所表示之胺基酸序列之VL

(nn)包含序列編號169所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號181所表示之胺基酸序列之VL

(oo)包含序列編號170所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號182所表示之胺基酸序列之VL

(pp)包含序列編號171所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號183所表示之胺基酸序列之VL

(qq)包含序列編號172所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號184所表示之胺基酸序列之VL

(rr)包含序列編號173所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號185所表示之胺基酸序列之VL

52.如上述38至51中任一項記載之方法，其中上述Fc區係與Fc受體之結合活性得到增強之Fc區。

53.一種對於CD3之親和力減弱之CD3結合域，其用以製造包含Fc區及疾病相關抗原結合域之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

54.一種對於CD3之親和力減弱之CD3結合域，其用以抑制包含Fc區及疾病相關抗原結合域之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之細胞激素產生誘導。

55.一種對於CD3之親和力減弱之CD3結合域之用途，其用以製造包含Fc區及疾病相關抗原結合域之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

[發明之效果]

【0024】 本發明可提供一種包含與CD3結合之抗原結合域及與疾病相關抗原結合之抗原結合域之雙特異性抗體、該雙特異性抗體片段、編碼

該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之DNA、包含該DNA之載體、生產該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之融合瘤及轉形株、該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法、包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷劑、使用該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之治療及診斷方法、包含該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之檢測或測定用試劑、以及用以製造抗CD3雙特異性抗體之對於CD3之親和力減弱之CD3結合域、用以抑制抗CD3雙特異性抗體之細胞激素釋出之對於CD3之親和力減弱之CD3結合域。

【0025】 本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合有1個對於CD3之親和力減弱之CD3結合域，上述雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段進而包含疾病相關結合域，藉此具有由ADCC活性及ADTC活性(抗體依賴性T細胞介導之細胞毒殺活性、Antibody-dependent T-cell-mediated cytotoxicity)帶來之疾病相關抗原特異性細胞毒殺活性。因此，本發明之組合物可以與各種疾病相關之細胞所表現之抗原作為靶標而用於治療相關疾病。

【圖式簡單說明】

【0026】

圖1(A)～(C)係表示抗體醫藥品之分子型之模式圖。圖1(A)係一般之IgG抗體，圖1(B)係作為CD3/EpCAM雙特異性抗體之卡妥索單抗(Catumaxomab)，圖1(C)係作為雙特異性T細胞銜接器[BiTE(註冊商標)]之博納吐單抗(Blinatumomab)。

圖2(A)及(B)係表示圖2(A)IgG1型一價抗體及圖2(B)IgG4PE(R409K)

型一價抗體之分子型之模式圖、以及各分子型所包含之胺基酸改型部位。各一價抗體中將H鏈作為第一多肽，將輕鏈-Fc融合蛋白作為第二多肽。

圖3(A)及(B)係表示於圖3(A)IgG1型一價抗體或圖3(B)IgG4PE(R409K)型一價抗體之第1多肽(H鏈、VH-CH1-hinge-Fc)側Fc區之C末端附加抗CD3 scFv而成的雙特異性抗體分子之模式圖及胺基酸改型部位。

圖4係以經螢光標記之曲妥珠單抗之結合抑制作為指標，對IgG抗體、一價抗體及雙特異性抗體分子與細胞膜上之HER2之結合進行測定所得之結果。橫軸表示試驗抗體分子之濃度，縱軸表示細胞之平均螢光強度之相對值(%)。分子與HER2之結合力越高，藉由抑制經螢光標記之曲妥珠單抗之結合，縱軸之值越濃度依賴性地變小。

圖5係使用經螢光標記之二次抗體，對IgG抗體、一價抗體及雙特異性抗體分子與膜上之CD3之結合進行測定所得之結果。縱軸以對數軸表示細胞之平均螢光強度之相對值(將基準值設為1)。表示具有抗CD3 scFv之分子與T細胞結合。

圖6係藉由即時細胞分析裝置，測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示接著在孔上之細胞數越少，即，細胞毒殺活性越高。據顯示，與僅具有ADCC活性之抗體、僅具有ADTC活性之抗體相比，將其等各自半量進行混合時細胞毒殺活性變高。

圖7係藉由即時細胞分析裝置，測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。據顯示，

與將僅具有ADCC活性之抗體、僅具有ADTC活性之抗體各半量進行混合之情形相比，於在1分子中具有ADCC、ADTC這兩種活性之抗體時細胞毒殺活性變高。

圖8(A)～(E)係藉由即時細胞分析裝置，測定對於MCF-7細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。於僅具有ADCC活性之抗體、僅具有ADTC活性之抗體幾乎未顯示細胞毒殺活性之條件下，於1分子中具有ADCC、ADTC這兩種活性之抗體顯示較高之細胞毒殺活性。

圖9係以經螢光標記之曲妥珠單抗之結合抑制作為指標，對CD3/HER2雙特異性抗體分子與膜上之HER2之結合進行測定所得之結果。橫軸表示試驗抗體分子之濃度，縱軸表示細胞之平均螢光強度之相對值(基準值為1)。分子與HER2之結合力越高，藉由抑制經螢光標記之曲妥珠單抗之結合，縱軸之值越濃度依賴性地變小。據顯示，試驗分子之將Fc區之C末端側與抗CD3 scFv之N末端側結合之連接子部分有所不同，但與HER2之結合活性未產生變化。

圖10係使用經螢光標記之2次抗體，對IgG抗體、一價抗體及雙特異性抗體與分子膜上之CD3之結合進行測定所得之結果。縱軸以對數軸表示細胞之平均螢光強度之相對值(基準值為1)。據顯示，試驗分子之將Fc區之C末端側與抗CD3 scFv之N末端側結合之連接子部分有所不同，但與CD3之結合活性未產生較大變化。

圖11係藉由即時細胞分析裝置，測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體

之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。據顯示，試驗分子之將Fc區之C末端側與抗CD3 scFv之N末端側結合之連接子部分有所不同，但具有大致相同程度之細胞毒殺活性。

圖12係藉由即時細胞分析裝置，測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。據顯示，試驗分子之將Fc區之C末端側與抗CD3 scFv之N末端側結合之連接子部分有所不同，但具有大致相同程度之細胞毒殺活性。

圖13係藉由即時細胞分析裝置，測定對於MKN-7細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。

圖14係藉由即時細胞分析裝置，測定對於MKN-45細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。

圖15係以公知之抗CD3雙特異性抗體作為對照抗體，測定對照抗體(左列)及4D5_mvG1_scT3a(DF)(右列)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性及培養上清液中細胞激素濃度，將測定所得之結果繪製於同一圖上所得之結果的圖。於各圖中，橫軸表示試驗樣品濃度，左縱軸表示細胞毒殺活性(%)，右縱軸表示各細胞激素濃度(pg/mL)。細胞毒殺活性以黑色四邊形(■)及實線表示，細胞激素濃度以◇及虛線表示。

圖16(A)～(F)係表示為了驗證由組合ADCC活性與ADTC活性所帶來之細胞毒殺活性之協同上升而設計之分子型的圖。圖16(A)表示於一價抗體之第1多肽(H鏈)之Fc區之C末端結合有抗CD3 scFv的分子型，圖16(B)

表示於二價抗體之單側之重鏈的C末端結合有抗CD3 scFv之分子型，圖16(C)表示雖分子型與圖16(A)相同但具有附加有α1,6岩藻糖之糖鏈之分子型，圖16(D)表示於一價抗體之第2多肽(輕鏈-Fc融合蛋白、或VL-CL-hinge-Fc)之Fc區之C末端結合有抗CD3 scFv的分子型，圖16(E)表示癌抗原側Fab與抗CD3 scFv兩者均位於Fc區之N末端側之分子型，圖16(F)表示於一價抗體之第1、第2多肽各自之C末端上結合有各1個CD3 scFv之分子型。

圖17(A)及(B)係作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定癌抗原側為2價[圖17(A)]及1價[圖17(B)]之CD3/HER2雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得的結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。

圖18(A)及(B)係作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定癌抗原側為2價之CD3/GM2雙特異性抗體對於SBC-3細胞之細胞毒殺活性所得的結果。圖18(A)係癌抗原側可變區使用抗DNP抗體之陰性對照分子，圖18(B)係使用抗GM2抗體之分子。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性較高。

圖19(A)係表示作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定具有α1,6岩藻糖之CD3/HER2雙特異性抗體等對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。圖19(B)係表示將具有α1,6岩藻糖之抗CD3/HER2雙特異性抗體等對於BT-20細胞之細胞毒殺活性與不具有α1,6岩藻糖之CD3/HER2雙特異性抗體等進行比較所得之結果的圖。橫軸表示測定開始

後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性較高。

圖20(A)係表示作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定於一價抗體之第2多肽(輕鏈-Fc融合蛋白、或者VL-CL-hinge-Fc)之C末端結合有抗CD3 scFv之分子等對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。圖20(B)係表示將於第2多肽之C末端結合有抗CD3 scFv之分子等對於BT-20細胞之細胞毒殺活性與在一價抗體之第1多肽(VH-CH1-hinge-Fc)之C末端結合有抗CD3 scFv的分子進行比較所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。

圖21係表示作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定未與HER2結合之作為陰性對照之抗CD3雙特異性抗體、及HER2/CD3雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。Target＋PBMC表示無試驗樣品，0.5% TritonX-100表示100%毒殺活性。試驗樣品係於最終濃度50 nM、5 nM、0.5 nM這3種情形時進行測定。*及**由於測定值相近，故於下部表示各試驗樣品。

圖22A係表示作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定未與HER2結合之抗CD3雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。Target＋PBMC表示無試驗樣品，0.5% TritonX-100表示100%毒殺活性。可變區

4D5mut由於未與HER2結合，故於該測定中觀察到之細胞毒殺活性為非特異性活性。

圖22B係表示作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定未與HER2結合之抗CD3雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。Target＋PBMC表示無試驗樣品，0.5% Triton X-100表示100%毒殺活性。可變區4D5mut由於未與HER2結合，故於該測定中觀察到之細胞毒殺活性為非特異性活性。

圖22C係表示作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定未與HER2結合之抗CD3雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。Target＋PBMC表示無試驗樣品，0.5% Triton X-100表示100%毒殺活性。可變區4D5mut由於未與HER2結合，故於該測定中觀察到之細胞毒殺活性為非特異性活性。

圖22D係表示藉由表面電漿子共振(SPR)法，測定抗CD3雙特異性抗體對於人類CD3D＆E蛋白質之結合活性所得之感測器圖譜。將試驗抗體名與粗略之K_D值示於圖中。

圖22E係表示藉由表面電漿子共振(SPR)法，測定抗CD3雙特異性抗體對於人類CD3D＆E蛋白質之結合活性所得之感測器圖譜。將試驗抗體名與粗略之K_D值示於圖中。

圖22F係表示藉由表面電漿子共振(SPR)法，測定抗CD3雙特異性抗

體對於人類CD3D＆E蛋白質之結合活性所得之感測器圖譜。將試驗抗體名與粗略之K_D值示於圖中。

圖22G係放大圖22F之虛線部後所得之圖。

圖23(A)及(B)係作為分子型之驗證，藉由即時細胞分析裝置，測定未與HER2結合之2種抗CD3雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。可變區4D5mut、DNP2由於均未與HER2結合，故於該測定中觀察到之細胞毒殺活性為非特異性活性。

圖24A係測定使用高親和力之抗CD3 scFv之抗CD3/HER2或陰性對照雙特異性抗體的細胞毒殺活性所得之圖。藉由即時細胞分析裝置，測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。

圖24B係測定使用高親和力之抗CD3 scFv之抗CD3/HER2或陰性對照雙特異性抗體的非特異性細胞激素產生所得之圖。測定將人類PBMC與試驗抗體混合之情形時之細胞激素產生。橫軸表示試驗抗體濃度，縱軸表示培養上清液中細胞激素濃度。凡例及縮寫係示於圖之下部。

圖25(A)及(B)係表示供導入抗CD3單株抗體純系SP34之CDR之胺基酸改型的設計例。圖25(A)表示向抗CD3單株抗體純系SP34之VL之CDR或VH之CDR導入1個胺基酸之改型的設計。表之最左欄表示改型之序號，左數第二欄以單字母表示經改型之殘基之基於Kabat編號之胺基酸殘基編號及胺基酸殘基改型前後的胺基酸殘基。表中之各CDR之胺基酸序列

之以粗體表示的胺基酸殘基表示改型後之胺基酸殘基。圖25(B)表示於抗CD3單株抗體純系SP34之CDR中組合2個以上之CDR改型殘基的例。

圖26(A)及(C)係關於VL，表示使用抗CD3單株抗體純系SP34之經改型之CDR的人類化抗體之FR序列之設計例者。圖26(B)及(D)係關於VH，表示使用抗CD3單株抗體純系SP34之經改型之CDR的人類化抗體之FR序列之設計例者。

圖27係表示藉由表面電漿子共振(SPR)法，測定使用抗CD3單株抗體純系SP34之CDR改型體之CD3/HER2雙特異性抗體的結合活性所得之結果。自左列起表示試驗雙特異性抗體名、突變導入部位、測定時之循環數、ka($M^{-1}s^{-1}$)、kd(s^{-1})、K_D(M)。突變列之“-”表示未導入突變，“Protein not obtained”表示無法以純化蛋白質之形式取得試驗雙特異性抗體。

圖28(A)～(C)係藉由即時細胞分析裝置，測定使用抗CD3單株抗體純系SP34之CDR改型體之CD3/HER2雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果的圖。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性較高。Target＋PBMC表示無試驗樣品，0.5% Triton X-100表示100%毒殺活性。將圖28(A)之由四邊形框包圍之部分放大所得者係圖28(B)及圖28(C)，圖28(B)中表示4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)之活性並與圖中其他抗體群比較，圖28(C)中表示4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之活性並與圖中其他抗體群。

圖29(A)～(D)係測定CD3/HER2雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺時之細胞激素產生所得之結果的圖，上述CD3/HER2雙特異性抗體使

用抗CD3單株抗體純系SP34之CDR改型體。表示藉由流式細胞分析測定培養上清液中細胞激素濃度(IL-2、IL-6、IFN-γ、TNF-α)所得之結果。縱軸表示細胞激素濃度(pg/mL)，橫軸表示抗體濃度(nM)。

圖30係測定使用抗CD3單株抗體純系SP34之CDR改型體之CD3/HER2雙特異性抗體的非特異性細胞激素產生(IL-2、IL-6、IFN-γ、TNF-α)所得之結果之圖。媒介表示僅添加有PBMC與培養基者，媒劑表示添加有等量之溶解有試驗樣品之緩衝液(檸檬酸緩衝液)者。縱軸表示細胞激素濃度(pg/mL)，橫軸表示抗體之種類及濃度(μg/mL)。圖中之試驗樣品名係以簡稱表示，對應係示於下部。

圖31係表示供導入抗CD3單株抗體純系KM14之CDR之胺基酸改型的設計例。圖之上部表示向VL之CDR導入之改型，下部表示向VH之CDR導入之改型。表之左側表示改型之序號，其右側表示經改型之殘基之基於Kabat編號之胺基酸殘基的編號。以粗體表示之殘基表示經改型之殘基。

圖32係於表中表示藉由Biacore，測定具有對抗CD3單株抗體純系KM14進行改型所得之序列作為抗CD3 sc Fv之雙特異性抗體對於人類CD3蛋白質的結合活性所得之結果[KD(M) Biacore]；藉由即時細胞分析裝置，測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果(Specific cytotoxicity)。細胞毒殺活性之「＋」之數表示活性強度。

圖33(A)及(B)係藉由即時細胞分析裝置，測定具有對抗CD3單株抗體純系KM14進行改型所得之序列作為抗CD3 scFv之雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得之結果。橫軸表示測定開始後之時間(h)，縱軸表示添加有試驗抗體之孔之細胞指數值。細胞指數值越低，表示細胞毒殺活性越高。T＋P係表示無試驗樣品之孔之線，0.5% TritonX-100係表

示100%毒殺之線。圖33(A)及圖33(B)係雖於相同條件下進行之實驗，但係於不同測定用培養板上所測得之結果。

圖34(A)及(B)係藉由流式細胞分析，測定具有對抗CD3單株抗體純系KM14進行改型所得之序列作為抗CD3 scFv之雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺時的細胞激素產生量所得之結果。試驗樣品之濃度為10 nM，圖34(A)中表示INF-γ於培養上清液中之濃度，圖34(B)中表示IL-6於培養上清液中之濃度。LLOQ表示套組中所規定之定量極限值。

圖35(A)及(B)係藉由即時細胞分析裝置，測定具有純系KM14經改型之序列作為抗CD3 scFv之雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性所得的結果。將未添加試驗樣品之孔之細胞指數值設為0%，將添加有0.5% TritonX-100之孔之細胞指數值設為100%，計算特定時間之細胞毒殺活性並進行表示。圖35(A)、圖35(B)分別為添加試驗樣品後48、120小時後的細胞毒殺活性。縱軸表示細胞毒殺活性(%)，橫軸表示各抗體之種類。

圖36(A)～(C)係表示CD3/CCR4雙特異性抗體等對於PEER細胞之濃度依賴性細胞毒殺活性的圖。縱軸表示細胞毒殺活性(%)，橫軸表示抗體濃度(nM)。

圖37(A)及(B)係表示CD3/CCR4雙特異性抗體等對於PEER細胞之細胞毒殺時之濃度依賴性之培養上清液中細胞激素(IL-2及IFN-γ)濃度的圖。縱軸表示細胞激素濃度(pg/mL)，橫軸表示抗體濃度(nM)。

圖38(A)及(B)係 圖38(A)表 示CD3/CD123雙 特 異 性 抗 體 對 於MOLM13細胞之濃度依賴性細胞毒殺活性，圖38(B)表示此時培養上清液中細胞激素濃度。縱軸表示細胞毒殺活性(%)，橫軸表示抗體濃度(nM)。

圖39(A)及(B)係表示CD3/CD123雙特異性抗體之濃度依賴性細胞毒

殺活性及此時之培養上清液中細胞激素濃度之圖。圖39(A)表示對於MOLM13細胞之細胞毒殺活性，圖39(B)表示同抗體對於OCI-AML3細胞之細胞毒殺活性。縱軸表示細胞毒殺活性(%)，橫軸表示抗體濃度(nM)。

圖40(A)～(D)係表示CD3/CD123雙特異性抗體之細胞毒殺時之濃度依賴性培養上清液中細胞激素濃度的圖。圖40(A)表示對於MOLM13細胞之細胞毒殺時之培養上清液中之IL-2濃度，圖40(B)表示IFN-γ濃度。圖40(C)表示同抗體對於OCI-AML3細胞之細胞毒殺時之培養上清液中的IL-2濃度，圖40(D)表示IFN-γ濃度。縱軸表示細胞激素濃度(pg/mL)，橫軸表示抗體濃度(nM)。

圖41(A)～(C)係藉由流式細胞分析，測定具有對抗CD3單株抗體純系KM14進行改型所得之序列作為抗CD3 scFv之雙特異性抗體對於BT-20細胞的細胞毒殺活性[圖41(A)]、及細胞毒殺時之細胞激素產生量所得的結果[圖41(B)及(C)]。圖41(A)之縱軸表示雙特異性抗體之名稱，橫軸表示細胞毒殺活性(%)。圖41(B)及(C)之縱軸表示雙特異性抗體之名稱，橫軸表示細胞激素濃度(pg/mL)。圖41(B)表示INF-γ於培養上清液中之濃度，圖41(C)表示IL-6於培養上清液中之濃度。LLOQ表示套組中所規定之定量極限值。

圖42係將出於提高雙特異性抗體之生產性及物理化學穩定性之目的，向CH3區及抗CD3 scFv導入之胺基酸改型的設計例及結構上之位置進行圖示者。

圖43係關於出於提高生產性及物理化學穩定性之目的而設計之向抗CD3雙特異性抗體導入的改型，逐個要素地例舉CH3部分之改型、scFv純系、scFv之VH與VL之順序、及導入scFv之胺基酸改型的圖。

圖44係表示藉由表面電漿子共振(SPR)法，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於可溶型CD3之結合活性所得之結果的圖。自左列起表示試驗雙特異性抗體名、KD(M)。

圖45A係表示測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺活性所得之結果之圖。將未添加試驗樣品之孔之活性值設為0%，將添加有0.5% TritonX-100之孔之活性值設為100%，表示48小時後之細胞毒殺活性。縱軸表示細胞毒殺活性(%)，橫軸表示各雙特異性抗體。

圖45B係表示測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺活性所得之結果之圖。將未添加試驗樣品之孔之活性值設為0%，將添加有0.5% TritonX-100之孔之活性值設為100%，表示48小時後之細胞毒殺活性。縱軸表示各雙特異性抗體，橫軸表示細胞毒殺活性(%)。

圖45C係測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺活性所得之結果。將未添加試驗樣品之孔之活性值設為0%，將添加有0.5% TritonX-100之孔之活性值設為100%，表示48小時後之細胞毒殺活性。縱軸表示各雙特異性抗體，橫軸表示細胞毒殺活性(%)。

圖45D係測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv

為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺活性所得之結果。將未添加試驗樣品之孔之活性值設為0%，將添加有0.5% TritonX-100之孔之活性值設為100%，表示48小時後之細胞毒殺活性。縱軸表示各雙特異性抗體，橫軸表示細胞毒殺活性(%)。

圖46A係藉由流式細胞分析，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺時之細胞激素產生量所得之結果。圖46(A)表示INF-γ於培養上清液中之濃度。

圖46B係藉由流式細胞分析，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺時之細胞激素產生量所得之結果。圖46(B)表示IL-6於培養上清液中之濃度。

圖46C係藉由流式細胞分析，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺時之細胞激素產生量所得之結果。圖46(C)表示INF-γ於培養上清液中之濃度。

圖46D係藉由流式細胞分析，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺時之細胞激素產生量所得之結果。圖46(D)表示IL-6於培養上清液中之濃度。

圖46E係藉由流式細胞分析，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv

導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺時之細胞激素產生量所得之結果。圖46(E)表示INF-γ於培養上清液中之濃度。

圖46F係藉由流式細胞分析，測定向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體對於BT-20的細胞毒殺時之細胞激素產生量所得之結果。圖46(F)表示IL-6於培養上清液中之濃度。

【實施方式】

【0027】 本發明係關於一種包含與CD3結合之抗原結合域及與疾病相關抗原結合之抗原結合域的雙特異性抗體、或該雙特異性抗體片段(以下，亦記載為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段)。

【0028】 作為本發明之雙特異性抗體，可例舉：包含對於CD3之親和力減弱之CD3結合域之雙特異性抗體、包含與CD3結合之抗原結合域及與疾病相關抗原結合之抗原結合域之雙特異性抗體、包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區且包含對於CD3之親和力減弱之CD3結合域及與疾病相關抗原結合之抗原結合域的雙特異性抗體、包含對於Fc受體之親和力得到增強之Fc區且包含對於CD3之親和力減弱之CD3結合域及與疾病相關抗原結合之抗原結合域的雙特異性抗體等。本發明之雙特異性抗體由於與CD3及疾病相關抗原兩者結合而不會引起過度之細胞激素產生，可T細胞及/或NK細胞依賴性地毒殺表現疾病相關抗原的細胞。

【0029】 本發明中之CD3可以與CD3E、T3E、T細胞表面糖蛋白CD3 ε鏈相同之含義來使用。作為CD3，例如可例舉：包含NCBI(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)中基因庫寄存編號NP_000724.1或序列編號138所示之胺基酸序列的人類CD3、及包含基因庫寄存編號

NP_001270544.1或序列編號139所示之胺基酸序列的猴CD3等。又，例如可例舉：包含於序列編號138、基因庫寄存編號NP_000724.1、序列編號139、或基因庫寄存編號NP_001270544.1所示之胺基酸序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之胺基酸序列且具有CD3之功能的多肽。

【0030】本發明之CD3亦包含如下多肽：包含與序列編號138、基因庫寄存編號NP_000724.1、序列編號139、或基因庫寄存編號NP_001270544.1所示之胺基酸序列具有通常70%以上、較佳為80%以上、進而較佳為90%以上之同源性之胺基酸序列的多肽；最佳為包含具有95%以上、96%以上、97%以上、98%以上及99%以上之同源性之胺基酸序列且具有CD3之功能的多肽。

【0031】關於具有於序列編號138、基因庫寄存編號NP_000724.1或序列編號139、基因庫寄存編號NP_001270544.1所示之胺基酸序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸殘基而成之胺基酸序列的多肽，可藉由使用定點突變導入法[Molecular Cloning,A Laboratory Manual,Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)、Nucleic Acids Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431(1985)、Proceeding of the National Academy of Sciences in USA, 82, 488 (1985)]等，對例如編碼序列編號138、基因庫寄存編號NP_000724.1或序列編號139、基因庫寄存編號NP_001270544.1所示之胺基酸序列之DNA導入定點突變而獲得。缺失、置換或附加之胺基酸之數量並無特別限定，較佳為1個～數十個、例如1～20個、更佳為1個～數

個、例如1～5個胺基酸。

【0032】 作為編碼CD3之基因，例如可例舉：序列編號141或基因庫寄存編號NM_000733.3所示之人類CD3之鹼基序列、及序列編號142或基因庫寄存編號NM_001283615.1所示之人類CD3之鹼基序列等。

【0033】 又，例如本發明之編碼CD3之基因亦包含：

含有編碼如下多肽之DNA之基因，該多肽包含於序列編號141、基因庫寄存編號NM_000733.3或序列編號142、基因庫寄存編號NM_001283615.1所示之鹼基序列中缺失、置換或附加1個以上之鹼基而成之鹼基序列且具有CD3之功能；

含有編碼如下多肽之DNA之基因，該多肽包含與序列編號141、基因庫寄存編號NM_000733.3或序列編號142、基因庫寄存編號NM_001283615.1所示之鹼基序列具有較佳為60%以上之同源性之鹼基序列、更佳為具有80%以上之同源性之鹼基序列、進而較佳為具有95%以上之同源性之鹼基序列，且具有CD3之功能；以及

含有編碼如下多肽之DNA之基因，該多肽包含：在嚴格條件下與包含序列編號141、基因庫寄存編號NM_000733.3或序列編號142、基因庫寄存編號NM_001283615.1所示之鹼基序列之DNA進行雜交之DNA，且具有CD3之功能；等。

【0034】 作為在嚴格條件下進行雜交之DNA，係指藉由如下方法所獲得之能夠雜交之DNA：例如將具有序列編號141、基因庫寄存編號NM_000733.3或序列編號142、基因庫寄存編號NM_001283615.1所示之鹼基序列的DNA用於探針之菌落雜交法、噬菌斑雜交法、南方墨點雜交法、或DNA微陣列法等。

【0035】 具體而言，可例舉藉由進行如下操作而能夠鑑定之DNA，即，使用固定有源自經雜交之菌落或噬菌斑之DNA、或者具有該序列之PCR產物或寡DNA的過濾器或載玻片，於0.7～1.0 mol/L之氯化鈉存在下，於65℃下進行雜交[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University (1995)]後，使用0.1～2倍濃度之SSC溶液(1倍濃度之SSC溶液之組成包含：150 mmol/L氯化鈉、15 mmol/L檸檬酸鈉)，於65℃條件下將過濾器或載玻片洗淨，藉此能夠進行鑑定。作為能夠雜交之DNA，例如可例舉：與序列編號141、基因庫寄存編號NM_000733.3或序列編號142、基因庫寄存編號NM_001283615.1所示之鹼基序列具有較佳為60%以上之同源性之DNA、更佳為具有80%以上之同源性之DNA、進而較佳為具有95%以上之同源性之DNA。

【0036】 關於編碼真核生物之蛋白質之基因的鹼基序列，經常可見基因之多態性。本發明之編碼CD3之基因中亦包括本發明中所使用之基因中因此種多態性而於鹼基序列中產生小規模突變而成之基因。

【0037】 關於本發明中之同源性之數值，除特別標明之情形以外，可為使用業者公知之同源性檢索程式所算出之數值，關於鹼基序列，可例舉BLAST[J. Mol. Biol., 215, 403 (1990)]中使用預設之參數所算出之數值等，關於胺基酸序列，可例舉BLAST2[Nucleic Acids Res.,25, 3389 (1997)、Genome Res., 7, 649 (1997)、http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Education/BLASTinfo/information3.html]

中使用預設之參數所算出之數值等。

【0038】 作為預設之參數，G(起始空位罰分(Cost to open gap))於鹼基序列之情形時為5，於胺基酸序列之情形時為11，-E(空位延伸罰分(Cost to extend gap))於鹼基序列之情形時為2，於胺基酸序列之情形時為1，-q(核苷酸錯配罰分(Penalty for nucleotide mismatch))為-3，-r(核苷酸匹配獎分(reward for nucleotide match))為1，-e(期望值(expect value))為10，-W(序列長度(wordsize))於鹼基序列之情形時為11個殘基，於胺基酸序列之情形時為3個殘基，-y[以位數表示之非空位延伸下降值(X)(Dropoff(X)for blast extensions in bits)]於blastn之情形時為20，於blastn以外之程式中為7，-X(以位數表示之空位比對下降值X(X dropoff value for gapped alignment in bits))為15，且-Z(以位數表示之最終空位比對下降值X(final X dropoff value for gapped alignment in bits))於blastn之情形時為50，於blastn以外之程式中為25(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/html/blastcgihelp.html)。

【0039】 包含CD3之胺基酸序列之部分序列之多肽可藉由業者公知之方法進行製作，例如包含CD3之部分序列之多肽可藉由如下方式進行製作：使編碼序列編號138、基因庫寄存編號NP_000724.1或序列編號139、基因庫寄存編號NP_001270544.1所示之胺基酸序列的DNA之一部分缺失，導入包含該DNA之表現載體而獲得轉形體，將該轉形體進行培養。

【0040】 又，基於藉由上述方法所製作之多肽或DNA，並利用與上述相同之方法，例如可獲得如下多肽，其具有於序列編號138、基因庫寄存編號NP_000724.1或序列編號139、基因庫寄存編號NP_001270544.1所示之胺基酸序列之部分序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之

胺基酸序列。

【0041】進而，包含CD3之胺基酸序列之部分序列之多肽、或具有於CD3之胺基酸序列之部分序列中缺失、置換或附加1個以上之胺基酸而成之胺基酸序列的多肽亦可藉由芴基甲氧基羰基(Fmoc)法、第三丁氧基羰基(tBoc)法等化學合成法進行製造。

【0042】作為本發明中之CD3之細胞外區，例如可例舉：使用公知之跨膜區預測程式SOSUI(http://sosui.proteome.bio.tuat.ac.jp/sosuiframe0.html)、TMHMM ver.2(http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM-2.0/)或ExPASy Proteomics Server(http://Ca.expasy.org/)等對基因庫寄存編號NP_000724.1所示之人類CD3的胺基酸序列所預測出之區域等。具體而言，作為CD3之細胞外區，可例舉：序列編號140或基因庫寄存編號NP_000724.1之第22號～第126號所示之胺基酸序列。

【0043】作為CD3之功能，可例舉：與T細胞受體(TCR)直接締合而形成蛋白質複合體之次單元結構，識別與主要組織相容性基因複合體(MHC)結合之抗原肽，並參與細胞內之訊息傳遞。表現CD3之細胞例如可例舉：T細胞、NKT細胞、γδT細胞、及其等之前驅細胞、或成熟胸腺細胞。

【0044】本發明中之疾病相關抗原只要為與癌症、免疫性疾病、過敏性疾病、自體免疫性疾病、中樞神經系統疾病、或循環系統疾病等各種疾病相關的抗原，則可為任一種抗原，例如可例舉：細胞激素、趨化因子、生長因子及該受體以及白細胞分化抗原(以下記載為CD)抗原等。

【0045】作為細胞激素或生長因子之受體，例如可例舉：干擾素(以下記為IFN)-α、IFN-β、IFN-γ之受體；介白素(以下記為IL)-2、IL-3、

IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-12、IL-13、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、IL-23、IL-27之受體；粒細胞菌落刺激因子(G-CSF)之受體；粒細胞/巨噬細胞菌落刺激因子(GM-CSF)之受體；或巨噬細胞菌落刺激因子(M-CSF)之受體等

【0046】作為趨化因子受體，例如可例舉：針對SLC、ELC、I-309、TARC、MDC、MIP-3α、CTACK之受體。

【0047】作為生長因子之受體，例如可例舉：表皮生長因子(EGF)之受體、血管內皮生長因子(VEGF)之受體、血管生長素之受體、纖維母細胞生長因子(FGF)之受體、肝細胞生長因子(HGF)之受體、血小板衍生生長因子(PDGF)之受體、似胰島素生長因子(IGF)之受體、紅血球生成素(EPO)之受體、TGFβ之受體、Iephrin之受體、血管生長素之受體、Frizzled ligand之受體、SDF-1之受體等。

【0048】作為CD抗原，可例舉：CD1a、CD1c(BDCA1)、CD1d、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD7、CD8、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD14、CD16、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD23、CD24、CD25、CD26(DPP-4)、CD27、CD28、CD30、CD32、CD34、CD37、CD38、CD39、CD40、CD43、CD44、CD45、CD47、CD49、CD51、CD52、CD53、CD54、CD55、CD56、CD57、CD59、CD62E、CD62L、CD62P、CD64、CD66a(CEACAM1)、CD66b(NCA-95)、CD66c(NCA-50/90)、CD66d(CGM1)、CD66e(CEA)、CD66f(PSG)、CD68、CD69、CD70、CD72、CD73、CD74、CD75、CD76、CD77、CD78、CD79a、CD79b、CD80(B7.1)、CD81、CD82、CD83、CD84(SLAMF5)、CD85a(ILT-5)、CD85b(ILT8)、CD85c(LIR8)、

CD85d(ILT4)、CD85f(ILT11)、CD85g(ILT7)、CD85h(ILT1)、CD85i(LIR6a)、CD85j(ILT2)、CD85k(ILT3)、CD85m(ILT10)、CD86(B7.2)、CD87、CD89、CD94(NKG2)、CD95(Fas)、CD98、CD103、CD107a(LAMP1)、CD114(G-CSFR)、CD115(M-CSFR)、CD116(GM-CSFR)、CD117(SCF-R)、CD119(IFNGR1)、CD121a(IL-1R1)、CD122(IL-2Rb)、CD123(IL-3Ra)、CD124(IL-4Ra)、CD125(IL-5Ra)、CD126(IL-6Ra)、CD127(IL-7Ra)、CD134(OX40)、CD135(FLT3)、CD137(4-1BB)、CD138(Syndecan-1)、CD140(PDGFR)、CD146(MUC18)、CD147(EMMRRIN)、CD152(CTLA-4)、CD158a(KIR2DL1)、CD158b1(KIR2DL2)、CD158b2(KIR2DL3)、CD158c(KIR2DS6)、CD158d(KIR2DL4)、CD158e1(KIR3DL1)、CD158e2(KIR3DS1)、CD158f(KIR2DL5)、CD158g(KIR2DS5)、CD158h(KIR2DS1)、CD158i(KIR2DS4)、CD158j(KIR2DS2)、CD158k(KIR3DL2)、CD159a(NKG2A)、CD159c(NKG2C)、CD161(NKRP1A)、CD162(PSGL-1)、CD163、CD169(SIGLEC1)、CD178(FasL)、CD183(CXCR3)、CD184(CXCR4)、CD185(CXCR5)、CD191(CCR1)、CD193(CCR3)、CD194(CCR4)、CD195(CCR5)、CD196(CCR6)、CD197(CCR7)、CD198(CCR8)、CD199(CCR9)、CD200(OX2)、CD206(MMR)、CD207(Langerin)，CD209(DC-SIGN)、CD212(IL-12Rβ1)、CD213a1(IL-13Ra1)、CD213a2(IL-13Ra2)、CD215(IL-15RA)、CD217(IL-17R)、CD218a(IL-18Ra)、CD218b(IL-18Rβ)、CD223(LAG3)、CD226(DNAM-1)、CD229(SLAMF3)、CD252(OX40L)、CD269(BCMA)、CD272(BTLA)、CD274(PD-L1)、

CD276(B7H3)、CD278(ICOS)、CD279(PD-1)、CD281(TLR1)、CD282(TLR2)、CD283(TLR3)、CD284(TLR4)、CD286(TLR6)、CD288(TLR8)、CD289(TLR9)、CD294(CRTH2)、CD301(MGL)、CD302(DCL1)、CD303(BDCA2)、CD304(BDCA4)、CD317(BST2)、CD324(E-cadherin)、CD326(EpCAM)、CD357(GITR)、CD358(DR6)、CD360(IL-21R)、CD365(TIM-1)、CD366(TIM-3)、CD369(DECTIN-1)、CD370(CLEC9A)、人白血球抗原(HLA)-Class II及HLA-I等。

【0049】 此外，作為與癌症、免疫性疾病、過敏性疾病、自體免疫性疾病、中樞神經系統或循環系統疾病等相關之抗體之抗原，例如可列舉：神經節苷脂GM1、GM2、GD2、GD3、Lewis X、Lewis Y、蛋白多糖-3、緊密連接蛋白、ASCT-2、CD3、CD4、CD40、CD40配體、B7家族分子(例如CD80、CD86、CD274、B7-DC、B7-H2、B7-H3或B7-H4)、B7家族分子之配體(例如CD28、CTLA-4、ICOS、PD-1或BTLA)、OX-40、OX-40配體、CD137、腫瘤壞死因子(TNF)受體家族分子(例如DR3、DR4、DR5、BAFFR、LIGHT、TNFR1或TNFR2)、可溶性腫瘤壞死因子相關凋亡誘導配體(TRAIL)家族分子、TRAIL家族分子之受體家族(例如TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3或TRAIL-R4)、核因子κB受體活化因子配體(RANK)、RANK配體、CD25、葉酸受體、間皮素、SIGLEC8、細胞激素・趨化因子受體[例如，IL-1RII、IL-12Rβ2、IL-17RB、IL-23R、IL-27Rα、IL-31R、IL-33Rα、IL-36R、轉型生長因子(TGF)βRII、CCR2、CCR10、CXCR1、CXCR2]、NK細胞受體(例如，NKG2D、E4BP4、NKp30、NKp44、NKp46、AhR)、T細胞受體(例如TCRα/β、TCR Vβ11、TCRγ/δ、TSLPR、SLAM、SLAMF6、LAP，

GARP、SR-A1、CD200R、DCR3、TIGIT)、B細胞受體(例如BLYS、APRIL、TSLPR)、樹狀細胞受體(例如FCER1A、TLR7、CADM1、XCR1、BTLA、SIRPA、DCIR、TROP2、AXL、SIGLEC6、SIGLEC15、CX3CR1、S100A8、S100A9、ASGR1)等。

【0050】 本發明之抗體係指源自編碼構成免疫球蛋白之重鏈之可變區及重鏈之恆定區、以及輕鏈之可變區及輕鏈之恆定區的全部或一部分之基因(稱為「抗體基因」)的蛋白質。本發明之抗體亦包括具有任一免疫球蛋白類別及亞型之抗體或抗體片段。

【0051】 重鏈(H鏈)係指構成免疫球蛋白分子之2種多肽中分子量較大之多肽。重鏈係決定抗體之類別與亞型。IgA、IgD、IgE、IgG及IgM之特徵在於：分別具有α鏈、δ鏈、ε鏈、γ鏈及μ鏈作為重鏈，且重鏈之恆定區為不同之胺基酸序列。輕鏈(L鏈)係指構成免疫球蛋白分子之2種多肽中分子量較小之多肽。於人類抗體之情形時，輕鏈存在κ鏈與λ鏈這2種。

【0052】 可變區(V區)通常係指免疫球蛋白之N末端側之胺基酸序列內所存在之富有多樣性的區域。可變區以外之部分由於採用多樣性較少之結構，故稱為恆定區(C區)。重鏈與輕鏈之各可變區締合而形成抗原結合部位，並決定抗體對抗原之結合特性。

【0053】 於人類抗體之重鏈中，可變區相當於Kabat等人之EU索引(Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 1991 Fifth edition)中之第1號直至第117號之胺基酸序列，恆定區相當於第118號以後之胺基酸序列。於人類抗體之輕鏈中，Kabat等人所編號(Kabat編號)之第1號直至第107號之胺基酸序列相當於可變區，第108號以後之胺基酸序列相當於恆定區。以下，將重鏈可變區或輕鏈可變區簡記為VH或VL。

【0054】 抗原結合部位係抗體中識別抗原並進行結合之部位，且係指與抗原決定基(表位)形成互補立體結構之部位。抗原結合部位在與抗原決定基之間產生較強之分子間相互作用。抗原結合部位係由包含至少3個互補決定區(CDR)之VH及VL所構成。於人類抗體之情形時，VH及VL分別具有3個CDR。將該等CDR自N末端側起依序分別稱為CDR1、CDR2及CDR3。

【0055】 恆定區中，重鏈恆定區或輕鏈恆定區分別記載為CH或CL。CH係根據作為重鏈之亞型之α鏈、δ鏈、ε鏈、γ鏈及μ鏈來分類。CH係由自N末端側依序排列之CH1區、鉸鏈區、CH2區、CH3區所構成，將CH2區與CH3區一併稱為Fc區。另一方面，CL係分為稱為Cλ鏈及Cκ鏈之2個亞型。

【0056】 本發明之抗CD3抗體係指特異性地識別CD3之細胞外區且進行結合之單株抗體。又，本發明之抗體亦包括多株抗體及寡株抗體。

【0057】 本發明中，例如可藉由如下方法來確認雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段與CD3或疾病相關抗原結合，即，使用公知之免疫學檢測法，較佳為使用螢光細胞染色法等來確認表現CD3或疾病相關抗原之細胞與抗體之結合性。又，亦可將公知之免疫學檢測法[Monoclonal Antibodies - Principles and Practice, Third Edition, Academic Press(1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory(1988)、單純系抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]等加以組合來使用。

【0058】 單株抗體係保持單一性(monoclonality)之抗體產生細胞所分泌之抗體，且識別單一之表位(亦稱為抗原決定基)。單株抗體分子彼此

具有一致之胺基酸序列(1次結構)且採用單一之結構。多株抗體係指不同純系之抗體產生細胞所分泌之抗體分子之集群。寡株抗體係指將複數個不同之單株抗體混合而成之抗體分子之集群。

【0059】 表位係抗體所識別並結合之抗原之結構部位。作為表位，例如可例舉：單株抗體所識別並結合之單一胺基酸序列、包含胺基酸序列之立體結構、結合有糖鏈之胺基酸序列及包含結合有糖鏈之胺基酸序列之立體結構等。

【0060】 作為本發明之單株抗體，可例舉：由融合瘤產生之抗體、及由經包含抗體基因之表現載體轉形而成之轉形體產生之基因重組抗體。

【0061】 融合瘤例如可藉由如下方式進行製備：製備抗原，自經該抗原免疫之動物取得具有抗原特異性之抗體產生細胞，進而使該抗體產生細胞與骨髓瘤細胞融合，從而製備融合瘤。培養該融合瘤、或者將該融合瘤投予至動物中並使該融合瘤腹水癌化，對該培養液或腹水進行分離、純化，藉此可取得所需之單株抗體。作為用抗原進行免疫之動物，只要能夠製作融合瘤，則可使用任何動物，適宜使用小鼠、大鼠、倉鼠及兔等。又，亦可自此種被免疫動物取得具有抗體產生能力之細胞，於在活體外對該細胞實施免疫後，使之與骨髓瘤細胞融合而製作融合瘤。

【0062】 作為本發明之基因重組抗體，例如可例舉：重組小鼠抗體、重組大鼠抗體、重組倉鼠抗體、重組兔抗體、人型嵌合抗體(亦稱為嵌合抗體)、人類化抗體(亦稱為CDR移植抗體)及人類抗體等藉由基因重組技術所製造之抗體。基因重組抗體中，可視作為對象之動物種類或目的來決定應用源自何種動物種類之重鏈及輕鏈之可變區以及恆定區。例如於作為對象之動物種類為人類之情形時，可將可變區設為源自人類或小鼠等

非人類動物，將恆定區及連接子設為源自人類。

【0063】 嵌合抗體係指包含人類以外之動物(非人類動物)之抗體之VH及VL、與人類抗體之CH及CL的抗體。作為非人類動物，只要能夠製作融合瘤，則可使用任何動物，例如小鼠、大鼠、倉鼠及兔等。嵌合抗體可藉由如下方式製造：自產生單株抗體之源自非人類動物之融合瘤取得編碼VH及VL之cDNA，分別插入至具有編碼人類抗體之CH及CL之DNA的動物細胞用表現載體中而構建嵌合抗體表現載體，導入至動物細胞使之表現。

【0064】 人類化抗體係指將非人類動物抗體之VH及VL之CDR移植至人類抗體之VH及VL所對應之CDR所得的抗體。VH及VL之CDR以外之區域稱為架構區(以下，記載為FR)。人類化抗體可藉由如下方式製造：構建編碼包含非人類動物抗體之VH之CDR之胺基酸序列、與任意之人類抗體之VH之FR之胺基酸序列的VH之胺基酸序列之cDNA、及編碼包含非人類動物抗體之VL之CDR之胺基酸序列、與任意之人類抗體之VL之FR之胺基酸序列的VL之胺基酸序列之cDNA，分別插入至具有編碼人類抗體之CH及CL之DNA之動物細胞用表現載體中而構建人類化抗體表現載體，導入至動物細胞使之表現。

【0065】 人類抗體本來係指天然地存在於人類體內之抗體，但亦包括藉由最近之基因工程、細胞工程、發育工程之技術進步所製作之自人類抗體噬菌體庫及人類抗體產生基因轉殖動物獲得之抗體等。

【0066】 關於天然地存在於人類體內之抗體，例如可藉由如下方式取得：使EB病毒等感染人類末梢血液淋巴細胞以使之永生化，進行選殖，藉此培養產生該抗體之淋巴細胞，自該培養上清液純化該抗體，從而

取得天然地存在於人類體內之抗體。

【0067】 人類抗體噬菌體庫係藉由將自人類B細胞製備之抗體基因插入至噬菌體基因，而於噬菌體表面表現Fab、scFv等抗體片段之庫。可自該庫以對於固定有抗原之基質之結合活性作為指標，回收於表面表現具有所需抗原結合活性之抗體片段之噬菌體。該抗體片段可進而藉由基因工程方法，轉化為包含兩條完整之H鏈及兩條完整之L鏈之人類抗體分子。

【0068】 人類抗體產生基因轉殖動物係指細胞內組入有人類抗體基因之動物。具體而言，例如向小鼠ES細胞導入人類抗體基因，將該ES細胞向小鼠之早期胚胎移植後使個體發育，藉此可製作人類抗體產生基因轉殖小鼠。源自人類抗體產生基因轉殖動物之人類抗體可藉由如下方式製備：使用通常於非人類動物中進行之融合瘤製作法來取得融合瘤，加以培養而使抗體於培養上清液中產生並蓄積，從而製備人類抗體。

【0069】 作為基因重組抗體之CH，可為任意者，只要屬於人類免疫球蛋白即可，但較佳為人免疫球蛋白G(hIgG)類者。進而，屬於hIgG類之hIgG1、hIgG2、hIgG3及hIgG4等亞型均可使用。又，作為基因重組抗體之CL，可為任意者，只要屬於人類免疫球蛋白即可，可使用κ類或λ類者。

【0070】 本發明中，抗體片段係包含抗原結合部位且具有對於該抗原之抗原結合活性的蛋白質。例如可例舉：Fab、Fab'、$F(ab')_2$、scFv、雙功能抗體、dsFv、VHH或包含CDR之肽等。

【0071】 Fab係利用蛋白分解酵素木瓜酶對IgG抗體進行處理所獲得之片段中(在H鏈之第224號之胺基酸殘基處被切斷)H鏈之N末端側約一半與L鏈整體以雙硫鍵(S-S鍵)結合的分子量約5萬的具有抗原結合活性之抗

體片段。將包含VH及CH1之Fab之多肽鏈記載為Fab之重鏈(H鏈)或VH-CH1。又，將包含VL及CL之Fab之多肽鏈記載為Fab之輕鏈(L鏈)或VL-CL。

【0072】 $F(ab')_2$係利用蛋白分解酵素胃蛋白酶對IgG進行處理所獲得之片段中(在H鏈之第234號之胺基酸殘基處被切斷)較經由鉸鏈區之S-S鍵而結合有Fab者稍大且分子量約10萬之具有抗原結合活性的抗體片段。

【0073】 Fab'係上述$F(ab')_2$之鉸鏈區之S-S鍵被切斷之分子量約5萬之具有抗原結合活性的抗體片段。

【0074】 scFv係使用12個殘基以上之適當之肽連接子(P)將一條VH與一條VL連結而成之VH-P-VL或VL-P-VH多肽，且係具有抗原結合活性之抗體片段。

【0075】 雙功能抗體係抗原結合特異性相同或不同之scFv形成了二聚物之抗體片段，且係具有對於相同抗原之2價抗原結合活性、或對於不同抗原分別具有特異性抗原結合活性之抗體片段。

【0076】 dsFv係指使將VH及VL中之各1個胺基酸殘基置換為半胱胺酸殘基而成之多肽經由該半胱胺酸殘基間之S-S鍵進行結合而成者。

【0077】 VHH(亦稱為奈米抗體)係指VHH抗體中之重鏈可變區，且可於不存在其他多肽之情況下與抗原結合。

【0078】 VHH抗體係存在於羊駝等駝科動物及鯊魚等軟骨魚中之抗體，無輕鏈及CH1，僅由重鏈所構成。

【0079】 包含CDR之肽包含VH或VL之CDR之至少1個區域。包含複數個CDR之肽可藉由使CDR彼此直接或經由適當之肽連接子結合而製作。包含CDR之肽可藉由如下方式表現並製造：構建編碼本發明之雙特異

性抗體之VH及VL之CDR之DNA，將該DNA插入至原核生物用表現載體或真核生物用表現載體，將該表現載體向原核生物或真核生物導入。又，包含CDR之肽亦可藉由Fmoc法或tBoc法等化學合成法來製造。

【0080】 本發明中，雙特異性抗體片段係本質上包含雙特異性抗體之部分結構，且對於2種抗原具有抗原結合活性之雙特異性抗體片段。

【0081】 本發明亦包括：本發明之雙特異性抗體片段與Fc區結合而成之融合蛋白、該Fc區與天然存在之配體或受體結合而成之Fc融合蛋白(亦稱為免疫黏附素)、及使複數個Fc區融合而成之Fc融合蛋白等。又，本發明之雙特異性抗體亦可使用包含胺基酸殘基改型之Fc區，該胺基酸殘基改型係以增強或減弱抗體之效應活性、使抗體穩定化、及控制血中半衰期為目的。

【0082】 本發明之雙特異性抗體係指具有特異性不同之2種抗原結合域的多肽或蛋白質。雙特異性抗體之各抗原結合域可與單一抗原之不同表位結合，亦可與不同之抗原結合。

【0083】 本發明中，抗原結合域係具有特異性地識別抗原並進行結合之功能的部分結構。作為本發明之抗原結合域，可為如下任一種形態，例如抗體、該抗體片段、配體、受體、及天然存在之相互作用分子等能夠藉由基因重組技術製作之多肽；蛋白質分子及其片段；以及該蛋白質分子與低分子或天然物之偶聯物等。

【0084】 本發明之雙特異性抗體之2種抗原結合域係CD3結合域及疾病相關抗原結合域。於包含複數個疾病相關抗原結合域之情形時，可與同一個抗原結合亦與不同之抗原結合。

【0085】 本發明之雙特異性抗體包含對Fc受體具有結合能之Fc區、

CD3結合域及疾病相關抗原結合域，且該Fc區之C末端直接或經由連接子與CD3結合域結合。

【0086】 本發明中之CD3結合域係指與CD3結合之抗原結合域。

【0087】 本發明中之疾病相關抗原結合域係指與疾病相關抗原結合之抗原結合域。

【0088】 本發明中之CD3結合域可為任何者，只要特異性地識別CD3並進行結合即可，可例舉：包含源自抗CD3抗體之CDR序列之CD3結合域、包含源自抗CD3抗體之VH及VL之CD3結合域等。作為包含源自抗CD3抗體之CDR序列或VH及VL之CD3抗原結合域，較佳為scFv。

【0089】 本發明中疾病相關抗原結合域可為任何者，只要特異性地識別疾病相關抗原並進行結合即可，較佳為包含抗體之Fab或VH及VL之可變區。

【0090】 本發明中，例如可藉由如下方法來確認多肽、抗體或該抗體片段或者雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段與CD3及/或疾病相關抗原結合，即，使用公知之免疫學檢測法，較佳為使用螢光細胞染色法等，確認所欲評價之表現抗原之細胞與抗體的結合性。又，亦可將公知之免疫學檢測法[Monoclonal Antibodies - Principles and Practice, Third Edition, Academic Press(1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory(1988)、單純系抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]等加以組合來使用。

【0091】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，例如可例舉如下抗CD3雙特異性抗體，其與CD3結合域包含源自抗CD3單株抗體SP34(美國專利第10,066,015號說明書)之CD3結合域的抗CD3雙特異性

抗體相比，於CD3陽性T細胞及疾病相關抗原陽性細胞之存在下，細胞激素產生誘導能力得到降低。此種雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段就細胞激素產生時所併發之惡寒、噁心、倦怠感、頭痛、發熱、心跳過速、及/或血壓變動等副作用較少，不易引起細胞激素釋放症候群的方面而言較佳。

【0092】 本發明中，細胞激素產生誘導能力係指本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段與T細胞上之CD3、NK細胞上之Fc受體及/或靶細胞上之疾病相關抗原結合，藉此誘導該T細胞、該靶細胞、及NK細胞等產生細胞激素時的活性。

【0093】 作為產生宜得到降低之細胞激素，只要為與上述過量或不需要之細胞激素產生所導致之副作用相關的細胞激素，則可為任一種細胞激素，例如可列舉：干擾素-γ(Interferon-γ，IFN-γ)、腫瘤壞死因子-α(Tumour necrosis factor α，TNF-α)、及介白素-6(Interleukin 6，IL-6)等炎症性細胞激素、IL-2、IL-4以及IL-10等。

【0094】 本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段較佳為與在不同細胞上表現之CD3及疾病相關抗原結合。

【0095】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，較佳為藉由與T細胞上之CD3及靶細胞上之疾病相關抗原結合而誘導靶細胞之細胞死亡者，更佳為於CD3陽性T細胞及靶細胞之存在下僅特異性地毒殺靶細胞，於不存在CD3陽性細胞或者不存在靶細胞之情況下不會發揮細胞毒殺活性者。

【0096】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之細胞毒殺活性的機制，可例舉：ADCC活性、CDC活性、ADCP活性及ADTC

活性等。

【0097】 即，作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，具體而言，可例舉：與CD3陽性細胞及疾病相關抗原陽性細胞兩者結合時特異性地誘導疾病相關抗原陽性細胞之細胞毒殺及/或細胞死亡的雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段等。

【0098】 將一分子之雙特異性抗體所具有之對於某抗原之結合域的數量稱為結合之價數。例如於本發明中，一分子之雙特異性抗體具有與CD3結合之抗原結合域及與疾病特異性抗原結合之抗原結合部位域各2個時，該雙特異性抗體係分別以二價與CD3及疾病特異性抗原結合。

【0099】 又，本發明之雙特異性抗體還包括包含複數個抗原結合域之抗體，該等複數個抗原結合域係經由包含免疫球蛋白域或其片段之連接子等適當之連接子而結合。

【0100】 本發明中，作為可用作連接子之免疫球蛋白域，以具有與免疫球蛋白類似之胺基酸序列且包含存在至少2個半胱胺酸殘基之約100個胺基酸殘基的肽作為最小單元。本發明中，免疫球蛋白域亦包括包含複數個上述最小單元之免疫球蛋白域的多肽。作為免疫球蛋白域，例如可例舉：免疫球蛋白重鏈之VH、CH1、CH2及CH3；以及免疫球蛋白輕鏈之VL及CL等。

【0101】 免疫球蛋白之動物種類並無特別限定，較佳為人類。又，免疫球蛋白重鏈之恆定區之亞型可為IgD、IgM、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2及IgE之任一者，較佳為例舉源自IgG及源自IgM。又，免疫球蛋白輕鏈之恆定區之亞型可為κ及λ之任一者。

【0102】 又，免疫球蛋白域亦存在於免疫球蛋白以外之蛋白質中，

例如可例舉：主要組織相容性抗原(MHC)、CD1、B7及T細胞受體(TCR)等屬於免疫球蛋白超級家族之蛋白質所包含的免疫球蛋白域。作為本發明之雙特異性抗體所使用之免疫球蛋白域，可應用任一種免疫球蛋白域。

【0103】 於人類之IgG之情形時，CH1係指具有EU索引中所示之第118號至第215號之胺基酸序列的區域。同樣地，CH2係指具有Kabat等人之EU索引中所示之第231號至第340號之胺基酸序列的區域，CH3係指具有Kabat等人之EU索引中所示之第341號至第447號之胺基酸序列的區域。於CH1與CH2之間存在稱為鉸鏈(hinge)區(以下亦有時記載為鉸鏈)之富有柔軟性的胺基酸區域。鉸鏈區係指具有Kabat等人之EU索引中所示之第216號至第230號之胺基酸序列的區域。

【0104】 CL於人類抗體之κ鏈之情形時，係指具有Kabat編號中所示之第108號至第214號之胺基酸序列之區域，於λ鏈之情形時，係指具有第108號至第215號之胺基酸序列之區域。

【0105】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段所具有之Fc區，可使用源自任意動物種類之抗體之Fc區，但較佳為源自人類之Fc區，尤佳為源自IgG1之Fc區。

【0106】 本發明中，「具有與Fc受體之結合能力之Fc區」係指對於各種Fc受體具有結合能力至由Fc受體介導能發揮ADCC活性等效應活性之程度以上的Fc區。具體而言，可例舉：人類IgG1之Fc區、人類IgG3之Fc區、及小鼠IgG2a之Fc區等。又，具有與Fc受體之結合能力之Fc區亦包括增強了與Fc受體之結合能力的Fc區。

【0107】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段所具有之「具有與Fc受體之結合能力之Fc區」，較佳為具有對於FcγR之結合能力

之Fc區，更佳為具有對於FcγRIIIA之結合能力之Fc區。

【0108】 又，作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段所具有之「具有與Fc受體之結合能力之Fc區」，亦較佳為「增強了對於Fc受體之親和力之Fc區」。

【0109】 增強了對於Fc受體之親和力之Fc區只要相較於天然存在之抗體之Fc區，增強了對於Fc受體之親和力，則可為任何者，可例舉：包含糖鏈改型之Fc區、包含胺基酸殘基改型之Fc區等。

【0110】 作為包含糖鏈改型之Fc，例如可例舉：減少了α1,6岩藻糖之附加量或使α1,6岩藻糖缺失之Fc區、或附加有會使對於Fc受體之親和力增強之胺基酸改型(利用天然型胺基酸殘基、非天然型胺基酸殘基之改型)的Fc區等。

【0111】 作為包含胺基酸殘基改型之Fc區，例如可例舉：人類IgG1恆定區中之P247I、A339D、F243L、R292P、Y300L、P396L、T393A、H433P、S239D、S298A、A330L、I332E、E333A及K334A、及包含選自Current Opinion in Biotechnology 2009, 20: 685-691中記載之胺基酸改型中之至少1個胺基酸殘基改型的Fc區。

【0112】 再者，以下胺基酸殘基改型之記法係以[改型前之胺基酸殘基之1字母記法]、[EU索引中所示之胺基酸位置]及[改型後之胺基酸殘基之1字母記法]的順序來表示。

【0113】 上述Fc區或抗體恆定區較佳為IgG類者，亦可缺失、附加、置換、及/或插入其等之胺基酸序列之一部分。又，可將包含IgG之重鏈之CH1、鉸鏈、CH2及CH3之胺基酸序列之全部或一部分片段適當組合加以使用。又，亦可使其等之胺基酸序列部分地缺損、或改換順序加以使

用。

【0114】本發明之雙特異性抗體所使用之Fc區或抗體恆定區之IgG的亞型並無特別限定，可為源自IgG1、IgG2、IgG3及IgG4之任一亞型的Fc區或恆定區，較佳為IgG1。

【0115】於IgG1之Fc區或重鏈恆定區之情形時，例如可列舉：包含鉸鏈區之第216號～第220號之胺基酸殘基之缺損、以及選自C220S、H435R及Y436F之胺基酸殘基改型中之至少1種改型的Fc區或重鏈恆定區；包含鉸鏈區之第216號～第220號之胺基酸殘基之缺損及C220S之胺基酸殘基改型的Fc區或恆定區；包含選自S354C、T366W、Y349C、T366S、L368A及Y407V中之至少1種改型的Fc區或重鏈恆定區。

【0116】將構成本發明之Fc區之2條多肽鏈分別稱為Fc多肽鏈、或者簡單地稱為Fc鏈。

【0117】本發明之雙特異性抗體中，1個CD3結合域直接或經由連接子與Fc區之任一個Fc鏈結合。因此，本發明中之Fc區由包含「Fc鏈」及「於Fc鏈之C末端上結合有CD3結合域之Fc鏈」的Fc區所構成。

【0118】又，作為本發明中之包含Fc區之重鏈恆定區，可例舉：包含「CH之多肽鏈」及「於CH之多肽鏈之C末端結合有CD3域之CH鏈」的重鏈恆定區；包含「CH之多肽鏈(亦記載為CH1-Fc)」及「於Fc鏈上融合有CL之多肽鏈(以下簡記為CL-Fc)」且於任一條多肽鏈之C末端結合有CD3結合域之恆定區等。CD3結合域亦可與構成上述Fc區或恆定區之2條多肽鏈中之任一條多肽鏈結合。

【0119】又，亦可使構成CD3結合域之VH或VL、VH-CH或VL-CL與Fc區或重鏈恆定區中所包含之各多肽鏈結合而製作。

【0120】 作為本發明之雙特異性抗體所包含之Fc區或恆定區，由於如上所述，於構成各區域之2條多肽鏈之任一條上結合有CD3結合域，故形成異源二聚物。若能構成本異源二聚物結構，則亦可包含附加、缺失、置換之任一種改型。

【0121】 具體而言，包含2條Fc多肽鏈或CH多肽鏈時，可藉由對CH3域施加適當之胺基酸殘基置換而形成異源二聚物，例如對2條Fc多肽鏈中之一條施加S354C及T366W之胺基酸殘基置換，向另一條施加Y349C、T366S、L368A及Y407V之胺基酸殘基置換，藉此可形成Fc區或CH區之異源二聚物[Knobs into Holes改型(Nature Biotechnology, vol 16: 677-681, 1998)]。亦將該改型稱為KIH改型。

【0122】 於對本發明之雙特異性抗體所包含之Fc區施加KIH改型時，構成Fc區之2條多肽鏈中無論哪一條上是否結合有CD3結合域，均可對任一條多肽鏈施加Knobs改型、Holes改型。又，CH3部分亦可適用除構成雙硫鍵之改型(S354C及Y349C)以外之KIH改型。於此情形時，對2條Fc多肽鏈中一條施加T366W之胺基酸殘基置換，對另一條施加T366S、L368A及Y407V之胺基酸殘基置換。

【0123】 作為導入有上述KIH改型之Fc區之具體胺基酸序列的例，並不限定於此，可例舉：含有包含序列編號147所表示之胺基酸序列之多肽及包含序列編號148所表示之胺基酸序列之多肽的Fc區、含有包含序列編號149所表示之胺基酸序列之多肽及包含序列編號150所表示之胺基酸序列之多肽的Fc區、含有包含序列編號151所表示之胺基酸序列之多肽及包含序列編號152所表示之胺基酸序列之多肽的Fc區、含有包含序列編號153所表示之胺基酸序列之多肽及包含序列編號154所表示之胺基酸序列

之多肽的Fc區。

【0124】 又，可列舉作為包含2條異源CH鏈之CH區(以下稱為異源CH區)包含CH多肽鏈及CL-Fc的異源CH區，但更佳為含有包含C220S之CH多肽鏈、以及包含216-220之胺基酸殘基之缺損及C214S之CL-Fc的CH區；含有包含C220S之CH多肽、以及包含216-220之胺基酸殘基之缺損、C214S及H435R之CL-Fc的CH區；含有包含C220S之CH多肽、以及包含216-220之胺基酸殘基之缺損、C214S、H435R及Y436F之CL-Fc的CH區。

【0125】 本發明之CD3結合域只要具有對於CD3之抗原結合能力，則可為單鏈亦可為包含複數條多肽鏈的多聚物。作為CD3抗原結合域，例如可例舉：包含對於CD3之抗體之3個或6個CDR序列的CD3結合域、或包含對於CD3之抗體之VH及VL之CD3結合域，較佳為Fab、Fab'、scFv、dsFv及VHH，更佳為Fab及scFv。又，亦可同樣地使用對於細胞表面抗原之配體分子或受體分子。

【0126】 於本發明之CD3結合域為scFv之情形時，已知scFv係自N末端側起依序結合有VH、連接子、VL者(亦稱為VH-連接子-VL型、或HL型)；及自N末端側依序結合有VL、連接子、VH者(亦稱為VL-連接子-VH型、或LH型)，兩者均可用於本發明之scFv。

【0127】 於本發明之CD3結合域為scFv之情形時，亦可對scFv之架構施加改型。作為改型例，例如可考慮的有用以提高理化學之穩定性之改型、用以提昇生產性之改型、scFv之VH及VL之相互作用層面之胺基酸之改型等。具體而言，可例舉：分別將scFv之VH之第44號(基於Kabat編號)之胺基酸置換為Cys，將VL之第100號(基於Kabat編號)之胺基酸置換為

Cys的改型(CC改型)；分別將VH之第44號之胺基酸置換為Ser，將VL之第100號之胺基酸置換為Glu的改型(SE改型)等。

【0128】 本發明之CD3結合域對於CD3之親和力較佳為減弱。所謂CD3結合域之親和力減弱，表示例如對於CD3之解離常數(K_D)為6×10^{-8}以上。CD3結合域對於CD3之解離常數(K_D)更佳為7×10^{-8}以上，進而較佳為8×10^{-8}以上，進而更佳為9×10^{-8}以上。又，所謂CD3結合域對於CD3之親和力減弱，表示例如對於CD3之解離常數大於抗CD3單株抗體SP34或KM14。

【0129】 本發明之CD3結合域之解離常數例如可例舉：使用Biacore T100(GE Healthcare公司)並藉由表面電漿子共振(SPR)法所算出的值。

【0130】 作為本發明之CD3結合域之一態樣，可例舉：CDR或VH/VL之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14之CDR或VH/VL之胺基酸序列相比，具有80%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、或99%以上之同源性，且與SP34或KM14相比，對於CD3之親和力低較佳為10%以上、更佳為20%以上、進而較佳為30%以上者。

【0131】 作為本發明之CD3結合域之一態樣，可例舉：CDR或VH/VL之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34之胺基酸序列相比，具有80%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、或99%以上之同源性，且與SP34相比，親和力低70%以上、較佳為80%以上、更佳為85%以上、進而更佳

為90%以上者。

【0132】 又，作為本發明之CD3結合域之一態樣，可例舉：CDR或VH/VL之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體KM14之胺基酸序列相比，具有80%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、或99%以上之同源性，且與KM14相比，親和力低較佳為10%以上、更佳為15%以上、進而較佳為30%以上、進而更佳為40%以上者。

【0133】 本發明中，所謂親和力低A%以上，意指將比較對照CD3結合域對於CD3之解離常數設為K_{D0}，將試驗CD3結合域對於CD3之解離常數設為K_{D1}時，其比即K_{D0}/K_{D1}為(100－A)%以下。

【0134】 本發明中，將包含抗CD3單株抗體SP34之VH及VL之胺基酸序列、或SP34之6個CDR之胺基酸序列的抗體稱為SP34純系。

本發明中，將包含抗CD3單株抗體KM14之VH及VL之胺基酸序列、或KM14之6個CDR之胺基酸序列的抗體稱為KM14純系。

【0135】 本發明中，連接子只要可使Fc區與CD3結合域結合、或使Fc區與疾病相關抗原結合域結合，則可為任一種分子結構，例如可例舉：免疫球蛋白域或其片段及肽鏈等，但較佳為肽鏈。作為肽鏈之胺基酸序列，例如可例舉：包含SGGGG或SGGGG之重複序列之所謂GS連接子、包含EAAAK或其重複序列之連接子、包含稱為PAPAP之胺基酸序列之連接子、或者源自抗體之鉸鏈區及CH1域等恆定區之序列或其改型序列等。

【0136】 本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段可具有1個疾病相關抗原結合域，亦可具有2個以上之疾病相關抗原結合域。

【0137】 疾病相關抗原結合域可與Fc區直接結合，亦可經由連接子與Fc區結合。又，可與Fc區之C末端側結合，亦可與N末端側結合，但較佳為與C末端側結合。於Fc區之C末端側結合有1個CD3結合域之情形時，CD3結合域亦可與構成Fc區之2條多肽鏈之任一條多肽鏈結合。

【0138】 本發明中之疾病相關抗原結合域只要具有對於疾病相關抗原之抗原結合能力，則可為單鏈亦可為包含複數個多肽鏈之多聚物。作為疾病相關抗原結合域，例如可例舉：包含對於疾病相關抗原之抗體之3個或6個CDR序列之抗原結合域、或包含對於疾病相關抗原之抗體之VH及VL之抗原結合域，雖可例舉Fab、Fab'、scFv、dsFv及VHH等，但較佳為包含VH及VL之抗原結合域或Fab。又，亦可同樣地使用對於細胞表面抗原之配體分子或受體分子。

【0139】 作為對於疾病相關抗原之抗體，較佳為單株抗體，只要為已知特異性地識別與各疾病相關之抗原並進行結合之單株抗體或已作為抗體醫藥品銷售之單株抗體等能夠基因重組的抗體，則所有具有特異性之抗體均可用作本發明之抗CD3雙特異性抗體所包含之疾病相關抗原結合域。

【0140】 本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段亦包括：於構成本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之胺基酸序列中缺失、附加、置換或插入1個以上之胺基酸殘基，且具有與上述抗體或其抗體片段相同之活性的抗體或該雙特異性抗體片段。

【0141】 供缺失、置換、插入及/或附加之胺基酸之數為1個以上，其數量並無特別限定，係藉由Molecular Cloning, The Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)、Nucleic Acids

Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci USA, 82, 488 (1985)等所記載之定點突變導入法等周知之技術，可缺失、置換、插入或附加之程度之數。例如通常為1～數十個、較佳為1～20個、更佳為1～10個、進而較佳為1～5個。

【0142】 上述於本發明之雙特異性抗體之胺基酸序列中缺失、置換、插入或附加有1個以上之胺基酸殘基係表示如下情況。意指於同一序列中之任意且1個或複數個胺基酸序列中缺失、置換、插入或附加有1個或複數個胺基酸殘基。又，亦存在缺失、置換、插入或附加同時產生之情形，且亦存在供置換、插入或附加之胺基酸殘基為天然型及非天然型中之任一者之情形。

【0143】 作為天然型胺基酸殘基，例如可例舉：L-丙胺酸、L-天冬醯胺、L-天冬胺酸、L-麩醯胺、L-麩胺酸、甘胺酸、L-組胺酸、L-異白胺酸、L-白胺酸、L-離胺酸、L-精胺酸、L-甲硫胺酸、L-苯基丙胺酸、L-脯胺酸、L-絲胺酸、L-蘇胺酸、L-色胺酸、L-酪胺酸、L-纈胺酸及L-半胱胺酸等。

【0144】 於以下表示能夠相互置換之胺基酸殘基之較佳例。同一群中所含有之胺基酸殘基能夠相互置換。

【0145】 A群：白胺酸、異白胺酸、甘白胺酸、纈胺酸、正纈胺酸、丙胺酸、2-胺基丁酸、甲硫胺酸、O-甲基絲胺酸、第三丁基甘胺酸、第三丁基丙胺酸、環己基丙胺酸

B群：天冬胺酸、麩胺酸、異天冬胺酸、異麩胺酸、2-胺基己二酸、2-胺基辛二酸

C群：天冬醯胺、麩醯胺

D群：離胺酸、精胺酸、鳥胺酸、2,4-二胺基丁酸、2,3-二胺基丙酸

E群：脯胺酸、3-羥基脯胺酸、4-羥基脯胺酸

F群：絲胺酸、蘇胺酸、高絲胺酸

G群：苯基丙胺酸、酪胺酸

【0146】 本發明之雙特異性抗體亦含有包含經轉譯後修飾之任何胺基酸殘基的抗體。作為轉譯後修飾，例如可例舉：H鏈之C末端處之離胺酸殘基之缺失[lysine clipping]及多肽之N末端處之麩醯胺殘基向焦麩胺(pyroGlu)之置換等[Beck et al, Analytical Chemistry, 85, 715 - 736 (2013)]。

【0147】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，具體而言，例如可例舉：選自由下述(1)至(3)所組成之群中之任一個雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段等。

(1)包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合1個CD3結合域，進而於該Fc區之N末端側包含1個疾病相關抗原結合域的抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

(2)包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合1個CD3結合域，進而於該Fc區之C末端側包含1個以上疾病相關抗原結合域的抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

(3)包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合1個CD3結合域，進而於該Fc區之C末端側包含1個以上疾病相關抗原結合域且於該Fc區之N末端側包含1個以上疾病相關抗原結合域的抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0148】 作為本發明之一態樣，可例舉如下雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其係上述(1)中記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，上述抗CD3雙特異性抗體係向Fc區之CH3部分導入Knobs into Holes改型(Nature Biotechnology. vol 16： 677-681, 1998)(亦稱為KIH改型)、或自該KIH改型中將用以構成雙硫鍵之改型(S354C及Y349C)除外後之改型而形成異源二聚物，於該異源二聚物之任一個C末端上經由連接子結合有CD3結合域的雙特異性抗體，且於該異源二聚物之一個N末端或兩個N末端上結合有疾病相關抗原結合域。

【0149】 作為本發明之一態樣，可例舉如下雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其係上述(1)中記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，且於Fc區之2條多肽鏈之N末端側分別結合CL、CH1而形成包含CH1-Fc及CL-Fc之異源二聚物，於CH1-Fc與CL-Fc之任一者之C末端經由連接子結合有CD3結合域，

(a)於CH1-Fc及CL-Fc之N末端分別結合VH及VL而形成有1個疾病相關抗原結合域之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段；

(b)於CH1-Fc及CL-Fc之N末端分別結合VL及VH而形成有1個疾病相關抗原結合域之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段；以及

(c)於CH1-Fc及/或CL-Fc之N末端結合Fab、VHH、及/或scFv而包含1個以上之疾病相關抗原結合域之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0150】 其中，較佳為於CH1-Fc及CL-Fc之N末端上分別結合有VL及VH、或者分別結合有VH及VL，更佳為於CH1-Fc及CL-Fc之N末端上分別結合有VH及VL。

【0151】 又，較佳為CH1-Fc及CL-Fc之胺基酸序列經如於細胞中表

現時會形成異源二聚物之胺基酸改型，具體而言，較佳為於CL-Fc中包含216-220之缺損、以及C214S、H435R、及Y436F之胺基酸殘基改型，於CH1-Fc中包含C220S之胺基酸殘基改型。該等改型亦可將上述KIH改型或自該KIH改型中將用以構成雙硫鍵之改型除外後之改型這兩者均導入。

【0152】 作為疾病相關抗原結合域，可例舉：Fab、包含VH及VL之可變區、VHH及scFv等。具體而言，較佳為於上述異源二聚物之兩個N末端結合有作為疾病相關抗原結合域之Fab。形成Fab之VH-CH1、VL-CL之多肽鏈中無論哪條多肽鏈與Fc區之N末端結合均可，但較佳為於Fc區之N末端結合有VH-CH1。

【0153】 作為本發明之一態樣，可例舉如下雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其係上述(2)中記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，上述抗CD3雙特異性抗體係於Fc區之2條多肽鏈之N末端側分別結合CL、CH1而形成CH1-Fc與CL-Fc之異源二聚物，於CH1-Fc與CL-Fc之任一者之C末端經由連接子而結合有CD3結合域的雙特異性抗體，且於CH1-Fc及/或CL-Fc之C末端側結合有Fab、VHH、及/或scFv作為疾病相關抗原結合域。

【0154】 此時，疾病相關抗原結合域可與CH1-Fc及/或CL-Fc直接結合，亦可經由連接子與CH1-Fc及/或CL-Fc結合，還可進而與CD3結合域之C末端側結合。

【0155】 較佳為上述異源二聚物之胺基酸序列經如於細胞中表現時會形成異源二聚物之胺基酸改型，具體而言，較理想為於CL-Fc中包含216-220胺基酸殘基之缺損、以及C214S、H435R、及Y436F之胺基酸殘基改型，於CH1-Fc中包含C220S之胺基酸殘基改型。

【0156】 作為本發明之又一態樣，可例舉如下雙特異性抗體，其係上述(2)中記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，且對Fc區施加Knobs into Holes改型或該KIH改型中除S354C與Y349C以外之改型，於形成該Fc區之異源二聚物之C末端側具有1個以上之疾病相關抗原結合域。作為該疾病相關抗原結合域，例如可例舉：Fab、包含VH及VL之抗體可變區、VHH、及scFv等。疾病相關抗原結合域可直接與CH1-Fc及/或CL-Fc結合，亦可經由連接子與CH1-Fc及/或CL-Fc結合，還可進而與CD3結合域之C末端側結合。

【0157】 作為本發明之一態樣，可例舉如下雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其係上述(3)中記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，上述抗CD3雙特異性抗體係於Fc區之2條多肽鏈之N末端側分別結合CL、CH1而形成包含CH1-Fc與CL-Fc之異源二聚物，於CH1-Fc與CL-Fc之任一者之C末端經由連接子結合有CD3結合域的雙特異性抗體，且於CH1-Fc與CL-Fc之N末端側具有1個以上之疾病相關抗原結合域，進而於CH1-Fc與CL-Fc之C末端側亦具有1個以上之疾病相關抗原結合域。

【0158】 關於與CH1-Fc及/或CL-Fc之N末端側結合之疾病相關抗原結合域，可於CH1-Fc及CL-Fc之N末端分別結合VH及VL(或者分別為VL及VH)而形成有1個疾病相關抗原結合域，亦可於CH1-Fc及CL-Fc之至少一者之N末端結合Fab、VHH、及/或scFv而形成有至少1個疾病相關抗原結合域。

【0159】 又，作為上述疾病相關抗原結合域，較佳為於CH1-Fc及CL-Fc之N末端分別結合VH及VL(或者分別為VL及VH)而形成有1個疾病相關抗原結合域，更佳為於CH1-Fc及CL-Fc之N末端分別結合有VH及

VL。

【0160】 關於與CH1-Fc及/或CL-Fc之C末端側結合之疾病相關抗原結合域，可與該等多肽鏈直接結合，亦可經由連接子與該等多肽鏈結合，還可經由CD3結合域與該等多肽鏈結合。作為該疾病相關抗原結合域，例如可例舉：Fab、VHH、及scFv等。

【0161】 又，較佳為CH1-Fc與CL-Fc之胺基酸序列經如於細胞中表現時會形成異源二聚物之胺基酸改型，具體而言，較佳為於CL-Fc中包含216-220之胺基酸殘基之缺損、以及C214S、H435R、及Y436F之胺基酸殘基改型，於CH1-Fc中包含C220S之胺基酸殘基改型。

【0162】 作為本發明之另一態樣，可例舉如下雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其係上述(3)中記載之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中，對Fc區施加Knobs into Holes改型或該KIH改型中除S354C與Y349C以外之改型，於該Fc區之異源二聚物之N末端側具有1個以上之疾病相關抗原結合域，進而於該Fc區之異源二聚物之C末端側具有1個以上之疾病相關抗原結合域。

【0163】 作為疾病相關抗原結合域，例如可例舉Fab、VHH及scFv等。於在上述異源二聚物之N末端側結合有Fab作為疾病相關抗原結合域之情形時，形成Fab之VH-CH1、VL-CL之多肽鏈中無論哪條多肽鏈與Fc區之N末端結合均可，但更佳為於Fc區之N末端結合有VH-CH1。

【0164】 又，關於上述與異源二聚物之C末端側結合之疾病相關抗原結合域，可與異源二聚物之C末端直接結合，亦可經由連接子與異源二聚物之C末端結合，還可進而與CD3結合域之C末端側結合。

【0165】 上述(1)～(3)之所有態樣中，作為具有與Fc受體之結合能

力之Fc區，均可同樣地使用增強了對於Fc受體之親和力之Fc區。

【0166】 上述(1)～(3)之所有態樣中，藉由使構成CD3結合域之VH及VL分別與構成Fc區之2條多肽鏈結合，可製作於Fc區之C末端結合有1個CD3結合域的抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0167】 本發明之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段亦可利用除上述以外之公知之異源二聚物製作技術來製作。作為公知之技術，例如可例舉：CrossMAb技術、BEAT技術、XmAb技術、ART-Ig技術、及Azymetric技術(全部記載於Nat Rev Drug Discov. 18：585-608, 2019中)、以及Nat Rev Drug Discov. 18: 585-608, 2019中記載之其他異源二聚物製作技術等。

【0168】 作為本發明之進而較佳之一態樣，可例舉該CD3結合域為scFv之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0169】 作為本發明之進而較佳之一態樣，可例舉CD3結合域對於CD3之解離常數(K_D)為6×10^{-8}以上、7×10^{-8}以上、8×10^{-8}以上、或9×10^{-8}以上之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0170】 作為本發明之一態樣，可例舉CD3結合域對於CD3之解離常數大於作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14的雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0171】 作為本發明之一態樣，可例舉：CD3結合域之CDR或VH/VL之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14之CD3結合域的CDR或VH/VL之胺基酸序列具有90%以上之同源性，且與抗CD3抗體SP34或KM14相比，親和力低10%以上的雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0172】作為本發明之進而較佳之一態樣，可例舉：具有疾病相關抗原對於表現細胞之ADCC活性及ADTC活性，且疾病相關抗原表現細胞之細胞毒殺時細胞激素產生誘導得到抑制的雙特異性抗體。

【0173】作為進而較佳之一態樣，可例舉：Fc區與CD3結合域之間之連接子之胺基酸序列為選自(SGGGG)n(n＝1～3)、(EAAAK)n(n＝1～3)、或PAPAP中之一者的雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0174】作為本發明中之CD3結合域，具體而言，可例舉：CD3結合域之VH之CDR1～3(HCDR1～3)及VL之CDR1～3(LCDR1～3)的胺基酸序列與選自下述(a)～(h)中之任一個HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列分別具有90%以上之同源性的CD3結合域。

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1

～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

【0175】作為本發明中之CD3結合域，具體而言，可例舉：CD3結合域之VH及VL之胺基酸序列與選自下述(aa)～(rr)中之任一個VH及VL之胺基酸序列分別具有80%以上之同源性的CD3結合域。

(aa)包含序列編號124所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號125所表示之胺基酸序列之VL

(bb)包含序列編號115所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號116所表示之胺基酸序列之VL

(cc)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號126所表示之胺基酸序列之VL

(dd)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號127所表示之胺基酸序列之VL

(ee)包含序列編號128所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ff)包含序列編號129所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(gg)包含序列編號130所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(hh)包含序列編號131所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ii)包含序列編號159所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號

165所表示之胺基酸序列之VL

(jj)包含序列編號160所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(kk)包含序列編號161所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(ll)包含序列編號162所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(mm)包含序列編號168所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號180所表示之胺基酸序列之VL

(nn)包含序列編號169所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號181所表示之胺基酸序列之VL

(oo)包含序列編號170所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號182所表示之胺基酸序列之VL

(pp)包含序列編號171所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號183所表示之胺基酸序列之VL

(qq)包含序列編號172所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號184所表示之胺基酸序列之VL

(rr)包含序列編號173所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號185所表示之胺基酸序列之VL

【0176】作為本發明中之CD3結合域，可例舉：與包含選自上述(a)～(h)、(aa)～(rr)以及抗CD3單株抗體SP34及KM14中之任一者的CD3結合域競爭性地與CD3結合之CD3結合域；與包含選自上述(a)～(h)、(aa)～(rr)以及抗CD3單株抗體SP34及KM14中之任一者之CD3結合域所結合

之CD3上的表位結合之CD3結合域；與包含選自上述(a)～(h)、(aa)～(rr)以及抗CD3單株抗體SP34及KM14中之任一者之CD3結合域所結合之表位所包含的表位結合的CD3結合域。

【0177】 作為本發明之CD3結合域所結合之CD3分子上所存在的表位，可例舉：人類CD3之胺基酸序列之N末端直至第27號之胺基酸序列。由於抗CD3單株抗體SP34及KM14均與本表位結合，故作為本發明中之CD3之表位，較佳為例舉：包含CD3之胺基酸序列之N末端直至第27號之胺基酸序列中所包含之至少1個胺基酸殘基的表位、包括包含該胺基酸序列之立體結構之表位等。

上述與抗CD3單株抗體SP34及/或KM14競爭性地結合之抗體、與該抗體所結合之表位結合之抗體可藉由使用人類CD3之胺基酸序列之第1至第27號之胺基酸序列來進行抗體結合分析而取得。

作為本發明之抗CD3雙特異性抗體，具體而言，可例舉：包含上述CD3結合域之雙特異性抗體。

【0178】 本發明之CD3結合域亦可出於如下目的來應用，即，製造細胞激素產生誘導能力得到抑制之抗CD3雙特異性抗體；抑制抗CD3雙特異性抗體之過剩之細胞激素產生誘導。

【0179】 本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段亦包括具有效應活性之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【0180】 效應物活性係指經由抗體之Fc區所引起之抗體依賴性之細胞毒殺活性，例如可例舉：ADCC活性、補體依賴性細胞毒殺活性(Complement-Dependent Cytotoxicity activity；CDC活性)、利用巨噬細胞或樹狀細胞等吞噬細胞之抗體依賴性巨噬活性(Antibody-dependent

cellular phagocytosis activity；ADCP活性)及助噬作用效果等。

【0181】 本發明中，ADCC活性及CDC活性可使用公知之測定方法[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373(1993)]進行測定。

【0182】 ADCC活性係指與靶細胞上之抗原結合之抗體經由抗體之Fc區與免疫細胞之Fc受體結合，藉此使免疫細胞(自然殺手細胞等)活化而殺傷靶細胞之活性。

【0183】 Fc受體(FcR)係與抗體之Fc區結合之受體，藉由抗體之結合而誘發各種效應物活性。各FcR係與抗體之亞型對應，IgG、IgE、IgA、IgM分別與FcγR、FcεR、FcαR、FcμR特異性地結合。進而於FcγR中存在FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)及FcγRIII(CD16)之亞型，各亞型存在FcγRIA、FcγRIB、FcγRIC、FcγRIIA、FcγRIIB、FcγRIIC、FcγRIIIA及FcγRIIIB之同功異型物。該等不同之FcγR存在於不同之細胞上[Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)]。於人類中，FcγRIIIB係於嗜中性球中特異性地表現，FcγRIIIA係於單核球、自然殺手細胞(NK細胞)、巨噬細胞及一部分之T細胞中表現。由抗體與FcγRIIIA之結合介導而誘發NK細胞依賴性之ADCC活性。

【0184】 CDC活性係指與靶細胞上之抗原結合之抗體使血液中之包含補體相關蛋白質群之一系列級聯(補體活化途徑)活化而殺傷靶細胞的活性。又，藉由因補體之活化而產生之蛋白質片段，而誘導免疫細胞之趨化及活化。CDC活性之級聯係藉由首先使C1q與Fc區結合，繼而與2個絲胺酸蛋白酶即C1r及C1s結合，形成C1複合體從而開始級聯。

【0185】 本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段對於抗原表現細胞之CDC活性、或ADCC活性可藉由公知之測定方法[Cancer

Immunol. Immunother., 36, 373 (1993)]進行評價。

【0186】 作為控制本發明之雙特異性抗體之效應活性的方法，已知有：控制與N-結合複合型糖鏈之還原末端所存在之N-乙醯葡糖胺(GlcNAc)α-1,6結合之岩藻糖(亦稱為核心岩藻糖)的量之方法，該N-結合複合型糖鏈與IgG抗體部分之Fc區(包含CH2及CH3域之恆定區)之第297號之天冬醯胺(Asn)結合(國際公開第2005/035586號、國際公開第2002/31140號及國際公開第00/61739號)；或者藉由改變抗體之Fc區之胺基酸殘基來進行控制之方法(國際公開第00/42072號)等。

【0187】 藉由控制與雙特異性抗體結合之核心岩藻糖之量，可增加或降低抗體之ADCC活性。例如，作為使結合至與抗體之Fc結合之N-結合複合型糖鏈之核心岩藻糖的含量降低之方法，使用α1,6-岩藻糖轉移酶基因缺損之宿主細胞來使雙特異性抗體變現，藉此可取得具有較高之ADCC之雙特異性抗體。另一方面，作為增加結合至與雙特異性抗體之Fc結合之N-結合複合型糖鏈之岩藻糖的含量之方法，使用導入有α1,6-岩藻糖轉移酶基因之宿主細胞來使抗體表現，藉此可取得具有較低之ADCC活性之雙特異性抗體。

【0188】 又，藉由改型雙特異性抗體之Fc區之胺基酸殘基，可增加或降低ADCC活性或CDC活性。例如藉由使用美國專利申請公開第2007/0148165號說明書中記載之Fc區之胺基酸序列，可增加雙特異性抗體之CDC活性。又，藉由進行美國專利第6,737,056號說明書、美國專利第7,297,775號說明書或美國專利第7,317,091號說明書等中所記載之胺基酸改變，可增加ADCC活性或CDC活性，亦可降低ADCC活性或CDC活性。

【0189】 進而，藉由將上述方法組合，亦可取得效應活性得到控制之雙特異性抗體。

【0190】 本發明之雙特異性抗體之穩定性可藉由測定純化過程中或在一定條件下保存之樣品中所形成之凝集體(寡聚物)量來進行評價。即，於相同條件下凝集體量降低之情形時，評價為抗體之穩定性得到提高。凝集體量可藉由使用包含凝膠過濾層析法之適當層析法將所凝集之抗體與未凝集之抗體進行分離而進行測定。

【0191】 本發明之雙特異性抗體之生產性可藉由對培養液中自該抗體產生細胞產生之抗體量進行測定來評價。更具體而言，可藉由利用HPLC法或ELISA法等適當之方法對自培養液中去除產生細胞後所得之培養上清液中所含之抗體量進行測定來評價。

【0192】 作為本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，包含使放射性同位素、低分子之藥劑、高分子之藥劑、蛋白質或抗體醫藥等以化學或基因工程方式與本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段結合而成之抗體的衍生物。

【0193】 本發明中之抗體之衍生物可藉由如下方式進行製造：利用化學手法[抗體工程入門，地人書館(1994)]使放射性同位素、低分子之藥劑、高分子之藥劑、免疫活化劑、蛋白質或抗體醫藥等與本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段的H鏈或L鏈之N末端側或C末端側、該抗體或其抗體片段中之適當取代基或側鏈、進而該抗體或其抗體片段中之糖鏈等結合。

【0194】 又，本發明中之抗體之衍生物可藉由如下基因工程方法進行製造：使編碼本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之DNA、

與編碼所需蛋白質或抗體醫藥之DNA連結並插入至表現載體，將該表現載體導入至適當之宿主細胞使之表現。

【0195】 作為放射性同位素，例如可例舉：^{111}In、^{131}I、^{125}I、^{90}Y、^{64}Cu、^{99}Tc、^{77}Lu或^{211}At等。放射性同位素可藉由氯胺T法等與抗體直接結合。又，亦可使抗體與使放射性同位素螯合之物質結合。作為螯合劑，例如可例舉：1-異硫氰酸酯基苄基-3-甲基二伸乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)等。

【0196】 作為低分子之藥劑，例如可例舉：烷基化劑、亞硝基脲劑、代謝拮抗劑、抗生素、植物鹼、拓樸異構酶抑制劑、激素治療劑、激素拮抗劑、芳香酶抑制劑、P糖蛋白抑制劑、鉑錯合物衍生物、M期抑制劑或激酶抑制劑等抗癌劑[臨床腫瘤學，癌與化學療法社(1996)]；氫化可體松或潑尼松等類固醇劑；阿司匹林或吲哚美辛等非類固醇劑；硫代蘋果酸金或青黴胺等免疫調節劑；環磷醯胺或硫唑嘌呤等免疫抑制劑；或者如馬來酸氯苯那敏或氯苯苄咯(Tavegil)之抗組織胺劑等抗炎症劑[炎症與抗炎症療法，醫齒藥出版股份有限公司(1982)]等。

【0197】 作為抗癌劑，例如可例舉：阿密磷定(阿米福汀(Ethyol))、順鉑、達卡巴(DTIC)、放線菌素、二氯甲基二乙胺(氮芥)、鏈佐星、環磷醯胺、異環磷醯胺、卡莫司汀(BCNU)、環己亞硝脲(CCNU)、多柔比星(阿德力黴素)、表柔比星、吉西他濱(鹽酸吉西他濱)、道諾紅菌素、甲基苄肼)、絲裂黴素、阿糖胞苷、依託泊苷、5-氟尿嘧啶、氟尿嘧啶、長春花鹼、長春新鹼、博萊黴素、道諾黴素、培洛黴素、雌莫司汀、紫杉醇(泰克索)、歐洲紫杉醇(多西他賽)、阿地白介素、門冬醯胺酶、白消安、卡鉑、奧沙利鉑、奈達帕汀、克拉屈濱、喜樹鹼、10-羥基-7-乙基-喜樹鹼

(SN38)、氟尿苷、氟達拉濱、羥基脲、依達比星、甲磺乙磺酸鈉、伊立替康(CPT-11)、拓樸替康、米托蒽醌、托泊替康、亮丙瑞林、甲地孕酮、美法侖、甲磺噁唑、羥基脲、光輝黴素、密妥坦、培門冬酶、噴司他丁、哌泊溴烷、鏈佐星、他莫昔芬、戈舍瑞林、亮丙瑞林、氟他胺、替尼泊甙、睾內脂、硫鳥噁唑、噻替派、尿嘧啶氮芥、長春瑞濱、氯芥苯丁酸、氫化可體松、潑尼松龍、甲基潑尼松龍、長春地辛、尼莫司汀、司莫司汀、卡培他濱、拓優得、阿紮胞苷、UFT、奧沙利鉑、吉非替尼(易瑞沙)、伊馬替尼(STI571)、厄洛替尼、類FMS酪胺酸激酶(FMS-like tyrosine kinase 3)(Flt3)抑制劑、血管內皮生長因子受體(vascular endothelial growth factor receptor)(VEGFR)抑制劑、纖維母細胞生長因子受體(fibroblast growth factor receptor)(FGFR)抑制劑、埃羅替尼(Tarceva)等表皮生長因子受體(epidermal growth factor receptor)(EGFR)抑制劑、根赤殼菌素、17-烯丙基胺基-17-去甲氧基格爾德黴素、雷帕黴素、安吖啶、全反維他命A酸、沙利竇邁、來那度胺、阿那曲唑、法倔唑、來曲唑、依西美坦、硫代蘋果酸金、D-青黴胺、布西拉明、硫唑噁唑、咪唑立賓、環孢靈、雷帕黴素、氫化可體松、蓓薩羅丁(貝沙羅汀)、他莫昔芬、地塞米松、助孕素類、雌激素類、阿那曲唑(阿納托唑)、亮丙瑞林、阿司匹林、吲哚美辛、塞來昔布、硫唑噁唑、青黴胺、硫代蘋果酸金、馬來酸氯苯那敏、馬來酸氯苯吡胺、氯雷他定、維生素A酸、蓓薩羅丁、砷、硼替佐米、別噁唑醇、卡奇黴素、替伊莫單抗、貝沙羅汀、Ozogamin、克拉紅黴素、甲醯四氫葉酸、酮康唑、氨魯米特、蘇拉明、甲胺喋呤或美登木素生物鹼或者其衍生物等。

【0198】 作為使低分子之藥劑與本發明之雙特異性抗體或該雙特異

性抗體片段鍵結之方法，例如可例舉：經由戊二醛使藥劑與該抗體之胺基間鍵結之方法、或者經由水溶性碳二醯亞胺使藥劑之胺基與該抗體之羧基鍵結之方法等。

【0199】 作為高分子之藥劑，例如可例舉：聚乙二醇(PEG)、白蛋白、葡聚糖、聚氧乙烯、苯乙烯馬來酸共聚物、聚乙烯吡咯啶酮、吡喃共聚物、或羥丙基甲基丙烯醯胺等。藉由使該等高分子化合物與本發明之雙特異性抗體或抗體片段結合，而期待(1)對於化學、物理或生物上之各種因子之穩定性之提高、(2)血中半衰期之顯著延長、或者(3)免疫原性之消失或抗體產生之抑制等效果[Bioconjugates醫藥品，廣川書店(1993)]。

【0200】 例如，作為使PEG與本發明之雙特異性抗體結合之方法，可例舉：與PEG化修飾試劑進行反應之方法等[Bioconjugates醫藥品，廣川書店(1993)]。作為PEG化修飾試劑，可例舉：對於離胺酸之ε-胺基之修飾劑(日本專利特開昭61-178926號公報)、對於天冬胺酸及麩胺酸之羧基之修飾劑(日本專利特開昭56-23587號公報)、或者對於精胺酸之胍基之修飾劑(日本專利特開平2-117920號公報)等。

【0201】 作為免疫活化劑，可為作為免疫佐劑為人所知之天然物，作為具體例，使免疫亢進之藥劑可例舉：β(1→3)葡聚糖(例如，香菇多糖或裂褶菌多糖)、或α半乳糖苷基神經醯胺(KRN7000)等。

【0202】 作為蛋白質，例如可例舉：使NK細胞、巨噬細胞或嗜中性球等免疫活性(適格)細胞活化之細胞激素或生長因子或者毒素蛋白質等。

【0203】 作為細胞激素或生長因子，例如可例舉：干擾素(以下，記為IFN)-α、IFN-β、IFN-γ、介白素(以下，記為IL)-2、IL-5、IL-6、IL-

10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IL-23、腫瘤壞死因子(tumor necrosis factor；TNF)-α、TNF-β、顆粒球菌落刺激因子(G-CSF)、顆粒球/巨噬細胞菌落刺激因子(GM-CSF)或巨噬細胞菌落刺激因子(M-CSF)等。

【0204】 作為毒素蛋白質，例如可例舉：離胺酸、白喉毒素或ONTAK等，亦包括為了調節毒性而向蛋白質導入突變而成之蛋白質毒素。

【0205】 與蛋白質或抗體醫藥之融合抗體可藉由如下方式表現並製造：使編碼本發明之雙特異性抗體或抗體片段之cDNA與編碼蛋白質之cDNA連結而構建編碼融合抗體之DNA，將該DNA插入至原核生物或真核生物用表現載體，將該表現載體向原核生物或真核生物導入。

【0206】 於將上述抗體之衍生物用作檢測方法、定量方法、檢測用試劑、測定用試劑或診斷藥之情形時，作為與本發明之雙特異性抗體或其抗體片段結合之藥劑，可例舉：通常之免疫學檢測或測定方法中所使用之標記物。作為標記物，例如可例舉：鹼性磷酸酶、過氧化酶或螢光素酶等酵素；吖啶鎓酯或咯吩等發光物質；或者螢光異硫氰酸鹽(FITC)或異硫氰酸四甲基羅丹明(RITC)、Alexa(註冊商標)Fluor 488、R-紅藻素(R-PE)等螢光物質等。

【0207】 本發明中包含具有CDC活性或ADCC活性等細胞毒殺活性之雙特異性抗體及該雙特異性抗體片段。本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段對於抗原表現細胞之CDC活性或ADCC活性可藉由公知之測定方法[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993)]進行評價。

【0208】 又，本發明係關於一種包含特異性地識別CD3及疾病相關抗原並進行結合之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之組合物、或者含

有該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段作為有效成分之與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病、較佳為疾病相關抗原之表現細胞所參與之疾病的治療藥。

【0209】 作為與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病，只要為與CD3及疾病相關抗原之至少一者有關之疾病，則可為任何者，例如可例舉惡性腫瘤及癌症等。

【0210】 含有本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、或其等之衍生物之治療藥可為僅包含作為有效成分之該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、或者其等之衍生物者，但較佳為與通常藥理學上所容許之1種以上之載體一同加以混合，並藉由製劑學之技術領域中所公知之任意方法進行製造，而以製造所得之醫藥製劑的形式來提供。

【0211】 投予路徑較佳為使用治療時最具效果者，例如可例舉：經口投予、或者口腔內、呼吸道內、直腸內、皮下、肌內或靜脈內等非經口投予。其中，較佳為靜脈內投予。

【0212】 作為投予形態，例如可例舉：噴霧劑、膠囊劑、錠劑、散劑、顆粒劑、糖漿劑、乳劑、栓劑、注射劑、軟膏或貼劑等。

【0213】 投予量或投予次數係根據設為目標之治療效果、投予方法、治療期間、年齡、及體重等而不同，通常成人每天為10 μg/kg～10 mg/kg。

【0214】 進而，本發明係關於一種含有本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之CD3及疾病相關抗原之至少一者的免疫學檢測用或測定用試劑、或者與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之診斷藥、較佳為疾病相關抗原之表現細胞所參與之疾病之診斷藥。又，本發明係關

於一種使用本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之CD3及疾病相關抗原之至少一者的免疫學檢測用或測定用方法；與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病、較佳為疾病相關抗原之表現細胞所參與之疾病的治療方法；或者與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病、較佳為疾病相關抗原之表現細胞所參與之疾病之診斷方法。

【0215】 作為本發明中檢測或測定CD3及疾病相關抗原之至少一者之量之方法，可例舉任意之公知方法。例如可例舉：免疫學檢測或測定方法等。

【0216】 所謂免疫學檢測或測定方法，係使用施加了標記之抗原或抗體，對抗體量或抗原量進行檢測或測定之方法。作為免疫學檢測或測定方法，例如可例舉：放射免疫測定法(RIA)、酶免疫測定法(EIA或ELISA)、螢光免疫測定法(FIA)、發光免疫測定法(luminescent immunoassay)、西方點墨法或物理化學手法等。

【0217】 藉由使用本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段檢測或測定表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞，可診斷與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病、較佳為疾病相關抗原之表現細胞所參與之疾病。

【0218】 於檢測表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞時，可使用公知之免疫學檢測法，但例如可例舉：免疫沈澱法、免疫細胞染色法、免疫組織染色法或螢光抗體染色法等。又，例如亦可例舉：FMAT8100HTS系統(Applied Biosystems公司製造)等螢光抗體染色法等。

【0219】 本發明中作為成為檢測或測定CD3及疾病相關抗原之至少

一者之對象的生物樣本，例如為組織細胞、血液、血漿、血清、胰液、尿、糞便、組織液或培養液等，只要有可能包含表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞，則無特別限定。

【0220】 含有本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、或其等之衍生物之診斷藥亦可視目標之診斷方法而含有用以進行抗原抗體反應之試劑、該反應之檢測用試劑。作為用以進行抗原抗體反應之試劑，例如可例舉緩衝劑、鹽等。

【0221】 作為檢測用試劑，例如可例舉：與上述雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、或者其等之衍生物結合之經標記之二次抗體、或者與標記對應之受質等通常之免疫學檢測或測定法所使用之試劑。

【0222】 以下，關於本發明之雙特異性抗體之製作方法、該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之活性評價方法、以及使用該雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之疾病之治療方法及診斷方法，具體地進行記載。

【0223】 1.單株抗體之製作方法

本發明中之單株抗體之製造方法包括下述作業步驟。即，(1)用作免疫原之抗原之純化及製作抗原於細胞表面過度表現之細胞之至少一步驟；(2)使動物對抗原產生免疫後，採血來對其抗體效價進行檢驗以決定摘除脾臟等之時期，從而製備抗體產生細胞之步驟；(3)製備骨髓瘤細胞(myeloma)；(4)使抗體產生細胞與骨髓瘤進行細胞融合；(5)篩選產生目標抗體之融合瘤群；(6)自融合瘤群分離(選殖)單純系(monoclonal)細胞；(7)視情形培養用以大量製造單株抗體之融合瘤、或飼養移植有融合瘤之動物；(8)對如此製造之單株抗體之生理活性及其抗原結合特異性進行研究、或者檢驗作為標記試劑之特性；等。

【0224】 以下，按照上述步驟，對用以製作本發明中之與CD3及疾病相關抗原結合之雙特異性抗體的與CD3結合之單株抗體及與疾病相關抗原結合之單株抗體的製作方法進行詳述。該抗體之製作方法並不限於此，例如亦可使用脾臟細胞以外之抗體產生細胞及骨髓瘤。

【0225】 (1)抗原之純化

表現疾病相關抗原或CD3之細胞可藉由將包含編碼疾病相關抗原或CD3全長或其部分長度之cDNA的表現載體導入至大腸桿菌、酵母、昆蟲細胞或動物細胞等中而獲得。又，可自大量地表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之各種人類腫瘤培養細胞或人類組織等，對CD3及疾病相關抗原之至少一者進行純化並用作抗原。又，亦可將該腫瘤培養細胞或該組織等直接用作抗原。進而，亦可藉由Fmoc法或tBoc法等化學合成法製備具有CD3或疾病相關抗原之部分序列之合成肽用於抗原。

【0226】 本發明中所使用之CD3或疾病相關抗原可使用Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)或Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)等所記載之方法等，例如利用以下之方法使編碼該CD3或疾病相關抗原之DNA於宿主細胞中表現，藉此進行製造。

【0227】 藉由將包含編碼CD3或疾病相關抗原之部分之全長cDNA插入至適當之表現載體之啟動子之下游，從而製作重組載體。亦可使用基於全長cDNA所製備之包含編碼多肽之部分之適當長度之DNA片段代替上述全長cDNA。繼而，將所獲得之該重組載體導入至適於該表現載體之宿主細胞，藉此可獲得生產CD3或疾病相關抗原之轉形體。

【0228】 作為表現載體，只要可實現於使用之宿主細胞中自主複製

或向染色體中組入，且於可轉錄編碼CD3或疾病相關抗原之DNA之位置含有適當啟動子，則可使用任一種。

【0229】 作為宿主細胞，例如為大腸桿菌等屬於艾氏菌屬等之微生物、酵母、昆蟲細胞或動物細胞等，只要可表現目標基因，則可使用任一種。

【0230】 於使用大腸桿菌等原核生物作為宿主細胞之情形時，重組載體較佳為於原核生物中能夠自主複製，並且含有啟動子、核糖體結合序列、包含編碼CD3或疾病相關抗原之部分之DNA、及轉錄終止序列的載體。又，對於該重組載體，轉錄終止序列並非必需，但較佳為於結構基因之正下方配置轉錄終止序列。進而，該重組載體亦可含有控制啟動子之基因。

【0231】 作為該重組載體，較佳為使用將作為核糖體結合序列之夏因-達爾加諾序列(Shine-Dalgarno sequence)與起始密碼子之間調節為適當距離(例如6～18個鹼基)的質體。

【0232】 又，作為編碼該CD3或疾病相關抗原之DNA之鹼基序列，可進行鹼基置換以設置成最適合於宿主內表現之密碼子，藉此，可提高目標CD3或疾病相關抗原之生產率。

【0233】 作為表現載體，只要為能夠於所使用之宿主細胞中發揮功能者，則可使用任一種，例如可例舉：pBTrp2、pBTac1、pBTac2(以上為Roche-Diagnostics公司製造)、pKK233-2(Pharmacia公司製造)、pSE280(Invitrogen公司製造)、pGEMEX-1(Promega公司製造)、pQE-8(Qiagen公司製造)、pKYP10(日本專利特開昭58-110600號公報)、pKYP200[Agricultural Biological Chemistry, 48, 669 (1984)]、

pLSA1[Agric. Biol. Chem., 53, 277 (1989)]、pGEL1[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 4306 (1985)]、pBluescript II SK(-)(Stratagene公司製造)、pTrs30[由大腸桿菌JM109/pTrS30(FERM BP-5407)製備]、pTrs32[由大腸桿菌JM109/pTrS32(FERM BP-5408)製備]、pGHA2[由大腸桿菌IGHA2(FERM BP-400)製造，日本專利特開昭60-221091號公報]、pGKA2[由大腸桿菌IGKA2(FERM BP-6798)製備，日本專利特開昭60-221091號公報]、pTerm2(美國專利第4,686,191號說明書，美國專利第4,939,094號說明書，美國專利第5,160,735號說明書)、pSupex、pUB110、pTP5、pC194、pEG400[J. Bacteriol., 172, 2392 (1990)]、pGEX(Pharmacia公司製造)、pET系統(Novagen公司製造)或pME18SFL3(東洋紡織公司製造)等。

【0234】作為啟動子，只要為於所使用之宿主細胞中發揮功能者，則可為任何者。例如可例舉：trp啟動子(Ptrp)、lac啟動子、PL啟動子、PR啟動子或T7啟動子等源自大腸桿菌或噬菌體等之啟動子。又，例如亦可例舉：使2個Ptrp串聯而成之串聯啟動子、tac啟動子、lacT7啟動子或let I啟動子等經人工設計改變之啟動子等。

【0235】作為宿主細胞，例如可例舉：大腸桿菌XL1-Blue、大腸桿菌XL2-Blue、大腸桿菌DH1、大腸桿菌MC1000、大腸桿菌KY3276、大腸桿菌W1485、大腸桿菌JM109、大腸桿菌HB101、大腸桿菌No.49、大腸桿菌W3110、大腸桿菌NY49、或大腸桿菌DH5α等。

【0236】作為向宿主細胞導入重組載體之方法，只要為向所使用之宿主細胞導入DNA之方法，則可使用任一種方法，例如可例舉：使用鈣離子之方法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69, 2110 (1972)、Gene, 17, 107

(1982)、Molecular & General Genetics, 168, 111 (1979)]。

【0237】 於使用動物細胞作為宿主之情形時，作為表現載體，只要為於動物細胞中發揮功能者，則可使用任一種，例如可例舉：pcDNAI(Invitrogen公司製造)、pcDM8(舟越公司製造)、pAGE107[日本專利特開平3-22979號公報；Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、pAS3-3(日本專利特開平2-227075號公報)、pCDM8[Nature, 329, 840 (1987)]、pcDNAI/Amp(Invitrogen公司製造)、pcDNA3.1(Invitrogen公司製造)、pREP4(Invitrogen公司製造)、pAGE103[J. Biochemistry, 101, 1307 (1987)]、pAGE210、pME18SFL3或pKANTEX93(國際公開第97/10354號)等。

【0238】 作為啟動子，只要為於動物細胞中能夠發揮功能者，則可使用任一種，例如可例舉：巨細胞病毒(CMV)之即刻早期(IE)基因之啟動子、SV40之初期啟動子、反轉錄病毒之啟動子、金屬硫蛋白啟動子、熱休克啟動子、SRα啟動子或來源於小鼠白血病病毒(Molony Murine Leukemia Virus)之啟動子或促進子。又，亦可將人類CMV之IE基因之促進子與啟動子一併使用。

【0239】 作為宿主細胞，例如可例舉：人類伯奇氏淋巴瘤細胞Namalwa、源自非洲綠猴腎臟之細胞COS、源自中國倉鼠卵巢之細胞CHO、或人類白血病細胞HBT5637(日本專利特開昭63-000299號公報)等。

【0240】 作為向宿主細胞導入重組載體之方法，只要為向動物細胞導入DNA之方法，則可使用任一種方法，例如可例舉：電穿孔法[Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、磷酸鈣法(日本專利特開平2-227075號

公報)、或脂轉染法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413(1987)]等。

【0241】 將源自保有組入有以上述方式獲得之編碼CD3或疾病相關抗原之DNA之重組載體的微生物或動物細胞等的轉形體於培養基中進行培養，使該CD3及疾病相關抗原之至少一者於培養物中生成蓄積，自該培養物中進行採集，藉此可製造CD3或疾病相關抗原。將該轉形體於培養基中進行培養之方法可依據宿主之培養所使用之通常方法進行。

【0242】 於利用源自真核生物之細胞來表現之情形時，可獲得附加有糖或糖鏈之CD3或疾病相關抗原。

【0243】 於培養經使用誘導性之啟動子之重組載體轉形之微生物時，亦可視需要將誘導劑(inducer)添加至培養基中。例如，於培養經使用lac啟動子之重組載體轉形之微生物之情形時，亦可將異丙基-β-D-硫代半乳糖苷等添加至培養基中，於培養經使用trp啟動子之重組載體轉形之微生物之情形時，亦可將吲哚丙烯酸等添加至培養基中。

【0244】 作為培養將動物細胞作為宿主所獲得之轉形體之培養基，例如可例舉：通常所使用之RPMI1640培養基[The Journal of the American Medical Association, 199, 519 (1967)]、Eagle之MEM培養基[Science, 122, 501 (1952)]、杜爾貝科改良MEM培養基[Virology, 8, 396(1959)]、199培養基[Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73, 1 (1950)]、Iscove's Modified Dulbecco's Medium(IMDM)培養基、或於該等培養基中添加有胎牛血清(FBS)等之培養基等。培養係通常於pH值6～8、30～40℃、5%CO_2存在下等條件下進行1～7天。又，於培養中亦可視需要，將康黴素或青黴素等抗生素添加至培養基中。

【0245】 作為編碼CD3或疾病相關抗原之基因之表現方法，除直接

表現以外，亦可使用分泌生產或融合蛋白表現等方法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]。作為CD3或疾病相關抗原之生產方法，例如可例舉：於宿主細胞內生產CD3或疾病相關抗原之方法；使CD3或疾病相關抗原分泌至宿主細胞外之方法；或於宿主細胞外膜上生產CD3或疾病相關抗原之方法，且可藉由改變所使用之宿主細胞或所生產之CD3或疾病相關抗原之結構而選擇適當之方法。

【0246】 例如製作於編碼細胞外區之胺基酸序列之DNA上連結編碼抗體之Fc區之DNA、編碼麩胱甘肽S-轉移酶(GST)之DNA、或編碼FLAG標籤之DNA或者編碼組胺酸標籤之DNA等而成的DNA，使之表現並進行純化，藉此可製作抗原融合蛋白。具體而言，例如可例舉：使CD3或疾病相關抗原之細胞外區與人類IgG之Fc區結合而成之Fc融合蛋白、CD3或疾病相關抗原之細胞外區與麩胱甘肽S-轉移酶(GST)之融合蛋白。

【0247】 於在宿主細胞內或宿主細胞外膜上產生CD3或疾病相關抗原之情形時，可藉由使用Paulson等人之方法[J. Biol. Chem., 264, 17619 (1989)]、LOW等人之方法[Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86, 8227 (1989)、Genes Develop., 4, 1288 (1990)]、日本專利特開平05-336963號公報或國際公開第94/23021號等所記載之方法，使CD3或疾病相關抗原積極地分泌至宿主細胞外。又，亦可利用使用二氫葉酸還原酶基因等之基因擴增系統(日本專利特開平2-227075號公報)而使CD3或疾病相關抗原之產生量上升。

【0248】 所產生之CD3或疾病相關抗原例如可以下述方式進行單離、純化。

【0249】 於CD3或疾病相關抗原以溶解狀態在細胞內表現之情形時，於培養結束後藉由離心分離而回收細胞，於水系緩衝液中懸浮後，使用超音波破碎機、法式壓碎機、Manton-Gaulin均質機或Dyno磨機等將細胞破碎，而獲得無細胞萃取液。可藉由將該無細胞萃取液進行離心分離而獲得上清液，將通常之蛋白質之單離純化法、即溶劑萃取法、利用硫酸銨等之鹽析法、除鹽法、利用有機溶劑之沈澱法、使用二乙胺基乙基(DEAE)-瓊脂糖凝膠、DIAION HPA-75(三菱化學公司製造)等樹脂之陰離子交換層析法、使用S-瓊脂糖凝膠(S-Sepharose)FF(Pharmacia公司製造)等樹脂之陽離子交換層析法、使用丁基瓊脂糖凝膠(Butyl Sepharose)、苯基瓊脂糖凝膠(Phenyl Sepharose)等樹脂之疏水性層析法、使用分子篩之凝膠過濾法、親和層析法、層析聚焦(Chromatofocusing)法、或等電點電泳等電泳法等方法單獨或組合使用，而自所獲得之上清液獲得純化蛋白質。

【0250】 於CD3或疾病相關抗原在細胞內形成不溶體而表現之情形時，與上述同樣地回收細胞後將之破碎，進行離心分離，藉此以沈澱組分回收該CD3或疾病相關抗原之不溶體。利用蛋白質改性劑將所回收之該CD3或疾病相關抗原之不溶體進行可溶化。可藉由對該可溶化液進行稀釋或透析而使該CD3或疾病相關抗原恢復到正常之立體結構後，利用與上述相同之單離純化法而獲得多肽之純化蛋白質。

【0251】 於CD3或疾病相關抗原、或者其糖修飾體等衍生物被分泌至細胞外之情形時，可於培養上清液中回收該CD3或疾病相關抗原、或者其糖修飾體等衍生物。可藉由與上述同樣地使用離心分離等方法對該培養上清液進行處理而取得可溶性組分，藉由使用與上述相同之單離純化法而

自可溶性組分獲得純化蛋白質。

【0252】 又，本發明中所使用之CD3或疾病相關抗原亦可藉由Fmoc法或tBoc法等化學合成法進行製造。具體而言，例如可利用Advanced ChemTech公司製造、PerkinElmer公司製造、Pharmacia公司製造、Protein Technology Instrument公司製造、Synthecell-Vega公司製造、Perceptive公司製造或島津製作所公司製造等之肽合成機進行化學合成。

【0253】 (2)抗體產生細胞之製備步驟

用(1)中所獲得之抗原來免疫小鼠、大鼠、倉鼠、兔、牛、或羊駝等動物，採取該動物之脾臟、淋巴結或末梢血液中之抗體產生細胞。又，作為動物，例如可例舉富塚等人之文獻[Tomizuka. et al., Proc Natl Acad Sci USA., 97, 722, (2000)]中所記載之產生源自人類之抗體的基因轉殖小鼠作為被免疫動物，且為了提高免疫原性，可例舉CD3或疾病相關抗原之調節劑剔除小鼠等作為被免疫動物。

【0254】 免疫係藉由將抗原與弗氏完全佐劑、或氫氧化鋁凝膠與百日咳菌疫苗等適當之佐劑一併投予來進行。小鼠免疫時之免疫原投予法可為皮下注射、腹腔內注射、靜脈內注射、皮內注射、肌內注射或足底注射等之任一種，較佳為腹腔內注射、足底注射或靜脈內注射。於抗原為部分肽之情形時，與牛血清白蛋白(BSA)或匙孔螺血氰蛋白(Keyhole Limpet hemocyanin，KLH)等載體蛋白製作偶聯物，將其用作免疫原。

【0255】 抗原之投予係於第1次之投予後，每隔1～2週進行5～10次。於各投予後第3～7天自眼底靜脈叢進行採血，使用酵素免疫測定法[Antibodies-A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]等，對其血清之抗體效價進行測定。若將對於用於免疫之抗原，

上述血清顯示出充分之抗體效價之動物作為融合用抗體產生細胞之供給源，則可提高以後之操作之效果。

【0256】 於抗原之最終投予後第3～7天，自經免疫之動物摘除脾臟等包含抗體產生細胞之組織，採集抗體產生細胞。抗體產生細胞係漿細胞及作為其前驅細胞之淋巴細胞，其可自個體之任意部位獲得，一般而言，可自脾臟、淋巴結、骨髓、扁桃體、末梢血液、或適當組合有該等者等中獲得，最常使用脾臟細胞。於使用脾臟細胞之情形時，將脾臟切碎、解開後，進行離心分離，進而去除紅血球而取得融合用抗體產生細胞。

【0257】 (3)骨髓瘤之製備步驟

作為骨髓瘤，可使用源自小鼠、大鼠、豚鼠、倉鼠、兔或人類等哺乳動物之無自我抗體產生能力之細胞，一般而言，使用自小鼠獲得之培養細胞株、例如使用8-氮鳥嘌呤耐性小鼠(源自BALB/c)骨髓瘤細胞株P3-X63Ag8-U1(P3-U1)[Current Topics in Microbiology and Immunology, 18, 1 (1978)]、P3-NS1/1-Ag41(NS-1)[European J. Immunology, 6, 511 (1976)]、SP2/0-Ag14(SP-2)[Nature, 276, 269 (1978)]、P3-X63-Ag8653 (653)[J. Immunology, 123, 1548 (1979)]、或P3-X63-Ag8(X63)[Nature, 256, 495 (1975)]等。該細胞株係於適當之培養基、例如8-氮鳥嘌呤培養基[添加有麩醯胺、2-巰基乙醇、慶大黴素、FCS及8-氮鳥嘌呤之RPMI-1640培養基]、Iscove改良達爾伯克培養基(Iscove's Modified Dulbecco's Medium；以下稱為「IMDM」)、或達爾伯克改良伊格爾培養基(Dulbecco's Modified Eagle Medium；以下稱為「DMEM」)等培養基中繼代培養。於細胞融合之3～4天前將上述細胞株於正常培養基(例如，包含10% FCS之DMEM培養基)中進行繼代培養，確保融合當天2×10^7個以上

之細胞數。

【0258】 (4)細胞融合

利用最低基礎培養基(Minimum Essential Medium，MEM)或磷酸緩衝生理鹽水(PBS；磷酸二鈉1.83 g、磷酸一鉀0.21 g、食鹽7.65 g、蒸餾水1升、pH值7.2)將(2)中所獲得之融合用抗體產生細胞與(3)中所獲得之骨髓瘤細胞充分洗淨，並以成為融合用抗體產生細胞：骨髓瘤細胞＝5：1～10：1之方式加以混合，進行離心分離後，將上清液去除。將沈澱之細胞群充分地解開後，一面加入聚乙二醇-1000(PEG-1000)、MEM培養基及二甲基亞碸之混液一面於37℃下進行攪拌。進而每1～2分鐘添加MEM培養基1～2 mL數次後，添加MEM培養基以使總量成為50 mL。離心分離後，將上清液去除。將沈澱之細胞群緩慢地解開後，於HAT培養基[添加有次黃嘌呤、胸苷、及胺基喋呤之正常培養基]中緩慢地使細胞懸浮。將該懸浮液於5%CO_2培養箱中以37℃培養7～14天。

【0259】 又，亦可藉由以下之方法進行細胞融合。將脾臟細胞與骨髓瘤細胞利用無血清培養基(例如DMEM)、或磷酸緩衝生理鹽水(以下稱為「磷酸緩衝液」)充分地洗淨，並以脾臟細胞與骨髓瘤細胞之細胞數之比成為5：1～10：1左右的方式加以混合，進行離心分離。將上清液去除，將沈澱之細胞群充分地解開後，一面滴加1 mL之包含50%(w/v) 聚乙二醇(分子量1000～4000)之無血清培養基一面進行攪拌。其後，緩慢地加入10 L之無血清培養基後，進行離心分離。再次捨棄上清液，使沈澱之細胞於包含適量之次黃嘌呤-胺基喋呤-胸苷(HAT)液及人類介白素-2(IL-2)之正常培養基(以下，稱為HAT培養基)中懸浮，分注至培養用培養板(以下，稱為培養板)之各孔中，於5%二氧化碳存在下，於37℃下培養2週左

右。途中適當補充HAT培養基。

【0260】 (5)融合瘤群之選擇

於用於融合之骨髓瘤細胞為8-氮鳥嘌呤耐性株之情形時、即為次黃嘌呤-鳥嘌呤-磷酸核糖轉移酶(HGPRT)缺損株之情形時，未融合之骨髓瘤細胞及骨髓瘤細胞彼此之融合細胞於HAT培養基中無法生存。另一方面，抗體產生細胞彼此之融合細胞及抗體產生細胞與骨髓瘤細胞之融合瘤可於HAT培養基中生存，但抗體產生細胞彼此之融合細胞不久會達到壽命。因此，藉由於HAT培養基中繼續培養，而僅抗體產生細胞與骨髓瘤細胞之融合瘤存活，結果可取得融合瘤。

【0261】 針對生長成群落狀之融合瘤，將培養基更換為自HAT培養基中去除胺基喋呤後之培養基(以下，稱為HT培養基)。其後，可採集培養上清液之一部分，並使用下述之抗體效價測定法來選擇產生抗體之融合瘤。作為抗體效價之測定方法，例如可例舉：放射性同位素免疫測定法(RIA法)、固相酵素免疫測定法(ELISA法)、螢光抗體法及被動血球凝集反應法等各種之公知技術，就檢測感度、迅速性、準確性及操作之自動化之可能性等觀點而言，較佳為RIA法或ELISA法。

【0262】 將藉由測定抗體效價而判明了產生所需抗體之融合瘤移至另一培養板來進行選殖。作為該選殖法，例如可例舉：以於培養板之1個孔中包含1個細胞之方式進行稀釋並進行培養之限制稀釋法；於軟瓊脂培養基中進行培養並回收群落之軟瓊脂法；藉由顯微操作儀單離1個細胞之方法；藉由細胞分選儀單離1個細胞之方法等。

【0263】 關於確認到抗體效價之孔，例如選擇將利用限制稀釋法之選殖反覆進行2～4次而穩定地確認到抗體效價者作為產生對於CD3或疾病

相關抗原之單株抗體之融合瘤株。

【0264】 (6)單株抗體之製備

對於經姥鮫烷處理[將2,6,10,14-四甲基十五烷(Pristane)0.5 mL進行腹腔內投予，飼養2週]之8～10週齡之小鼠或裸小鼠，將(5)中所獲得之單株抗體產生融合瘤注射至腹腔內。於10～21天融合瘤發生腹水癌化。自該小鼠採集腹水，進行離心分離，將固形物成分去除後，利用40～50%硫酸銨進行鹽析，利用辛酸沈澱法、DEAE-瓊脂糖凝膠管柱、蛋白A-管柱或凝膠過濾管柱進行純化，收集IgG或IgM組分，作為純化單株抗體。又，藉由於同一系統之小鼠(例如，BALB/c)或Nu/Nu小鼠、大鼠、豚鼠、倉鼠或兔等之腹腔內使該融合瘤增生，可獲得包含大量與CD3或疾病相關抗原結合之單株抗體之腹水。

【0265】 將(5)中所獲得之單株抗體產生融合瘤於添加有10%FBS之RPMI1640培養基等中進行培養後，藉由離心分離去除上清液，於GIT培養基、或添加有5%Daigo GF21之Hybridoma-SFM培養基等中懸浮，藉由燒瓶培養、旋轉培養或袋裝培養等來培養3～7天。將所獲得之細胞懸浮液進行離心分離，自所獲得之上清液藉由蛋白A管柱或蛋白G管柱進行純化，收集IgG組分，亦可獲得純化單株抗體。作為純化之簡便方法，亦可利用市售之單株抗體純化套組(例如，MAbTrap GII套組；Amersham Pharmacia Biotech公司製造)等。

【0266】 抗體之亞型之確定係使用亞型分型套組(subtype typing kit)，藉由酵素免疫測定法進行。蛋白量之測定係可藉由勞立法(Lowry method)及自280 nm下之吸光度[1.4(OD_{280})＝免疫球蛋白1 mg/mL]算出之方法來進行。

【0267】 (7)單株抗體對於CD3或疾病相關抗原之結合分析

本發明之抗CD3雙特異性抗體包含對於CD3之親和力減弱之CD3結合域，該CD3結合域於上述結合分析中，可使用抗CD3單株抗體SP34或KM14作為對照來確定。

例如，自抗CD3單株抗體庫中篩選與抗CD3單株抗體SP34或KM14相比親和力低10%以上之抗體，藉此可確定所需之CD3結合域。又，基於抗CD3單株抗體SP34或KM14之CDR或VH/VL之胺基酸序列，製作向CDR或FR區之胺基酸序列導入隨機突變後而成之抗體庫，自該抗體庫中篩選與抗CD3單株抗體SP34或KM14相比親和力低10%以上之抗體，藉此可確定所需之CD3結合域。

單株抗體對於CD3或疾病相關抗原之結合活性可藉由歐氏(雙向)擴散法(Ouchterlony)法、ELISA法、RIA法、流式細胞分析法(FCM)或表面電漿子共振(SPR) 法等結合分析系統來進行測定。

【0268】 歐氏(雙向)擴散法雖簡便，但於抗體濃度較低之情形時需要濃縮操作。另一方面，於使用ELISA法或RIA法之情形時，使培養上清液直接與抗原吸附固相進行反應，進而使用各種免疫球蛋白同型、與亞型對應之抗體作為二次抗體，藉此能夠一面鑑定抗體之同型、亞型，一面測定抗體之結合活性。

【0269】 作為步序之具體例，使經純化或部分純化之重組CD3或疾病相關抗原吸附於ELISA用96孔培養板等之固相表面，進而藉由與抗原無關係之蛋白質、例如牛血清白蛋白(BSA)對未吸附抗原之固相表面進行阻斷。利用包含磷酸緩衝生理鹽水(PBS)及0.05% Tween20之PBS(Tween-PBS)等將ELISA培養板洗淨後，使經階段稀釋之第1抗體(例如小鼠血清、

培養上清液等)進行反應，使抗體與固定在培養板之抗原結合。繼而，分注經作為第2抗體之生物素、酵素(辣根過氧化酶；HRP、鹼性磷酸酶；ALP等)、化學發光物質或放射線化合物等標記之抗免疫球蛋白抗體，使結合至培養板之第1抗體與第2抗體反應。利用Tween-PBS充分洗淨後，進行與第2抗體之標記物質相應之反應，選擇與靶抗原特異性地反應之單株抗體。

【0270】 FCM法中，可測定抗體對於抗原表現細胞之結合活性[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373 (1993)]。抗體與在細胞膜上表現之膜蛋白質抗原結合意指該抗體識別天然存在之抗原之立體結構並進行結合。

【0271】 作為SPR法，可例舉利用表面電漿子共振(Biacore)之動力學分析。例如使用Biacore T100，測定抗原與試驗樣品之間之結合之動力學，並利用機器附帶之分析軟體對其結果進行分析。作為步序之具體例，藉由胺偶合法將抗小鼠IgG抗體固定至感測器晶片CM5後，使融合瘤培養上清液或純化單株抗體等試驗樣品質流過以結合適當量，進而使濃度既知之複數種濃度之抗原流過，測定結合及解離。繼而，對於所獲得之資料，使用機器附帶之軟體，進行基於1：1結合模型之動力學分析，取得各種參數。或者，藉由例如胺偶合法將CD3或疾病相關抗原固定至感測器晶片上後，使濃度既知之複數種濃度之純化單株抗體流過，對結合及解離進行測定。對於所獲得之資料，使用機器附帶之軟體，進行基於1：1結合模型或二價結合(bivalent binding)模型之動力學分析，取得各種參數。

【0272】 又，於本發明中，與對於CD3或疾病相關抗原之抗體競爭性地與CD3或疾病相關抗原結合之抗體可藉由使試驗抗體共存於上述結合

分析系統中並進行反應而選擇。即，對添加有試驗抗體時與抗原之結合會受到抑制之抗體進行篩選，藉此可獲得與上述中所取得之抗體競爭性地與CD3或疾病相關抗原結合之抗體。

【0273】 (8)對於CD3或疾病相關抗原之單株抗體之表位之鑑定

本發明中，抗體所識別並結合之表位之鑑定可以如下方式進行。

【0274】 例如，製作抗原之部分缺損體、改變了種間不同之胺基酸殘基之變異體、或改變了特定區域之變異體，若抗體對於該缺損體或變異體之反應性降低，則明確缺損部位或胺基酸改變部位為該抗體之表位。此種抗原之部分缺損體及變異體可使用適當之宿主細胞、例如大腸桿菌、酵母、植物細胞或哺乳動物細胞等，以分泌蛋白質之形式取得，亦可於宿主細胞之細胞膜上表現而以抗原表現細胞之形式製備。於膜型抗原之情形時，為了在保持抗原之立體結構之狀態下進行表現，較佳為於宿主細胞之膜上進行表現。又，亦可製作模仿抗原之一次結構或立體結構之合成肽，而確認抗體之反應性。關於合成肽，可例舉使用公知之肽合成技術而製作分子之各種部分肽之方法等。

【0275】 例如，對於人類及小鼠之CD3或疾病相關抗原之細胞外區，製作適當組合構成各區域之區而成之嵌合蛋白質，確定抗體對於該蛋白質之反應性，藉此可鑑定抗體之表位。其後，進一步細緻地，使用業者所周知之寡肽合成技術，合成各種其對應部分之寡肽、或該肽之變異體等，確定抗體對於該肽之反應性，藉此可特定表位。作為用以獲得多種寡肽之簡便方法，亦可利用市售之套組[例如，SPOTs套組(GENOSYS BIOTECHNOLOGIES公司製造)、使用多中心合成法之一系列多中心-肽合成套組(Chiron公司製造)等]。

【0276】與和與CD3或疾病相關抗原結合之抗體所結合之表位相同之表位結合的抗體可藉由鑑定上述結合分析系統中所獲得之抗體之表位，製作該表位之部分合成肽、擬態為該表位之立體結構之合成肽、或該表位之重組體等並進行免疫而取得。

【0277】例如若表位為膜蛋白質，則可藉由使全細胞外區或一部分細胞外域與適當之標籤、例如FLAG標籤、組胺酸標籤、GST蛋白質或抗體Fc區域等連結而製作重組融合蛋白，用該重組蛋白質進行免疫而更有效率地製作該表位特異性抗體。

【0278】2.基因重組抗體之製作

作為基因重組抗體之製作例，雖於P. J. Delves., ANTIBODY PRODUCTION ESSENTIAL TECHNIQUES., 1997 WILEY、P. Shepherd and C. Dean. Monoclonal Antibodies., 2000 OXFORD UNIVERSITY PRESS及J. W. Goding., Monoclonal Antibodies : principles and practice., 1993 ACADEMIC PRESS等有概論，但於以下表示嵌合抗體、人類化抗體及人類抗體之製作方法。又，關於基因重組小鼠、大鼠、倉鼠及兔子抗體，亦可藉由相同之方法進行製作。

【0279】(1)自融合瘤取得編碼單株抗體之V區之cDNA

編碼單株抗體之VH及VL之cDNA之取得例如可以如下方式進行。

【0280】首先，自產生單株抗體之融合瘤提取mRNA而合成cDNA。繼而，將所合成之cDNA選殖至噬菌體或質體等載體而製作cDNA庫。使用編碼抗體之C區部分或V區部分之DNA作為探針，自該庫分別單離具有編碼VH或VL之cDNA之重組噬菌體或重組質體。確定所單離之重組噬菌體或重組質體內之VH或VL之完整鹼基序列，根據該鹼基序列推測

VH或VL之完整胺基酸序列。

【0281】作為製作融合瘤時所使用之非人類動物，使用小鼠、大鼠、倉鼠或兔等，但只要能夠製作融合瘤，則可使用任何動物。

【0282】於自融合瘤製備總RNA時，使用硫氰酸胍-三氟乙酸銫法[Methods in Enzymol., 154, 3 (1987)]、或RNA簡易套組(Qiagen公司製造)等套組等。

【0283】於自總RNA製備mRNA時，使用寡(dT)固定化纖維素管柱法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)]、或Oligo-dT30＜Super＞mRNA Purification Kit(TAKARA BIO公司製造)等套組等。又，亦可使用Fast Track mRNA Isolation Kit(Invitrogen公司製造)、或QuickPrep mRNA Purification Kit(Pharmacia公司製造)等套組，而製備mRNA。

【0284】於cDNA之合成及cDNA庫之製作時，使用公知之方法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1, John Wiley & Sons (1987-1997)]或SuperScript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning(Invitrogen公司製造)或ZAP-cDNA Synthesis Kit(Stratagene公司製造)等套組等。

【0285】於製作cDNA庫時，作為供組入以自融合瘤提取之mRNA為模板所合成之cDNA的載體，只要為供組入該cDNA之載體，則可使用任何者。

【0286】例如使用ZAP Express[Strategies, 5, 58(1992)]、pBluescript II SK(+)[Nucleic Acids Research, 17, 9494 (1989)]、

λZAPII(Stratagene公司製造)、λgt10、λgt11[DNA Cloning: A Practical Approach, I, 49 (1985)]、Lambda BlueMid(Clontech公司製造)、λExCell、pT7T3-18U(Pharmacia公司製造)、pcD2[Mol. Cell. Biol., 3, 280 (1983)]或pUC18[Gene, 33, 103 (1985)]等。

【0287】 關於供導入由噬菌體或質體載體構建之cDNA庫之大腸桿菌，只要為可導入、表現及維持該cDNA庫者，則可使用任何者。例如使用XL1-Blue MRF'[Strategies, 5, 81 (1992)]、C600[Genetics, 39, 440 (1954)]、Y1088、Y1090[Science, 222, 778 (1983)]、NM522[J. Mol. Biol., 166, 1 (1983)]、K802[J. Mol. Biol., 16, 118 (1966)]、或JM105[Gene, 38, 275 (1985)]等。

【0288】 自cDNA庫選擇編碼非人類抗體之VH或VL之cDNA純系時，使用利用同位素或經螢光標記之探針之菌落雜交法、或者噬菌斑雜交法[Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989)]等。

【0289】 又，製備引子，以自mRNA合成之cDNA或cDNA庫為模板而進行聚合酶鏈反應法[以下，記載為PCR法，Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Second Edition , Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)、Current Protocols in Molecular Biology, Supplement 1, John Wiley & Sons (1987-1997)]，藉此亦可製備編碼VH或VL之cDNA。

【0290】 利用適當之限制酶等切斷所選擇之cDNA後，選殖至pBluescript SK(-)(Stratagene公司製造)等質體，藉由通常所使用之鹼基序列分析方法等而確定該cDNA之鹼基序列。例如進行雙脫氧法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463 (1977)]等反應後，使用A.L.F.DNA核酸定序

(Pharmacia公司製造)等鹼基序列自動分析裝置等來進行分析。

【0291】 根據所確定之完整鹼基序列分別推測VH及VL之完整胺基酸序列，與既知之抗體之VH及VL之完整胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]進行比較，藉此確認所取得之cDNA是否編碼包括分泌訊息序列在內之抗體之VH及VL各自之完整胺基酸序列。

【0292】 關於包含分泌訊息序列之抗體之VH及VL各自之完整胺基酸序列，與既知之抗體之VH及VL之完整胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]進行比較，藉此可推測分泌訊息序列之長度及N末端胺基酸序列，進而可鑑定該等所屬之亞群。

【0293】 又，關於VH及VL之各CDR之胺基酸序列，可藉由與既知之抗體之VH及VL之胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]進行比較而推測。

【0294】 又，對於所獲得之VH及VL之完整胺基酸序列，例如使用SWISS-PROT或PIR-Protein等任意之資料庫，進行基於BLAST法[J. Mol. Biol., 215, 403 (1990)]等之同源性檢索，藉此可確認該VH及VL之完整胺基酸序列是否為新穎者。

【0295】 (2)基因重組抗體表現用載體之構建

基因重組抗體表現用載體可藉由將編碼人類抗體之CH及CL之至少一者之DNA選殖至動物細胞用表現載體而構建。

【0296】 作為人類抗體之C區，可使用任意之人類抗體之CH及CL，例如可使用人類抗體之γ1亞型之CH及κ型之CL等。作為編碼人類抗

體之CH及CL之DNA，使用cDNA，但亦可使用包含外顯子與內含子之染色體DNA。

【0297】關於動物細胞用表現載體，只要為可組入編碼人類抗體之C區之基因並表現者，則可使用任何者，例如可使用pAGE107[Cytotechnol., 3, 133 (1990)]、pAGE103[J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、pHSG274[Gene, 27, 223 (1984)]、pKCR[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78, 1527 (1981)]、pSG1bd2-4[Cytotechnol., 4, 173 (1990)]、或pSE1UK1Sed1-3[Cytotechnol., 13, 79 (1993)]、INPEP4(Biogen-IDEC公司製造)、N5KG1val(美國專利第6,001,358號說明書)、N5KG4PE R409K(國際公開第2006/033386號所記載)、N5KG2載體(國際公開第2003/033538號所記載)、轉位子載體(國際公開第2010/143698號)等。

【0298】作為動物細胞用表現載體之啟動子與促進子，可使用SV40之初期啟動子[J. Biochem., 101, 1307 (1987)]、來源於小鼠白血病病毒LTR[Biochem. Biophys. Res. Commun., 149, 960 (1987)]、CMV啟動子(美國專利第5,168,062號說明書)或免疫球蛋白H鏈之啟動子[Cell, 41, 479 (1985)]及促進子[Cell, 33, 717 (1983)]等。

【0299】為了表現基因重組抗體，就載體之構建容易性、向動物細胞之導入容易性、細胞內之抗體H鏈及L鏈之表現量之均衡性等觀點而言，使用搭載有抗體H鏈及L鏈之兩基因之載體(串聯型載體)[J. Immunol. Methods, 167, 271 (1994)]，但亦可將分別搭載有抗體H鏈與L鏈之各基因之複數個載體(分離型載體)組合使用。

【0300】作為串聯型之基因重組抗體表現用載體，使用pKANTEX93(國際公開第97/10354號)、pEE18[Hybridoma, 17, 559

(1998)]、N5KG1val(美國專利第6,001,358號說明書)、N5KG4PE R409K(國際公開第2006/033386號所記載)、N5KG2載體(國際公開第2003/033538號所記載)、Tol2轉位子載體(國際公開第2010/143698號)等。

【0301】 (3)嵌合抗體表現載體之構建

將編碼(1)中所獲得之非人類抗體之VH或VL之cDNA分別選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體內的編碼人類抗體之CH或CL之各基因的上游，藉此可構建嵌合抗體表現載體。

【0302】 首先，為了將編碼非人類抗體之VH或VL之cDNA之3'末端側、與人類抗體之CH或CL之5'末端側連結，而製作以編碼連結部分之鹼基序列適當之胺基酸，且成為適當之限制酶識別序列之方式所設計的VH及VL之cDNA。繼而，將所製作之VH及VL之cDNA以其等以適當形式表現的方式分別選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體內的編碼人類抗體之CH或CL之各基因之上游，而構建嵌合抗體表現載體。

【0303】 又，亦可使用於兩端具有適當限制酶之識別序列之合成DNA，藉由PCR法分別擴增編碼非人類抗體之VH或VL的cDNA，並選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體，藉此構建嵌合抗體表現載體。

【0304】 (4)編碼人類化抗體之V區之cDNA之製作

編碼人類化抗體之VH或VL之cDNA可以如下方式進行製作。首先，分別選擇供移植(1)中所獲得之非人類抗體之VH或VL之CDR之胺基酸序列的人類抗體之VH或VL之架構區(以下，記載為FR)之胺基酸序列。

【0305】 關於所選擇之FR之胺基酸序列，只要為源自人類抗體者，

則可使用任一者。例如使用登陸於蛋白質資料庫(Protein Data Bank)等資料庫中之人類抗體之FR之胺基酸序列、或者人類抗體之FR之各亞群之共通胺基酸序列[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services (1991)]等。為了抑制抗體之結合活性之降低，而選擇與原本之非人類抗體之VH或VL之FR之胺基酸序列具有儘可能高之同源性(60%以上)的人類FR之胺基酸序列。

【0306】 繼而，將原本之非人類抗體之CDR之胺基酸序列分別移植至所選擇的人類抗體之VH或VL之FR之胺基酸序列，而分別設計人類化抗體之VH或VL之胺基酸序列。考慮抗體基因之鹼基序列中可見之密碼子之使用頻度[Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Dept. Health and Human Services(1991)]，將所設計之胺基酸序列轉化為DNA序列，藉此分別設計人類化抗體之VH或VL之cDNA序列。

【0307】 基於所設計之cDNA序列，合成包含100～150個鹼基左右長度之數條合成DNA，使用其等進行PCR反應。於該情形時，就PCR反應中之反應效率及能夠合成之DNA長度之觀點而言，較佳為對於H鏈及L鏈各設計4～6條合成DNA。又，亦可合成可變區全長之合成DNA來使用。

【0308】 進而，將適當之限制酶之識別序列導入至位於兩端之合成DNA之5'末端，藉此可容易地將編碼人類化抗體之VH或VL之cDNA選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體。PCR反應後，將擴增產物分別選殖至pBluescript SK(-)(Stratagene公司製造)等質體，藉由與(1)中所記載之方法相同之方法來確定鹼基序列，取得具有所需之編碼人類化抗體之VH或VL之胺基酸序列之DNA序列的質體。

【0309】 (5)人類化抗體之V區之胺基酸序列之改型

人類化抗體若僅將非人類抗體之VH及VL之CDR移植至人類抗體之VH及VL之FR，則其抗原結合活性較原本之非人類抗體降低[BIO/TECHNOLOGY, 9, 266 (1991)]。因此，對人類抗體之VH及VL之FR之胺基酸序列中直接參與和抗原之結合之胺基酸殘基、與CDR之胺基酸殘基相互作用之胺基酸殘基、及維持抗體之立體結構且間接地參與與抗原之結合之胺基酸殘基進行鑑定，將該等胺基酸殘基置換為原本之非人類抗體之胺基酸殘基，藉此可使已降低之人類化抗體之抗原結合活性上升。

【0310】 為了鑑定與抗原結合活性相關之FR之胺基酸殘基，使用X射線結晶分析[J. Mol. Biol., 112, 535 (1977)]或電腦建模[Protein Engineering, 7, 1501 (1994)]等，藉此可進行抗體之立體結構之構建及分析。又，關於各抗體，製作數種改變體，反覆研究各自與抗原結合活性之相關性，並進行試誤，藉此可取得具有所需之抗原結合活性之改變人類化抗體。

【0311】 人類抗體之VH及VL之FR之胺基酸殘基可藉由使用改變用合成DNA來進行(4)中所記載之PCR反應而進行改變。關於PCR反應後之擴增產物，藉由(1)中所記載之方法來確定鹼基序列以確認實施過目標改變。

【0312】 (6)人類化抗體表現載體之構建

將所構建之編碼人類化抗體之VH或VL之cDNA分別選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體之編碼人類抗體之CH或CL的各基因之上游，而可構建人類化抗體表現載體。

【0313】 例如，將適當之限制酶之識別序列導入至構建(4)及(5)中

所獲得之人類化抗體之VH或VL時所使用之合成DNA中位於兩端之合成DNA的5'末端，藉此以其等以適當之形式進行表現之形式分別選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體內之編碼人類抗體之CH或CL的各基因之上游。

【0314】(7)人類抗體表現載體之構建

於使用產生人類抗體之動物作為被免疫動物，建立產生單株抗體之融合瘤的情形時，於(1)中可獲得人類抗體之VH及VL之胺基酸序列及cDNA序列。因此，將編碼(1)中所獲得之人類抗體之VH或VL之基因分別選殖至(2)中所獲得之基因重組抗體表現用載體之編碼人類抗體之CH或CL之各基因的上游，藉此可構建人類抗體表現載體。

【0315】(8)基因重組抗體之短暫性表現

可使用(3)、(6)及(7)中所獲得之基因重組抗體表現用載體、或改變其等而成之表現載體，使基因重組抗體短暫性表現，而有效率地評價所獲得之多種基因重組抗體之抗原結合活性。

【0316】關於供導入表現載體之宿主細胞，只要為可表現基因重組抗體之宿主細胞，則可使用任何細胞，例如使用COS-7細胞[American Type Culture Collection(ATCC)編號：CRL1651]。向COS-7細胞導入表現載體時，使用DEAE-葡聚糖法[Methods in Nucleic Acids Res., CRC press (1991)]、或脂轉染法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84, 7413 (1987)]等。

【0317】導入表現載體後，使用酵素免疫抗體法[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third Edition, Academic Press (1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor

Laboratory (1988)、單純系抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]等，對培養上清液中之基因重組抗體之表現量及抗原結合活性進行測定。

【0318】 (9)基因重組抗體之穩定表現株之取得與基因重組抗體之製備

將(3)、(6)及(7)中所獲得之基因重組抗體表現用載體導入至適當之宿主細胞，藉此可獲得穩定地表現基因重組抗體之轉形株。

【0319】 關於表現載體向宿主細胞之導入，例如可例舉：電穿孔法[日本專利特開平2-257891號公報、Cytotechnology, 3, 133 (1990)]、鈣離子方法、電穿孔法、球形質體法、乙酸鋰法、磷酸鈣法、脂轉染法等。又，作為下述向動物導入基因之方法，例如可例舉：顯微注射法、使用電穿孔或脂轉染法向ES細胞導入基因之方法、及核移植法等。

【0320】 作為供導入基因重組抗體表現用載體之宿主細胞，只要為可表現基因重組抗體之宿主細胞，則可使用任何細胞。例如使用小鼠SP2/0-Ag14細胞(ATCC CRL1581)、小鼠P3X63-Ag8.653細胞(ATCC CRL1580)、中國倉鼠CHO-K1細胞(ATCC CCL-61)、DUKXB11(ATCC CCL-9096)、Pro-5細胞(ATCC CCL-1781)、CHO-S細胞(Life Technologies、Cat No. 11619)、缺失有二氫葉酸還原酶基因(dhfr)之CHO細胞(CHO/DG44細胞)[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4216 (1980)]、獲得了凝集素耐性之Lec13細胞[Somatic Cell and Molecular genetics, 12, 55 (1986)]、缺失有α1,6-岩藻糖轉移酶基因之CHO細胞(國際公開第2005/035586號、國際公開第02/31140號)、大鼠YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20細胞(ATCC編號：CRL1662)等。

【0321】 又，亦可使用：與細胞內糖核苷酸GDP-岩藻糖之合成相

關之酶等蛋白質、與岩藻糖之1位α結合至N-糖苷結合複合型糖鏈之還原末端之N-乙醯胺基葡萄糖之6位的糖鏈改型相關的酶等蛋白質、或者與細胞內糖核苷酸GDP-岩藻糖向高爾基體的輸送相關之蛋白質等之活性降低或缺失之宿主細胞、例如缺失有α1,6-岩藻糖基轉移酶基因之CHO細胞(國際公開第2005/035586號、國際公開第02/31140號)等。

【0322】 藉由於導入表現載體後，將穩定地表現基因重組抗體之轉形株於包含G418硫酸鹽(以下，記載為G418)等藥劑之動物細胞培養用培養基中進行培養而選擇(日本專利特開平2-257891號公報)。

【0323】 關於動物細胞培養用培養基，使用RPMI1640培養基(Invitrogen公司製造)、GIT培養基(日本製藥公司製造)、EX-CELL301培養基(JRH公司製造)、EX-CELL302培養基(JRH公司製造)、EX-CELL325培養基(JRH公司製造)、IMDM培養基(Invitrogen公司製造)或融合瘤-SFM培養基(Invitrogen公司製造)、或者於該等培養基中添加有FBS等各種添加物之培養基等。將所獲得之轉形株於培養基中進行培養，藉此使基因重組抗體於培養上清液中表現並蓄積。培養上清液中之基因重組抗體之表現量及抗原結合活性可藉由ELISA法等進行測定。又，可利用DHFR擴增系統(日本專利特開平2-257891號公報)等，使轉形株所產生之基因重組抗體之表現量提昇。

【0324】 基因重組抗體係使用蛋白A-管柱，自轉形株之培養上清液進行純化[Monoclonal Antibodies - Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]。又，亦可將凝膠過濾、離子交換層析法及超過濾等蛋白質之純化中所使用之方法組合來進行純化。

【0325】 經純化之基因重組抗體之H鏈、L鏈或抗體分子整體之分子量可使用聚丙烯醯胺凝膠電泳法[Nature, 227, 680(1970)]、或西方墨點法[Monoclonal Antibodies - Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、Antibodies - A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]等進行測定。

【0326】 3.雙特異性抗體之設計

本發明之雙特異性抗體可藉由如下方式製作：分別設計CD3結合域、Fc區或包含Fc區之恆定區、及疾病相關抗原結合域，並設計連結有其等之雙特異性抗體。

【0327】 3-1.CD3結合域之設計

CD3結合域藉由如下方式獲得：使用上述1.中所記載之方法取得所需之CD3結合域，使用上述2.中所記載之方法來確定編碼各結合域中所包含之CDR或可變區之胺基酸序列的cDNA序列。

【0328】 3-2.Fc區或包含Fc區之恆定區之設計

本發明中之Fc區或包含Fc區之重鏈恆定區係於C末端側結合有1個CD3結合域。因此，即便於Fc區所包含之2條Fc鏈、或重鏈恆定區所包含之2條CH鏈上於任一者之多肽上分別結合有scFv、dsFv等1個CD3結合域，亦可藉由使CD3結合域之VH或VL分別與各2條多肽結合而結合1個CD3結合域。

【0329】 以連結有上述CD3結合域之胺基酸序列之Fc多肽鏈或CH1-Fc與Fc多肽鏈或CL-Fc可形成異源二聚物結構之方式，製作對一者之CH3域施加S354C及T366W之胺基酸殘基置換而成之胺基酸序列、對另一者之CH3域施加Y349C、T366S、L368A及Y407V之胺基酸殘基置換而成之胺

基酸序列。

【0330】 又，於連結有CD3結合域之胺基酸序列之CH1-Fc、與CL-Fc之異源CH區的情形時，製作對CH1-Fc施加C220S之胺基酸殘基置換而成之胺基酸序列、以及對CL-Fc施加216-220之胺基酸殘基之缺損及C214S之胺基酸殘基置換而成之胺基酸序列。又，為了更高效率地形成異源CH區，進而可對CL-Fc施加H435R及Y436F之胺基酸殘基置換，或將上述CH3域之胺基酸殘基置換適當組合使用。

【0331】 3-3.疾病相關抗原結合域之設計

將對於所需疾病相關抗原之結合域之胺基酸序列連結於3-2中所製作之Fc區或CH區之各多肽鏈。例如，於將與疾病相關抗原特異性地結合之單株抗體之VH/VL、VH-CH1/VL-Cκ、scFv、VHH之胺基酸序列分別連結於第1或第2多肽之N末端側的情形時，可製作具有1價或2價之疾病相關抗原結合域之抗CD3雙特異性抗體。又，若於第1或第2多肽之C末端側連結scFv、VHH之胺基酸序列，則可製作於C末端側以1價具有疾病相關抗原結合域之雙特異性抗體、或與N末端之結合價數匹配地具有2價或3價之疾病相關抗原結合域的雙特異性抗體。於疾病相關抗原結合域為2價或3價之情形時，無論各抗原結合域為相同表位還是為不同表位，均可製作。該雙特異性抗體對於除CD3以外還具有雙特異性或三專一性。

【0332】 4.雙特異性抗體之製作

藉由上述設計可製作各種分子型之抗CD3雙特異性抗體，於以下例示幾個典型之抗CD3雙特異性抗體。以下，於未特別記載VH/VL、scFv、Fab之情形時，表示對疾病相關抗原具有特異性之抗體之VH/VL、scFv、Fab。

4-1.於Fc區之N末端包含1價之疾病相關抗原結合域、於Fc區之C末端包含1價之抗CD3結合域的抗CD3雙特異性抗體。

VH-CH1-Fc-CD3scFv及VL-CL-Fc

VL-CH1-Fc-CD3scFv及VH-CL-Fc

VH-CH1-Fc及VL-CL-Fc-CD3scFv

VL-CH1-Fc及VH-CL-Fc-CD3scFv

VH-CH1-Fc-CD3VH及VL-CL-Fc-CD3VL

VL-CH1-Fc-CD3VH及VH-CL-Fc-CD3VL

VH-CH1-Fc-CD3VL及VL-CL-Fc-CD3VH

VL-CH1-Fc-CD3VL及VH-CL-Fc-CD3VH

4-2.於Fc區之N末端包含2價之疾病相關抗原結合域、於Fc區之C末端包含1價之抗CD3結合域的抗CD3雙特異性抗體。

Fab1-Fc-CD3scFv及Fab2-Fc

Fab1-Fc及Fab2-Fc-CD3scFv

scFv1-CH1-Fc-CD3scFv及scFv2-CL-Fc

scFv1-CH1-Fc及scFv2-CL-Fc-CD3scFv

scFv1-CH1-Fc-CD3scFv及scFv2-CL-Fc

scFv1-CH1-Fc及scFv2-CL-Fc-CD3scFv

對上述胺基酸序列施加形成異源二聚物所需之胺基酸殘基置換，將包含編碼該胺基酸序列之cDNA之載體導入至動物細胞中並使之表現，藉此製作雙特異性抗體。又，將上述載體導入至FUT8KO細胞並使之表現，藉此亦可製作無α1,6-岩藻糖之雙特異性抗體。又，亦可施加Fc胺基酸殘基置換而製作具有較高ADCC活性之雙特異性抗體。蛋白質表現及純化可

藉由上述2項之方法來實施。

【0333】 5.本發明之雙特異性抗體或其抗體片段之活性評價

經純化之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之活性評價可以如下方式來進行。

【0334】 本發明之雙特異性抗體對於表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞株的結合活性可使用上述1.(7)記載之結合分析系來進行測定。

【0335】 對於表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞之CDC活性、或ADCC活性可藉由公知之測定方法[Cancer Immunol. Immunother., 36, 373(1993)]進行測定。

【0336】 本發明之雙特異性抗體之細胞毒殺活性可藉由以下方法進行測定。例如，將表現疾病相關抗原之靶細胞及PBMC接種至專用培養板中，添加雙特異性抗體並培養一定期間，藉由即時細胞分析器xCELLigence(ACEA Biosciences公司)等對細胞數之變化進行分析。又，將經螢光染色之靶細胞及未染色之PBMC接種至96孔培養板中，添加雙特異性抗體並培養一定期間，進行死細胞染色，藉由流式細胞分析，僅計數存活之靶細胞，藉此算出細胞毒殺活性。

【0337】 本發明之雙特異性抗體之細胞激素產生誘導能力可藉由以下方法進行測定。例如將表現疾病相關抗原之靶細胞及PBMC接種至96孔培養板中，添加雙特異性抗體並培養一定期間後，使用ELISA、Bio-Plex懸浮陣列系統、或BD流式微珠陣列(CBA，Cytometric Bead Array)套組對培養上清液中之細胞激素濃度進行測定。

【0338】 6.使用本發明之雙特異性抗體或其抗體片段之疾病之治療

方法

本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段可用於治療與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病、較佳為與疾病相關抗原之表現細胞相關之疾病。作為與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病，例如可列舉惡性腫瘤及癌症等。

【0339】 作為惡性腫瘤及癌症，例如可例舉：大腸癌、結直腸癌、肺癌、乳癌、神經膠質瘤、惡性黑色素瘤(黑色素瘤)、甲狀腺癌、腎細胞癌、白血病、淋巴瘤、T細胞淋巴瘤、胃癌、胰腺癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、卵巢癌、膽管癌、食道癌、肝癌、頭頸癌、鱗狀細胞癌、皮膚癌、尿道癌、膀胱癌、前列腺癌、絨毛膜癌、咽癌、喉癌、胸膜瘤、雄胚瘤、子宮內膜增生、子宮內膜症、胚組織瘤、纖維肉瘤、卡波西肉瘤、血管瘤、海綿狀血管瘤、血管母細胞瘤、視網膜胚細胞瘤、星形細胞瘤、神經纖維瘤、少突膠質細胞瘤、神經管胚細胞瘤、神經胚細胞瘤、神經膠質瘤、橫紋肌肉瘤、神經膠母細胞瘤、骨原性肉瘤、平滑肌肉瘤及威爾姆斯瘤等。

【0340】 含有本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、或者其等之衍生物之治療藥可為僅包含作為有效成分之該抗體或該抗體片段、或者其等之衍生物者，但較佳為與通常藥理學上所容許之1種以上之載體一同加以混合，並藉由製劑學之技術領域中所公知之任意方法進行製造，而以製造所得之醫藥製劑的形式來提供。

【0341】 作為投予路徑，例如可例舉：經口投予、或者口腔內、呼吸道內、直腸內、皮下、肌內或靜脈內等非經口投予。作為投予形態，例如可例舉：噴霧劑、膠囊劑、錠劑、散劑、顆粒劑、糖漿劑、乳劑、栓

劑、注射劑、軟膏或貼劑等。各種製劑可使用通常使用之賦形劑、增量劑、結合劑、浸潤劑、崩解劑、表面活性劑、潤滑劑、分散劑、緩衝劑、保存劑、增溶劑、防腐劑、著色料、香味劑、及穩定劑等，藉由常規方法進行製造。

【0342】 作為賦形劑，例如可例舉：乳糖、果糖、葡萄糖、玉米澱粉、山梨糖醇、結晶纖維素、殺菌水、乙醇、甘油、生理鹽水及緩衝液等。作為崩解劑，例如可例舉：澱粉、海藻酸鈉、明膠、碳酸鈣、檸檬酸鈣、糊精、碳酸鎂及合成矽酸鎂等。

【0343】 作為結合劑，例如可例舉：甲基纖維素或其鹽、乙基纖維素、阿拉伯膠、明膠、羥丙基纖維素及聚乙烯吡咯啶酮等。作為潤滑劑，例如可例舉：滑石、硬脂酸鎂、聚乙二醇及氫化植物油等。

【0344】 作為穩定劑，例如可例舉：精胺酸、組胺酸、離胺酸、甲硫胺酸等胺基酸、人類血清白蛋白、明膠、葡聚糖40、甲基纖維素、亞硫酸鈉、偏亞硫酸鈉等。

【0345】 作為其他添加劑，例如可例舉：糖漿、凡士林、甘油、乙醇、丙二醇、檸檬酸、氯化鈉、亞硝酸鈉及磷酸鈉等。

【0346】 作為適合經口投予之製劑，例如可例舉：乳劑、糖漿劑、膠囊劑、錠劑、散劑或顆粒劑等。

【0347】 如乳劑或糖漿劑之液體製備物係使用水、蔗糖、山梨糖醇或果糖等糖類；聚乙二醇或丙二醇等二醇類；芝麻油、橄欖油或大豆油等油類；對羥基苯甲酸酯類等防腐劑；或者草莓香料或胡椒薄荷等香料類等作為添加劑來進行製造。

【0348】 膠囊劑、錠劑、散劑或顆粒劑等係使用乳糖、葡萄糖、蔗

糖或甘露醇等賦形劑；澱粉或海藻酸鈉等崩解劑；硬脂酸鎂或滑石等潤滑劑；聚乙烯醇、羥丙基纖維素或明膠等結合劑；脂肪酸酯等界面活性劑或者甘油等塑化劑等作為添加劑來進行製造。

【0349】 作為適合非經口投予之製劑，例如可例舉注射劑、栓劑或噴霧劑等。注射劑係使用包含鹽溶液、葡萄糖溶液、或者上述兩者之混合物之載體等來進行製造。

【0350】 栓劑係使用可可脂、氫化脂肪或羧酸等載體來進行製造。噴霧劑係使用不會刺激接受者之口腔及呼吸道黏膜，且使本發明之單株抗體以微細粒子之形式分散而使吸收變得容易的載體等來進行製造。作為載體，例如可例舉乳糖或甘油等。又，亦可以霧劑或乾粉之形式進行製造。進而，於上述非經口劑中，亦可添加於適合經口投予之製劑中作為添加劑所例示之成分。

【0351】 關於以本發明之雙特異性抗體之有效量與適當之稀釋劑及藥理學上可使用之載子的組合所投予之有效量，體重每1 kg，每次為0.0001 mg～100 mg，且以2天至8週之間隔來投予。

【0352】 7.使用本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之疾病之診斷方法

使用本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，對表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞進行檢測或測定，藉此可診斷與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病、較佳為疾病相關抗原結合域之表現細胞所參與之疾病。

【0353】 與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病即惡性腫瘤或癌症之診斷例如可以下述方式對CD3及疾病相關抗原之至少一者進行檢

測或測定來進行。

【0354】 首先，對於自複數個健康者之生物體採集到之生物樣本，使用本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段、或者其等之衍生物，並使用下述免疫學方法，進行CD3及疾病相關抗原之至少一者之檢測或測定，調查健康者之生物樣本中之CD3及疾病相關抗原之至少一者之存在量。

【0355】 繼而，對於受驗者之生物樣本，同樣地調查CD3及疾病相關抗原之至少一者之存在量，並將其存在量與健康者之存在量進行比較。例如於受驗者之疾病相關抗原之存在量較健康者增加之情形時，該受驗者被診斷為癌症等疾病。關於其他與CD3及疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之診斷，亦可藉由相同之方法進行診斷。

【0356】 所謂免疫學方法，係使用施加有標記之抗原或抗體等，對抗體量或抗原量進行檢測或測定之方法。例如可例舉：放射性物質標記免疫抗體法、酵素免疫測定法、螢光免疫測定法、發光免疫測定法、西方墨點法或物理化學方法等。

【0357】 作為放射性物質標記免疫抗體法，例如可例舉如下方法：使抗原或表現抗原之細胞等與本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段進行反應，進而使經放射線標記之抗免疫球蛋白抗體或結合片段進行反應後，利用閃爍計數器等進行測定。

【0358】 作為酵素免疫測定法，例如可例舉如下方法：使抗原或表現抗原之細胞等與本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段進行反應，進而使經標記之抗免疫球蛋白抗體或結合片段進行反應後，利用吸光光度計對顯色色素進行測定。例如可例舉夾層ELISA法等。

【0359】 作為酵素免疫測定法中所使用之標記體，可使用公知之酶標記[酵素免疫測定法，醫學書院(1987)]。例如使用鹼性磷酸酶標記、過氧化酶標記、螢光素酶標記、或生物素標記等。

【0360】 夾層ELISA法係如下方法：使抗體與固相結合後，捕獲作為檢測或測定對象之抗原，使所捕獲之抗原與第2抗體進行反應。該ELISA法中，準備與欲檢測或測定之抗原結合之抗體或抗體片段且抗原結合部位不同之2種抗體，之後，預先使第1抗體或抗體片段吸附於培養板(例如96孔培養板)，繼而預先利用FITC等螢光物質、過氧化酶等酵素、或者生物素等來標記第2抗體或抗體片段。與上述吸附有抗體之培養板中，使自體內分離出之細胞或其破碎液、組織或其破碎液、細胞培養上清液、血清、胸水、腹水、或眼液等反應後，使經標記之抗體或抗體片段反應，進行與標記物質對應之檢測反應。根據階段性地稀釋濃度已知之抗原所製作之校準曲線，而算出試驗樣品中之抗原濃度。

【0361】 作為用於夾層ELISA法之抗體，可使用多株抗體或單株抗體中之任一種，亦可使用Fab、Fab'、或$F(ab)_2$等抗體片段。作為夾層ELISA法中所使用之2種抗體之組合，可為與不同表位結合之單株抗體或該抗體片段之組合，亦可為多株抗體與單株抗體或其抗體片段之組合。

【0362】 作為螢光免疫測定法，例如利用文獻[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、單純系抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]等中所記載之方法進行測定。作為螢光免疫測定法中所使用之標記體，可使用公知之螢光標記[螢光抗體法、Soft science公司(1983)]。例如使用FITC或RITC等。

【0363】 作為發光免疫測定法，例如利用文獻[生物發光與化學發光臨床檢查42、廣川書店(1998)]等所記載之方法進行測定。作為發光免疫測定法中所使用之標記體，可例舉公知之發光體標記，例如使用吖啶鎓酯或咯吩等。

【0364】 作為西方墨點法，係如下方式進行測定：利用SDS(十二烷基硫酸鈉)-PAGE(聚丙烯醯胺凝膠)[Antibodies - A Laboratory Manual Cold Spring Harbor Laboratory (1988)]區分抗原或表現抗原之細胞等後，將該凝膠印漬至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜或硝化纖維素膜，使該膜和與抗原結合之抗體或抗體片段進行反應，進而使施加有FITC等螢光物質、過氧化酶等酵素標記、或生物素標記等之抗IgG抗體或其抗體片段反應後，將該標記進行可視化。將一例示於以下。

【0365】 首先，使表現具有所需胺基酸序列之多肽之細胞或組織溶解，於還原條件下，藉由SDS-PAGE法，使以每區帶之蛋白質量計0.1～30 μg進行泳動。繼而，將泳動之蛋白質轉移至PVDF膜，於室溫下與包含1～10%BSA之PBS(以下，記載為BSA-PBS)反應30分鐘而進行阻斷操作。此處，使本發明之雙特異性抗體進行反應，利用包含0.05～0.1%之Tween-20之PBS(Tween-PBS)洗淨，於室溫下，使經過氧化酶標記之山羊抗小鼠IgG反應2小時。利用Tween-PBS洗淨，使用ECL西方墨點法檢測試劑(Amersham公司製造)等，檢測該抗體所結合之帶，藉此檢測抗原。作為西方墨點法中之檢測所使用之抗體，可使用可與未保持天然型立體結構之多肽結合之抗體。

【0366】 作為物理化學方法，例如藉由使作為抗原之CD3及疾病相關抗原之至少一者與本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段結合而

形成凝集體，對該凝集體進行檢測。作為除此以外之物理化學方法，亦可使用毛細管法、單向免疫擴散法(single immunodiffusion)、免疫比濁法或乳膠免疫比濁法[臨床檢查法摘要，金原出版(1998)]等。

【0367】 關於乳膠免疫比濁法，若使用使抗體或抗原致敏之粒徑0.1～1 μm左右之聚苯乙烯乳膠等載體，並藉由相對應之抗原或抗體而引起抗原抗體反應，則反應液中之散射光會增加而透過光減少。將該變化以吸光度或積分球濁度來進行檢測，藉此測定試驗樣品中之抗原濃度等。

【0368】 另一方面，於檢測或測定表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞時，可使用公知之免疫學檢測法，但較佳為使用免疫沈澱法、免疫細胞染色法、免疫組織染色法或螢光抗體染色法等。

【0369】 作為免疫沈澱法，係使表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞等與本發明之雙特異性抗體或其抗體片段反應後，添加對於蛋白G-瓊脂糖凝膠等免疫球蛋白具有特異性結合能力之載體，使抗原抗體複合體沈降。

【0370】 或者，亦可藉由如以下之方法來進行。首先，將本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段固相化至ELISA用96孔培養板後，藉由BSA-PBS進行阻斷。繼而，捨棄BSA-PBS，利用PBS充分洗淨後，使表現CD3及疾病相關抗原之至少一者之細胞或組織之溶解液進行反應。利用SDS-PAGE用樣品緩衝液，自充分洗淨後之培養板提取免疫沈澱物，藉由上述西方墨點法進行檢測。

【0371】 免疫細胞染色法或免疫組織染色法係如下方法：針對表現抗原之細胞或組織等，視情形為了使抗體之通過性變得良好而利用界面活性劑或甲醇等進行處理後，與本發明之雙特異性抗體進行反應，進而與施

加有FITC等螢光標記、過氧化酶等酵素標記或生物素標記等之抗免疫球蛋白抗體或其結合片段進行反應，之後將該標記進行可視化，並利用顯微鏡進行觀察。又，可藉由使螢光標記之抗體與細胞進行反應並利用流式細胞儀進行分析之螢光抗體染色法[Monoclonal Antibodies-Principles and practice, Third edition, Academic Press (1996)、單純系抗體實驗指南、Kodansha Scientific (1987)]來進行檢測。尤其是本發明之雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段可藉由螢光抗體染色法而檢測出於細胞膜上表現之CD3及疾病相關抗原之至少一者。

【0372】 又，螢光抗體染色法中，於使用FMAT8100HTS系統(Applied Biosystems公司製造)等之情形時，可不將形成之抗體-抗原複合體、與不參與形成抗體-抗原複合體之游離之抗體或抗原分離而測定抗原量或抗體量。

[實施例]

【0373】 以下例舉具體之實施例來進行說明，但本發明並不限定於該等實施例。

【0374】 [實施例1]抗HER2一價抗體及CD3/HER2雙特異性抗體之動物細胞用表現載體的製作

(1)抗HER2一價抗體之動物細胞用表現載體的製作

依據國際公開第2014/054804號中記載之方法，分別製作IgG1型抗HER2一價抗體及IgG4PE(R409K)型HER2一價抗體[分別記為mvG1，mvG4PE(R409K)；具有圖2(A)之結構]之動物細胞用表現載體(分別記為pKANTEX93mvG1及pKANTEX93mvG4PE(R409K))。

【0375】 一價抗體係包含2條不同之多肽之異源二聚物，將包含VH

之多肽記為第1多肽(VH-CH1-hinge-Fc，亦稱為多肽1)，將包含VL之多肽稱為第2多肽(VL-CL-hinge-Fc，亦稱為多肽2)。

【0376】 表1中示出製作各一價抗體時所使用之第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之胺基酸序列及鹼基序列。

【0377】 [表1]

		IgG1型 抗HER2一價抗體	IgG4PE(R409K)型 抗HER2一價抗體
第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分	鹼基序列	序列編號1	序列編號5
	胺基酸序列	序列編號2	序列編號6
第2多 肽 之GL-Hinge-Fc部分	鹼基序列	序列編號3	序列編號7
	胺基酸序列	序列編號4	序列編號8

【0378】 表1中所示之IgG4PE(R409K)型具有將IgG4之重鏈恆定區之第228號之Ser殘基置換為Pro，將第235號之Leu殘基置換為Glu，且將第409號之Arg殘基置換為Lys而成之恆定區，上述IgG4PE(R409K)型不具有ADCC活性。

【0379】 又，關於上述抗Her2一價抗體之VH及VL之胺基酸序列以及鹼基序列，均使用抗Her2抗體曲妥珠單抗之VH及VL之胺基酸序列以及鹼基序列(記載於Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89: 4285, 1992)。

【0380】 (2)CD3/HER2雙特異性抗體之動物細胞表現載體之製作

基於上述IgG1型抗HER2一價抗體、及IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體，製作於各一價抗體之第1多肽之C末端經由連接子結合有抗CD3 scFv的異源二聚物型CD3/HER2雙特異性抗體[圖2(B)]，為此，藉由以下記載之方法來製作其動物細胞表現載體。

【0381】 利用限制酶位點，將編碼上述(1)中所製作之IgG1型抗HER2一價抗體表現載體pKANTEX93mvG1之第1多肽的H鏈恆定區之C末端部分之一部分之鹼基序列置換為編碼H鏈恆定區C末端部分之一部分＋

肽連接子＋抗CD3 scFv之鹼基序列。藉此，獲得IgG1型CD3/HER2雙特異性抗體之表現載體pKANTEX93mvG1_scT3a。

【0382】肽連接子之胺基酸序列係使用[SerGlyGlyGlyGly(序列編號143)]$_3$。抗CD3 scFv之胺基酸序列及鹼基序列係使用US7575923B2中記載之抗CD3 scFv之胺基酸序列及鹼基序列。抗CD3 scFv之胺基酸序列如序列編號9所示。以下將該序列稱為scT3a。

【0383】藉由相同之方法，由上述(1)中製作之IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體表現載體pKANTEX93mvG4PE(R409K)獲得IgG4PE(R409K)型CD3/HER2雙特異性抗體之表現載體pKANTEX93mvG4PE(R409K)_scT3a。

【0384】上述(1)及本項中所製作之抗體表現用載體均以大腸桿菌Competent Quick DH5α(TOYOBO)作為宿主，使用PureYield質體中量純化系統(Promega)來製備，並用於下文之實驗。

【0385】[實施例2]抗HER2一價抗體及CD3/HER2雙特異性抗體之表現及純化

使用實施例1中所製備之各種抗體表現用載體，並利用以下所記載之方法，獲得高ADCC IgG1型抗HER2一價抗體4D5_mvG1(DF)、IgG4PE(R409K)型HER2抗體4D5_mvG4 PE(R409K)(F)、高ADCC IgG1型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG1_scT3a(DF)及IgG4PE(R409K)型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)。

【0386】表2中表示各抗體之名稱、及對應之表現載體、使用之宿主細胞、Fc之糖鏈之結構及有無抗CD3 scFv。

【0387】 [表2]

抗體名	表現載體	宿主細胞	Fg之糖鏈之α1,6岩藻糖之有無	抗CD3 scFv之有無
4D5_mvG1(DF)	pKANTEX93mvG1	FUT8KO CHO	去岩藻糖基化	無
4D5_mvG4PE(R409K)(F)	pKANTEX93mvG4PE(R409K)	CHO/DG44	岩藻糖基化	無
4D5_mvG1_scT3a(DF)	pKANTEX93mvG1_scT3a	FUT8KO CHO	去岩藻糖基化	有
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)	pKANTEX93mvG4PE(R409K)_scT3a	CHO/DG44	岩藻糖基化	有

【0388】表中之CHO/DG44表示源自中國倉鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary)之CHO/DG44細胞(Somatic Cell Mol Genet 12; 555, 1986)，FUT8KO CHO表示剔除了α1,6岩藻糖基轉移酶基因(FUT8)之CHO/DG44細胞(美國專利第6,946,292號說明書)。

向4×10^{6}個上述宿主細胞加入8 μg之各種表現載體，藉由電穿孔法(Cytotechnology. 3: 133, 1990)進行基因轉殖。基因轉殖後，各細胞係於包含10%透析牛血清(以下，簡記為dFBS)之IMDM培氧基(GIBCO公司)中培養2天後，進而於包含0.5 mg/mL之G418硫酸鹽之上述培養基中繼續培養2週左右，取得G418耐性株。使用Excell302培氧基(SAFC Biosciences公司)對G418耐性株進行培養，回收包含表現蛋白質之培養上清。

【0389】使用填充有蛋白A(MabSelect SuRe：GE Healthcare公司)之管柱，使培養上清液1 L以流速0.5～1.0 mL/min通過。將該管柱利用10 mL之磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)洗淨2次後，使用0.1 M檸檬酸緩衝液(pH3.9)使抗體溶出。藉由2M三羥甲基胺基甲烷鹽酸緩衝液(pH8.0)立即對所獲得之溶出液進行中和後，利用10 mM檸檬酸、150 mM氯化鈉(pH6.0)進行透析，藉此置換緩衝液。

【0390】對於上述抗體溶液，進而使用凝膠過濾層析法來進行多聚

物或分解物之去除。將Superdex 200 10/300 GL管柱(GE Healthcare公司)連接於AKTA explore 10S(GE Healthcare公司)，將流路置換為10 mM檸檬酸、150 mM氯化鈉(pH6.0)。將所製備之抗體溶液添加於該管柱中，並使之以流速0.5 mL/min通過，利用分步收集器每次回收0.5 mL。將所回收之各組分中顯示OD_{280}之主峰之組分作為包含目的抗體之单量體的組來回收，使抗體溶液通過0.22 μm過濾器，進行殺菌來保存。將所獲得之抗體樣本供於SDS-PAGE分析，結果確認到均顯示所預想之分子量大小，取得了目標抗體。又，作為比較對照樣本，依據Clin Cancer Res. 13: 1875-1882, 2007中記載之方法製作抗HER2抗體曲妥珠單抗之N結合型糖鏈中之α1,6岩藻糖被去除的抗體曲妥珠單抗(DF)，並用於一部分實驗中。

【0391】 進而，使用編碼Clin Cancer Res. 11(8): 3126-3135, 2005中記載之抗2,4-二硝苯(DNP)IgG1抗體之DNA片段(純系名DNP2)，依據實施例1及2中記載之方法來製作IgG1型抗2,4-二硝苯(DNP)抗體以作為陰性對照，並用於一部分實驗中。

【0392】 [實施例3]抗HER2一價抗體及CD3/HER2雙特異性抗體之抗原結合活性之評價

(1)HER2結合活性之評價

實施例2中所取得之各種抗體之HER2結合活性係藉由對於曲妥珠單抗之結合抑制實驗來評價。首先，使用Alexa Fluor 488抗體標記套組(Life Technologies公司)，利用Alexa488對曲妥珠單抗(Roche公司)進行標記，製作曲妥珠單抗_Alx。繼而，使用HER2陽性人類乳癌細胞株SK-BR-3(ATCC HTB-30)，藉由流式細胞儀進行結合阻礙分析。

【0393】 分別添加最終濃度2.0 μg/mL之曲妥珠單抗_Alx、及最終濃

度105、21、4.2、及0.84 nM之非標記IgG1抗體、曲妥珠單抗、各種抗HER2一價抗體或CD3/HER2雙特異性抗體，於4℃下反應1.5小時。對於陰性對照，添加相同濃度之源自人類血清之IgG1/kappa(Millipore公司)。洗淨後，藉由流式細胞儀Cytomics FC 500 MPL(Beckman Coulter公司)對與SK-BR-3細胞結合之平均螢光強度(MFI)進行測定。將結果示於圖4。

【0394】 如圖4所示，確認到曲妥珠單抗、各種抗HER2一價抗體、及各種CD3/HER2雙特異性抗體係抗體濃度依賴性地抑制曲妥珠單抗_Alx之結合，具有Her2特異性結合活性。明確抗HER2一價抗體、及CD3/HER2雙特異性抗體這4者對於HER2之結合活性為相同程度。

【0395】 (2)CD3結合活性之評價

實施例2中所取得之各種抗體之CD3結合活性係根據對於市售冷凍T細胞(AllCells公司)之結合活性來評價。將各種抗體以最終濃度10 μg/mL添加至T細胞中，於4℃下反應1小時。洗淨後，添加稀釋至30 μg/mL之Goat anti-Human IgG $F(ab)_2$-FITC(Acris Antibodies公司)，於4℃下反應1小時。

【0396】 再者，作為陽性對照，一次抗體使用30 μg/mL之抗CD3抗體OKT-3(abcam公司)，二次抗體使用羊抗鼠IgG $F(ab)_2$-FITC(Dako公司)。洗淨後，藉由流式細胞儀Cytomics FC 500 MPL(Beckman Coulter公司)來測定與T細胞結合之抗體之MFI。將結果示於圖5。

【0397】 如圖5所示，所評價之抗體中CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG1_scT3a(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)均相同程度地與T細胞結合。另一方面，曲妥珠單抗、以及抗HER2一價抗體4D5_mvG1(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)(F)未與T細胞結合。根據以上內

容，明確4D5_mvG1_scT3a(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)可以相同程度之強度與CD3結合。

【0398】[實施例4]抗HER2一價抗體及CD3/HER2雙特異性抗體之細胞毒殺活性之評價

對於實施例2中所製作之各種抗體，使用經時性地檢測附著於培養板之癌細胞之細胞量的實時細胞分析儀xCELLigence(ACEA Biosciences公司)，利用以下所記載之方法測定包含由Fc區介導之ADCC活性及藉由與CD3結合而產生之ADTC活性這兩者之細胞毒殺活性。培養板上之細胞量變化會導致電阻值產生變化，對此情況加以利用。即，藉由該測定所獲得之細胞指數值與培養板上之細胞量呈正相關。

【0399】已知主要表現Fc受體FcγRIIIA之NK細胞係ADCC活性之主要效應細胞，表現CD3之T細胞係ADTC活性之主要效應細胞，因此，藉由使用包含此兩者之源自人類末梢血液之單核球(PBMC)作為效應物，使用HER2陽性癌細胞株作為靶標，可測定包含各種抗體之ADCC活性及ADTC活性這兩者之細胞毒殺活性。

【0400】首先，向E-plate VIEW 16(ACEA Biosciences公司)添加RPMI1640培養基(添加10%FBS)並進行基準線修正。將HER2中陽性乳癌細胞株BT-20細胞(ATCC HTB-19)或HER2低表現MCF-7細胞(ATCC HTB-22)利用0.02%EDTA(Nacalai Tesque公司)自燒瓶中剝離並利用PBS洗淨後，利用RPMI1640(10% FBS、10 μg/mL慶大黴素)分別稀釋至2.0×10^5 cells/mL，並以50 μL/孔添加至上述培養板之各孔中。

【0401】將上述培養板於CO_2保溫箱中保溫30分鐘後，開始測定細胞指數值。約20小時後，將利用密度梯度法自健康人末梢血液液中採集之

PBMC稀釋至1×10^6 cells/mL，並以50 μL/孔添加至上述培養板之各孔中，進而將製備成最終濃度之4倍濃度之各種抗體以50 μL/孔添加至各孔中，再次開始測定。最終資料係即將添加抗體之前之癌細胞量之值並進行標準化。所獲得之結果如圖6～8所示。

【0402】 圖6中表示僅BT-20細胞之情形時之細胞指數；於BT-20細胞中添加有PBMC之情形時之細胞指數；或者進而於其中添加有IgG1型抗HER2一價抗體4D5_mvG1(DF)(最終濃度50 nM)、IgG4PE(R409K)型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG4_scT3a(F)(最終濃度50 nM)、或其等之混合液(最重濃度各自25 nM之混合液)之情形時之細胞指數。

【0403】 圖6中，添加有靶細胞與PBMC時之癌細胞量、與進而添加有抗體時之癌細胞量的差係該抗體所具有之細胞毒殺活性。如圖6所示，明確4D5_mvG1(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)分別具有中等程度之細胞毒殺活性；及其等各半量之混合物具有高於各4D5_mvG1(DF)或4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)單獨時之細胞毒殺活性的高細胞毒殺活性。

【0404】 如表2所示，IgG1型抗HER2一價抗體4D5_mvG1(DF)具有結合有α1,6岩藻糖缺損之N-結合型糖的IgG1型恆定區，如國際公開第2014/054804號中所記載，具有FcγRIIIA結合活性介導之高ADCC活性，另一方面，不具有CD3結合部位，因此不具有ADTC活性。

【0405】 如表2所示，IgG4PE(R409K)型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG4(R409K)_scT3a(F)具有附加有α1,6岩藻糖之IgG4型恆定區，且導入有降低效應活性之胺基酸殘基改型，因此不具有引起ADCC活性之能力，或者非常低，但含有具有CD3介導之ADTC活性的分子結構。

【0406】 明確添加有該等兩種抗體各25 nM之群之細胞毒殺活性高於僅添加有4D5_mvG1(DF)、或4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)50 nM之群之細胞毒殺活性，藉由將僅具有ADCC活性之分子與僅具有ADTC活性之分子加以混合，而顯示出協同細胞毒殺活性。

【0407】 因此，該結果表示，相較於使僅具有ADCC活之抗體、或僅具有ADTC活性之抗體之任一者單獨地作用於癌細胞，若使其等各自半量並使其等同時作用於癌細胞，則抗腫瘤效果更高。

【0408】 又，4D5_mvG1(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)之細胞毒殺活性均為中等程度，其中一種活性於相同濃度下未飽和係表示於該實驗中ADCC活性與ADTC活性之有效濃度範圍未大幅背離。

【0409】 圖7表示僅BT-20細胞之情形時之細胞指數；於BT-20細胞中添加有PBMC之情形時之細胞指數；或者進而於其中添加有4D5_mvG1(DF)與4D5_mvG4_scT3a(F)之混合液(各自為0.3 nM之混合液)、或者IgG1型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG1_scT3a(DF)(0.6 nM)之情形時之細胞指數。

【0410】 對4D5_mvG1(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)之混合(各自為0.3 nM)時之細胞毒殺活性、與4D5_mvG1_scT3a(DF)(0.6 nM)之細胞毒殺活性進行比較，將所得之結果示於圖7。

【0411】 如圖7所示，4D5_mvG1_scT3a(DF)顯示出較同時添加4D5_mvG1(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)時進一步高之抗腫瘤效果。

【0412】 如表2所示，4D5_mvG1_scT3a(DF)具有如下分子結構，即，具有由結合有α1,6岩藻糖缺損之N-結合型糖鏈之IgG1型恆定區帶來

之高ADCC活性、及CD3介導之ADTC活性。

【0413】因此，顯示如下情況，即，圖6中所示之由併用僅具有ADCC活性之分子及僅具有ADTC活性之分子帶來之高抗腫瘤效果藉由使同一分子具有ADCC活性及ADTC活性這兩者而得到進一步增強，協同效應提高。

【0414】圖8(A)～(E)係表示僅MCF-7細胞之情形時之細胞指數；於MCF-7細胞中添加有PBMC之情形時之細胞指數；或者進而於其中添加有抗HER2抗體曲妥珠單抗(DF)、IgG1型抗HER2一價抗體4D5_mvG1(DF)、IgG4PE(R409K)型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)、或IgG1型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG1_scT3a(DF)(均為最終濃度50 nM)之情形時之細胞指數。

【0415】如圖8(A)～(E)所示，明確曲妥珠單抗(DF)、4D5_mvG1(DF)、及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)均幾乎未對MCF-7細胞顯示出細胞毒殺活性，另一方面，4D5_mvG1_scT3a(DF)對於MCF-7細胞顯示出非常高之細胞毒殺活性。

【0416】根據該結果顯示，即便對於僅具有ADCC活性之抗體或僅具有ADTC活性之抗體幾乎未顯示細胞毒殺活性之癌細胞，一分子中具有ADCC活性及ADTC活性之抗體亦可發揮極高之抗腫瘤效果。

【0417】[實施例5]CD3/HER2雙特異性抗體之連接子序列之研究

本項中，針對CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG1_scT3a(DF)，使在抗CD3 scFv之間與第1多肽之CH3之C末端連接的肽連接子之序列之種類、長度變化而製作雙特異性抗體，對該肽連接子對生物活性產生之影響進行研究。

【0418】 表3中表示所製作之各CD3/HER2雙特異性抗體之名稱、及肽連接子之胺基酸序列及其結構。

【0419】 [表3]

連接子之序列

抗體名	胺基酸序列	結構
4D5_mvG1_scT3a(DF)	$[SerGlyGlyGlyGly(序列編號143)]_3$	線性
Δ連接子	無	
G1	$[SerGlyGlyGlyGly(序列編號143)]_1$	線性
G2	$[SerGlyGlyGlyGly(序列編號143)]_2$	線性
H1	$[GluAlaAlaAlaLys(序列編號144)]_1$	α螺旋型連接子
H3	$[GluAlaAlaAlaLys(序列編號144)]_3$	α螺旋型連接子
Pro	ProAlaProAlaPro(序列編號145)]	剛性

【0420】 表3所記載之抗體中H1、H3分別為具有α螺旋1圈或3圈之雙特異性抗體，Pro係具有包含脯胺酸之肽連接子之雙特異性抗體。該等抗體所具有之肽連接子均具有較$[SerGlyGlyGlyGly(序列編號143)]_n$(n為1～3)連接子堅硬之結構(Chen X, et al. Adv. Drug Deliv. Rev. 65: 1357-1369, 2013)。因此，藉由將上述具有不同肽連接子之各種雙特異性抗體之生物活性進行比較，可知連接子部分之堅固度、長度對於CD3/HER2雙特異性抗體之細胞毒殺活性產生的影響。

【0421】 利用實施例1中所製作之雙特異性抗體表現載體pKANTEX93mvG1_scT3a之限制酶位點EcoT22I-BamHI，將包含編碼第1多肽之C末端-$[SerGlyGlyGlyGly(序列編號143)]_3$連接子-抗CD3 scFv之鹼基序列的基因片段置換為包含編碼第1多肽之C末端-表3中所記載之肽連接子-抗CD3 scFv之鹼基序列的基因片段，製作表3中所記載之各種雙特異性抗體之動物細胞用表現載體。

【0422】 利用實施例2中記載之方法將該等表現載體導入至FUT8KO CHO細胞，使蛋白質表現並純化。針對所製作之雙特異性抗體中G1、G2、H1、H3、及Pro進行SDS-PAGE分析，確認到所獲得之純化

蛋白質顯示如預想所示之分子量大小，獲得了目標抗體。

【0423】 利用實施例3中記載之方法對所製作之各種雙特異性抗體之HER2及CD3結合活性進行測定。所獲得之結果如圖9及圖10所示。根據圖9可知，4D5_mvG1_scT3a(DF)、G1、G2、H1、H3、及Pro均具有相同之HER2結合活性，且根據圖10可知，雖發現抗體間略有偏差，但所有抗體均具有未大幅變化之CD3結合活性。

【0424】 又，利用實施例3中記載之方法對上述雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性進行測定(最終濃度為0.617 nM)。比較對照設為僅靶細胞、或者僅靶細胞與PBMC(未添加抗體)。所獲得之結果如圖11及圖12所示。

【0425】 如圖11及圖12所示，可知CD3/HER2雙特異性抗體G1、G2、H1、H3、及Pro均顯示與4D5_mvG1_scT3a(DF)同等或其以上之細胞毒殺活性。根據該結果顯示，IgG1型CD3/HER2雙特異性抗體4D5_mvG1_scT3a(DF)所具有之高細胞毒殺活性並不依賴於連接子部分結構。

【0426】 [實施例6]CD3/HER2雙特異性抗體對於胃癌細胞株之細胞毒殺活性

將編碼表4所示之各多肽之胺基酸序列之基因插入至對Promega公司pCI載體進行改型所製作之抗體表現用載體。此處，例如關於記載為DNP2之抗體，表示使用與DNP結合之抗體之可變區作為癌抗原側可變區之陰性對照抗體。抗體名之末尾記載之(F)係岩藻糖基之簡稱，(DF)係去岩藻糖基化之簡稱，表示附加於Fc區之糖鏈之α1,6岩藻糖之有無。

【0427】 基因序列係重鏈側(第1多肽側)插入至CAG啟動子之下

游，輕鏈側(第2多肽側)插入至CMV啟動子之下游。使用該載體、及作為表現系之Freestyle CHO表現套組(Thermo Fisher Scientific公司)、CHO-S細胞或剔除了α1,6岩藻糖基轉移酶基因(FUT8)之懸浮CHO細胞[以下記為CHO(FUT8 KO)]進行暫時性表現。或，亦可使用作為表現系之Expi293表現系統(Thermo Fisher Scientific公司)及Expi293F細胞或剔除了FUT8之Expi293F細胞(以下記為Expi293F(FUT8 KO))來製作同樣之抗體群。

【0428】 具有α1,6岩藻糖之抗體分子係使用CHO-S細胞或Expi293F細胞來製作，α1,6岩藻糖缺損之抗體分子係使用CHO(Fut8 KO)細胞或Expi293F(FUT8 KO)細胞來製作。

【0429】 對細胞培養液進行離心分離，使之通過0.2 μm過濾器(Thermo Scientific公司)，回收培養上清液。藉由使用MabSelect SuRe(GE Healthcare公司)之親和力純化而自培養上清液中取得粗純化抗體。具體而言，利用PBS對填充至管柱中之樹脂進行平衡化後，於該管柱中添加培養上清液，以最終濃度0.1%包含Triton X-114之PBS、及PBS分別洗淨1次後，使用溶出緩衝液(100 mM 檸檬酸-NaOH、pH3.9或20 mM 乙酸-NaOH、50 mM NaCl、pH3.9)以使抗體溶出。

【0430】 向所獲得之抗體溶液添加1/10量之中和緩衝液(1 M 磷酸-NaOH、pH7.0)來進行中和，使用Amicon Ultra-4離心過濾裝置(Millipore公司)，利用超過濾進行濃縮。粗純化抗體包含一定比例之締合體，因此為了僅分離單聚物，而使用AKTA層析系統及Superdex 200 Increase 10 300 GL管柱(均為GE Healthcare公司)來進行凝膠過濾層析法。

【0431】 作為移動相，使用檸檬酸緩衝液(10 mM 檸檬酸-NaOH、

150 mM NaCl、pH6.0)。僅分離單聚物組分，使用Nanodrop(Thermo Fisher Scientific公司)測定吸光度A280，進行抗體溶液之濃度之測定及製備。

【0432】 [表4]

所製作之各CD3/HER2雙特異性抗體之名稱與序列及表現細胞

抗體名	多肽1 胺基酸序列	多肽2 胺基酸序列	表現細胞
DNP2_mvG4PE(R409K)(F)	序列編號10	序列編號11	CHO-S
DNP2_mvG1(DF)	序列編號12	序列編號13	CHO(FUT8 KO)
DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)	序列編號14	序列編號15	CHO-S
DNP2_mvG1_scT3a(DF)	序列編號16	序列編號17	CHO(FUT8 KO)
DNP2_IgG1(DF)	序列編號18	序列編號19	CHO(FUT8 KO)
4D5_mvG4PE(R409K)(F)	序列編號20	序列編號21	CHO-S
4D5_mvG1(DF)	序列編號22	序列編號23	CHO(FUT8 KO)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)	序列編號24	序列編號25	CHO-S
4D5_mvG1_scT3a(DF)	序列編號26	序列編號27	CHO(FUT8 KO)
4D5_IgG1(DF)	序列編號28	序列編號29	CHO(FUT8 KO)

【0433】 利用實施例3中記載之方法，對上述雙特異性抗體對於為Her2中陽性之人類胃癌細胞株MKN-7細胞(RIKEN BRC RCB0999)之細胞毒殺活性進行測定(最終濃度為50 nM)。比較對照係設為僅靶細胞，或者僅靶細胞及PBMC(未添加抗體)。所獲得之結果如圖13所示。將可變區設為DNP2之抗體均未顯示細胞毒殺活性。

【0434】 另一方面，僅具有ADCC活性之抗體(4D5_mvG1(DF)及4D5_IgG1(DF))雖可見細胞毒殺活性，但與僅具有ADTC活性之抗體(4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F))相比，活性較弱。將4D5_mvG1(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)各半量進行混合而成為50 nM者顯示較上述抗體群高之活性。進而，可以1個分子型發揮ADCC活性及ADTC活性之4D5_mvG1_scT3a(DF)於所有抗體群中均顯示出最高之細胞毒殺活性。

【0435】 同樣地，對為Her2中陽性之人類胃癌細胞株MKN-45細胞(JCRB細胞庫 JCRB0254)測定細胞毒殺活性，所得之結果如圖14所示。作為陰性對照之可變區為DNP2之抗體均未顯示細胞毒殺活性。可變區為4D5之抗體中僅4D5_mvG1_scT3a(DF)顯示出明確之細胞毒殺活性。根據以上結果可知，本技術對於除BT-20細胞以外之HER2陽性細胞株，亦藉由協同作用發揮較高之細胞毒殺活性。

【0436】 [實施例7]CD3/HER2雙特異性抗體之細胞毒殺活性及培養上清液中細胞激素產生

為了比較如背景技術中記載之代表性抗CD3雙特異性抗體、與本發明中所製作之雙特異性抗體之性狀，而製作比較對照分子並測定細胞毒殺活性及細胞毒殺時之培養上清液中之細胞激素產生。作為比較對照分子，製作公知之抗CD3雙特異性抗體(國際公開第2016/071004號中記載之具有序列編號160、359及399所示之胺基酸序列之抗CD3雙特異性抗體)。以下亦記載為CD3/HER2 Fab×scFv。

【0437】 與實施例6中所示之方法同樣地製作表現載體，使用Expi293表現系統(Thermo Scientific公司)以使抗體表現。以下之純化步序係依據實施例6中記載之方法來進行。

【0438】 利用實施例4中所記載之方法測定所製作之比較對照雙特異性抗體及4D5_mvG1_scT3a(DF)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。將未添加試驗樣品之孔之細胞指數值設為活性0%，將代替試驗樣品而添加有0.5% Triton X-100之孔之細胞指數值設為活性100%，自第2天(添加抗體後48小時)時點之細胞指數值計算各抗體之細胞毒殺活性值。

【0439】 於同時點回收培養上清液，使用BD流式微珠陣列

(CBA)Human Th1/Th2細胞介素套組II(BD Pharmingen公司)來測定細胞激素(IFN-γ、TNF-α、IL-6)濃度。將各濃度下之細胞毒殺活性與細胞激素濃度繪製在同一圖上所得之結果如圖15所示。最大之細胞毒殺活性與4D5_mvG1_scT3a(DF)、對照抗體均為相同程度。另一方面，兩者之細胞激素產生程度有較大差異。即，關於對照抗體，觀察到抗體濃度依賴性之細胞毒殺活性之上升以及細胞激素產生之上升，而可知出現細胞毒殺活性之濃度範圍與誘導細胞激素產生之濃度範圍之背離較小。另一方面，關於4D5_mvG1_scT3a(DF)，基本未觀察到伴隨著細胞毒殺活性之上升之細胞激素產生之上升。

【0440】 [實施例8]CD3/HER2雙特異性抗體之各種分子型之設計

於實施例1～7中，表示基於IgG1型抗HER2一價抗體，於其第1多肽之C末端結合抗CD3 scFv而成之異源二聚物型之CD3/HER2雙特異性抗體[圖2(B)]的製作過程、及活性評價之結果。根據該結果，首次發現，藉由於1分子中發揮ADCC活性及ADTC活性，而於細胞激素產生誘導能力較低之情況下協同性地發揮較高之細胞毒殺活性。

【0441】 為了對於可獲得此種ADCC活性與ADTC活性之協同作用之分子型進一步細查，而設計圖16(A)～(F)所示之各分子型。圖16(A)係表示已於實施例中使用之分子。圖16(B)係2價型抗體之單側之重鏈之C末端結合抗CD3 scFv而成之分子，癌抗原側Fab成為2價。為了製作異源重鏈，而於CH3部分導入有Knobs into Holes改型(Nature Biotechnology. vol 16: 677-681, 1998)。

【0442】 圖16(C)係雖具有與圖16(A)相同之胺基酸序列，但藉由將表現細胞設為通常之CHO細胞，而具有附加有α1,6岩藻糖之糖鏈之分子。

圖16(D)係於一價型抗體之第2多肽(VL-CL-hinge-Fc)之C末端結合抗CD3 scFv而成之分子。圖16(E)係癌抗原側Fab與抗CD3 scFv兩者均位於N末端側之分子，為了製作異源重鏈，而與上述圖16(B)同樣地導入有Knobs into Holes改型。圖16(F)係於一價型抗體之第1、第2多肽各自之C末端分別結合抗CD3 scFv各1個而成之分子，作為結果，於1分子內具有2個抗CD3 scFv。

【0443】 [實施例9]各種分子之製作及細胞毒殺活性評價

(1)所設計之雙特異性抗體分子之製作

與實施例6中所示之方法同樣地製作實施例8中所設計之分子。表5中表示所製作之抗體及其胺基酸序列。

【0444】 [表5]

所製作之CD3/HER2雙特異性抗體等之名稱與序列及表現細胞

分子型(識別抗原)	抗體名	胺基酸序列
B(DNP)	DNP2_IgG4PE(R409K)(F)	序列編號30、31
B(DNP)	DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)	序列編號32～34
B(DNP)	DNP2_IgG1(DF)	序列編號35、36
B(DNP)	DNP2_IgG1_scT3a(DF)	序列編號37～39
B(HER2)	4D5_IgG4PE(R409K)(F)	序列編號40、41
B(HER2)	4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)	序列編號42～44
B(HER2)	4D5_IgG1(DF)	序列編號28、29
B(HER2)	4D5_IgG1_scT3a(DF)	序列編號45～47
B(GM2)	8962_IgG1(DF)	序列編號48、49
B(GM2)	8962_IgG1_scT3a(DF)	序列編號50～52
C(HER2)	4D5_mvG1(F)	序列編號22、23
C(HER2)	4D5_mvG1_scT3a(F)	序列編號26、27
D(HER2)	4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)	序列編號53、54
D(HER2)	4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)	序列編號55、56
E(HER2)	4D5_scT3a_IgG1(DF)	序列編號57～59
E(-)	4D5mut_scT3a_IgG1(DF)	序列編號60～62
E(-)	4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)	序列編號63～65
E(-)	4D5mut_scSP34_IgG1(DF)	序列編號66～68
A(-)	4D5mut_mvG1_scT3a(DF)	序列編號69、70
F(DNP)	DNP2_mvG1_$(scT3a)_2$(DF)	序列編號71、72

【0445】 表5中之「分子型」係與圖16(B)～(F)對應。關於評價各分

子型時用作陰性對照之不具有scFv之分子，分類為與具有scFv之分子相同之分子型。

【0446】 表5中之「抗體名」係以(1)癌抗原側之抗體純系名、(2)恆定區之抗體亞型之來源及結構、(3)CD3純系名、及(4)有無岩藻糖之順序來表示分子特徵。mvG1、mvG4PE(R409K)等抗體名中之「mv」係表示癌抗原側為1價結合型之抗體。mvG1、mvG4PE(R409K)等抗體名中之「G1」表示具有源自IgG1之Fc，「G4PE(R409K)」表示具有對源自IgG4之Fc施加S228P、L235E、及R409K突變所得之Fc。

【0447】 表5中之(F)表示具有岩藻糖，(DF)表示不具有岩藻糖。抗體名中記為(DF)者於CHO(FUT8 KO)中表現，記為(F)者於CHO-S中表現。scT3a、scSP34等抗體名中之「sc」係scFv之簡稱，scSP34表示源自SP34之使用VH、VL之scFv。(LC)表示如圖16(D)所示scFv與包含CL-Fc之第2多肽結合。

【0448】 分子型(E)中SP34係文獻(EMBO J. 1985. 4 (2):337-344; J. Immunol. 1986, 137(4):1097-100; J. Exp. Med. 1991, 174:319-326; J. Immunol. 1991, 147(9):3047-52)中記載之抗CD3單株抗體，其胺基酸序列係以美國專利第10,066,015號說明書中之序列編號5及序列編號10(於本案分別係如序列編號218及序列編號219所示)等公開。

【0449】 SP34(H05')係藉由對SP34之可變區序列進行胺基酸改型而使對於CD3之親和力降低的抗CD3抗體之序列(於下述實施例11中製作)。於表5中，「4D5mut」表示藉由向曲妥珠單抗之重鏈可變區之CDR導入2個胺基酸殘基之改型，使對於HER2之結合性完全消失的抗體之可變區。

【0450】 (2)CD3/HER2及CD3/GM2雙特異性抗體之癌抗原側結合

價數與細胞毒殺活性

藉由實施例4中記載之方法對表5所示之分子型(B)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性進行測定。4D5_IgG4PE(R409K)(F)、4D5_IgG1(DF)、4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)、及4D5_IgG1_scT3a(DF)係以各自最終濃度成為50 nM之方式添加。為了進行比較，分子型(A)之4D5_mvG1_scT3a(DF)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)亦於相同之條件測定細胞毒殺活性。結果如圖17(A)及(B)所示。

【0451】 如圖17(A)所示，4D5_IgG4PE(R409K)(F)不具有效應活性，僅憑與HER2進行結合，則未觀察到細胞毒殺活性。如圖17(B)所示，可知4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)及4D5_IgG1(DF)均觀察到細胞毒殺活性，且4D5_IgG1_scT3a(DF)具有高於4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)之細胞毒殺活性。癌抗原結合域之Fab為2價之4D5_IgG1_scT3a(DF)之活性之強度與癌抗原結合域之Fab為1價之4D5_mvG1_scT3a(DF)的程度相同。

【0452】 根據以上內容可知，由1抗體分子具有ADTC活性及ADCC活性帶來之細胞毒殺活性的協同效應不僅於癌抗原結合域為1價之情形時被觀察到，亦於癌抗原結合域為2價之情形時被觀察到。

【0453】 同樣地，測定以分子型(B)之抗癌特異性抗原(TSA)抗體作為抗神經節苷脂GM2單株抗體之分子對於人類小細胞肺癌細胞株SBC-3細胞(JCRB細胞庫 JCRB0818)的細胞毒殺活性。將8962_IgG1(DF)、8962_mvG1_scT3a(DF)及8962_IgG1_scT3a(DF)係以各自最終濃度成為50 nM之方式進行添加。結果如圖18(A)及(B)所示。

【0454】 作為抗TSA抗體可變區之陰性對照，將包含抗DNP抗體之

可變區之抗體分子的活性示於圖18(A)，將包含作為試驗樣品之抗GM2單株抗體之可變區之抗體分子的活性示於圖18(B)。於該條件下，作為2價型ADCC抗體之8962_IgG1(DF)未觀察到細胞毒殺活性，但2價型且具有ADCC及ADTC這兩種活性之8962_IgG1_scT3a(DF)觀察到較高之細胞毒殺活性。

【0455】(3)CD3/HER2雙特異性抗體之α1,6岩藻糖之有無及細胞毒殺活性

利用實施例4中記載之方法，測定表5中所示之分子型(C)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。4D5_mvG4PE(R409K)(F)、4D5_mvG1(F)、4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)及4D5_mvG1_scT3a(F)係以各自最終濃度成為50 nM之方式進行添加。

【0456】結果如圖19(A)所示。4D5_mvG4PE(R409K)(F)未顯示細胞毒殺活性(數據未顯示)。4D5_mvG1(F)及4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)顯示較弱之細胞毒殺活性。進而可知，4D5_mvG1_scT3a(F)具有較上述2個分子高之細胞毒殺活性。可知即便於具有α1,6岩藻糖之情形時，藉由於1分子中發揮ADCC活性及ADTC活性亦使活性上升。

【0457】然而，若與如圖19(B)所示去除了α1,6岩藻糖之分子進行比較，則作為高ADCC活性抗體之4D5_mvG1(DF)之細胞毒殺活性強於4D5_mvG1_scT3a(F)，4D5_mvG1_scT3a(DF)之細胞毒殺活性更強。根據以上結果可知，無論有無α1,6岩藻糖，藉由於1分子中發揮ADCC活性與ADTC活性而細胞毒殺活性協同上升的現象普遍存在。進而可知，若藉由去除α1,6岩藻糖而於1分子中發揮高ADCC活性與ATDC活性，則會帶來

更高之細胞毒殺活性。

【0458】(4)CD3/HER2雙特異性抗體之抗CD3 scFv之融合位置與細胞毒殺活性

利用實施例4中記載之方法，測定表5所示之分子型(D)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。4D5_mvG4PE(R409K)、4D5_mvG1(DF)、4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)及4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)係以各自最終濃度成為50 nM之方式添加。結果如圖20(A)所示。

【0459】4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)顯示與4D5_mvG1(DF)相同程度之細胞毒殺活性，4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)顯示較其等高之細胞毒殺活性。又，將分子型(A)與分子型(D)之活性同樣地進行比較所得之結果如圖20(B)所示。以4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)與4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)、及4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)與4D5_mvG1_scT3a(DF)之組合來比較時，所有組合均顯示大致相同程度之細胞毒殺活性。

【0460】即，可知，即便於第1多肽或第2多肽之任一者之C末端附加有抗CD3 scFv，亦不會對抗CD3雙特異性抗體之ADTC活性、或ADTC活性及ADCC活性之協同效應中之任一者的活性增加產生影響。

【0461】利用實施例4中記載之方法，測定表5所示之分子型(E)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。4D5_scT3a_IgG1(DF)及4D5mut_scT3a_IgG1(DF)係以各自最終濃度成為50 nM、5 nM、0.5 nM之方式添加。結果如圖21所示。

【0462】4D5_scT3a_IgG1(DF)於任一濃度下均顯示較高之細胞毒殺活性。4D5mut_scT3a_IgG1(DF)如上所述未與HER2結合，但於任一濃

度下均顯示非特異性之細胞毒殺活性。

【0463】同樣地，亦對於4D5mut_scSP34_IgG1(DF)及4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)測定活性，與4D5mut_scT3a_IgG1(DF)比較所得之結果如圖22A～圖22C所示。所有抗體均顯示非特異性之細胞毒殺活性，但4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)及4D5mut_scSP34_IgG1(DF)顯示較4D5mut_scT3a_IgG1(DF)高之細胞毒殺活性。

【0464】藉由Biacore(GE Healthcare公司)測定該等抗體與CD3之結合性。具體而言，使用胺偶合套組(GE Healthcare公司)，將anti-tetra His小鼠抗體(QIAGEN公司)以8000 RU為標準固相至CM5感測器晶片上。偶合緩衝液使用10 mM乙酸鈉(pH4.5)。作為配體，將以成為5 μg/mL之方式溶解於HBS-EP(＋)緩衝液中所得之His標籤融合人類CD3D&E蛋白質(Sino Biological公司)以5 μL/min捕獲120秒鐘。

【0465】繼而，以30 μL/min之流速添加自10 μg/mL利用5次連續稀釋各稀釋2倍所得之雙特異性抗體溶液作為分析物，測定各抗體與分析物之結合反應2分鐘，測定解離反應5分鐘。測定係利用單循環動力學法來進行。所獲得之感測器圖譜係使用Bia Evaluation Software(GE Healthcare公司)進行分析，算出各抗體之動力學常數。

【0466】結果如圖22D～圖22G所示。4D5mut_scSP34_IgG1(DF)之K_D值係1.26×10^{-8} M，4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)之K_D值係1.08×10^{-7} M。4D5mut_scT3a_IgG1(DF)之K_D值雖無法算出，但於感測器圖譜上觀察到結合性，於以最高濃度添加時以6RU程度達到結合解離平衡狀態。4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)由於在以最高濃度添加時以100RU程度達到結合解離平衡狀態，因此可判斷4D5mut_scT3a_IgG1(DF)之K_D值大

於4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)之K_D值，即$K_D > 1.08\times10^{-7}$M。

【0467】即，表示若於Fc區或恆定區之N末端側結合抗CD3 scFv而並非於Fc區或恆定區之C末端側結合抗CD3 scFv，則即便於使用CD3結合域之親和力較弱為$K_D > 1.08\times10^{-7}$M之抗CD3scFv的情形時，亦會產生同與疾病相關抗原特異性地結合無關之不期望之非特異性毒殺活性。

【0468】(5)CD3/HER2雙特異性抗體之抗CD3 scFv之價數與細胞毒殺活性

利用實施例4中記載之方法，測定表5所示之分子型(F)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。作為細胞毒殺活性之陽性對照，將4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)以成為50 nM之方式添加。4D5mut_mvG1_scT3a(DF)、DNP2_mvG1_$(scT3a)_2$(DF)係以最終濃度成為50 nM、5 nM、0.5 nM之方式添加。結果分別如圖23(A)及(B)所示。

【0469】該等分子全部未與HER2結合，但4D5mut_mvG1_scT3a(DF)於任一濃度下均未觀察到細胞毒殺活性，另一方面，DNP2_mvG1_$(scT3a)_2$(DF)於50 nM、5 nM時觀察到抗體濃度依賴性細胞毒殺活性。即，表示若使抗CD3 scFv為2價，則會產生非特異性細胞毒殺活性。

【0470】如上所述，根據上述(4)及(5)之結果顯示，為了使具有ADCC活性及ADTC活性之1分子之抗CD3雙特異性抗體協同地發揮高細胞毒殺活性，且使抗CD3雙特異性抗體不會產生非特異性細胞毒殺活性，需要使CD3結合域以1價附加至抗CD3雙特異性抗體之Fc之C末端側。

【0471】[實施例10]具有較強親和力之抗CD3 scFv之CD3/HER2雙特異性抗體之製作及細胞毒殺活性、細胞激素產生的評價

對抗CD3 scFv之親和力對雙特異性抗體之活性產生的影響進行驗證。使用序列編號73所示之胺基酸序列(具有美國專利公開第2011/0275787號說明書中記載之純系I2C之VH及VL的scFv，K_D值為1×10^{-8}左右)作為抗CD3 scFv，與實施例6之步序同樣地，製作具有表5所示之分子型(A)之結構的DNP2_mvG1_scI2C(DF)及4D5_mvG1_scI2C(DF)。利用實施例4中記載之方法，測定該等分子(最終濃度50 nM)對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。結果如圖24A所示。

【0472】 如圖24A所示，關於使用scT3a作為抗CD3 scFv之分子(實施例6中所製作)，未與HER2特異性地結合之DNP2_mvG1_scT3a(DF)未觀察到細胞毒殺活性，與HER2特異性地結合之4D5_mvG1_scT3a(DF)觀察到細胞毒殺活性。另一方面，使用純系scI2C作為抗CD3 scFv之分子無論有無與HER2特異性地結合，DNP2_mvG1_scI2C(DF)及4D5_mvG1_scI2C(DF)兩者均觀察到高細胞毒殺活性。因此，可知，即便分子型相同，於使用純系scI2C作為抗CD3 scFv之情形時，亦會產生非特異性細胞毒殺活性。

【0473】 繼而，將4D5_mvG1_scT3a(DF)或4D5_mvG1_scI2C(DF)及人類PBMC進行培養，對細胞激素產生量進行測定。具體而言，將人類PBMC(1×10^6 cells/100 μL/管體)及抗體(最終濃度100、10、1 μg/mL)與X-VIVO(註冊商標)15無血清造血細胞培養基進行混合，於37℃下培養24小時。培養後回收上清液，依據實施例7中所示之手法測定細胞激素量。結果如圖24B所示。

【0474】 如圖24B所示，於4D5_mvG1_scT3a(DF)添加群中，在100 μg/mL時發現產生量上升之細胞激素，但在10 μg/mL，1 μg/mL時幾

乎未觀察到。另一方面，4D5_mvG1_scI2C(DF)中，自低濃度起就觀察到顯著之細胞激素產生。根據以上情況可知，於使用親和力較強之純系I2C作為抗CD3 scFv之情形時，會產生非特異性細胞毒殺活性，引起顯著之細胞激素產生。

【0475】[實施例11]抗CD3 scFv部分之親和力得到調整之CD3/HER2雙特異性抗體之製作及活性評價

(1)胺基酸改型之設計

根據實施例10可知，重要的是適當控制抗CD3 scFv部分之親和力。嘗試藉由使用實施例9(1)中所示之抗CD3單株抗體即SP34並向CDR導入胺基酸改型，而將其親和力降低至適當範圍。將用作scFv型之scSP34之鹼基序列、胺基酸序列、及CDR之胺基酸序列分別示於序列編號74、75、76～81。

【0476】藉由使用Molecular Operating Environment 2016.08(MOLSIS公司)之立體結構模型化，根據SP34之胺基酸序列製作抗體之模型結構。選出存在於表面且很可能有助於結合之胺基酸殘基作為改型候補殘基，設計各種胺基酸改型CDR。圖25(A)中表示導入1個胺基酸改型之設計，圖25(B)中表示導入2個胺基酸殘基以上之改型之設計。表中之胺基酸序列中之粗體之胺基酸殘基係經改型之胺基酸殘基。又，藉由與國際專利公開第2019/017401號說明書之實施例15(1)中記載的方法相同之步序，設計SP34之CDR改型體之人類化抗體的胺基酸序列，將其VL及VH之架構之胺基酸序列分別示於圖26(A)(C)及(B)(D)。

【0477】(2)抗體之製作及親和力測定

將(1)中所設計之胺基酸序列之一部分以與實施例6中記載之方法相同

之方式實際上製作成HER2/CD3雙特異性抗體並調查其結合活性。使用Expi293F細胞作為表現細胞。親和力測定係依據實施例9(4)所示之方法來進行。結果如圖27所示。與由母純系SP34製作之抗CD3 scFv即scSP34進行比較，可知，藉由導入1個胺基酸殘基以上之胺基酸殘基改型，可使親和力降低至$K_D=10^{-7}$之等級。

【0478】(3)細胞毒殺活性及細胞毒殺時細胞激素產生

使用FUT8KO CHO細胞來製作具有(2)中找到之scSP34 CDR改型體scSP34(H04')及scSP34(H05')之HER2/CD3雙特異性抗體即4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)及4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)。關於該等抗體，依據實施例7中所示之手法來測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性(抗體之最終濃度：400 pM)及細胞毒殺時之細胞激素產生。結果分別如圖28(A)～(C)及圖29(A)～(D)所示。

【0479】如圖28(A)～(C)所示，可知4D5_mvG1_scT3a(DF)之細胞毒殺活性稍高於4D5_mvG1(DF)，但差距並不大。另一方面，可知4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)及4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)稍低於4D5_mvG1_scSP34(DF)，但具有高毒殺活性。

【0480】如圖29(A)～(D)所示，可知於4D5_mvG1_scSP34(DF)之情形時，培養上清液中之細胞激素量極多，於4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)之情形時，培養上清液中之細胞激素量顯著地變少，於4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之情形時，培養上清液中之細胞激素量進一步低。尤其是關於IL-2及IFN-γ，於4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)及4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)添加群中，在此次之實驗條件下幾乎未發現產生。

【0481】 根據以上結果可知，藉由向抗CD3 scFv導入胺基酸殘基改型來調整親和力，可控制細胞毒殺活性及細胞激素產生。將親和力得到調整之抗CD3 scFv即scSP34(H04')之胺基酸序列示於序列編號117，將重鏈CDR1～3之胺基酸序列示於序列編號118～120，將輕鏈CDR1～3之胺基酸序列示於序列編號121～123，將VH、VL之胺基酸序列示於序列編號124、125。同樣地，將scSP34(H05')之胺基酸序列示於序列編號82，將重鏈CDR1～3之胺基酸序列示於序列編號83～85，將輕鏈CDR1～3之胺基酸序列示序列編號86～88，將VH、VL之胺基酸序列示於序列編號115、116。

【0482】 (4)非特異性細胞激素產生

與實施例10中記載之方法同樣地，測定4D5_mvG1_scSP34(DF)、4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)及4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)等之非特異性細胞激素產生誘導能力。使用4D5_mvG1_scT3a(DF)作為不會誘導非特異性細胞激素產生之陰性對照，使用4D5_mvG1_scI2C(DF)作為會誘導非特異性細胞激素產生之陽性對照。結果如圖30所示。

【0483】 可知所測定之全部4種細胞激素均於4D5_mvG1_scSP34(DF)添加群中自低濃度起就觀察到顯著之細胞激素產生，但於4D5_mvG1_scSP34(H04')(DF)及4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之情形時，細胞激素產生誘導能力降低，又，其降低程度與抗CD3 scFv之親和力降低相關。

【0484】 [實施例12]自人類抗體產生小鼠取得抗CD3單株抗體、及調整了親和力之CD3/HER2雙特異性抗體之製作及活性評價

(1)對動物之免疫及抗CD3單株抗體產生細胞之製備

向人類抗體產生小鼠[Ishida & Lonberg, IBC's 11th Antibody Engineering, Abstract 2000;Ishida, I. et al., Cloning & Stem Cells 4, 91-102 (2002)及石田功(2002) 實驗醫學20, 6, 846-851]以40 μg/匹投予作為免疫原之與KLH蛋白質偶聯之人類CD3ε之N末端側非乙醯化肽：H_2N-QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTC-KLH(序列編號146)(Scrum公司)共計6次。僅在初次免疫時添加作為佐劑之與抗原溶液20 μL等量之TiterMax Gold(TiterMax USA)或Sigma adjuvant system(Sigma-Aldrich公司)。

【0485】在最終免疫後之4天後進行解剖，外科地摘取出淋巴結或脾臟。對所摘取出之淋巴結或脾臟進行勻漿化後，使之通過細胞過濾器(Falcon公司)而將細胞移至管體中，進行離心分離，使細胞沈澱。所獲得之脾臟細胞係與紅血球去除試劑(Sigma-Aldrich公司)混和，於37℃之熱水浴中反應1分鐘後，利用MEM培養基進行稀釋後，進而進行離心分離。將所獲得之脾細胞或淋巴細胞利用MEM培養基洗淨2次後，供於細胞融合。

【0486】(2)抗CD3單株抗體產生融合瘤之製作

將8-氮鳥嘌呤耐性小鼠骨髓瘤細胞株P3-U1(P3X63Ag8U.1, ATCC：CRL-1597, European Journal of Immunology. 6: 511, 1976)在於RPMI1640培養基中添加10%FBS及抗生素所得之培養基中進行培養，進行擴大培養直至成為細胞融合時所需之細胞數(3×10^7 cells以上)。將(1)中所獲得之小鼠脾細胞或淋巴細胞、與骨髓瘤細胞以成為2：1之方式加以混合，進行離心分離(1500 rpm、5分鐘)。解開細胞後，使用GenomONE-CF(石原產業公司製造)來進行細胞融合。於冰上反應5分鐘後，於37℃下

培養15分鐘。

【0487】 其後，向Cloning meddum CM-B(Sekisui Medical公司)加入添加有10%FBS、HAT supplement(Thermo Fisher Scientific公司)及抗生素之培養基，以成為2.5×10^6 cells/18 mL之方式進行懸浮，向96孔培養板之各孔中各接種200 μL。於37℃、5%CO_2之條件下培養8～10天，使用該培養上清液，進行以下所記載之融合瘤之篩選，選擇產生與目標抗原呈特異反應性之抗體之孔，並藉由細胞分選儀SH800(索尼公司)進行單細胞分選，建立單株抗體產生融合瘤。

【0488】 (3)抗CD3抗體產生融合瘤之篩選

抗CD3抗體產生融合瘤之篩選係藉由流式細胞分析來進行。回收利用浮游細胞培養用燒瓶所培養之細胞，利用PBS洗淨2次後，使細胞於染色用緩衝液(包含0.02%EDTA、0.05%NaN_3、1%BSA之PBS)中懸浮，並以活細胞數成為$2.0\sim5.0\times10^5$ cells/50 μL之方式進行製備。使用人類T淋巴瘤細胞株HuT-78細胞(ATCC TIB-161)作為人類CD3表現細胞，使用HSC-F細胞(JCRB細胞庫 JCRB1164)作為猴CD3表現細胞，並分別利用CFSE(Sigma-Aldrich公司、最終濃度0.2 μM)、VPD450(BD Biosciences公司、最終濃度1 μM)進行染色。作為陰性對照細胞，使用無染色之KHYG-1細胞(JCRB細胞庫 JCRB156)。

【0489】 將各自等量之該等3種細胞加以混合，以成為50 μL/孔之方式分注至96孔培養板中，於冰上培養30分鐘後，添加等量之融合瘤上清原液，進行混和而於4℃下反應30分鐘。將細胞之離心分離及利用染色用緩衝液之洗淨進行1～2次後，使用染色用緩衝液，添加製備成2 μg/mL之Alexa 647 Goat anti-Human IgG(H＋L)(Thermo Fisher Scientific公司)50

μL，於遮光下在4℃下反應30分鐘。將細胞之離心分離及利用染色用緩衝液之洗淨進行2次後，於染色用緩衝液中懸浮，藉由流式細胞儀CyAn ADP(Beckman Coulter公司)來測定螢光強度。

【0490】 藉由以上(1)～(3)之步序，建立特異性地識別人類CD3及食蟹獼猴CD3之作為融合瘤純系之KM14。

【0491】 (4)融合瘤KM14之抗體基因選殖

使用QIAGEN Rneasy Plus迷你套組QIAGEN公司)，自融合瘤KM14提取總RNA，使用SMARTer RACE 5'/3'Kit(塔卡拉生物公司，並利用5'RACE法合成1st strand cDNA。使用套組所隨附之通用引子、及序列編號89、90所示之引子，藉由PrimeSTAR(註冊商標)Max DNA聚合酶(塔卡拉生物公司)進行PCR，擴增具有輕鏈及重鏈可變區之鹼基序列之基因片段。針對所獲得之PCR片段，輕鏈係使用下一代定序儀Ion PGM(Thermo Fisher Scientific公司)來確定序列，重鏈係使用桑格定序儀3130xl Genetic Analyzer(Applied Biosystems公司)來確定序列，取得抗CD3單株抗體KM14之抗體基因之鹼基序列。

【0492】 將編碼抗CD3單株抗體KM14之輕鏈可變區及重鏈可變區之胺基酸序列的鹼基序列分別記載於序列編號91及92。又，將轉譯該等鹼基序列所獲得之胺基酸序列分別記載於序列編號93及94，將輕鏈CDR1～3及重鏈CDR1～3之胺基酸序列分別記載於序列編號95～97、98～100。又，將作為scFv之scKM14之鹼基序列及胺基酸序列分別示於序列編號101及102。

【0493】 (5)基於抗CD3單株抗體KM14之胺基酸殘基改型之設計

使用抗CD3單株抗體KM14之可變區所製作之scKM14對於CD3之親

和力強於此前實施例中所使用之抗CD3scFv即scT3a或scSP34(H05')，認為有可能因與ADCC活性組合而表現可非特異性之細胞毒殺活性。因此，依據實施例11(1)中所記載之方法，設計出抗CD3單株抗體KM14之CDR之胺基酸殘基改型。將該設計之一部分示於圖31。表中之胺基酸序列之粗體之胺基酸殘基表示經改型之胺基酸殘基。

【0494】 (6)雙特異性抗體之製作與親和力測定

以與實施例6中記載之方法相同之方式，將(5)中所設計之胺基酸序列實際上製成雙特異性抗體並調查其結合活性。作為表現系，使用Expi293(商標)表現系統(Thermo Fisher Scientific公司)及Expi293F細胞。若使用本細胞來表現，則雖抗體分子附加有α1,6岩藻糖，但能夠測定對於CD3之親和力、及測定以ADTC活性為主之細胞毒殺活性、細胞毒殺時之細胞激素產生。

【0495】 親和力測定係依據實施例9(4)所示之方法。結果如圖32所示。與由母抗體純系KM14製作之抗CD3 scFv即scKM14進行比較，可知藉由導入1個胺基酸殘基以上之胺基酸殘基改型，可使親和力降低至$K_D = 10^{-7}$之等級。

【0496】 (7)細胞毒殺活性及細胞毒殺時細胞激素產生

與實施例3及實施例7中記載之方法同樣地，測定所製作之抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性及細胞毒殺時之細胞激素產生量。試驗樣品之最終濃度於細胞毒殺活性測定時設為400 pM，於細胞激素產生量測定時設為10 nM。關於細胞毒殺活性，將強於4D5_mvG1(F)且4D5_mvG1_scT3a(F)以下者分類為＋，將強於4D5_mvG1_scT3a(F)且4D5_mvG1_scSP34(H05')(F)以下者分類為＋＋，將強於

4D5_mvG1_scSP34(H05')(F)且4D5_mvG1_scKM14(F)以下者分類為＋＋＋，將所得之結果之概要記載於(6)中所示之圖32。

【0497】關於mut1-03、mut1-04、mut1-18、mut1-22、mut1-25、及mut1-26這6種改型體，將scFv之胺基酸序列分別記載於序列編號103～108，將細胞毒殺活性及細胞激素產生量之詳細結果分別示於圖33(A)及(B)以及圖34(A)及(B)。根據圖33(A)可知，4D5_mvG1_scKM14(mut1-25)(F)之細胞毒殺活性稍低於4D5_mvG1_scT3a(F)。

【0498】又，可知，4D5_mvG1_scKM14(mut1-03)(F)、4D5_mvG1_scKM14(mut1-04)(F)、4D5_mvG1_scKM14(mut1-18)(F)、4D5_mvG1_scKM14(mut1-22)(F)之細胞毒殺活性強於4D5_mvG1_scT3a(F)，且低於4D5_mvG1_scSP34(H05')(F)。又，根據圖33(B)可知，4D5_mvG1_scKM14(mut1-26)(F)之活性與4D5_mvG1_scSP34(H05')(F)同等。圖中可知，4D5_mvG1_scKM14(F)之活性最高。

【0499】關於作為母抗體之抗CD3單株抗體KM14及mut1-03、mut1-04、mut1-18、mut1-22、mut1-25、及mut1-26這6種改型體，將VH、VL、及CDR之胺基酸序列記載於表6。

【0500】 [表6]

KM14及其改型體之VH、VL、及CDR之胺基酸序列

抗體名	VH	VL	CDR H1	CDR H2	CDR H3	CDR L1	CDR L2	CDR L3
KM14	序列編號94	序列編號93	序列編號98	序列編號99	序列編號100	序列編號95	序列編號96	序列編號97
mut1-03	序列編號94	序列編號126	序列編號98	序列編號99	序列編號100	序列編號132	序列編號96	序列編號97
mut1-04	序列編號94	序列編號127	序列編號98	序列編號99	序列編號100	序列編號133	序列編號96	序列編號97
mut1-18	序列編號128	序列編號93	序列編號98	序列編號134	序列編號100	序列編號95	序列編號96	序列編號97
mut1-22	序列編號129	序列編號93	序列編號98	序列編號135	序列編號100	序列編號95	序列編號96	序列編號97
mut1-25	序列編號130	序列編號93	序列編號98	序列編號136	序列編號100	序列編號95	序列編號96	序列編號97
mut1-26	序列編號131	序列編號93	序列編號98	序列編號137	序列編號100	序列編號95	序列編號96	序列編號97

【0501】 根據圖34(A)及(B)可知，4D5_mvG1_scKM14(F)於細胞毒殺時顯示較高之細胞激素產生。若為使用調整了親和力之KM14改型體之雙特異性抗體，則細胞激素產生較使用原本之KM14者減少。添加有各雙特異性抗體時之IFN-γ及IL-6之產生量與圖33(A)及(B)所示之細胞毒殺活性之強度存在相關關係。

【0502】 繼而，針對4D5_mvG1_scKM14(DF)、4D5_mvG1_scKM14(mut1-XX)(DF)(XX：03、04、18、22、25、26)、4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)及4D5_mvG1(DF)，與實施例3中記載之方法同樣地，測定所製作之抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性。將試驗樣品之最終濃度設為50、5、0.5 nM，將未添加試驗樣品之孔之細胞指數值設為活性0%，將添加有0.5%TritonX-100之孔之細胞指數值設為活性100%，算出試驗樣品添加後48時間及120小時之時的細胞毒殺活性。試驗樣品添加後48小時之結果如圖35(A)所示，試驗樣品添加後120小時之結果如圖35(B)。

【0503】 如圖35(A)及(B)所示，無論哪個時間，抗體濃度依賴性細胞毒殺活性之強度均與圖33(A)及(B)所示之改型純系間之順序相關。

【0504】 (8)使用96孔培養板之系中之細胞毒殺活性測定等

為了對於多個試驗抗體，測定所製作之雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性及細胞毒殺時之細胞激素產生量，而構建使用96孔培養板之實驗系來使用。

【0505】 首先，將BT-20細胞於RPMI1640培養基(10% FBS、10 μg/mL 慶大黴素)中製備成2.0×10^5 cells/mL，並以50 μL/孔添加至96孔培養板之各孔中。繼而，將利用RPMI培養基製備成4 mg/mL之人類免疫球蛋白(日本血液製劑機構)、製備成1×10^6cells/mL之細胞密度之源自健康人末梢血液之PBMC以50 μL/孔添加至上述培養板之各孔中。最後，將製備成最終濃度之4倍之各種雙特異性抗體以50 μL/孔添加至各孔中，於37℃、5%CO_2之條件下培養48小時。

【0506】 為了測定細胞毒殺活性，使用檢測活細胞之細胞增生/細胞毒性分析套組Cell Counting Kit-8(同仁化學研究所)。自反應後之96孔培養板中去除培養上清液，利用PBS洗淨2次後，添加呈色試劑來進行顯色反應，利用讀板儀來測定450 nm之吸光度。

【0507】 將僅接種細胞而未添加試驗樣品之孔之吸光度設為活性0%，將添加0.5%TritonX-100而使細胞溶解之孔之吸光度設為活性100%，從而計算細胞毒殺活性之值。測定細胞激素產生量時，使用培養48小時後之培養上清液，與實施例7中記載之方法同樣地實施。

【0508】 對於4D5_mvG1_scKM14(mut1-XX)(DF)(XX：03、04、18、22、25、26)、及實施例7中所製作之抗CD3雙特異性抗體即

CD3/HER2 Fab×scFv，藉由上述方法測定對於BT-20細胞之細胞毒殺活性及細胞激素產生量。細胞毒殺活性之結果如圖41(A)所示，細胞激素產生量之結果如圖41(B)及(C)所示。

【0509】如圖41(A)所示，關於4D5_mvG1_scKM14(mut1-XX)(DF)(XX：03、04、18、22、25、或26)，添加有各雙特異性抗體時之抗體濃度依賴性細胞毒殺活性係與圖35(A)及(B)中所示之改型純系間之活性順序相關。

【0510】又，如圖41(B)及(C)所示，該等雙特異性抗體之IFN-γ及IL-6之產生量與CD3/HER2 Fab×scFv相比，非常少。該等雙特異性抗體之細胞激素產生量係與圖35(A)及(B)、圖41(A)中所示之細胞毒殺活性之強度、圖34(A)及(B)中所示之細胞激素產生量相關。可知即便是岩藻糖去除型之雙特異性抗體，細胞激素產生量亦顯示與岩藻糖附加型之情形同樣低之值。

【0511】根據以上(6)～(8)可知，藉由向抗CD3單株抗體KM14之CDR導入胺基酸殘基改型而將對於CD3之親和力調整至適當範圍，藉此可將細胞毒殺時之細胞激素產生抑制為較低，並且發揮較高之細胞毒殺活性。

【0512】[實施例13]針對各種血液癌抗原之CD3/癌抗原雙特異性抗體之製作及活性評價

(1)CD3/CCR4雙特異性抗體及CD3/CD123雙特異性抗體之製作

製作具有針對血液癌抗原之抗體之可變區之雙特異性抗體，調查對於源自血癌之細胞株之細胞毒殺活性。依據實施例6中記載之方法來製作表7中所示之雙特異性抗體。

【0513】使用作為與CC-趨化因子受體4(CCR4)結合之單株抗體的抗CCR4單株抗體KM2160之VL及VH之胺基酸序列來製作CD3/CCR4雙特異性抗體。

【0514】關於CD123，為了與通用之抗CD3雙特異性抗體進行比較驗證，而基於國際專利公開第2017/210443號之序列編號1～3之胺基酸序列來製作作為比較對照之CD3/CD123雙特異性抗體XENP14045。

【0515】XENP14045係藉由胺基酸改型而具有使與Fc受體之結合活性缺損之Fc(沉默Fc)的CD3/CD123雙特異性抗體，僅藉由ADTC活性來毒殺癌細胞。將XENP14045之抗CD123抗體部分之VL及VH之胺基酸序列示於序列編號109及110。使用該等序列，製作具有XENP14045之抗CD123抗體部分之VH、VL之雙特異性抗體即CD123-2_mvG1_scSP34(H05')(DF)。

【0516】[表7]

所製作之雙特異性抗體等之名稱與序列及表現細胞

抗體名	抗CD3 scFv	識別抗原與可變區序列
KM2160_mvG4PE(R409K)(F)	無	識別抗原：CCR4 VL：序列編號111 VH：序列編號112
KM2160_mvG1(DF)	無	
KM2160_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)	scT3a	
KM2160_mvG4PE(R409K)_scSP34(H05')(F)	scSP34(H05')	
KM2160_mvG4PE(R409K)_scKM14(mut1-04)(F)	scKM14(mut1-04)	
KM2160_mvG4PE(R409K)_scKM14(mut1-18)(F)	scKM14(mut1-18)	
KM2160_mvG1_scT3a(DF)	scT3a	
KM2160_mvG1_scSP34(H05')(DF)	scSP34(H05')	
KM2160_mvG1_scKM14(mut1-04)(DF)	scKM14(mut1-04)	
KM2160_mvG1_ scKM14(mut1-18)(DF)	scKM14(mut1-18)	
KM2160_IgG1(DF)	無	
CD123-1_mvG1(DF)	無	識別抗原：CD123 VL：序列編號113 VH：序列編號114
CD123-1_mvG4PE(R409K)_scSP34(H05')(F)	scSP34(H05')	
CD123-1_mvG1_scSP34(H05')(DF)	scSP34(H05')	
CD123-1_IgG1(DF)	無	
CD123-2_mvG1_scSP34(H05')(DF)	scSP34(H05')	識別抗原：CD123 VL：序列編號109 VH：序列編號110

【0517】 (2)CD3/CCR4雙特異性抗體之細胞毒殺活性及細胞激素產生之評價

使用源自CCR4陽性T細胞淋巴瘤之細胞株即PEER細胞(JCRB細胞庫JCRB0830)，藉由流式細胞分析，對所製作之CD3/CCR4雙特異性抗體之細胞毒殺活性進行測定。事先利用CellVue(註冊商標)Claret Far紅色螢光細胞鏈接套組(Sigma-Aldrich公司)對PEER細胞進行螢光標記，稀釋成2.0×10^5 cells/mL並以50 μL/孔添加至96孔培養板之各孔中。繼而，將利用RPMI培養基製備成4 mg/mL之人類免疫球蛋白(日本血液製劑機構)、製備成1×10^6 cells/mL之細胞密度之源自健康人末梢血液之PBMC以50 μL/孔添加至上述培養板之各孔中。

【0518】 最後，將製備成最終濃度之4倍濃度之各種雙特異性抗體以50 μL/孔添加至各孔中，於37℃、5%CO_2之條件下進行培養。於抗體添加後之48小時後，將該培養板進行離心而去除培養上清液，將利用染色用緩衝液(與實施例12中所使用者相同)稀釋成1/1000之SYTOX(註冊商標)死細胞染色試劑(Thermo Fisher Scientific公司)以100 μL/孔進行添加，於室溫下靜置5～10分鐘。利用染色用緩衝液將細胞洗淨2次後，藉由流式細胞儀FACS CantoII(BD Biosciences公司)測定APC與BV421之通道之螢光強度。

【0519】 藉由FSC、SSC來選擇PEER細胞組分，將APC(＋)、BV421(-)之組分作為活細胞來計數，以未添加試驗樣品時之活細胞數作為基準，算出由添加各雙特異性抗體導致之活細胞數減少的比例作為細胞毒殺活性(%)。又，於同一時點回收培養上清液，依據實施例7中記載之方法來測定細胞激素濃度。細胞毒殺活性之測定結果如圖36(A)～(C)所

示。

【0520】如圖36(A)～(C)所示，於不具有效應活性之KM2160_mvG4(R409K)(F)、及雖具有ADCC、ADTC活性但未與PEER細胞株結合之抗HER2雙特異性抗體即4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之情形時未觀察到細胞毒殺活性。於僅具有ADCC活性之KM2160_mvG1(DF)、僅具有ADTC活性之KM2160_mvG4PE(R409K)_scXX(F)[XX：T3a、SP34(H05')、KM14(mut1-04)、KM14(mut1-18)]之情形時觀察到細胞毒殺活性，且有KM2160_mvG1(DF)之活性高於KM2160_mvG4PE(R409K)_scXX(F)之傾向。

【0521】進而，具有ADCC活性及ADTC活性之KM2160_mvG1_scXX(DF)(XX：T3a、SP34(H05')、KM14(mut1-04)、KM14(mut1-18))顯示出遠大於上述抗體之細胞毒殺活性。即便與具有較強之ADCC活性且以2價結合之IgG1型抗體即KM2160_IgG1(DF)相比，KM2160_mvG1_scSP34(H05')(DF)亦顯示較高之細胞毒殺活性。

【0522】將細胞激素(IL-2及IFN-γ)產生量之測定結果示於圖37(A)及(B)。如圖37(A)所示，上述顯示較高細胞毒殺活性之KM2160_mvG1_scXX(DF)(XX：T3a、SP34(H05')、KM14(mut1-04)、KM14(mut1-18))幾乎未觀察到IL-2產生量之增加。如圖37(B)所示，關於IFN-γ產生量，僅於作為最高濃度之50 nM時，在KM2160_mvG1_scSP34(H05')(DF)、KM2160_mvG1_scKM14(mut1-18)(DF)之情形時觀察到增加。

【0523】根據以上情況可知，於CD3/CCR4雙特異性抗體中，藉由

於1分子中兼具ADCC活性及ADTC活性兩者，亦可發揮較高之細胞毒殺活性，不會伴有顯著之細胞激素產生之增加。

【0524】(3)CD3/CD123雙特異性抗體之細胞毒殺活性及細胞激素產生之評價

使用源自CD123陽性急性骨髓性白血病(AML)之細胞株即MOLM13細胞(DSMZ ACC 554)及OCI-AML3細胞(DAMZ ACC 582)，依據實施例13(2)中記載之方法，藉由流式細胞分析來測定所製作之CD3/CD123雙特異性抗體之細胞毒殺活性及細胞激素產生。具有CD123-1作為可變區之分子對於MOLM13細胞之細胞毒殺活性之測定結果如圖38(A)所示，細胞激素產生如圖38(B)所示。

【0525】如圖38(A)所示，於用作陰性對照之4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之情形時未觀察到細胞毒殺活性。具有ADCC活性之CD123-1_mvG1(DF)、CD123-1_hIgG1(DF)、具有ADTC活性之CD123-1_mvG4(R409K)_scSP34(H05')(F)之細胞毒殺活性依序變高，進而具有ADCC活性及ADTC活性這兩者之CD123-1_mvG1_scSP34(H05')(DF)分子之細胞毒殺活性最高。又，如圖38(B)所示，關於此時之細胞激素產生，於各分子間未觀察到顯著之差。

【0526】具有CD123-2作為可變區之CD123-2_mvG1_scSP34(H05')(DF)、及作為比較對照之自公司製作之XENP14045之對於MOLM13細胞、OCI-AML3細胞之細胞毒殺活性的測定結果分別如圖39(A)及(B)所示，對應之細胞激素產生分別如圖40(A)、(B)、(C)、及(D)所示。

【0527】如圖39(A)及(B)所示，XENP14045與CD123-

2_mvG1_scSP34(H05')(DF)相比，無論於哪個細胞株中均自1/10左右較低濃度起顯示細胞毒殺活性。兩個分子中，細胞毒殺活性之最大值顯示80%以上。於用作陰性對照之4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之情形時未觀察到細胞毒殺活性。

【0528】 如圖40(A)～(D)所示，XENP14045無論於哪個細胞株中均被觀察到抗體濃度依賴性地細胞激素產生之上升。另一方面，CD123-2_mvG1_scSP34(H05')(DF)即便抗體濃度上升，IL-2產生量亦幾乎未產生變化而依然較低，且與XENP14045相比，IFN-γ產生量亦非常低，並未抗體濃度依賴性地大幅增加。

【0529】 根據以上情況可知，於CD3/CD123雙特異性抗體中，藉由於1分子中兼具ADTC活性及ADCC活性這兩者，亦可發揮較高之細胞毒殺活性，不會伴有顯著之細胞激素產生。因此，可知，本發明之抗CD3雙特異性抗體對於CD3之親和力較強，與僅具有ADTC活性之作用機理之抗CD3雙特異性抗體相比，不會伴有顯著之細胞激素產生且可發揮同等之細胞毒殺活性。

【0530】 [實施例14]CH3區及抗CD3 scFv區經改型之抗CD3/HER2雙特異性抗體的設計

已知於雙特異性抗體之生產中，藉由向其CH3區導入Knobs into Holes(KIH)改型，目標分子之比例會增加。於實施例8及9中，向癌抗原側之Fab為2價之抗CD3/HER2雙特異性抗體導入了KIH改型，但於本實施例中，向癌抗原側之Fab為1價之抗CD3/HER2雙特異性抗體導入了KIH改型。

【0531】 由於在癌抗原側之Fab為1價之抗CD3/HER2雙特異性抗體

中存在多肽1(VH-CH1-Fc-scFv)及多肽2(VL-CL-Fc)，故亦可向其中任一多肽側導入Knobs型或Holes型胺基酸改型。又，實施例8及9中所導入之KIH改型係於2個CH3部分導入有分子間雙硫鍵，不具有該雙硫鍵之KIH改型亦可應用於本發明之CD3雙特異性抗體。關於不具有雙硫鍵之KIH改型，對2條Fc多肽鏈中之一條施加S354C及T366W之胺基酸殘基置換，對另一條施加Y349C、T366S、L368A及Y407V之胺基酸殘基置換。

【0532】 又，製作對scFv施加用以提高物理化學穩定性之改型後之抗CD3雙特異性抗體。具體而言，以Nat. Biotechnol. 14, 1239-45, 1996中記載之方法為參考，從scFv之VH及VL之相互作用方面考慮對胺基酸進行改型而導入雙硫鍵。具體而言，將scFv之VH之第44號(基於Kabat編號)之胺基酸置換為Cys，將VL之第100號(基於Kabat編號)之胺基酸置換為Cys。將該改型記載為(CC)或CC改型。此外，製作將VH之第44號之胺基酸置換為Ser，將VL之第100號之胺基酸置換為Glu之scFv。將該改型記載為(SE)或SE改型。

【0533】 將癌抗原側之Fab為1價之抗CD3雙特異性抗體中供導入至CH3區及抗CD3 scFv之胺基酸改型之設計例及結構上之位置示於圖42。圖42所示之改型可應用於癌抗原側之Fab為2價之抗CD3雙特異性抗體。

【0534】 於實施例1～13中，顯示複數個不會伴有顯著之細胞激素產生而可增強細胞毒殺活性之抗CD3 scFv之具體序列，進而顯示具有該等scFv之抗CD3雙特異性抗體之例。關於上述供導入CH3區及抗CD3 scFv區之胺基酸改型，能夠不依賴於抗CD3 scFv之序列而實現導入。

【0535】 進而，已知scFv不僅為自N末端側起依序結合有VH、連接子、VL者(亦記載VH-連接子-VL型、HL型)，亦為自N末端側起依序結合

有VL、連接子、VH者(亦記載為VL-連接子-VH型、LH型)。

【0536】 因此，本發明中之抗CD3 scFv亦並不限定於實施例1～13中所製作之VH-連接子-VL型，亦可以VL-連接子-VH型來設計，兩者均能夠導入圖42中所示之胺基酸改型。

【0537】 根據以上情況，關於導入至本發明之抗CD3雙特異性抗體之改型，將CH3部分之改型、scFv純系名、scFv之VH與VL之順序、及供導入scFv之胺基酸改型示於表(圖43)。關於scSP34(H05')，亦可同樣地應用使用圖26所示之FR序列之胺基酸序列。作為例，可例舉：序列編號159所表示之VH(HV3)、序列編號160所表示之VH(HV5)、及序列編號165所表示之VL(LV8a)等。再者，癌抗原側為2價之抗CD3雙特異性抗體亦可應用圖43之改型。

【0538】 [實施例15]CH3區及抗CD3 scFv區經改型之抗CD3/HER2雙特異性抗體之製作、細胞毒殺活性及細胞激素產生之評價

(1)雙特異性抗體之製作

導入了實施例14中所設計之KIH改型之4組Fc區(KIH-1～KIH-4)之胺基酸序列如序列編號147～154所示。又，藉由依據實施例6中記載之方法的方法，製作含有具有該等4種KIH改型及/或scFv之CC改型或SE改型之scFv的各種雙特異性抗體。所製作之各種雙特異性抗體及其構成要素之胺基酸序列之序列編號如表8及表9所示。表8之雙特異性抗體之scFv即scSP34(H05')之胺基酸序列以序列編號82表示。

【0539】 導入了CC改型或SE改型之scFv之VH及VL之具體胺基酸序列如序列編號155～191所示。關於包含該等VH及VL之抗CD3 scFv之具體胺基酸序列之具體例，將VH-linker-VL型之序列示於序列編號192～

205，將VL-linker-VH型之序列示於序列編號206～217(VL-linker-VH型之序列中，關於未導入CC改型或SE改型之序列亦有所顯示)。

【0540】 又，使用該等scFv序列並依據實施例6中記載之方法所製作之抗CD3/HER2雙特異性抗體的具體例及其抗CD3 scFv序列如表9所示。於雙特異性抗體之名稱上依序記載雙特異性抗體之各構成要素(所導入之KIH改型之種類、抗CD3 scFv純系名、scFv之VH與VL之順序、及導入至scFv之改型)。

【0541】 具體而言，例如4D5_mvG1(KIH-1)_scXX(YY)(ZZ)(DF)表示Fab之純系為4D5，mvG1表示癌抗原側為1價且Fc區為IgG1鹼基，KIH-1表示Fc(CH3)部分之改型圖案為KIH-1型，scXX表示抗CD3 scFv之純系為XX，(YY)之部分記載為(LH)者表示VL-linker-VH型(無該部分之記載者為VH-linker-VL型)，(ZZ)之部分記載為(CC)者表示scFv經CC改型，(ZZ)之部分記載為(SE)者表示scFv經SE改型，(DF)表示不具有岩藻糖。

【0542】 表10中以序列編號表示各種CD3 scFv中所包含之VH、VL、重鏈CDR及輕鏈CDR之胺基酸序列。再者，無論scFv為HL型還是為LH型均適用於表10。

【0543】 [表8]

導入了KIH改型之雙特異性抗體及胺基酸序列

雙特異性抗體	多肽1之Fc區 胺基酸序列之序列編號	多肽2之Fc區 胺基酸序列之序列編號
4D5_mvG1(K1H-1)_scSP34(H05')(DF)	序列編號147	序列編號148
4D5_mvG1(KIH-2)_scSP34(H05')(DF)	序列編號149	序列編號150
4D5_mvG1(KIH-3)_scSP34(H05')(DF)	序列編號151	序列編號152
4D5_mvG1(KIH-4)_scSP34(H05')(DF)	序列編號153	序列編號154

【0544】 [表9]

所製作之各種雙特異性抗體之名稱與胺基酸序列

雙特異性抗體	抗CD3 scFv 胺基酸序列之序列編號
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC)(DF)	序列編號192
4D5_mvG1(KlH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)(DF)	序列編號193
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)(DF)	序列編號194
4D5_mvG1(K1H-1)_scSP34(H05')(SE)(DF)	序列編號195
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(CC)(DF)	序列編號196
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(CC)(DF)	序列編號197
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(CC)(DF)	序列編號198
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(CC)(DF)	序列編號199
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(CC)(DF)	序列編號200
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(CC)(DF)	序列編號201
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(SE)(DF)	序列編號202
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(SE)(DF)	序列編號203
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(SE)(DF)	序列編號204
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(SE)(DF)	序列編號205
4D5_mvG1(K1H-1)_scSP34(H05')(LH)(DF)	序列編號206
4D5_mvG1(KlH-1)_scSP34(H05')(LH)(CC)(DF)	序列編號207
4D5_mvG1(KlH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(LH)(DF)	序列編號208
4D5_mvG1(KlH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(LH)(DF)	序列編號209
4D5_mvG1(KlH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(LH)(CC)(DF)	序列編號210
4D5_mvG1(K1H-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(LH)(CC)(DF)	序列編號211
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(LH)(DF)	序列編號212
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(LH)(DF)	序列編號213
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(LH)(DF)	序列編號214
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(LH)(DF)	序列編號215
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(LH)(DF)	序列編號216
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(LH)(DF)	序列編號217

【0545】 [表10]

各種CD 3scFv中所包含之VH、VL、CDR序列之序列編號

	胺基酸序列之序列編號			
CD 3scFv之名稱	VH	VL	HCDR1～3	LCDR1～3
scSP34(H05')	115	116	83～85	86～88
scSP34(H05')(CC)	155	157	83～85	86～88
scSP34(H05')(SE)	156	158	83～85	86～88
scSP34(H05'_HV3LV8a)	159	165	83～85	86～88
scSP34(H05'_HV5LV8a)	160	165	83～85	86～88
scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)	161	166	83～85	86～88
scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)	162	166	83～85	86～88
scSP34(H05'_HV3LV8a)(SE)	163	167	83～85	86～88
scSP34(H05'_HV5LV8a)(SE)	164	167	83～85	86～88
scKM14(mutl-03)	94	126	98～100	132、96、97
scKM14(mutl-04)	94	127	98～100	133、96、97
scKM14(mutl-18)	128	93	98、134、100	95～97
scKM14(mutl-22)	129	93	98、135、100	95～97
scKM14(mutl-25)	130	93	98、136、100	95～97
scKM14(mutl-26)	131	93	98、137、100	95～97
scKM14(mutl-03)(CC)	168	180	98～100	132、96、97
scKM14(mutl-04)(CC)	169	181	98～100	133、96、97
scKM14(mutl-18)(CC)	170	182	98、134、100	95～97
scKM14(mutl-22)(CC)	171	183	98、135、100	95～97
scKM14(mutl-25)(CC)	172	184	98、136、100	95～97
scKM14(mutl-26)(CC)	173	185	98、137、100	95～97
scKM14(mutl-03)(SE)	174	186	98～100	132、96、97
scKM14(mutl-04)(SE)	175	187	98～100	133、96、97
scKM14(mutl-18)(SE)	176	188	98、134、100	95～97
scKM14(mutl-22)(SE)	177	189	98、135、100	95～97
scKM14(mutl-25)(SE)	178	190	98、136、100	95～97
scKM14(mutl-26)(SE)	179	191	98、137、100	95～97

【0546】 (2)所製作之雙特異性抗體對於CD3之親和力測定

依據實施例9(4)之方法來測定所製作之雙特異性抗體對於CD3之親和力。結果如圖44所示。可知即便是向Fc(CH3)導入了改型之分子、將抗CD3 scFv設為VL-Linker-VH型之分子及向抗CD3 scFv導入了改型之分子，亦對於可溶型CD3之結合活性得到保持。又，其親和力與實施例11-(2)及實施例12-(6)中所示之雙特異性抗體同樣地，基本上KD值為10^{-7}之

等級，所有KD值均為8×10^{-8}以上。

【0547】 (3)細胞毒殺活性及細胞毒殺時細胞激素產生

依據實施例12-(8)中記載之方法來測定所製作之雙特異性抗體對於BT-20細胞之細胞毒殺活性及細胞毒殺時之細胞激素產生量。BT-20細胞接種時之細胞密度製備成5.0×10^{5} cells/mL。細胞毒殺活性及細胞激素產生量之結果分別如圖45A～D及圖46A～F所示。

【0548】 根據圖45A，向4D5_mvG1_scSP34(H05')(DF)之Fc(CH3)導入KIH-1至KIH-4這4組KIH改型而成之雙特異性抗體顯示出與改型前同等之細胞毒殺活性。因此，可知有無KIH改型、及其模式不會對本發明之雙特異性抗體之活性產生影響。

【0549】 根據圖45B～D，使scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體、向scFv導入了CC改型或SE改型之雙特異性抗體亦具有較不具有scFv之4D5_mvG1(DF)高的細胞毒殺活性，CD3 scFv之功能得到保持。藉由僅使scKM14(mut1-25)為LH型而使活性降低。獲得了複數個該等活性與具有改型前之抗CD3 scFv之雙特異性抗體之活性(實施例11及實施例12)相同者。於scFv為SP34(H05')之情形時，若加入CC改型則可見細胞毒殺活性降低之傾向。

【0550】 又，根據圖45B可知，具有scSP34(H05')作為抗CD3 scFv之雙特異性抗體顯示與具有scSP34(H05')(SE)、scSP34(H05'_HV3LV8a)、或scSP34(H05'_HV5LV8a)之雙特異性抗體相同程度的細胞毒殺活性。可知，具有scSP34(H05')(CC)作為scFv之雙特異性抗體顯示與具有scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)、或scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)之雙特異性抗體相同程度之細胞毒殺活性。

該等雙特異性抗體由於在(LH)時亦顯示同等之細胞毒殺活性，故可知scFv為VH-Linker-VL型或為VL-Linker-VH型不會對雙特異性抗體之活性造成影響。

【0551】 根據圖46A～F可知，向Fc(CH3)導入了改型之雙特異性抗體、使抗CD3 scFv為VL-Linker-VH型之雙特異性抗體及向抗CD3 scFv導入了改型之雙特異性抗體與具有較強親和力之抗CD3 scFv之CD3/HER2雙特異性抗體(CD3/HER2 Fab×scFv)相比，細胞毒殺時之細胞激素產生量被抑制為較低。又，圖45B～D所示之各雙特異性抗體之細胞毒殺活性之序列、與對應之圖46之細胞激素產生量之序列變得相同。

【0552】 根據以上情況可知，本發明之抗CD3雙特異性抗體儘管向Fc(CH3)導入KIH改型，但無論抗CD3 scFv為VH-Linker-VL型還是為VL-Linker-VH型，又，即便向抗CD3 scFv導入CC改型或SE改型，在對CD3之親和力為適當範圍之情形時，亦可藉由於1分子中兼具ADTC活性及ADCC活性這兩者而發揮較高之細胞毒殺活性，不會伴有顯著之細胞激素產生。

【0553】 已參照特定實施態樣對本發明詳細地進行了說明，但業者明確，能夠不脫離本發明之意圖與範圍而進行各種變更及變化。本申請案係基於2020年2月14日提出申請之日本專利申請(特願2020-023855)，且藉由引用將其全部內容援用於本文中。

[序列表非關鍵文字]

【0554】

序列編號1：IgG1型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之鹼基序列

序列編號2：IgG1型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

序列編號3：IgG1型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之鹼基序列

序列編號4：IgG1型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

序列編號5：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之鹼基序列

序列編號6：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

序列編號7：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之鹼基序列

序列編號8：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

序列編號9：抗CD3 scFv(scT3a)之胺基酸序列

序列編號10：DNP2_mvG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號11：DNP2_mvG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號12：DNP2_mvG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號13：DNP2_mvG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號14：DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號15：DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號16：DNP2_mvG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號17：DNP2_mvG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號18：DNP2_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號19：DNP2_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號20：4D5_mvG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號21：4D5_mvG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號22：4D5_mvG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號23：4D5_mvG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號24：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號25：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號26：4D5_mvG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號27：4D5_mvG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號28：4D5_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號29：4D5_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號30：DNP2_IgG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號31：DNP2_IgG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號32：DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號33：DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號34：DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽3之胺基酸序列

序列編號35：DNP2_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號36：DNP2_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號37：DNP2_IgG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號38：DNP2_IgG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號39：DNP2_IgG1_scT3a(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號40：4D5_IgG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號41：4D5_IgG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號42：4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號43：4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號44：4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽3之胺基酸序列

序列編號45：4D5_IgG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號46：4D5_IgG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號47：4D5_IgG1_scT3a(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號48：8962_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號49：8962_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號50：8962_IgG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號51：8962_IgG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號52：8962_IgG1_scT3a(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號53：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)多肽1之胺基酸序列

序列編號54：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)多肽2之胺基酸序列

序列編號55：4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號56：4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號57：4D5_scT3a_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號58：4D5_scT3a_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號59：4D5_scT3a_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號60：4D5mut_scT3a_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號61：4D5mut_scT3a_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號62：4D5mut_scT3a_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號63：4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號64：4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號65：4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號66：4D5mut_scSP34_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號67：4D5mut_scSP34_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號68：4D5mut_scSP34_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

序列編號69：4D5mut_mvG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號70：4D5mut_mvG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號71：DNP2_mvG1_$(scT3a)_2$(DF)多肽1之胺基酸序列

序列編號72：DNP2_mvG1_$(scT3a)_2$(DF)多肽2之胺基酸序列

序列編號73：抗CD3 scFv(scI2C)之胺基酸序列

序列編號74：抗CD3 scFv(scSP34)之鹼基序列

序列編號75：抗CD3 scFv(scSP34)之胺基酸序列

序列編號76：抗CD3 scFv(scSP34)CDR H1之胺基酸序列

序列編號77：抗CD3 scFv(scSP34)CDR H2之胺基酸序列

序列編號78：抗CD3 scFv(scSP34)CDR H3之胺基酸序列

序列編號79：抗CD3 scFv(scSP34)CDR L1之胺基酸序列

序列編號80：抗CD3 scFv(scSP34)CDR L2之胺基酸序列

序列編號81：抗CD3 scFv(scSP34)CDR L3之胺基酸序列

序列編號82：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))之胺基酸序列

序列編號83：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR H1之胺基酸序列

序列編號84：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR H2之胺基酸序列

序列編號85：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR H3之胺基酸序列

序列編號86：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR L1之胺基酸序列

序列編號87：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR L2之胺基酸序列

序列編號88：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR L3之胺基酸序列

序列編號89：抗體基因選殖用引子(VL)之鹼基序列

序列編號90：抗體基因選殖用引子(VH)之鹼基序列

序列編號91：抗CD3抗體KM14 VL之鹼基序列

序列編號92：抗CD3抗體KM14 VH之鹼基序列

序列編號93：抗CD3抗體KM14 VL之胺基酸序列

序列編號94：抗CD3抗體KM14 VH之胺基酸序列

序列編號95：抗CD3抗體KM14 CDR L1之胺基酸序列

序列編號96：抗CD3抗體KM14 CDR L2之胺基酸序列

序列編號97：抗CD3抗體KM14 CDR L3之胺基酸序列

序列編號98：抗CD3抗體KM14 CDR H1之胺基酸序列

序列編號99：抗CD3抗體KM14 CDR H2之胺基酸序列

序列編號100：抗CD3抗體KM14 CDR H3之胺基酸序列

序列編號101：抗CD3 scFv(scKM14)之鹼基序列

序列編號102：抗CD3 scFv(scKM14)之胺基酸序列

序列編號103：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-03))之胺基酸序列

序列編號104：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-04))之胺基酸序列

序列編號105：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-18))之胺基酸序列

序列編號106：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-22))之胺基酸序列

序列編號107：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-25))之胺基酸序列

序列編號108：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-26))之胺基酸序列

序列編號109：XENP14045抗CD123抗體VL之胺基酸序列

序列編號110：XENP14045抗CD123抗體VH之胺基酸序列

序列編號111：KM2160抗CCR4抗體VL之胺基酸序列

序列編號112：KM2160抗CCR4抗體VH之胺基酸序列

序列編號113：抗CD123抗體(CD123-1)VL之胺基酸序列

序列編號114：抗CD123抗體(CD123-1)VH之胺基酸序列

序列編號115：SP34(H05')VH之胺基酸序列

序列編號116：SP34(H05')VL之胺基酸序列

序列編號117：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))之胺基酸序列

序列編號118：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))CDR H1之胺基酸序列

序列編號119：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))CDR H2之胺基酸序列

序列編號120：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))CDR H3之胺基酸序列

序列編號121：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))CDR L1之胺基酸序列

序列編號122：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))CDR L2之胺基酸序列

序列編號123：抗CD3 scFv(scSP34(H04'))CDR L3之胺基酸序列

序列編號124：SP34(H04')VH之胺基酸序列

序列編號125：SP34(H04')VL之胺基酸序列

序列編號126：mut1-03 VL之胺基酸序列

序列編號127：mut1-04 VL之胺基酸序列

序列編號128：mut1-18 VH之胺基酸序列

序列編號129：mut1-22 VH之胺基酸序列

序列編號130：mut1-25 VH之胺基酸序列

序列編號131：mut1-26 VH之胺基酸序列

序列編號132：mut1-03 CDR L1之胺基酸序列

序列編號133：mut1-04 CDR L1之胺基酸序列

序列編號134：mut1-18 CDR H2之胺基酸序列

序列編號135：mut1-22 CDR H2之胺基酸序列

序列編號136：mut1-25 CDR H2之胺基酸序列

序列編號137：mut1-26 CDR H2之胺基酸序列

序列編號138：人類CD3蛋白質之胺基酸序列

序列編號139：猴CD3蛋白質之胺基酸序列

序列編號140：人類CD3蛋白質細胞外區之胺基酸序列

序列編號141：人類CD3蛋白質之鹼基序列

序列編號142：猴CD3蛋白質之鹼基序列

序列編號143：肽連接子之胺基酸序列

序列編號144：肽連接子之胺基酸序列

序列編號145：肽連接子之胺基酸序列

序列編號146：人類CD3ε之N末端側非乙醯化肽之胺基酸序列

序列編號147：Fc部分之Knobs into Holes之模式1(KIH-1)之胺基酸序列

序列編號148：Fc部分之Knobs into Holes之模式1(KIH-1)之胺基酸序列

序列編號149：Fc部分之Knobs into Holes之模式2(KIH-2)之胺基酸序列

序列編號150：Fc部分之Knobs into Holes之模式2(KIH-2)之胺基酸

序列

序列編號151：Fc部分之Knobs into Holes之模式3(KIH-3)之胺基酸序列

序列編號152：Fc部分之Knobs into Holes之模式3(KIH-3)之胺基酸序列

序列編號153：Fc部分之Knobs into Holes之模式4(KIH-4)之胺基酸序列

序列編號154：Fc部分之Knobs into Holes之模式4(KIH-4)之胺基酸序列

序列編號155：scSP34(H05´)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號156：scSP34(H05´)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號157：scSP34(H05´)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號158：scSP34(H05´)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號159：人類化scSP34(H05´)之VH(HV3)之胺基酸序列

序列編號160：人類化scSP34(H05´)之VH(HV5)之胺基酸序列

序列編號161：人類化scSP34(H05´)之CC改型VH(HV3)之胺基酸序列

序列編號162：人類化scSP34(H05´)之CC改型VH(HV5)之胺基酸序列

序列編號163：人類化scSP34(H05´)之SE改型VH(HV3)之胺基酸序列

序列編號164：人類化scSP34(H05´)之SE改型VH(HV5)之胺基酸序列

序列編號165：人類化scSP34(H05´)之VL(LV8a)之胺基酸序列

序列編號166：人類化scSP34(H05´)之CC改型VL(LV8a)之胺基酸序列

序列編號167：人類化scSP34(H05´)之SE改型VL(LV8a)之胺基酸

序列

序列編號168：scKM14(mut1-03)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號169：scKM14(mut1-04)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號170：scKM14(mut1-18)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號171：scKM14(mut1-22)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號172：scKM14(mut1-25)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號173：scKM14(mut1-26)之CC改型VH之胺基酸序列

序列編號174：scKM14(mut1-03)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號175：scKM14(mut1-04)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號176：scKM14(mut1-18)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號177：scKM14(mut1-22)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號178：scKM14(mut1-25)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號179：scKM14(mut1-26)之SE改型VH之胺基酸序列

序列編號180：scKM14(mut1-03)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號181：scKM14(mut1-04)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號182：scKM14(mut1-18)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號183：scKM14(mut1-22)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號184：scKM14(mut1-25)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號185：scKM14(mut1-26)之CC改型VL之胺基酸序列

序列編號186：scKM14(mut1-03)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號187：scKM14(mut1-04)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號188：scKM14(mut1-18)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號189：scKM14(mut1-22)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號190：scKM14(mut1-25)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號191：scKM14(mut1-26)之SE改型VL之胺基酸序列

序列編號192：scSP34(H05´)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號193：人類化scSP34(H05´_HV3LV8a)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號194：人類化scSP34(H05´_HV5LV8a)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號195：scSP34(H05´)_SE改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號196：scKM14(mut1-03)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號197：scKM14(mut1-04)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號198：scKM14(mut1-18)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號199：scKM14(mut1-22)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號200：scKM14(mut1-25)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號201：scKM14(mut1-26)_CC改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號202：scKM14(mut1-18)_SE改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號203：scKM14(mut1-22)_SE改型式之scFv全長之胺基酸

序列

序列編號204：scKM14(mut1-25)_SE改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號205：scKM14(mut1-26)_SE改型式之scFv全長之胺基酸序列

序列編號206：scSP34(H05´)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號207：scSP34(H05´)_CC改型LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號208：人類化scSP34(H05´_HV3LV8a)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號209：人類化scSP34(H05´_HV5LV8a)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號210：人類化scSP34(H05´_HV3LV8a)_CC改型LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號211：人類化scSP34(H05´_HV5LV8a)_CC改型LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號212：scKM14(mut1-03)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號213：scKM14(mut1-04)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號214：scKM14(mut1-18)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號215：scKM14(mut1-22)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號216：scKM14(mut1-25)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號217：scKM14(mut1-26)_LH型之scFv全長之胺基酸序列

序列編號218：抗CD3抗體SP34 VL之胺基酸序列

序列編號219：抗CD3抗體SP34 VH之胺基酸序列

【序列表】

<110> 日商協和麒麟股份有限公司(KYOWA KIRIN CO., LTD.)

<120> 與CD3結合之雙特異性抗體

<130> W531026

<150> JP2020-023855
<151> 2020-02-14

<160> 217

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1
<211> 990
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG1型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之核苷酸序列

<400> 1
gctagcacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 60

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 300

aaatctagcg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaact cctgggggga 360

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 420

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 480

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 540

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 600

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 660

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 720

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 780

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 840

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 900

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 960

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 990

<210> 2
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG1型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

<400> 2

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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 3
<211> 1002
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG1型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之核苷酸序列

<400> 3
cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagag cgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa 360

ctcctggggg gaccgtcagt cttcctcttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 420

tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 480

aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 540

gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 600

ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag 660

aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca 720

tcccgggatg agctgaccaa gaaccaggtc agcctgacct gcctggtcaa aggcttctat 780

cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc 840

acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac 900

aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac 960

aaccgcttca cgcagaagag cctctccctg tctccgggta aa 1002

<210> 4
<211> 334

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG1型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

<400> 4

```
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 Ser Asp Lys Thr His Thr
            100                 105                 110

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
    130                 135                 140

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
145                 150                 155                 160

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
                165                 170                 175
```

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
180 185 190

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
195 200 205

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
210 215 220

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
225 230 235 240

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
245 250 255

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
260 265 270

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
275 280 285

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
290 295 300

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
305 310 315 320

Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 5
<211> 981
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之核苷酸序列

<400> 5

gctagcacca aggggccatc cgtcttcccc ctggcgccct cctccaagag cacctccgag 60

agcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 240

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 300

aaatatggtc ccccatgccc accatgccca gcacctgagt tcgaggggggg accatcagtc 360

ttcctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 540

cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 660

gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccccat cccaggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 840

gacggctcct tcttcctcta cagcaagcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 900

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 960

ctctccctgt ctctgggtaa a 981

<210> 6
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第1多肽之CH1-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
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 Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 7
<211> 1008
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之核苷酸序列

<400> 7
cgtacggtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct 60

ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120

tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac 180

agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag 300

agcttcaaca ggggagagag cgagtccaaa tatggtcccc catgcccacc atgcccagca 360

cctgagttcg agggggggacc atcagtcttc ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc 420

atgatctccc ggacccctga ggtcacgtgc gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc 480

gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg 540

cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag 600

gactggctga acggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc 660

atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag agccacaggt gtacaccctg 720

cccccatccc aggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc 780

ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 840

aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tcctctacag caagctaacc 900

gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 960

ctgcacaacc gcttcacaca gaagagcctc tccctgtctc tgggtaaa 1008

<210> 8
<211> 336
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：IgG4PE(R409K)型抗HER2一價抗體第2多肽之CL-Hinge-Fc部分之胺基酸序列

<400> 8

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 Ser Glu Ser Lys Tyr Gly
100 105 110

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
130 135 140

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
145 150 155 160

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
165 170 175

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
180 185 190

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
195 200 205

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
210 215 220

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
225 230 235 240

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
245 250 255

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
260 265 270

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
275 280 285

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
290 295 300

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
305 310 315 320

Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325 330 335

<210> 9
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scT3a)之胺基酸序列

<400> 9

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser
165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
180 185 190

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Leu Lys

<210> 10
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 10

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 11
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 11

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

```
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
        435                 440
```

<210> 12
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 12

```
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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 13
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 13

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 14
<211> 704
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 14

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ser Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Lys
450 455 460

Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys
465 470 475 480

Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His
485 490 495

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile
500 505 510

Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys
515 520 525

Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu
530 535 540

Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr
545 550 555 560

Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
565 570 575

Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
595 600 605

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
610 615 620

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser
625 630 635 640

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro
645 650 655

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
660 665 670

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
675 680 685

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
690 695 700

<210> 15
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 15

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

```
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
        435                 440
```

<210> 16
<211> 707
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 16

```
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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
```

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
465 470 475 480

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
485 490 495

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
500 505 510

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
515 520 525

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
530 535 540

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
595 600 605

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
610 615 620

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser
625 630 635 640

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
645 650 655

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
660 665 670

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
675 680 685

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
690 695 700

Glu Leu Lys
705

<210> 17
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 17

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 18
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 18

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 19
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 19

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

```
Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210
```

<210> 20
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 20

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 21
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 21

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

```
Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
        435                 440
```

<210> 22
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 22

```
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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
        195                 200                 205
```

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 23
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 23

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 24
<211> 705
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 24

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile
450 455 460

Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val
465 470 475 480

Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met
485 490 495

His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr
500 505 510

Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp
515 520 525

Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
530 535 540

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
545 550 555 560

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
565 570 575

Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala
595 600 605

Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala
610 615 620

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr
625 630 635 640

Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val
645 650 655

Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr
660 665 670

Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
675 680 685

Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
690 695 700

Lys
705

<210> 25
<211> 443
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 25

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

```
Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
            260                 265                 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
        275                 280                 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
    290                 295                 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305                 310                 315                 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
                325                 330                 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
            340                 345                 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
        355                 360                 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
    370                 375                 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385                 390                 395                 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
                405                 410                 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
            420                 425                 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
        435                 440
```

<210> 26
<211> 708
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 26

```
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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
    130                 135                 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
```

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

```
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    450                 455                 460

Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly
465                 470                 475                 480

Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
                485                 490                 495

Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
            500                 505                 510

Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
        515                 520                 525

Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
    530                 535                 540

Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
545                 550                 555                 560
```

Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
565 570 575

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln
595 600 605

Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr
610 615 620

Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
625 630 635 640

Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala
645 650 655

Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr
660 665 670

Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
675 680 685

Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
690 695 700

Leu Glu Leu Lys
705

<210> 27
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 27

```
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 Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
```

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 28
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 28

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 29
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 29

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 30
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 30

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 31
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 31

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 32
<211> 704
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 32

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ser Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Lys
450 455 460

Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys
465 470 475 480

Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His
485 490 495

Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile
500 505 510

Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys
515 520 525

Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu
530 535 540

Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr
545 550 555 560

Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu
565 570 575

Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
595 600 605

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser
610 615 620

Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser
625 630 635 640

Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro
645 650 655

Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile
660 665 670

Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp
675 680 685

Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
690 695 700

<210> 33
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 33

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Cys Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 34
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽3之胺基酸序列

<400> 34

```
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 Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
```

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 35
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 35

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 36
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 36

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 37
<211> 707
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 37

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
465 470 475 480

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
485 490 495

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
500 505 510

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
515 520 525

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
530 535 540

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
595 600 605

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
610 615 620

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser
625 630 635 640

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
645 650 655

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
660 665 670

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
675 680 685

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
690 695 700

Glu Leu Lys
705

<210> 38
<211> 449

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 38

```
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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
    50                  55                  60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
```

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
355 360 365

```
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
    370                 375                 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385                 390                 395                 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
                405                 410                 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
            420                 425                 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
        435                 440                 445

Lys
```

<210> 39
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_IgG1_scT3a(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 39

```
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 Ser Trp
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
```

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 40
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG4PE(R409K)(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 40

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 41
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG4PE(R409K)(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 41

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 42
<211> 705
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 42

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ser
435 440 445

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile
450 455 460

Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val
465 470 475 480

Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met
485 490 495

His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr
500 505 510

Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp
515 520 525

Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
530 535 540

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
545 550 555 560

Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
565 570 575

Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala
595 600 605

Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala
610 615 620

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr
625 630 635 640

Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val
645 650 655

Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr
660 665 670

Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
675 680 685

Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu
690 695 700

Lys
705

<210> 43
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 43

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

```
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350

Pro Cys Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
        355                 360                 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
        435                 440                 445
```

<210> 44
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a(F)多肽3之胺基酸序列

<400> 44

```
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 Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
```

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 45
<211> 708
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 45

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly
465 470 475 480

Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
485 490 495

Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
500 505 510

Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
515 520 525

Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
530 535 540

Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
545 550 555 560

Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
565 570 575

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln
595 600 605

Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr
610 615 620

Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
625 630 635 640

Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala
645 650 655

Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr
660 665 670

Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
675 680 685

Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
690 695 700

Leu Glu Leu Lys
705

<210> 46
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 46

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 47
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_IgG1_scT3a(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 47

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 48
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：8962_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 48

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Tyr Gly His Tyr Tyr Gly Tyr Met Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

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

<220>
<223> 人工序列之說明：8962_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 49

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln Pro Glu
65 70 75 80

Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
85 90 95

Phe Gly Gly 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> 50
<211> 708
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：8962_IgG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 50

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Tyr Gly His Tyr Tyr Gly Tyr Met Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
450 455 460

Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly
465 470 475 480

Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
485 490 495

Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
500 505 510

Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
515 520 525

Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
530 535 540

Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
545 550 555 560

Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
565 570 575

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln
595 600 605

Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr
610 615 620

Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
625 630 635 640

Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala
645 650 655

Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr
660 665 670

Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
675 680 685

Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
690 695 700

Leu Glu Leu Lys
705

<210> 51
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：8962_IgG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 51

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Pro Asn Asn Gly Gly Thr Gly Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Ser Lys Val Thr Ile Thr Val Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Tyr Gly His Tyr Tyr Gly Tyr Met Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

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

<220>
<223> 人工序列之說明：8962_IgG1_scT3a(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 52

```
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met
            20                  25                  30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
        35                  40                  45

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Leu Gln Pro Glu
65                  70                  75                  80

Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gly 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> 53
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)多肽1之胺基酸序列

<400> 53

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 54
<211> 701
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a(LC)(F)多肽2之胺基酸序列

<400> 54

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn
260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu
340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly
405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe
420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly
435 440 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln
450 455 460

Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys
465 470 475 480

Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys
485 490 495

Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser
500 505 510

Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu
515 520 525

Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu
530 535 540

Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp
545 550 555 560

His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
565 570 575

Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala
595 600 605

Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val
610 615 620

Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg
625 630 635 640

Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe
645 650 655

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met
660 665 670

Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn
675 680 685

Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
690 695 700

<210> 55
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)多肽1之胺基酸序列

<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 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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

```
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys
    450
```

<210> 56
<211> 699
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_mvG1_scT3a(LC)(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 56

```
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 Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
```

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly
450 455 460

Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr
465 470 475 480

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg
485 490 495

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly
500 505 510

Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr
515 520 525

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser
530 535 540

Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr
545 550 555 560

Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val
565 570 575

```
Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val
            580                 585                 590

Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro
        595                 600                 605

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr
    610                 615                 620

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile
625                 630                 635                 640

Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
                645                 650                 655

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala
            660                 665                 670

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu
        675                 680                 685

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
    690                 695
```

<210> 57
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_scT3a_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 57

```
Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1               5                   10                  15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
            20                  25                  30
```

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
145 150 155 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser
165 170 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
180 185 190

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Leu Lys Gly Thr Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
245 250 255

Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
260 265 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
275 280 285

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305 310 315 320

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
340 345 350

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
465 470

<210> 58
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_scT3a_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 58

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 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 59
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5_scT3a_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 59

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 60
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scT3a_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 60

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
130 135 140

```
Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
145                 150                 155                 160

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser
                165                 170                 175

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
            180                 185                 190

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
        195                 200                 205

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240

Glu Leu Lys Gly Thr Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala
                245                 250                 255

Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
            260                 265                 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
        275                 280                 285

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
    290                 295                 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305                 310                 315                 320

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
                325                 330                 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
            340                 345                 350
```

Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys
450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
465 470

<210> 61
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scT3a_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 61

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 Ala 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 Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 62
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scT3a_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 62

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 63
<211> 478
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scSP34(H05’)_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 63

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Thr Lys Tyr Gly Pro Pro
245 250 255

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
260 265 270

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
275 280 285

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
290 295 300

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
305 310 315 320

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
325 330 335

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
340 345 350

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
355 360 365

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
370 375 380

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
385 390 395 400

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
405 410 415

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
420 425 430

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
435 440 445

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
450 455 460

Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
465 470 475

<210> 64
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scSP34(H05')_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<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 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 Ala 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 Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 65
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scSP34(H05’)_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 65

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 66
<211> 478

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scSP34_IgG1(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 66

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met 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 Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Thr Lys Tyr Gly Pro Pro
245 250 255

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe
260 265 270

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
275 280 285

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
290 295 300

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
305 310 315 320

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
325 330 335

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
340 345 350

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
355 360 365

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
370 375 380

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
385 390 395 400

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
405 410 415

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
420 425 430

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
435 440 445

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
450 455 460

Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
465 470 475

<210> 67
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scSP34_IgG1(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 67

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 Ala 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 Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 68
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_scSP34_IgG1(DF)多肽3之胺基酸序列

<400> 68

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 69
<211> 708
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_mvG1_scT3a(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 69

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 Ala 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 Ala Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

```
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
    290                 295                 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305                 310                 315                 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
                325                 330                 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
            340                 345                 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
        355                 360                 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
    370                 375                 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385                 390                 395                 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
                405                 410                 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
            420                 425                 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
        435                 440                 445

Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    450                 455                 460

Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly
465                 470                 475                 480
```

Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg
485 490 495

Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp
500 505 510

Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys
515 520 525

Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala
530 535 540

Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr
545 550 555 560

Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
565 570 575

Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser
580 585 590

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln
595 600 605

Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr
610 615 620

Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
625 630 635 640

Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala
645 650 655

Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr
660 665 670

Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
675 680 685

Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
690 695 700

Leu Glu Leu Lys
705

<210> 70
<211> 441
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：4D5mut_mvG1_scT3a(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 70

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 Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440

<210> 71
<211> 707
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG1_(scT3a)2(DF)多肽1之胺基酸序列

<400> 71

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

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

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Asp Ser Ser Ser Trp Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
450 455 460

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
465 470 475 480

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
485 490 495

Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
500 505 510

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
515 520 525

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
530 535 540

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
545 550 555 560

Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
565 570 575

Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
580 585 590

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser
595 600 605

Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
610 615 620

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser
625 630 635 640

Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
645 650 655

Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
660 665 670

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
675 680 685

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu
690 695 700

Glu Leu Lys
705

<210> 72
<211> 699
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：DNP2_mvG1_(scT3a)2(DF)多肽2之胺基酸序列

<400> 72

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
210 215 220

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
225 230 235 240

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
245 250 255

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
260 265 270

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
275 280 285

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
290 295 300

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
305 310 315 320

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
325 330 335

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
340 345 350

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
355 360 365

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
370 375 380

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
385 390 395 400

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
405 410 415

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
420 425 430

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly
450 455 460

Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr
465 470 475 480

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg
485 490 495

Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly
500 505 510

Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr
515 520 525

Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser
530 535 540

Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr
545 550 555 560

Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Val
565 570 575

Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val
580 585 590

Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro
595 600 605

Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr
610 615 620

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile
625 630 635 640

Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly
645 650 655

Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala
660 665 670

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu
675 680 685

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
690 695

<210> 73
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scI2C)之胺基酸序列

<400> 73

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Leu Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 74
<211> 747
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)之核苷酸序列

<400> 74
gaagtccagc ttgtggagtc tggtggcggc ttggttcaac ctaagggctc attgaagctg 60

tcctgtgctg ccagcggttt caccttcaac acatacgcta tgaattgggt acggcaggct 120

cctggcaaag gtttggaatg ggttgccagg atacggtcta aatacaacaa ttacgctacc 180

tactacgctg atagtgtcaa ggatcgcttc accataagcc gcgatgacag tcaaagcata 240

ctttaccttc aaatgaacaa cctcaaaaca gaggatactg caatgtacta ctgcgtgaga 300

cacggcaact ttggaaacag ctacgtctcc tggtttgcat attgggggca ggggaccctg 360

gtgactgtgt caagtggagg tggtgggagt ggaggggggag gttcaggcgg tggagggagt 420

caagccgtcg ttacacaaga atctgccctc accaccagcc caggcgagac agttacactt 480

acttgccgca gttcaactgg ggcagttacc acttctaatt atgctaactg ggtgcaggag 540

aaaccagacc atctttttac tggtctgatt ggaggtacaa ataaacgggc tcctggggta 600

cccgccagat tcagtggtag tcttatcggc gataaagctg ctctgaccat caccggtgcc 660

caaactgaag acgaagcaat atatttttgc gctctgtggt acagtaatct ctgggtattt 720

ggtggcggga ccaaacttac cgtattg 747

<210> 75
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)之胺基酸序列

<400> 75

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met 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 Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 76
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)CDR H1之胺基酸序列

<400> 76

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 77
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)CDR H2之胺基酸序列

<400> 77

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 78
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)CDR H3之胺基酸序列

<400> 78

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 79
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)CDR L1之胺基酸序列

<400> 79

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)CDR L2之胺基酸序列

<400> 80

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34)CDR L3之胺基酸序列

<400> 81

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 82
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05’))之胺基酸序列

<400> 82

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 83
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR H1之胺基酸序列

<400> 83

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 84
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR H2之胺基酸序列

<400> 84

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 85
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05'))CDR H3之胺基酸序列

<400> 85

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 86
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05’))CDR L1之胺基酸序列

<400> 86

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05’))CDR L2之胺基酸序列

<400> 87

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H05’))CDR L3之胺基酸序列

<400> 88

Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 89
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗體基因選殖用引子(VL)之核苷酸序列

<400> 89
gttgaagctc tttgtgacgg gcgagc 26

<210> 90
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗體基因選殖用引子(VH)之核苷酸序列

<400> 90
gcctgagttc cacgacaccg tcaccggt 28

<210> 91
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 VL之核苷酸序列

<400> 91
gccatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gggcattagc agtgctttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaacctcct gatctatgat gcctccagtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tttaatagtt accctcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 92
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 VH之核苷酸序列

<400> 92
caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgaag cgtctggatt caccttcagt agccatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa gaaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attctaagaa cacgctggat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaaccctg 300

tattactatg gttcggagag ggcgcacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 VL之胺基酸序列

<400> 93

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 94
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 VH之胺基酸序列

<400> 94

```
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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
            20                  25                  30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 95
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 CDR L1之胺基酸序列

<400> 95

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 96
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 CDR L2之胺基酸序列

<400> 96

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 97
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 CDR L3之胺基酸序列

<400> 97

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 98
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 CDR H1之胺基酸序列

<400> 98

Ser His Gly Met His
1 5

<210> 99
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 CDR H2之胺基酸序列

<400> 99

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 100
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體KM14 CDR H3之胺基酸序列

<400> 100

Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val
1 5 10 15

<210> 101
<211> 738
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14)之核苷酸序列

<400> 101
caggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgaag cgtctggatt caccttcagt agccatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcatct atatggtatg atggaagtaa gaaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attctaagaa cacgctggat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaaaccctg 300

tattactatg gttcggagag ggcgcacggt ttggacgtct ggggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct caggaggtgg tgggagtgga gggggaggtt caggcggtgg agggagtgcc 420

atccagttga cccagtctcc atcctccctg tctgcatctg taggagacag agtcaccatc 480

acttgccggg caagtcaggg cattagcagt gctttagcct ggtatcagca gaaaccaggg 540

aaagccccta acctcctgat ctatgatgcc tccagtttgg aaagtggggt cccatcaagg 600

ttcagcggca gtggatctgg gacagatttc actctcacca tcagcagcct gcagcctgaa 660

gattttgcaa cttattactg tcaacagttt aatagttacc ctcggacgtt cggccaaggg 720

accaaggtgg aaatcaaa 738

<210> 102
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14)之胺基酸序列

<400> 102

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 103
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-03))之胺基酸序列

<400> 103

```
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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
            20                  25                  30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
    130                 135                 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145                 150                 155                 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Arg Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
                165                 170                 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
            180                 185                 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
        195                 200                 205
```

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 104
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-04))之胺基酸序列

<400> 104

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Gln Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 105
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-18))之胺基酸序列

<400> 105

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 106
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-22))之胺基酸序列

<400> 106

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 107
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-25))之胺基酸序列

<400> 107

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 108
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scKM14(mut1-26))之胺基酸序列

<400> 108

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 109
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：XENP14045抗CD123抗體VL之胺基酸序列

<400> 109

Asp Phe Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Thr
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 Thr 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 Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 110
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：XENP14045抗CD123抗體VH之胺基酸序列

<400> 110

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Lys Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Asp Ile Ile Pro Ser Asn Gly Ala Thr Phe Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Arg 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> 111
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：KM2160抗CCR4抗體VL之胺基酸序列

<400> 111

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 Arg Asn Ile Val His Ile
20 25 30

Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Arg 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 Leu Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Glu Ile Arg
100 105 110

<210> 112
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：KM2160抗CCR4抗體VH之胺基酸序列

<400> 112

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Met Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Asp Met Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Ala Ser Thr Tyr Ser Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Glu Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Arg His Ser Asp Gly Asn Phe Ala Phe Gly Tyr Trp Gly Arg Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 113
<211> 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD123抗體(CD123-1)VL之胺基酸序列

<400> 113

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 Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 114
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD123抗體(CD123-1)VH之胺基酸序列

<400> 114

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Met Ala Ser Gly Gly Thr Val Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Glu Ile Ile Pro Ile Phe Gly Ile Val Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Thr Ala Val Ala Gly Ile Leu Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 115
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：SP34(H05’)VH之胺基酸序列

<400> 115

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 116
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：SP34(H05’)VL之胺基酸序列

<400> 116

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 117
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))之胺基酸序列

<400> 117

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Glu Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 118
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))CDR H1之胺基酸序列

<400> 118

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 119
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))CDR H2之胺基酸序列

<400> 119

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 120
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))CDR H3之胺基酸序列

<400> 120

His Gly Asn Phe Gly Asn Glu Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 121
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))CDR L1之胺基酸序列

<400> 121

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 122
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))CDR L2之胺基酸序列

<400> 122

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 123
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3 scFv(scSP34(H04’))CDR L3之胺基酸序列

<400> 123

Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 124
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：SP34(H04’)VH之胺基酸序列

<400> 124

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Glu 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> 125
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：SP34(H04’)VL之胺基酸序列

<400> 125

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 126
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-03 VL之胺基酸序列

<400> 126

Ala Ile Gln Leu 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 Arg Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 127
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-04 VL之胺基酸序列

<400> 127

Ala Ile Gln Leu 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 Gln Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 128
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-18 VH之胺基酸序列

<400> 128

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 129
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-22 VH之胺基酸序列

<400> 129

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 130
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-25 VH之胺基酸序列

<400> 130

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 131
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-26 VH之胺基酸序列

<400> 131

```
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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
            20                  25                  30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 132
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之說明：mut1-03 CDR L1之胺基酸序列

<400> 132

Arg Ala Ser Gln Gly Arg Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 133
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-04 CDR L1之胺基酸序列

<400> 133

Arg Ala Ser Gln Gly Gln Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 134
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-18 CDR H2之胺基酸序列

<400> 134

Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 135
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-22 CDR H2之胺基酸序列

<400> 135

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 136
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-25 CDR H2之胺基酸序列

<400> 136

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 137
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：mut1-26 CDR H2之胺基酸序列

<400> 137

Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 138
<211> 186
<212> PRT
<213> 智人

<400> 138

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro
20 25 30

Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
35 40 45

Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys
50 55 60

Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
65 70 75 80

Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
85 90 95

Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met Ser Val Ala Thr Ile
100 105 110

Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr
115 120 125

Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly
130 135 140

Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro
145 150 155 160

Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Arg Asp
165 170 175

Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
180 185

<210> 139

<211> 177
<212> PRT
<213> 靈長動物

<400> 139

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Gln
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Ser Gln His Leu
20 25 30

Gly Ser Glu Ala Gln Trp Gln His Asn Gly Lys Asn Lys Glu Asp Ser
35 40 45

Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu Met Glu Gln Ser Gly
50 55 60

Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro Glu Asp Ala Ser His
65 70 75 80

His Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp
85 90 95

Val Met Ala Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Leu
100 105 110

Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys
115 120 125

Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly
130 135 140

Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro
145 150 155 160

Ile Arg Lys Gly Gln Gln Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg
165 170 175

Ile

<210> 140
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人

<400> 140

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro
20 25 30

Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
35 40 45

Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys
50 55 60

Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
65 70 75 80

Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
85 90 95

Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp
100 105

<210> 141
<211> 561
<212> DNA
<213> 智人

<400> 141
caagatggta atgaagaaat gggtggtatt acacagacac catataaagt ctccatctct 60

ggaaccacag taatattgac atgccctcag tatcctggat ctgaaatact atggcaacac 120

aatgataaaa acataggcgg tgatgaggat gataaaaaca taggcagtga tgaggatcac 180

ctgtcactga aggaattttc agaattggag caaagtggtt attatgtctg ctaccccaga 240

ggaagcaaac cagaagatgc gaacttttat ctctacctga gggcaagagt gtgtgagaac 300

tgcatggaga tggatgtgat gtcggtggcc acaattgtca tagtggacat ctgcatcact 360

gggggcttgc tgctgctggt ttactactgg agcaagaata gaaaggccaa ggccaagcct 420

gtgacacgag gagcgggtgc tggcggcagg caaaggggac aaaacaagga gaggccacca 480

cctgttccca acccagacta tgagcccatc cggaaaggcc agcgggacct gtattctggc 540

ctgaatcaga gacgcatctg a 561

<210> 142
<211> 534
<212> DNA
<213> 靈長動物

<400> 142
caagatggta atgaagaaat gggtagtatt acacagacac catatcaagt ctccatctct 60

ggaaccacag taatactgac atgctctcag catcttggat ctgaagcaca atggcaacac 120

aatggtaaaa acaaaggaga ttctggggat caactgtttc tgccggaatt ttcagaaatg 180

gagcaaagtg gttattatgt ctgctacccc agaggaagca atccagagga cgcgagccat 240

catctctacc tgaaggcaag agtgtgtgag aactgcatgg agatggatgt gatggcggtg 300

gccacaattg tcatagtgga catctgcatc actctgggct tgctgctgct ggtttactac 360

tggagcaaga atagaaaggc caaggccaag cctgtgacac gaggagcagg tgctggcggc 420

aggcaaaggg gacaaaacaa ggagaggcca ccacctgttc ccaacccaga ctatgagccc 480

atccggaaag gccagcagga tctgtattct ggcctgaatc agagacgcat ctga 534

<210> 143
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：肽連接子之胺基酸序列

<400> 143

Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 144
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：肽連接子之胺基酸序列

<400> 144

Glu Ala Ala Ala Lys
1 5

<210> 145
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：肽連接子之胺基酸序列

<400> 145

Pro Ala Pro Ala Pro
1 5

<210> 146
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：人類CD3 ε 之N末端側非乙醯化肽之胺基酸序列

<400> 146

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys
20 25

<210> 147
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-1)_Knobs_AA之胺基酸序列

<400> 147

```
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 Cys Arg Asp Glu Leu
        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 Lys
210 215

<210> 148
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-1)_Holes_AA之胺基酸序列

<400> 148

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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
        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 Phe Thr Gln
        195                 200                 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    210                 215
```

<210> 149
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-2)_Holes_AA之胺基酸序列

<400> 149

```
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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu
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 His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 150

<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-2)_Knobs_AA之胺基酸序列

<400> 150

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 Cys Arg Asp Glu Leu
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 Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 151
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-3)_Knobs_AA之胺基酸序列

<400> 151

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 Asp Glu Leu
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 Lys
210 215

<210> 152
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-3)_Holes_AA之胺基酸序列

<400> 152

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 Asp Glu Leu
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 Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 153
<211> 217
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-4)_Holes_AA之胺基酸序列

<400> 153

```
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 Asp Glu Leu
        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 His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 154
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：Fc(KIH-4)_Knobs_AA之胺基酸序列

<400> 154

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 Asp Glu Leu
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 Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 155
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 155

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 156
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 156

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 157
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 157

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 158
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 158

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Glu Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 159
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VH(HV3)_AA之胺基酸序列

<400> 159

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp 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 Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 160
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_VH(HV5)_AA之胺基酸序列

<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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 161
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VH(HV3)(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 161

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp 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 Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 162
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_VH(HV5)(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 162

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 163
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VH(HV3)(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 163

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp 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 Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 164

<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VH(HV5)(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 164

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 165
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_VL(LV8a)_AA之胺基酸序列

<400> 165

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 Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 166
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_VL(LV8a)(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 166

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 Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 167
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_VL(LV8a)(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 167

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 Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Glu Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 168
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-03)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 168

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 169
<211> 124
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-04)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 169

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 170
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 170

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 171
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 171

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

35 40 45

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 172
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 172

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 173
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_VH(44C)_AA之胺基酸序列

<400> 173

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 174
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-03)_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 174

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 175

<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-04)_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 175

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 176
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 176

```
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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
            20                  25                  30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 177
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 177

```
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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
            20                  25                  30
```

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 178
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 178

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 179
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_VH(44S)_AA之胺基酸序列

<400> 179

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 180
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-03)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 180

Ala Ile Gln Leu 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 Arg Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 181
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-04)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 181

Ala Ile Gln Leu 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 Gln Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 182
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 182

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 183
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 183

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 184
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 184

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 185

<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_VL(100C)_AA之胺基酸序列

<400> 185

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 186
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-03)_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 186

Ala Ile Gln Leu 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 Arg Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 187
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-04)_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 187

Ala Ile Gln Leu 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 Gln Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 188
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 188

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 189
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 189

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 190
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 190

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 191
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_VL(100E)_AA之胺基酸序列

<400> 191

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Glu Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 192
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 192

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe

100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 193
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’_HV3LV8a)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 193

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp 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 Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 194
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’_HV5LV8a)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 194

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 Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 195
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_scFv(SE)_AA之胺基酸序列

<400> 195

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val
130 135 140

Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu Thr Val Thr Leu
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
165 170 175

Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190

Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205

Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Thr Glu Asp

210 215 220

Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn Leu Trp Val Phe
225 230 235 240

Gly Glu Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

<210> 196
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-03)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 196

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly

115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Arg Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 197
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-04)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 197

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His

20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Gln Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 198
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 198

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 199
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 199

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly

225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 200
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 200

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr

130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 201
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_scFv(CC)_AA之胺基酸序列

<400> 201

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

```
        35                  40                  45

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
            100                 105                 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
    130                 135                 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145                 150                 155                 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
                165                 170                 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
            180                 185                 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
        195                 200                 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
    210                 215                 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240
```

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 202
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_scFv(SE)_AA之胺基酸序列

<400> 202

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Glu Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 203
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_scFv(SE)_AA之胺基酸序列

<400> 203

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Glu Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys

245

<210> 204
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_scFv(SE)_AA之胺基酸序列

<400> 204

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

Ala Ser Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile

145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Glu Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 205
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_scFv(SE)_AA之胺基酸序列

<400> 205

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 Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His
20 25 30

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

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp
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 Thr Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp
100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ile Gln Leu Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser
180 185 190

Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Arg Thr Phe Gly Glu Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 206
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05')_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 206

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu 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 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
        115                 120                 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu
    130                 135                 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
145                 150                 155                 160
```

```
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
                165                 170                 175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
            180                 185                 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln
        195                 200                 205

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg
    210                 215                 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
225                 230                 235                 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                245
```

<210> 207
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’)_scFv(CC)(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 207

```
Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60
```

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile Leu Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg
210 215 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 208

<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05'_HV3LV8a)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<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 Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu 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 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
210 215 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 209
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’_HV5LV8a)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 209

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 Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala

65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu 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 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser Leu Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg
210 215 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 210
<211> 249
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05'_HV3LV8a)_scFv(CC)(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 210

```
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 Phe Thr Gly
        35                  40                  45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
                85                  90                  95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
        115                 120                 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
    130                 135                 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
145                 150                 155                 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
                165                 170                 175
```

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
210 215 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 211
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scSP34(H05’_HV5LV8a)_scFv(CC)(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 211

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 Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Glu Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
115 120 125

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
130 135 140

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp
145 150 155 160

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
165 170 175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
180 185 190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ser Leu Tyr Leu Gln
195 200 205

Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys Val Arg
210 215 220

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Asp Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 212
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-03)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 212

Ala Ile Gln Leu 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 Arg Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg
145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Trp Tyr Asp
165 170 175

Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile

180 185 190

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu
195 200 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Thr Leu Tyr Tyr
210 215 220

Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 213
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-04)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 213

Ala Ile Gln Leu 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 Gln Ser Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg
145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Trp Tyr Asp
165 170 175

Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
180 185 190

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu
195 200 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Thr Leu Tyr Tyr
210 215 220

Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 214
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-18)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 214

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg
145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Trp Tyr Glu
165 170 175

Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
180 185 190

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu
195 200 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Thr Leu Tyr Tyr
210 215 220

Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 215
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-22)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 215

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

```
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
        115                 120                 125

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
    130                 135                 140

Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg
145                 150                 155                 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Trp Tyr Asp
                165                 170                 175

Gly Ser Val Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
            180                 185                 190

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu
        195                 200                 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Thr Leu Tyr Tyr
    210                 215                 220

Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
225                 230                 235                 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
                245
```

<210> 216
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-25)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 216

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg
145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Trp Tyr Asp
165 170 175

Gly Ser Lys Lys Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
180 185 190

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu

195 200 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Thr Leu Tyr Tyr
210 215 220

Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 217
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：scKM14(mut1-26)_scFv(LH)_AA之胺基酸序列

<400> 217

Ala Ile Gln Leu 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 Ser Ala
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Arg
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser His Gly Met His Trp Val Arg
145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Ser Ile Trp Tyr Asp
165 170 175

Gly Ser Lys Lys Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
180 185 190

Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Asp Leu Gln Met Asn Ser Leu
195 200 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Thr Leu Tyr Tyr
210 215 220

Tyr Gly Ser Glu Arg Ala His Gly Leu Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 218
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體SP34 VL之胺基酸序列

<400> 218

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

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 Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 219
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之說明：抗CD3抗體SP34 VH之胺基酸序列

<400> 219

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met 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

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合有1個對於CD3之解離常數大於抗CD3單株抗體SP34或KM14之CD3結合域，上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段還包含疾病相關抗原結合域，

上述CD3結合域之HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列係選自下述(a)～(h)中之任一者，

上述抗CD3單株抗體SP34之VL及VH之胺基酸序列係分別包含序列編號218及219所表示之胺基酸序列，

上述抗CD3單株抗體KM14之VL及VH之胺基酸序列係分別包含序列編號93及94所表示之胺基酸序列，

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～

3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3。

【請求項2】

一種抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其包含具有與Fc受體之結合能力之Fc區，且於該Fc區之C末端側結合有1個CD3結合域，上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段還包含疾病相關抗原結合域，且於CD3陽性T細胞及疾病相關抗原陽性細胞之存在下，與使用抗CD3單株抗體SP34或KM14之抗CD3雙特異性抗體相比，細胞激素產生誘導能力低，

上述CD3結合域之HCDR1～3及LCDR1～3之胺基酸序列係選自下述(a)～(h)中之任一者，

上述抗CD3單株抗體SP34之VL及VH之胺基酸序列係分別包含序列編號218及219所表示之胺基酸序列，

上述抗CD3單株抗體KM14之VL及VH之胺基酸序列係分別包含序列編號93及94所表示之胺基酸序列，

(a)分別包含序列編號118～120所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號121～123所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(b)分別包含序列編號83～85所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號86～88所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(c)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及

分別包含序列編號132、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(d)分別包含序列編號98～100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號133、96、97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(e)分別包含序列編號98、134、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(f)分別包含序列編號98、135、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(g)分別包含序列編號98、136、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3

(h)分別包含序列編號98、137、100所表示之胺基酸序列之HCDR1～3、及分別包含序列編號95～97所表示之胺基酸序列之LCDR1～3。

【請求項3】

如請求項1或2之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中

(A)上述CD3結合域對於CD3之解離常數(K_D)為6×10^{-8}以上，並且/或者

(C)上述CD3結合域之胺基酸序列與作為比較對照之抗CD3單株抗體SP34或KM14之CD3結合域之胺基酸序列具有90%以上之同源性，且與該抗CD3單株抗體SP34或KM14相比，對於CD3之親和力低10%以上。

【請求項4】

如請求項1或2之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中

(A)上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含1或2個上述疾病相關抗原結合域，並且/或者

(B)上述CD3結合域及上述疾病相關抗原結合域分別為選自scFv、Fab及VHH中之任一者，並且/或者

(C)上述CD3結合域及/或上述疾病相關抗原結合域經由連接子與上述Fc區結合，並且/或者

(D)上述CD3結合域包含重鏈可變區(heavy chain variable region；簡稱為VH)及輕鏈可變區(light chain variable region；簡稱為VL)，上述重鏈可變區包含抗體重鏈之互補決定區(complementarity determining region；簡稱為CDR)1～3，上述輕鏈可變區包含抗體輕鏈之CDR1～3，並且/或者

(E)上述CD3結合域為scFv。

【請求項5】

如請求項1或2之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中

上述CD3結合域之VH及VL之胺基酸序列係選自下述(aa)～(rr)中之任一者，

(aa)包含序列編號124所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號125所表示之胺基酸序列之VL

(bb)包含序列編號115所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號116所表示之胺基酸序列之VL

(cc)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號126所表示之胺基酸序列之VL

(dd)包含序列編號94所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號127所表示之胺基酸序列之VL

(ee)包含序列編號128所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ff)包含序列編號129所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93

所表示之胺基酸序列之VL

(gg)包含序列編號130所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(hh)包含序列編號131所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號93所表示之胺基酸序列之VL

(ii)包含序列編號159所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(jj)包含序列編號160所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號165所表示之胺基酸序列之VL

(kk)包含序列編號161所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(ll)包含序列編號162所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號166所表示之胺基酸序列之VL

(mm)包含序列編號168所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號180所表示之胺基酸序列之VL

(nn)包含序列編號169所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號181所表示之胺基酸序列之VL

(oo)包含序列編號170所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號182所表示之胺基酸序列之VL

(pp)包含序列編號171所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號183所表示之胺基酸序列之VL

(qq)包含序列編號172所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號184所表示之胺基酸序列之VL

(rr)包含序列編號173所表示之胺基酸序列之VH、及包含序列編號185所表示之胺基酸序列之VL。

【請求項6】

如請求項1或2之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述Fc區係與Fc受體之結合活性得到增強之Fc區。

【請求項7】

如請求項6之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述與Fc受體之結合活性得到增強之Fc區係包含胺基酸殘基改型及/或糖鏈改型之Fc區。

【請求項8】

如請求項7之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中

(A)上述胺基酸殘基改型係包含至少1個使與Fc受體之結合活性增強之胺基酸殘基改型者，或者

(B)上述糖鏈改型係使以α1,6-鍵結於N結合型糖鏈之還原末端之N-乙醯葡萄糖胺上之岩藻糖缺損的糖鏈改型，上述N結合型糖鏈與Fc區之EU編號第297號之Asn結合。

【請求項9】

如請求項1或2之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中

(A)上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含2個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且各Fab之重鏈(VH-CH1)之C末端直接或經由連接子與上述Fc區結合，或者

(B)上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含1個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且Fab之重鏈(VH-CH1)及輕鏈(VL-CL)之C末

端直接或經由連接子與上述Fc區結合。

【請求項10】

如請求項1或2之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中

(A)上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含1個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且在與Fab之重鏈(VH-CH1)結合之側之Fc鏈上直接或經由連接子結合有上述CD3結合域，或者

(B)上述抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段包含1個Fab作為上述疾病相關抗原結合域，且在與Fab之輕鏈(VL-CL)結合之側之Fc鏈上直接或經由連接子結合有上述CD3結合域。

【請求項11】

如請求項9之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，其中上述連接子為鉸鏈或其改型體。

【請求項12】

一種DNA，其編碼如請求項1至11中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【請求項13】

一種重組體載體，其含有如請求項12之DNA。

【請求項14】

一種轉形株，其係將如請求項13之重組體載體導入宿主細胞中而獲得。

【請求項15】

一種如請求項1至11中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之製造方法，其特徵在於：將如請求項14之轉形株於培養基中進行

培養，於培養物中生產蓄積如請求項1至11中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段，自該培養物中採集該抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

【請求項16】

一種與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之治療及/或診斷藥，其含有如請求項1至11中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段作為有效成分。

【請求項17】

如請求項16之治療及/或診斷藥，其中與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病為癌症。

【請求項18】

一種如請求項1至11中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段之用途，其用以製造與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病之治療及/或診斷劑。

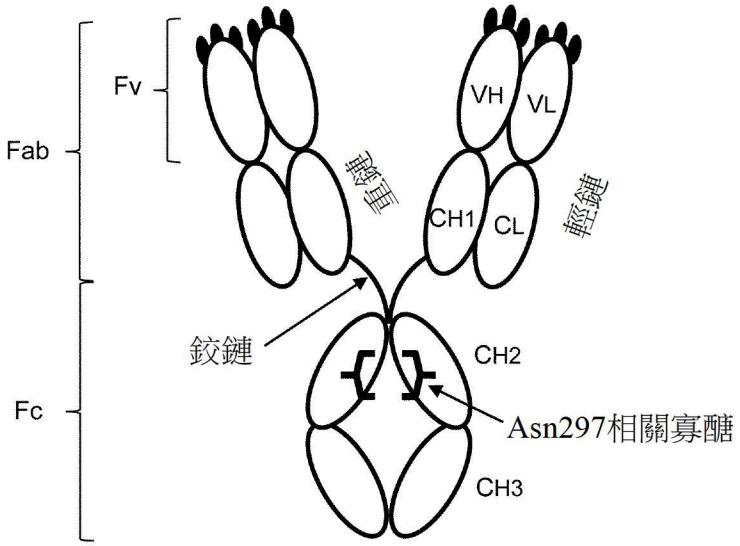
【請求項19】

如請求項18之用途，其中與上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者相關之疾病為癌症。

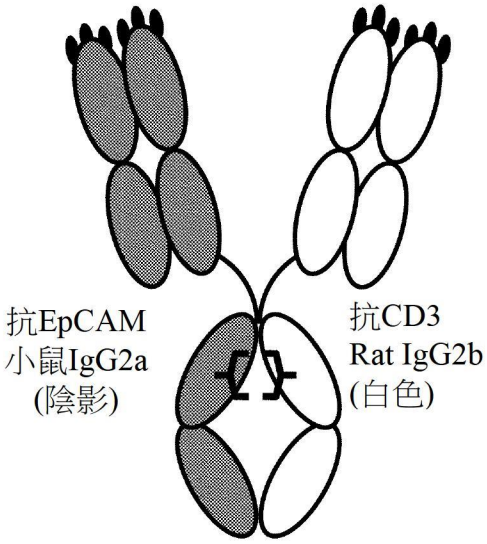
【請求項20】

一種用以檢測或測定上述CD3及上述疾病相關抗原之至少一者之試劑，其包含如請求項1至11中任一項之抗CD3雙特異性抗體或該雙特異性抗體片段。

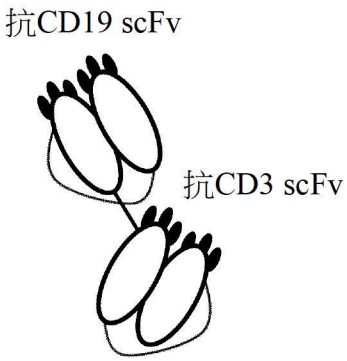
【發明圖式】



(A) 常規IgG

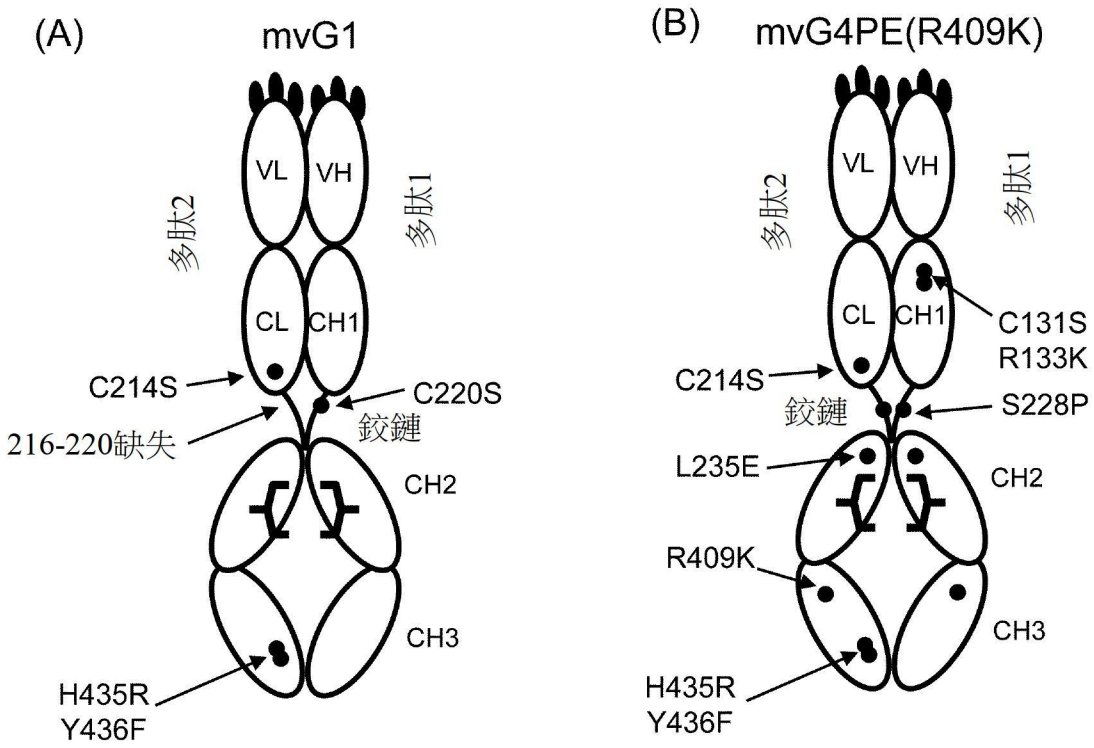


(B) 卡妥索單抗

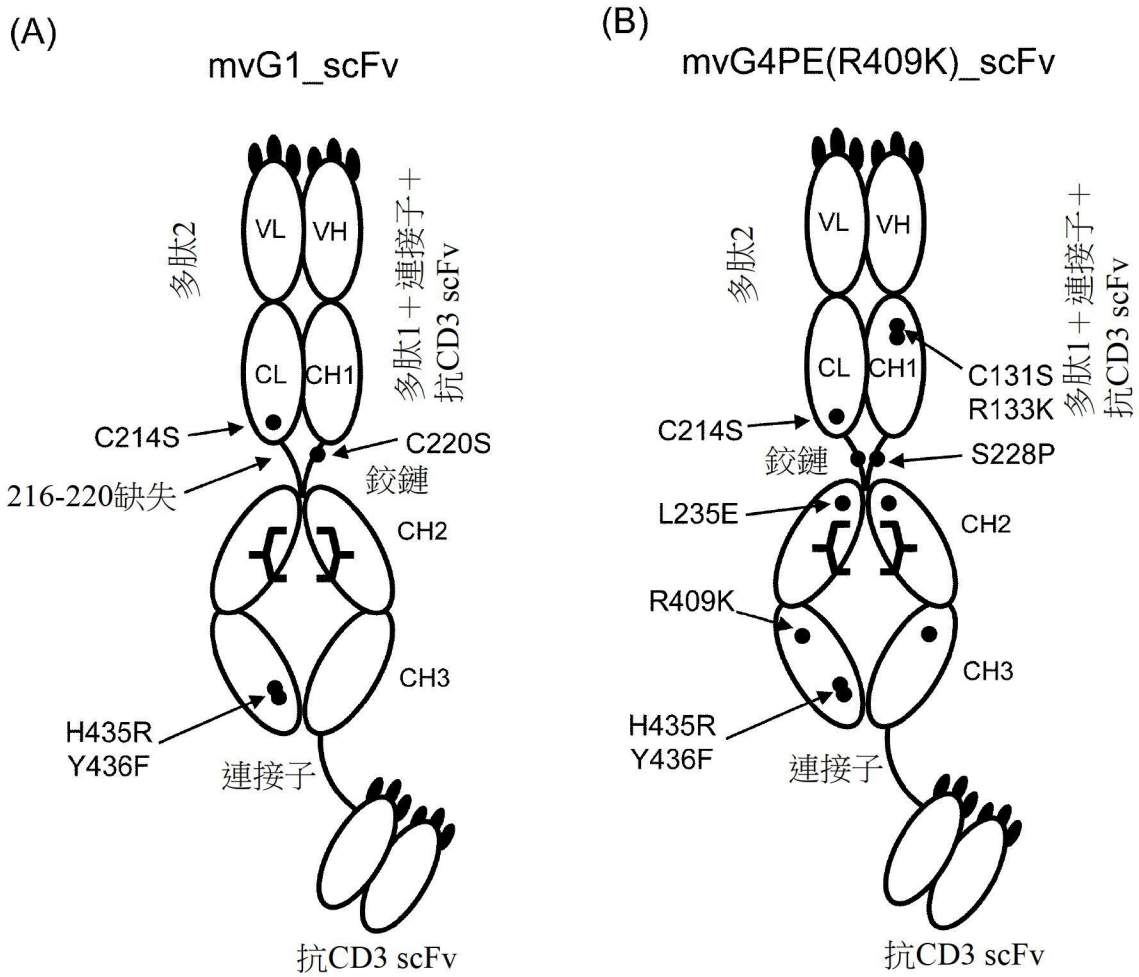


(C) 博納吐單抗
(BiTE)

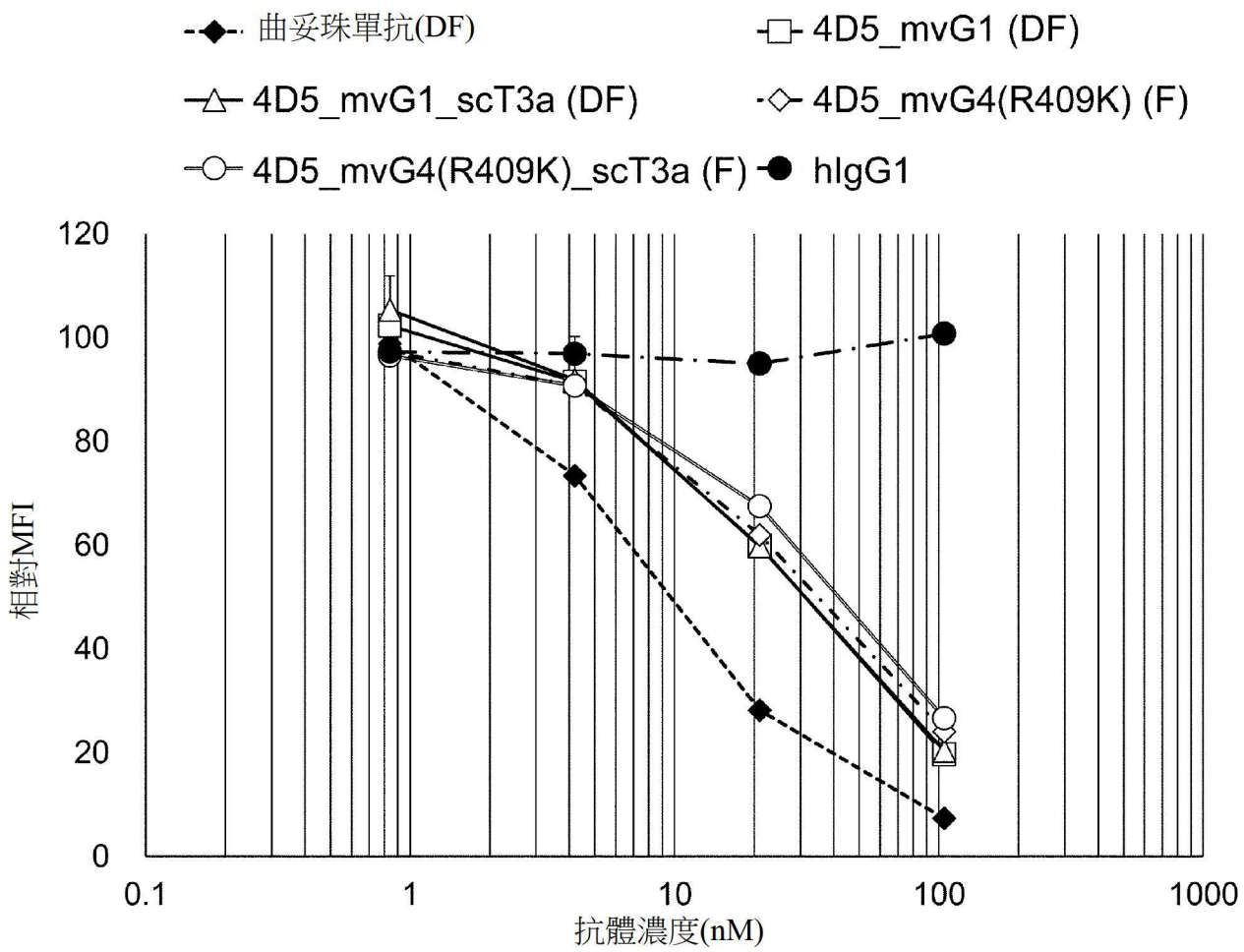
【圖1】


(A)
mvG1
VL
VH
多肽2
多肽1
CL
CH1
C214S
C220S
216-220缺失
鉸鏈
CH2
CH3
H435R
Y436F
(B)
mvG4PE(R409K)
VL
VH
多肽2
多肽1
CL
CH1
C131S
R133K
C214S
鉸鏈
S228P
L235E
CH2
R409K
CH3
H435R
Y436F

【圖2】

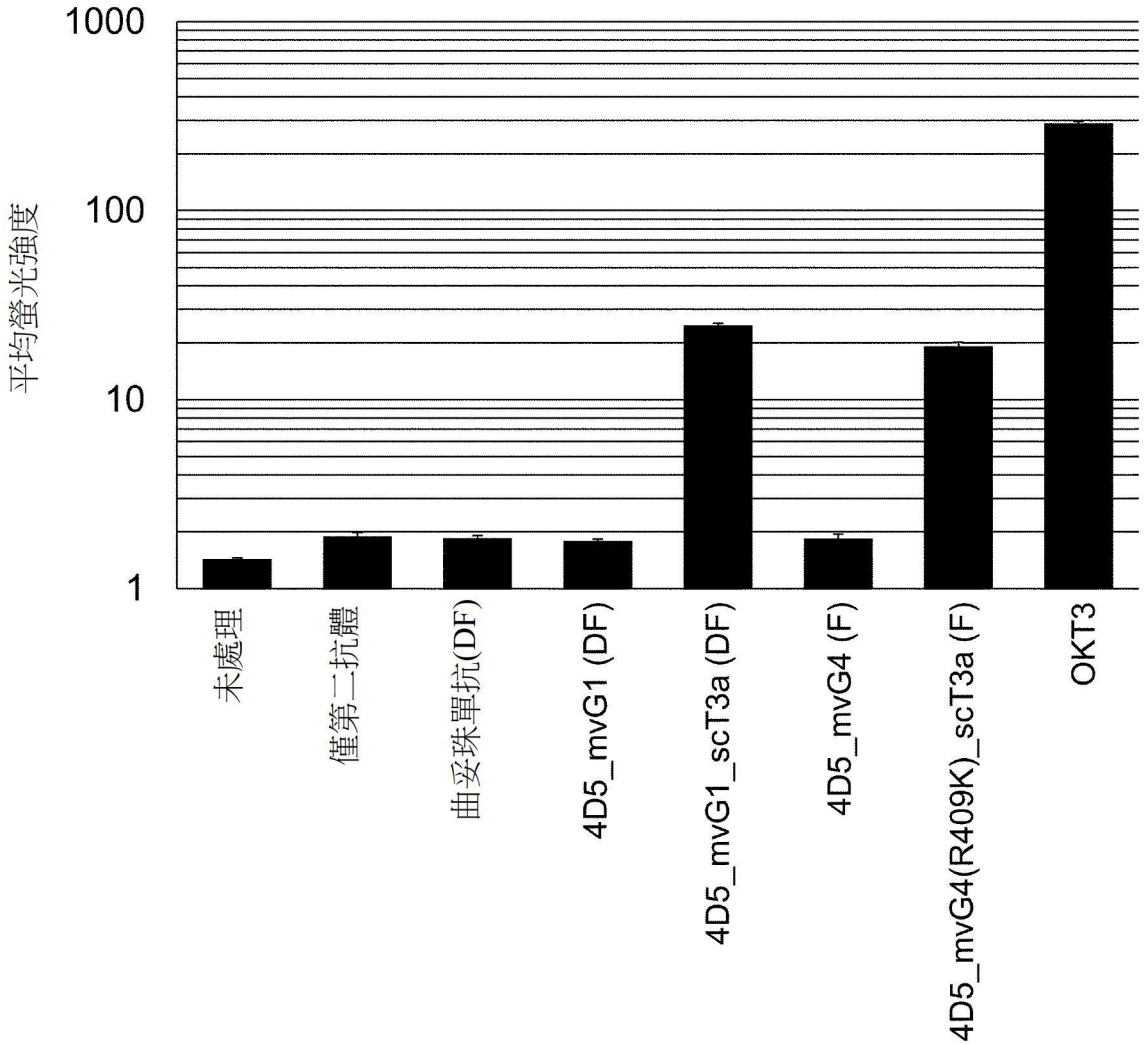

(A)
mvG1_scFv
VL
VH
多肽2
多肽1＋連接子＋抗CD3 scFv
CL
CH1
C214S
C220S
216-220缺失
鉸鏈
CH2
CH3
H435R
Y436F
連接子
抗CD3 scFv
(B)
mvG4PE(R409K)_scFv
VL
VH
多肽2
多肽1＋連接子＋抗CD3 scFv
CL
CH1
C131S
R133K
C214S
鉸鏈
S228P
L235E
CH2
R409K
CH3
H435R
Y436F
連接子
抗CD3 scFv

【圖3】

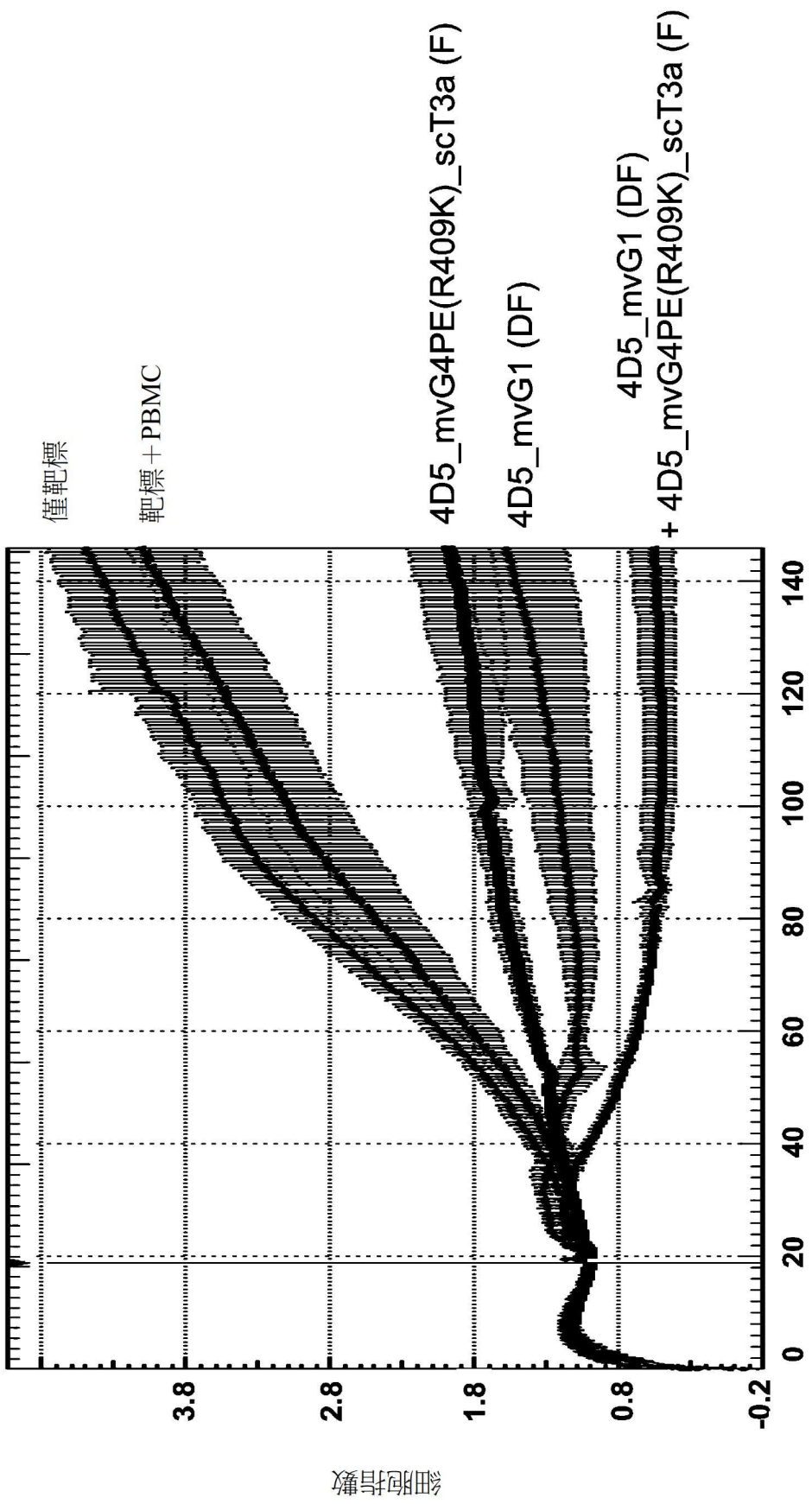


MFI：平均螢光強度

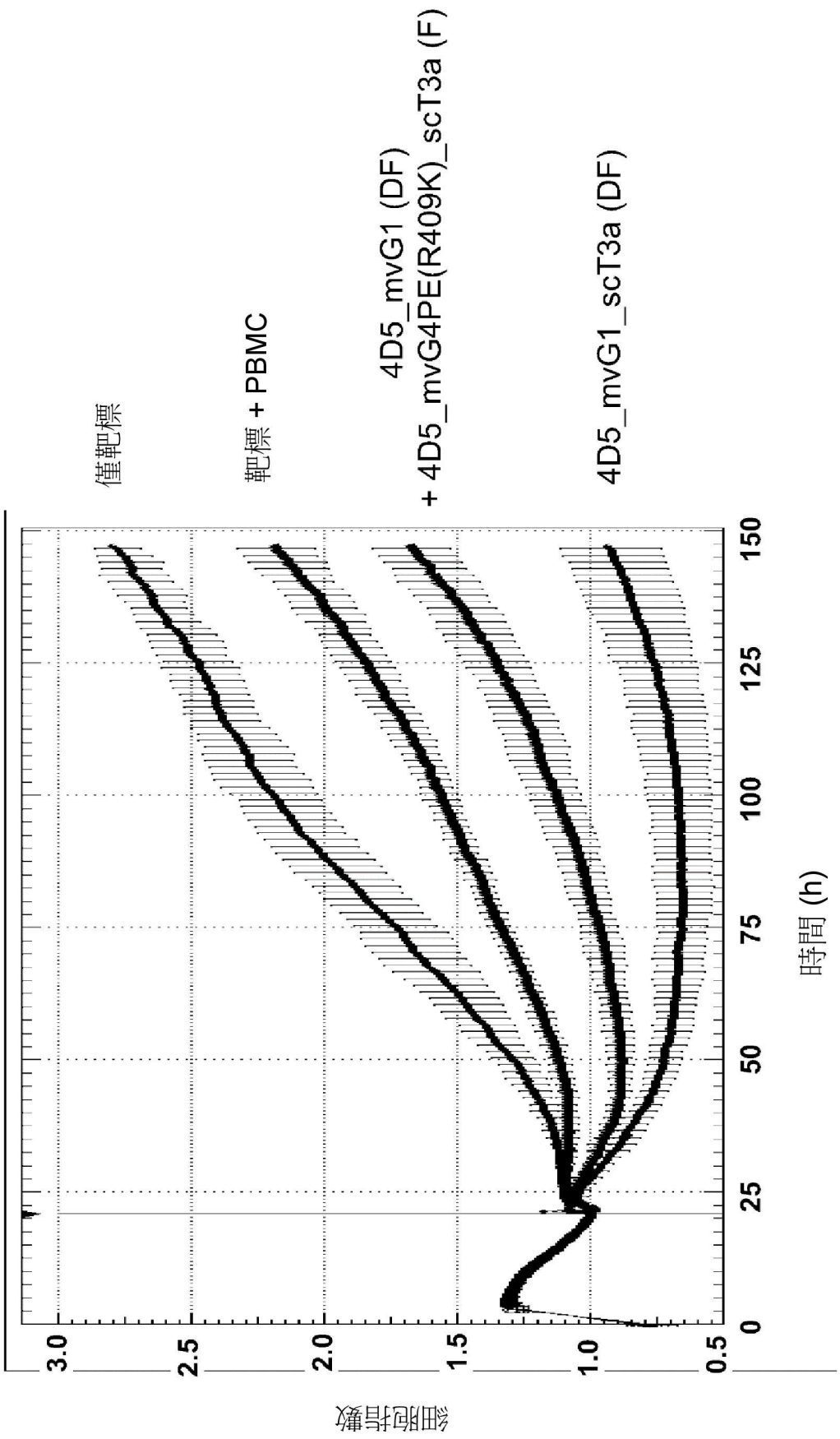
【圖4】


1000
100
10
1
平均螢光強度
未處理
僅第二抗體
曲妥珠單抗(DF)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_mvG4 (F)
4D5_mvG4(R409K)_scT3a (F)
OKT3

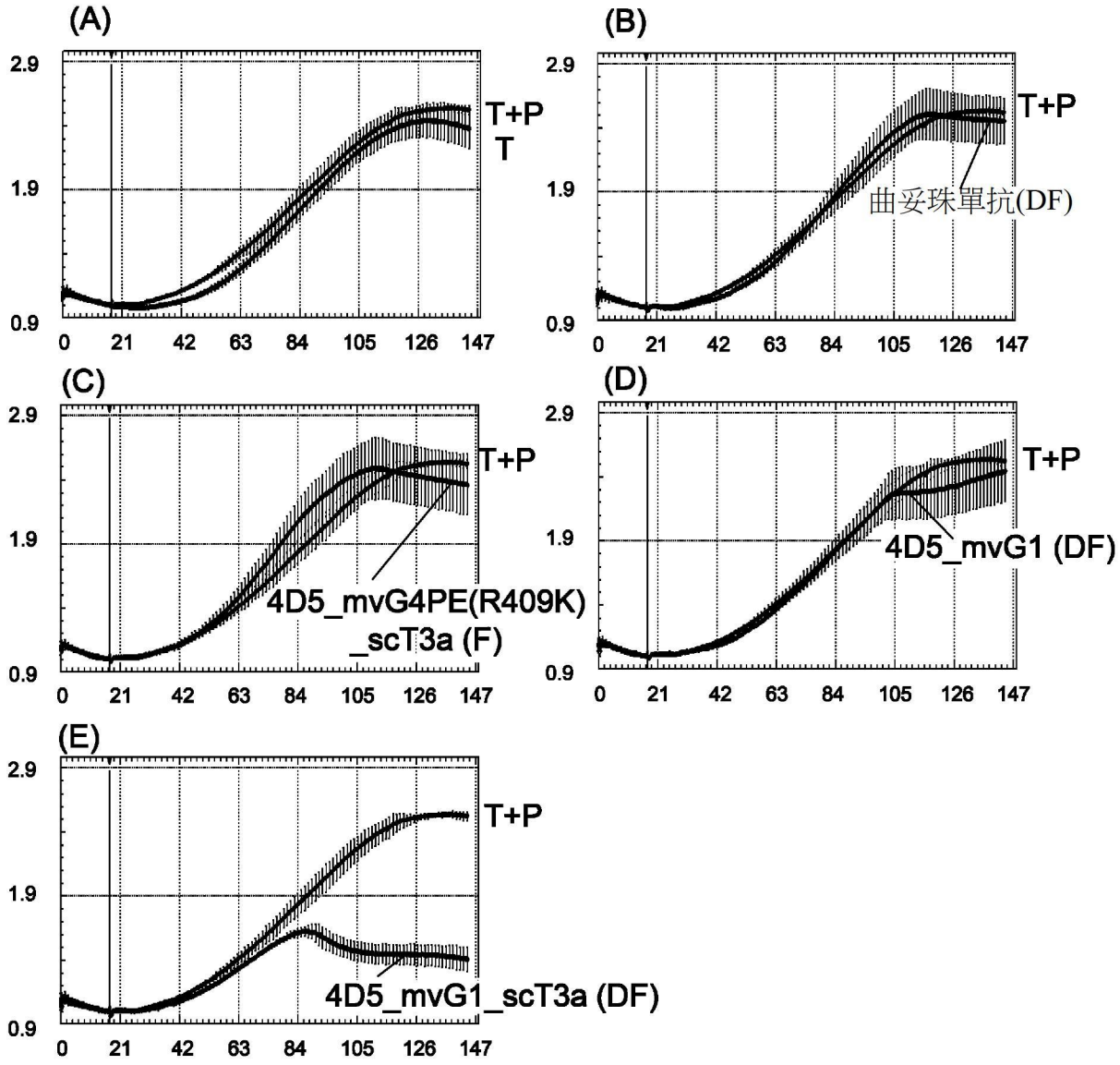
【圖5】


僅靶標
靶標＋PBMC
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1 (DF)
+ 4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
細胞指數
3.8
2.8
1.8
0.8
-0.2
0
20
40
60
80
100
120
140
時間(h)

【圖6】

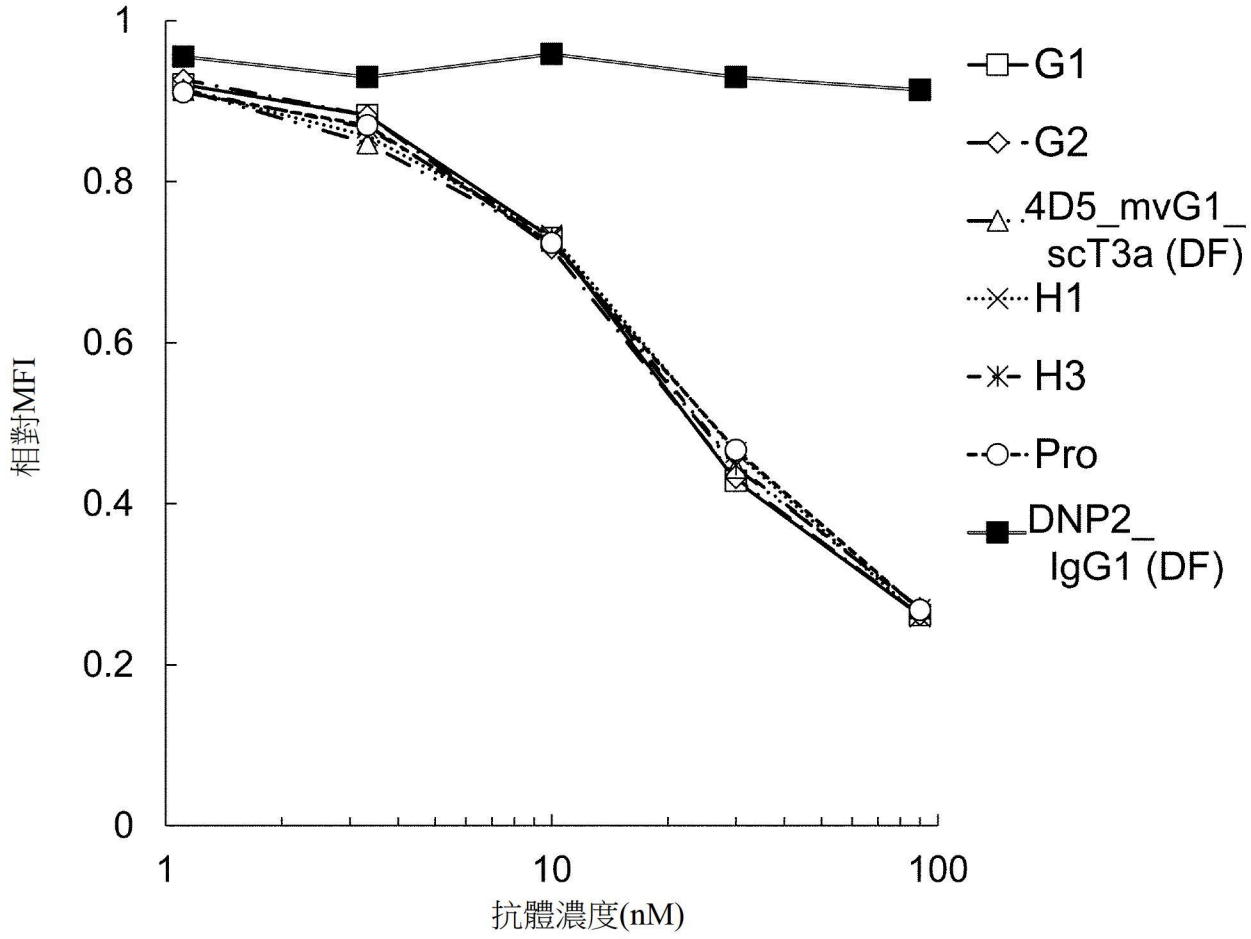

僅靶標
靶標 + PBMC
4D5_mvG1 (DF)
+ 4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_mvG1_scT3a (DF)
細胞指數
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
25
50
75
100
125
150
時間 (h)

【圖7】



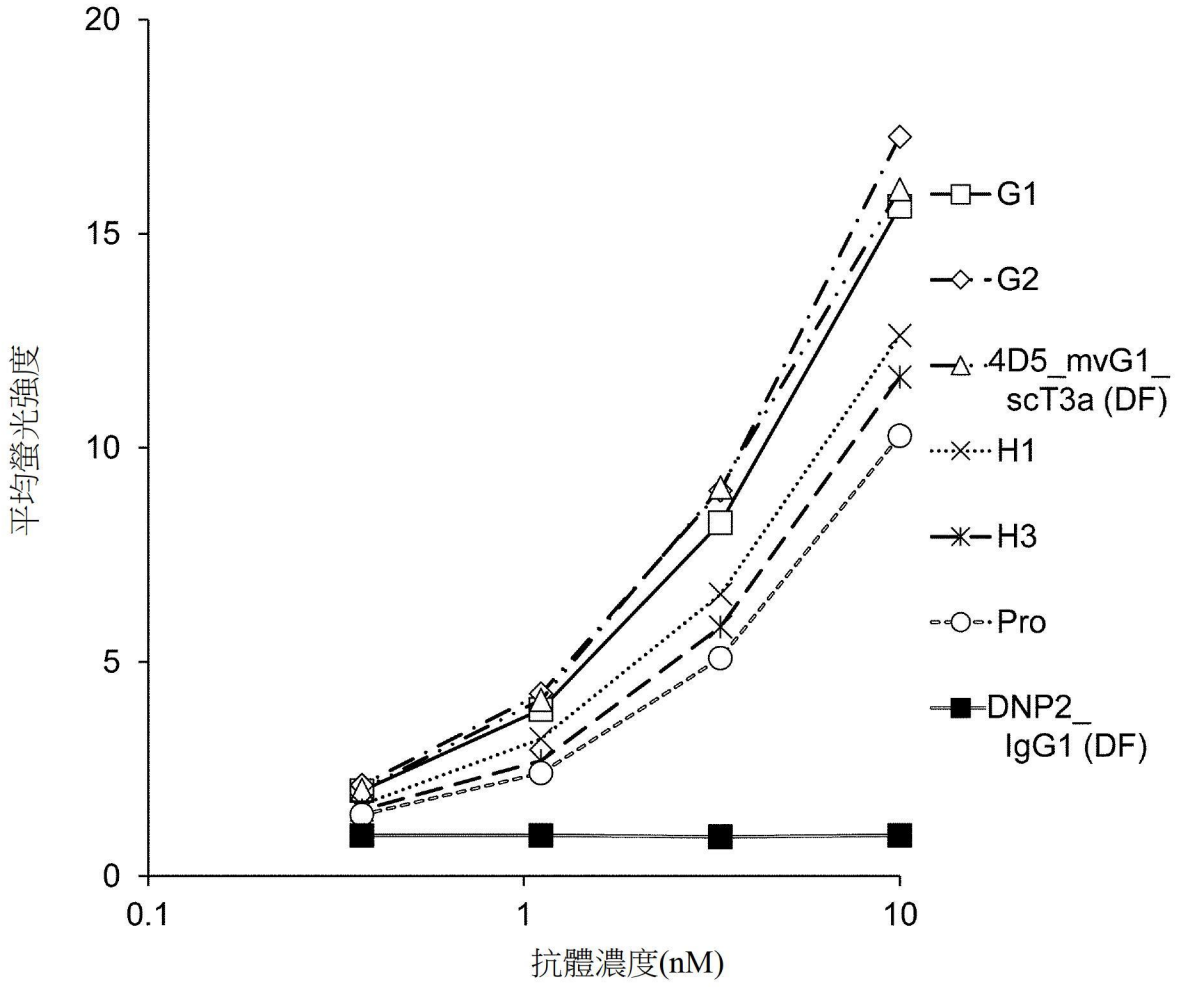
縮寫：
T，僅靶標；T＋P，靶標＋PBMC

【圖8】

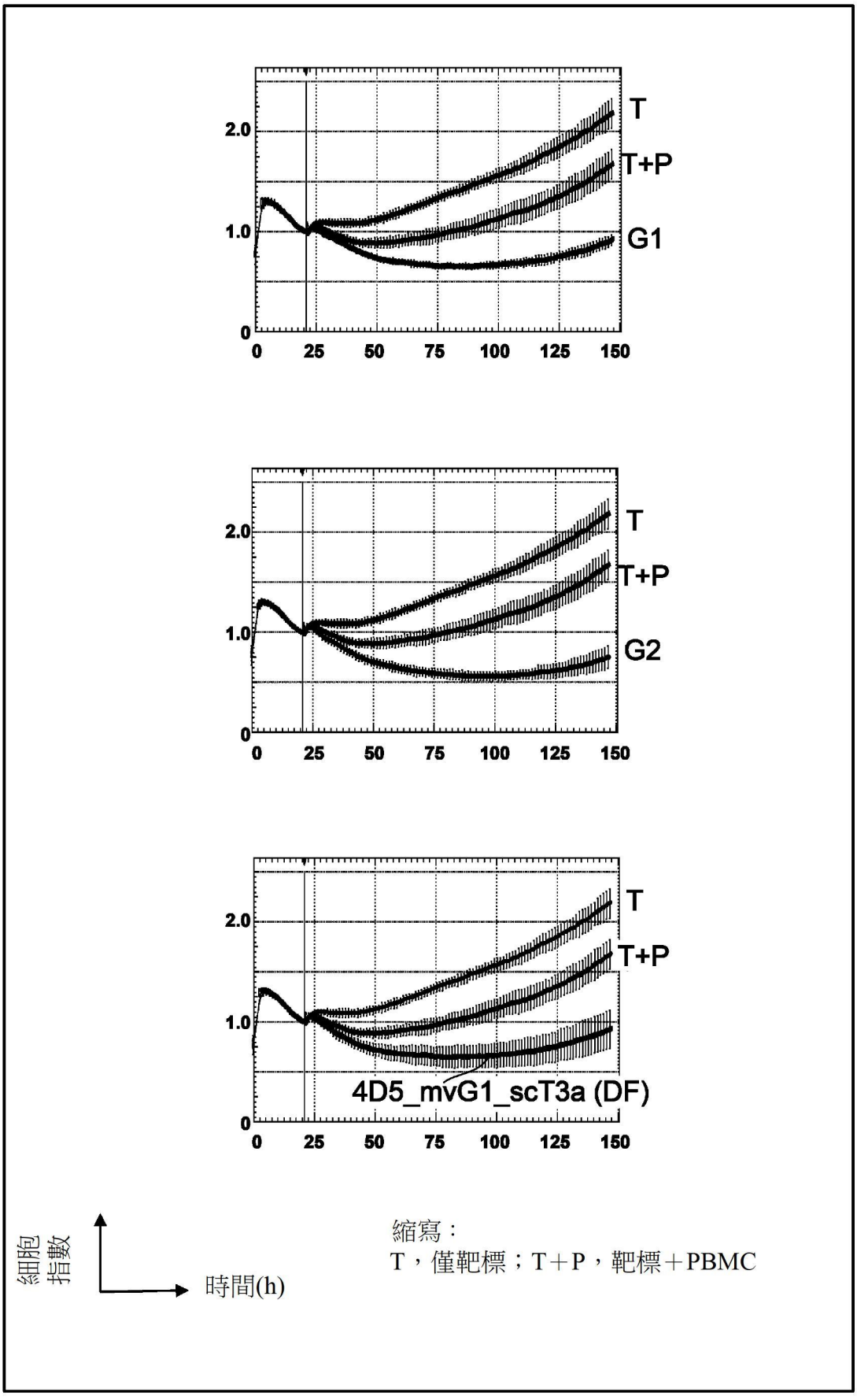


MFI：平均螢光強度

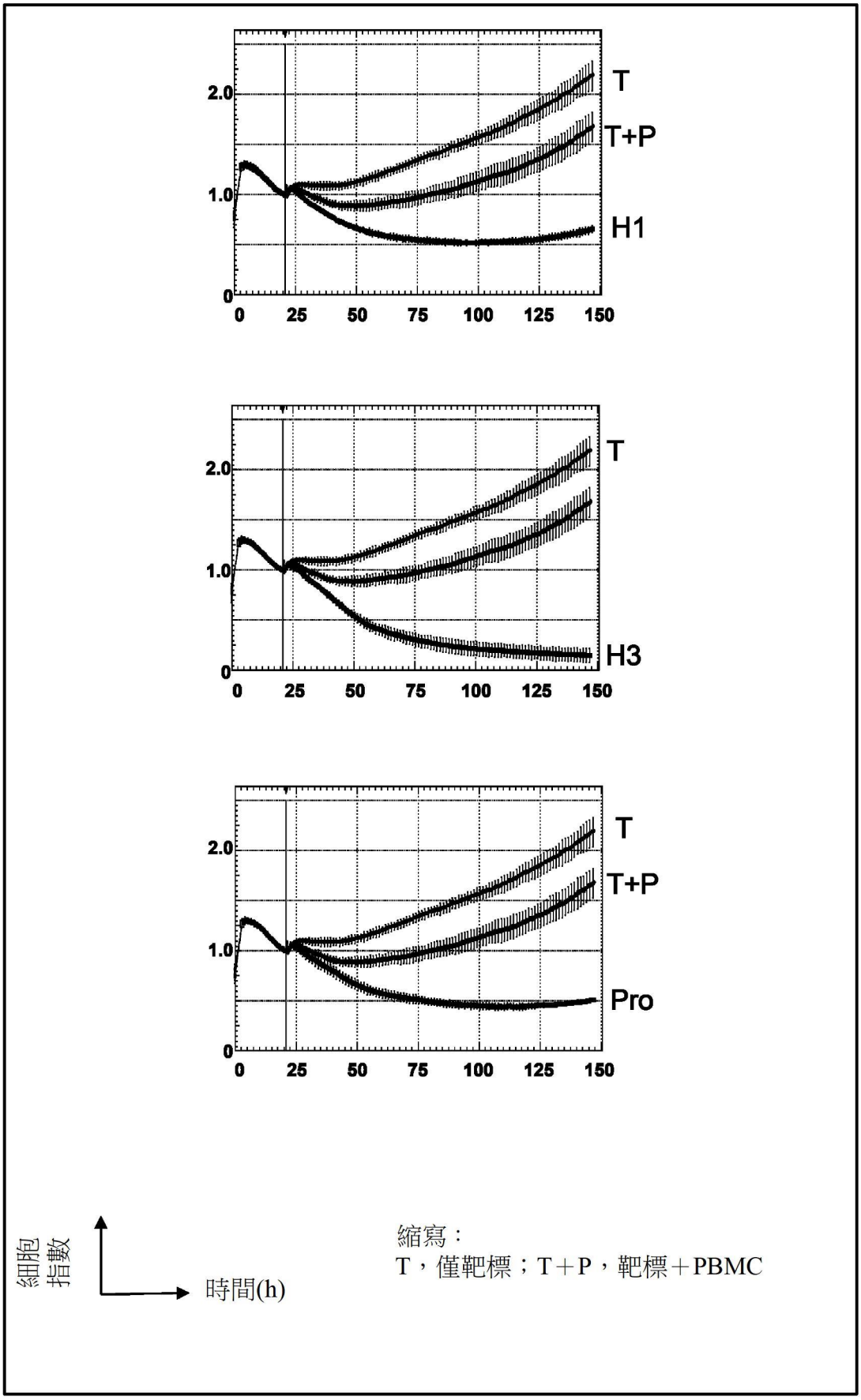
【圖9】


20
15
10
5
0
0.1
1
10
平均螢光強度
抗體濃度(nM)
G1
G2
4D5_mvG1_scT3a (DF)
H1
H3
Pro
DNP2_IgG1 (DF)

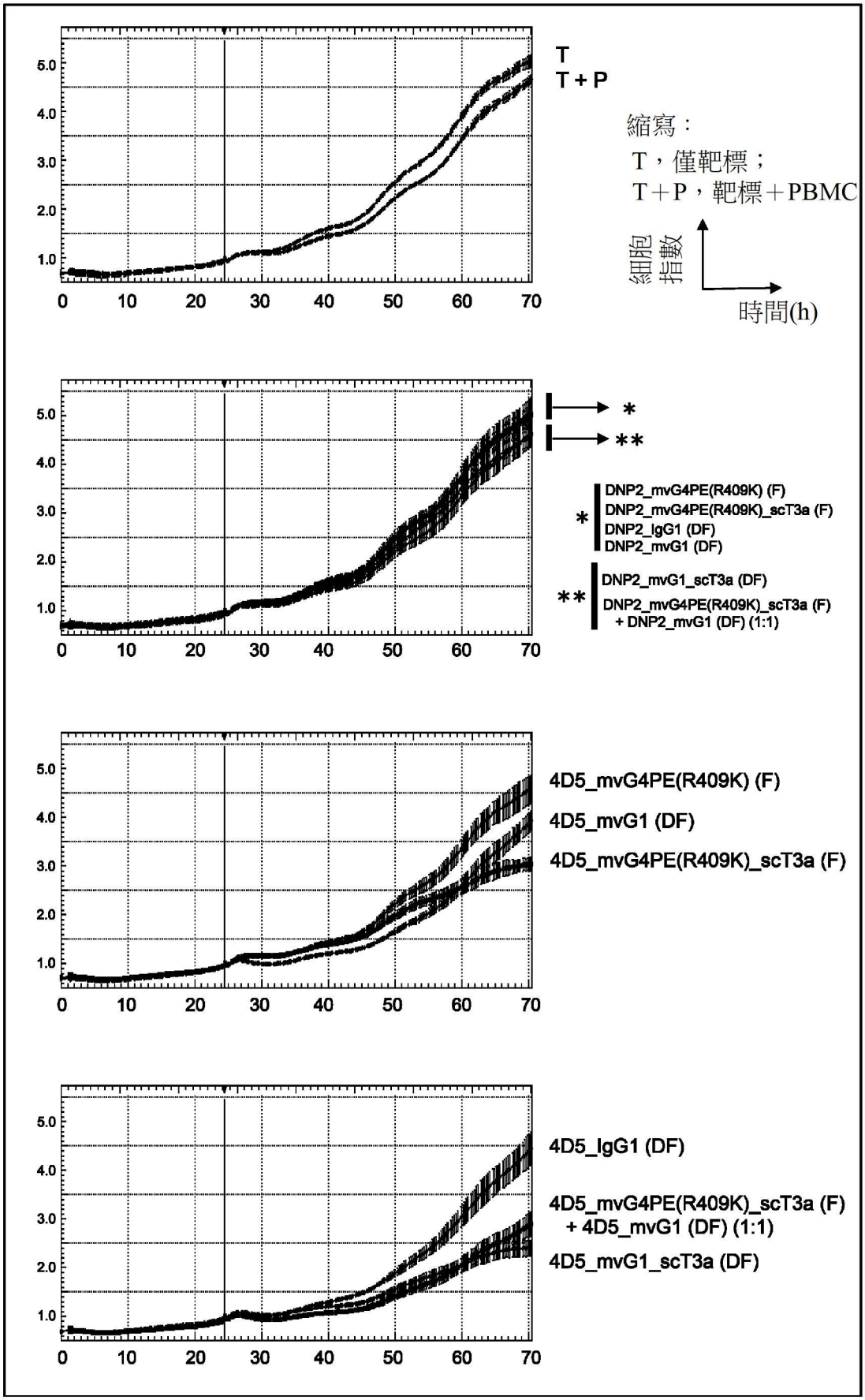
【圖10】


T
T+P
G1
T
T+P
G2
T
T+P
4D5_mvG1_scT3a (DF)
2.0
1.0
0
0
25
50
75
100
125
150
細胞指數
時間(h)
縮寫：
T，僅靶標；T＋P，靶標＋PBMC

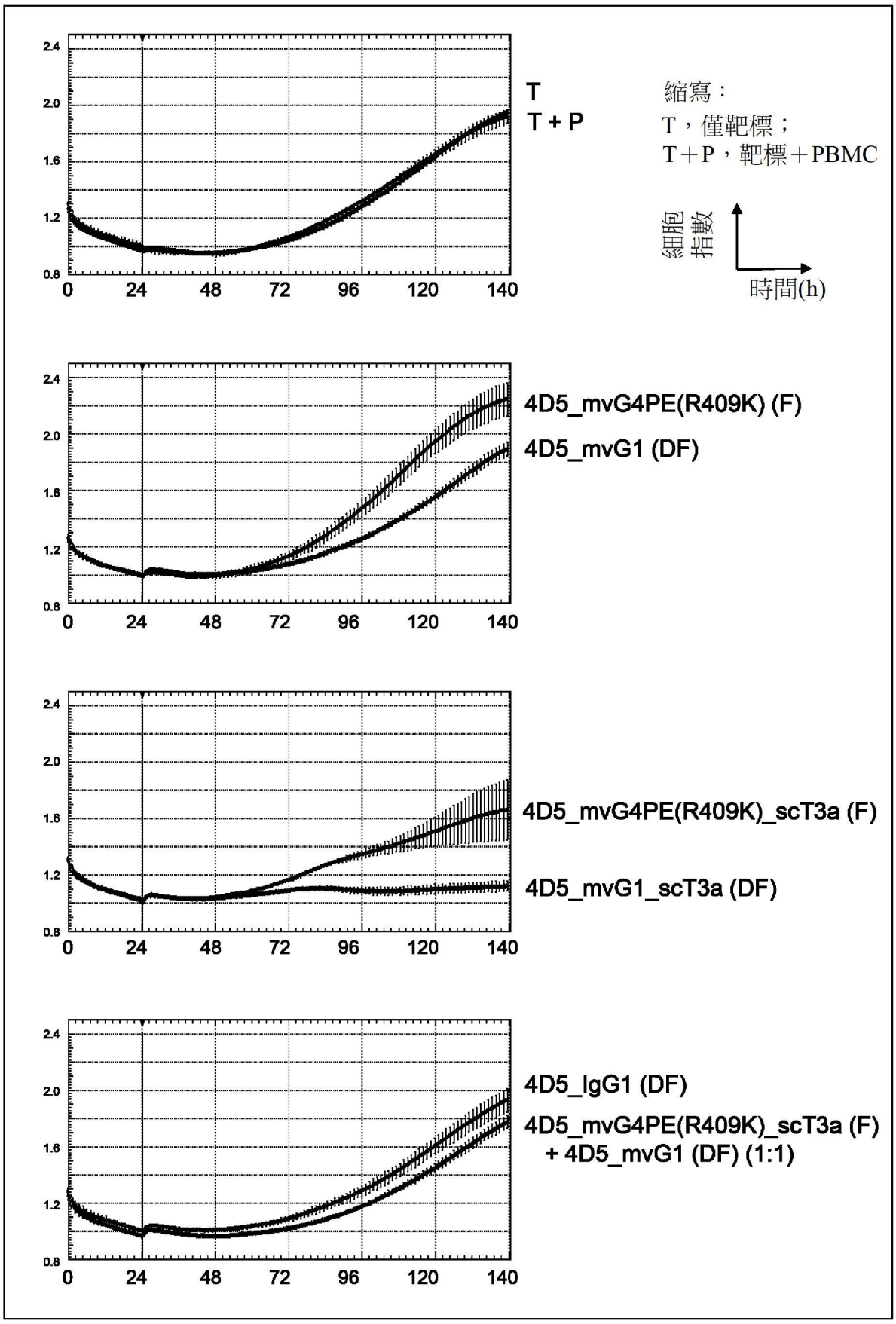
【圖11】


2.0
1.0
0
0 25 50 75 100 125 150
T
T+P
H1
T
T+P
H3
T
T+P
Pro
細胞指數
時間(h)
縮寫：
T，僅靶標；T＋P，靶標＋PBMC

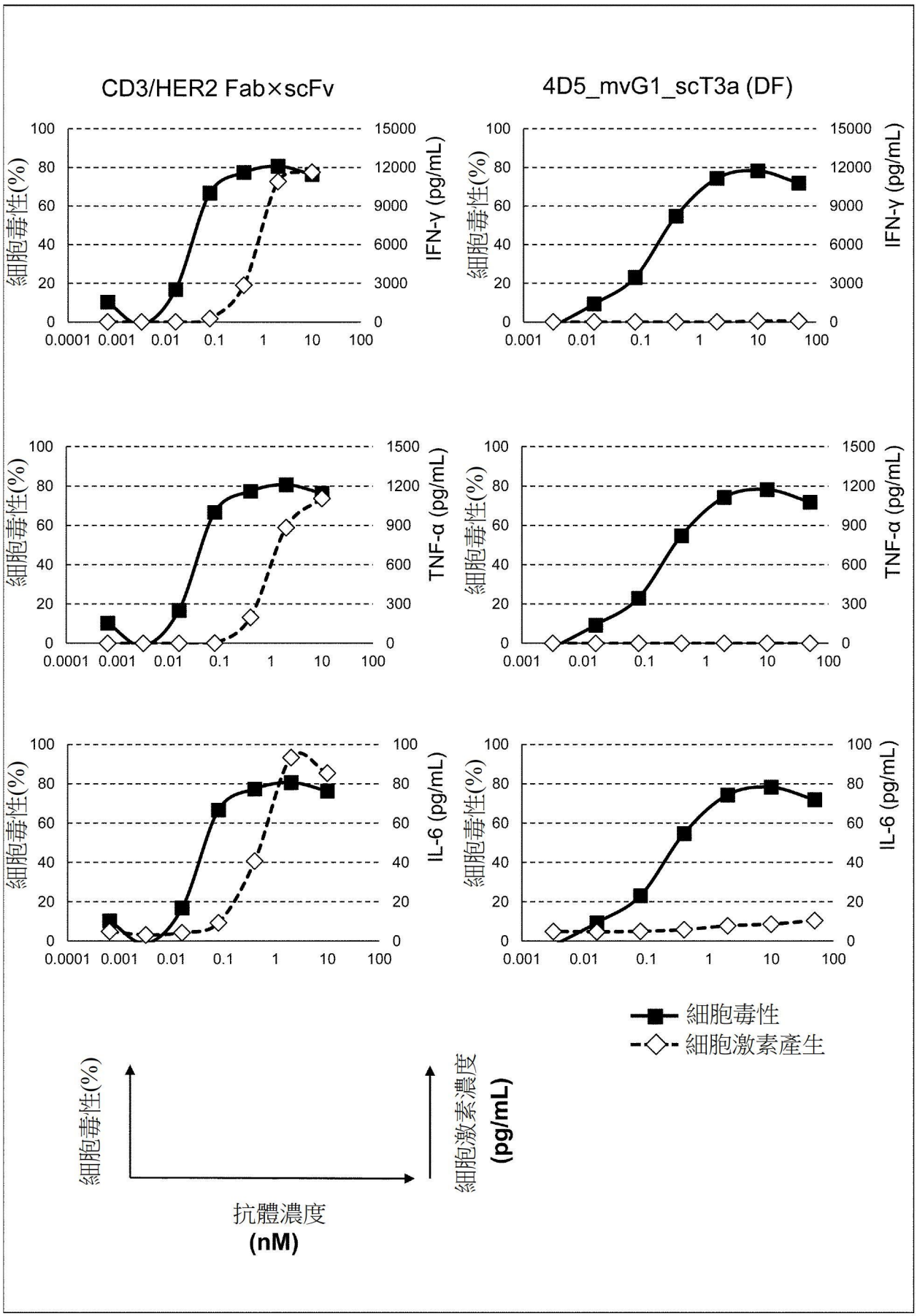
【圖12】


T
T + P
縮寫：
T，僅靶標；
T＋P，靶標＋PBMC
細胞指數
時間(h)
*
**
DNP2_mvG4PE(R409K) (F)
DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
DNP2_IgG1 (DF)
DNP2_mvG1 (DF)
DNP2_mvG1_scT3a (DF)
DNP2_mvG4PE(R409K)_scT3a (F) + DNP2_mvG1 (DF) (1:1)
4D5_mvG4PE(R409K) (F)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_IgG1 (DF)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F) + 4D5_mvG1 (DF) (1:1)
4D5_mvG1_scT3a (DF)

【圖13】

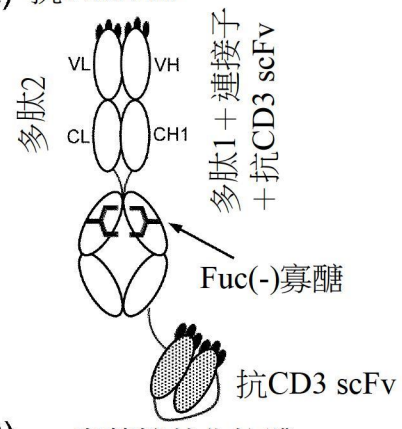

T
T + P
縮寫：
T，僅靶標；
T＋P，靶標＋PBMC
細胞指數
時間(h)
4D5_mvG4PE(R409K) (F)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_IgG1 (DF)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
+ 4D5_mvG1 (DF) (1:1)

【圖14】

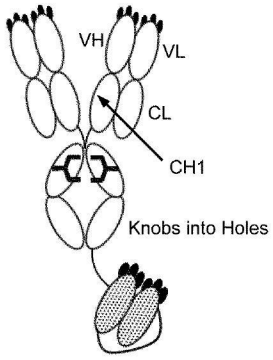

CD3/HER2 Fab×scFv
4D5_mvG1_scT3a (DF)
細胞毒性(%)
IFN-γ (pg/mL)
TNF-α (pg/mL)
IL-6 (pg/mL)
細胞毒性
細胞激素產生
細胞毒性(%)
細胞激素濃度 (pg/mL)
抗體濃度 (nM)

【圖15】

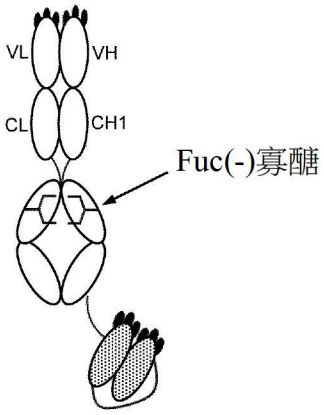
(A) 抗TSA Fab



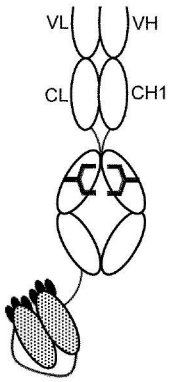
(B) ・二價抗TSA Fab



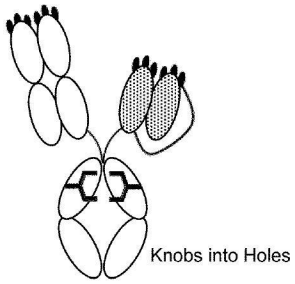
(C) ・岩藻糖基化抗體



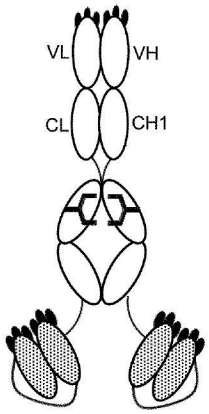
(D) ・於鏈2上融合有抗CD3 scFv



(E) ・於N端上融合有抗CD3 scFv



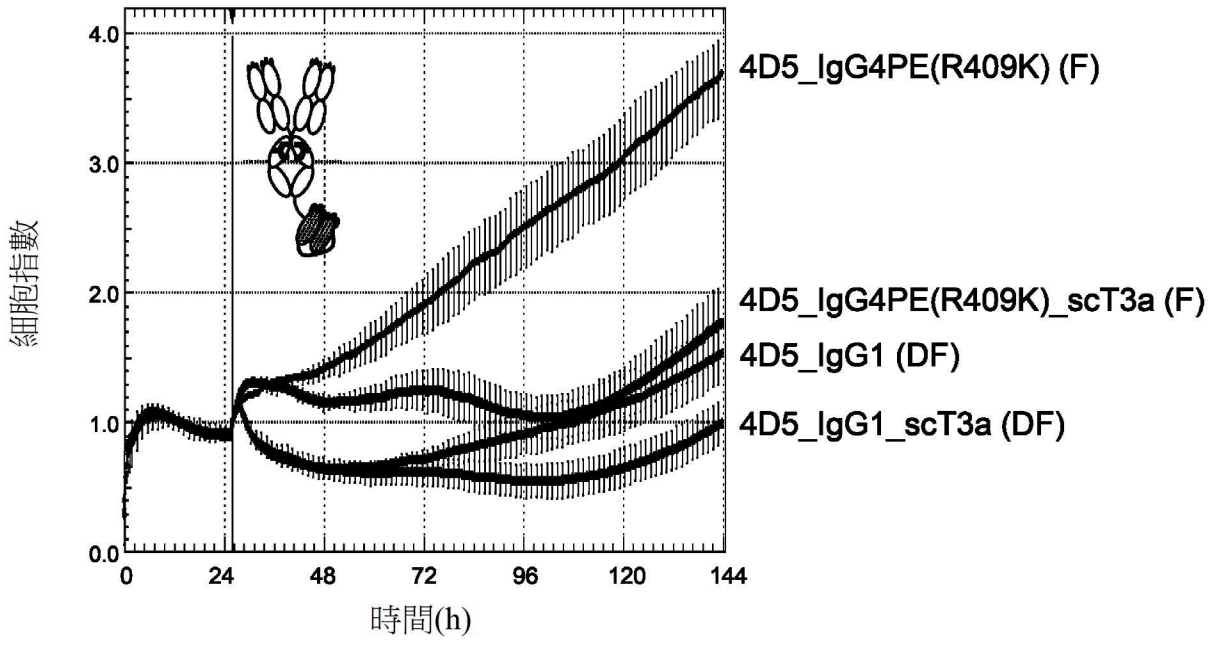
(F) ・於雙鏈上融合有抗CD3 scFv



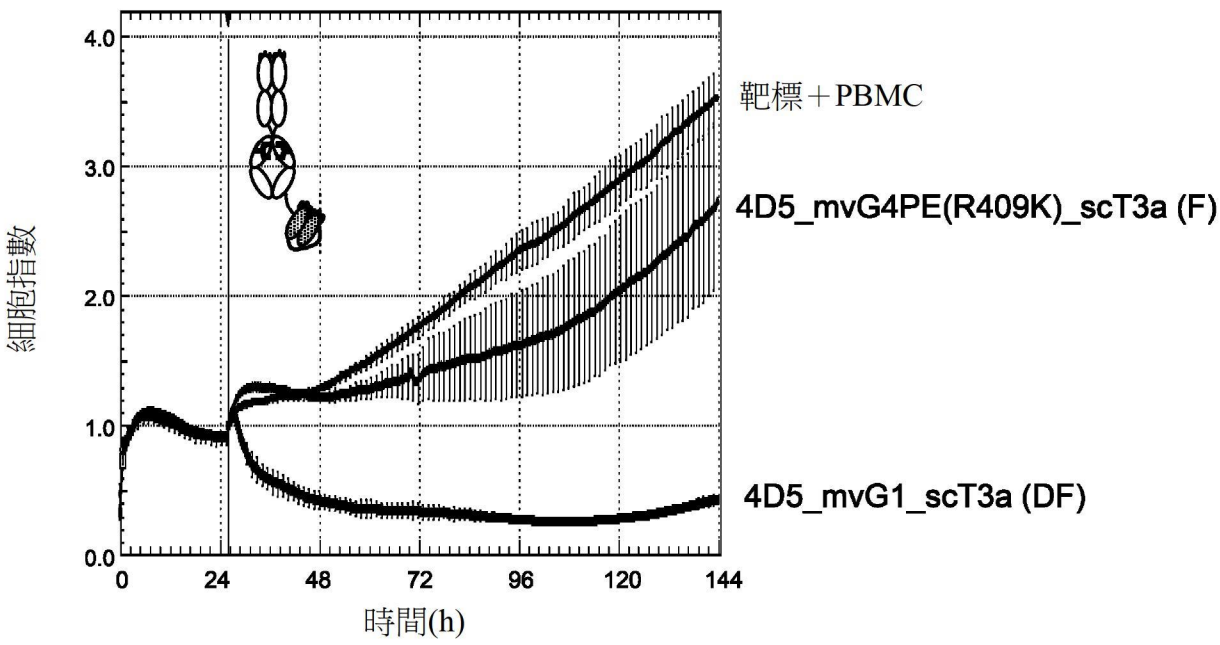
縮寫：
TSA，癌專一性抗原

【圖16】

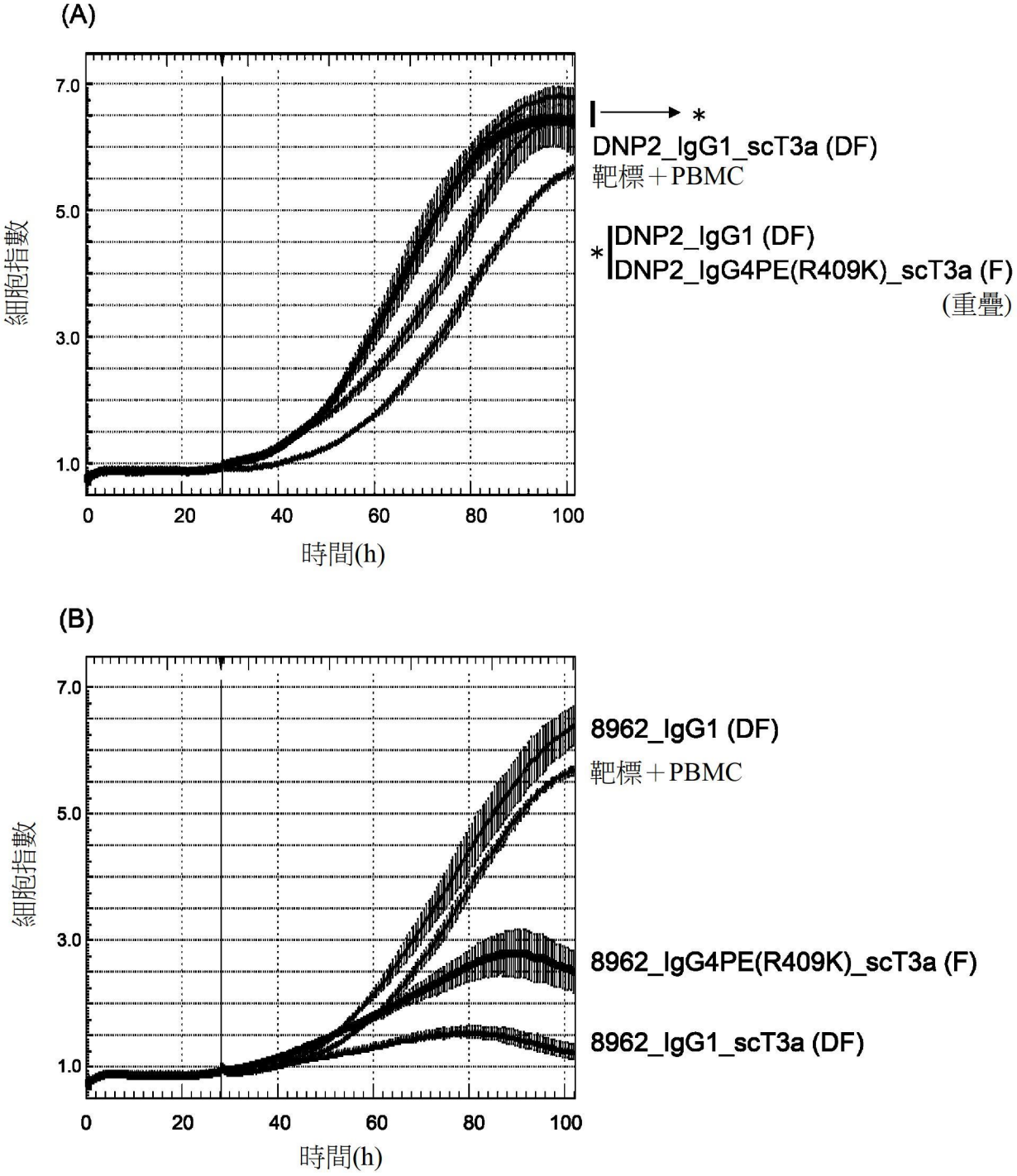
(A)


細胞指數
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
24
48
72
96
120
144
時間(h)
4D5_IgG4PE(R409K) (F)
4D5_IgG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_IgG1 (DF)
4D5_IgG1_scT3a (DF)

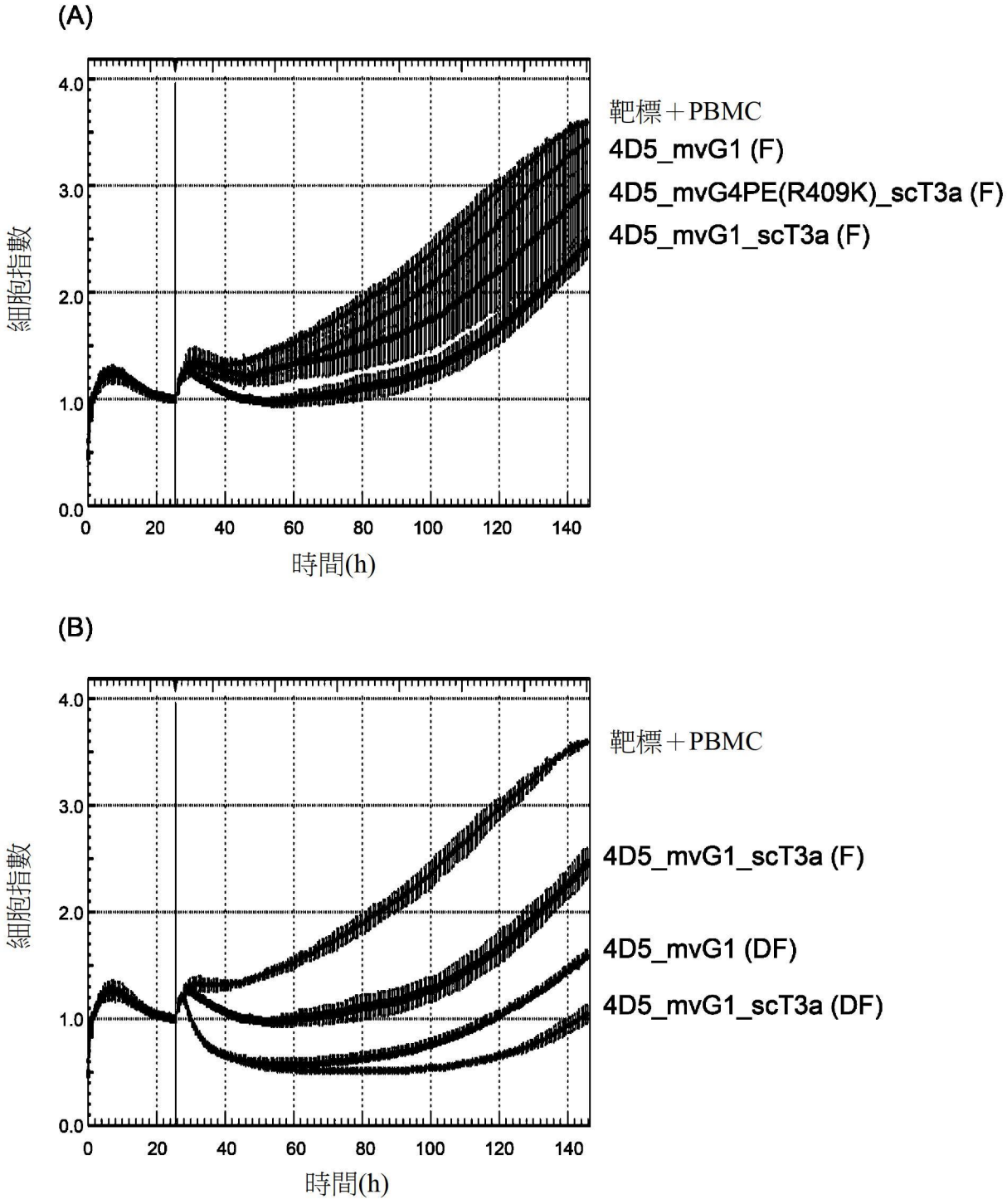
(B)


細胞指數
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
24
48
72
96
120
144
時間(h)
靶標＋PBMC
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_mvG1_scT3a (DF)

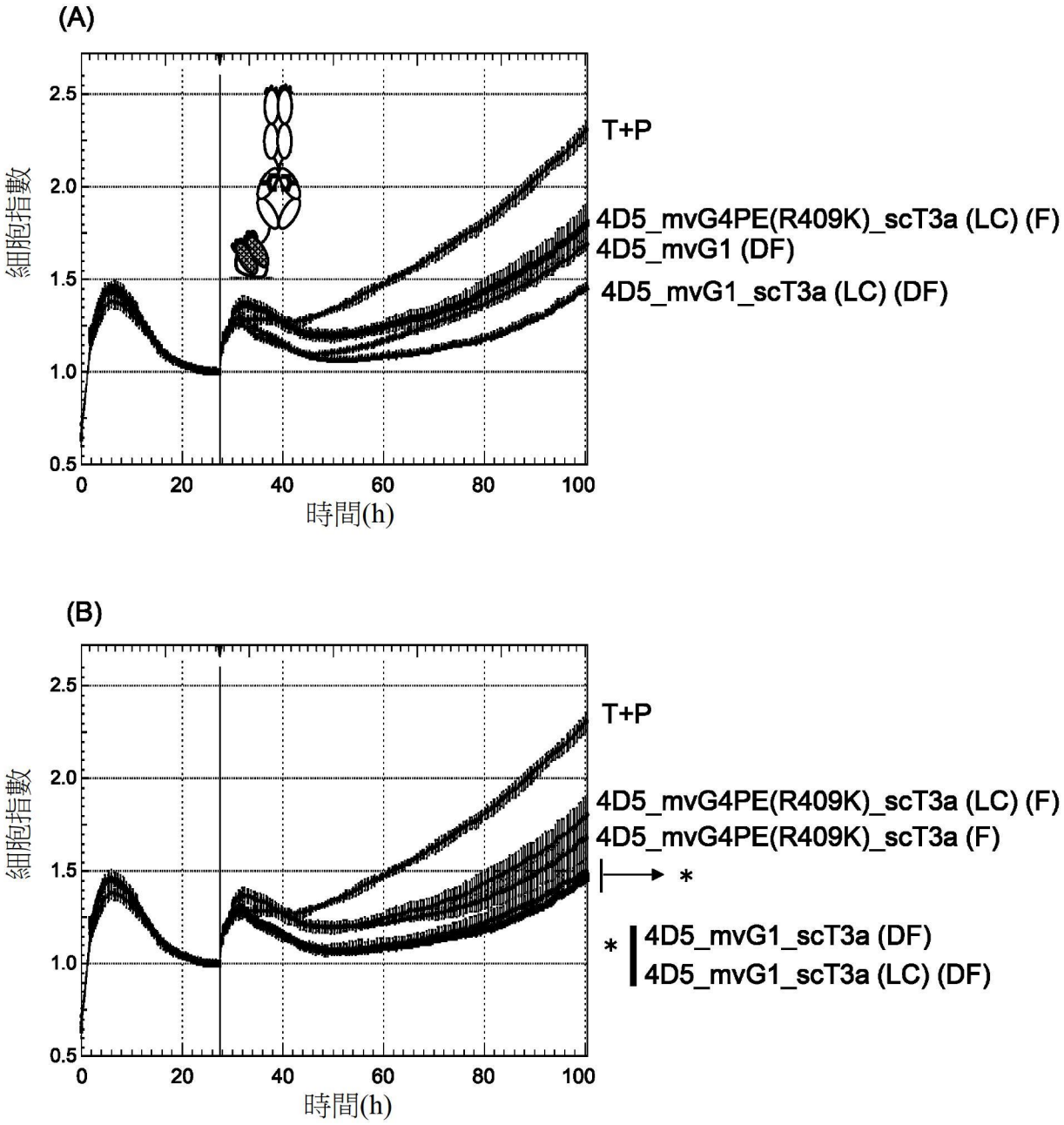
【圖17】


(A)
細胞指數
7.0
5.0
3.0
1.0
0
20
40
60
80
100
時間(h)
*
DNP2_IgG1_scT3a (DF)
靶標＋PBMC
*
DNP2_IgG1 (DF)
DNP2_IgG4PE(R409K)_scT3a (F)
(重疊)
(B)
細胞指數
7.0
5.0
3.0
1.0
0
20
40
60
80
100
時間(h)
8962_IgG1 (DF)
靶標＋PBMC
8962_IgG4PE(R409K)_scT3a (F)
8962_IgG1_scT3a (DF)

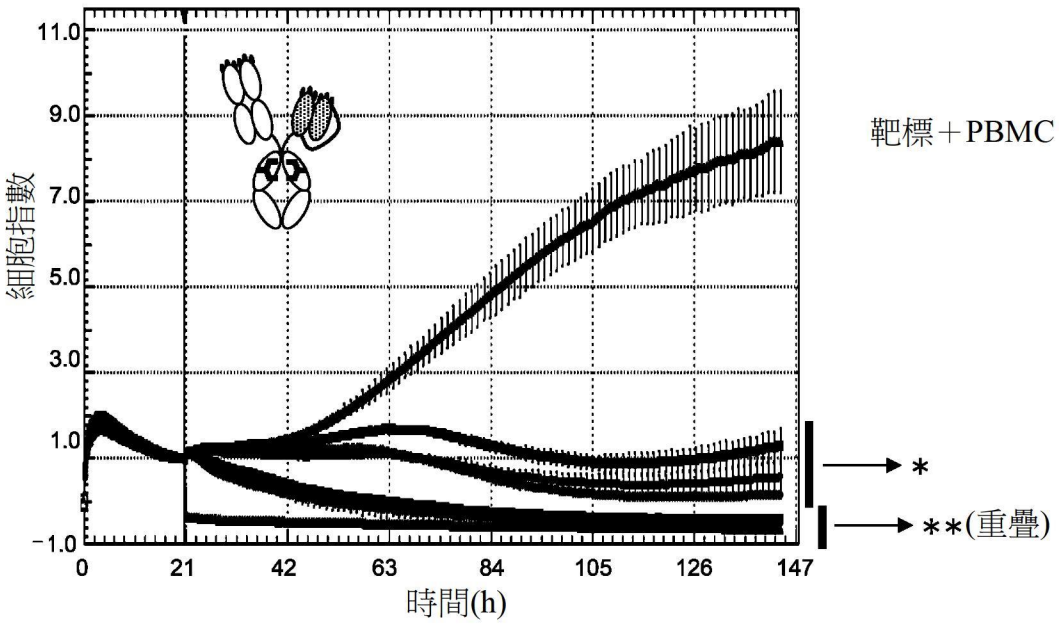
【圖18】


(A)
細胞指數
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
20
40
60
80
100
120
140
時間(h)
靶標＋PBMC
4D5_mvG1 (F)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
4D5_mvG1_scT3a (F)
(B)
細胞指數
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
0
20
40
60
80
100
120
140
時間(h)
靶標＋PBMC
4D5_mvG1_scT3a (F)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scT3a (DF)

【圖19】


(A)
細胞指數
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
20
40
60
80
100
時間(h)
T+P
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (LC) (F)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scT3a (LC) (DF)
(B)
細胞指數
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0
20
40
60
80
100
時間(h)
T+P
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (LC) (F)
4D5_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
*
*
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_mvG1_scT3a (LC) (DF)

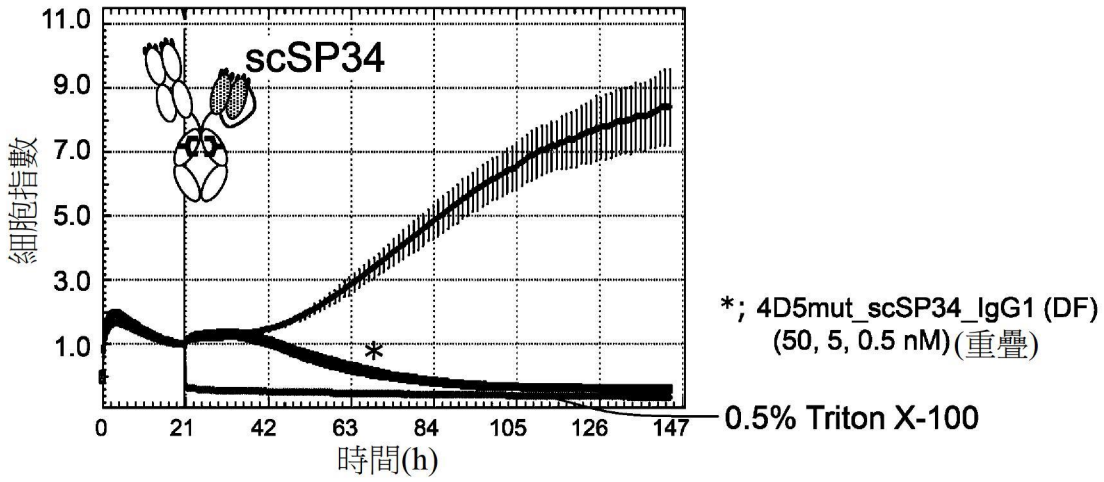
【圖20】



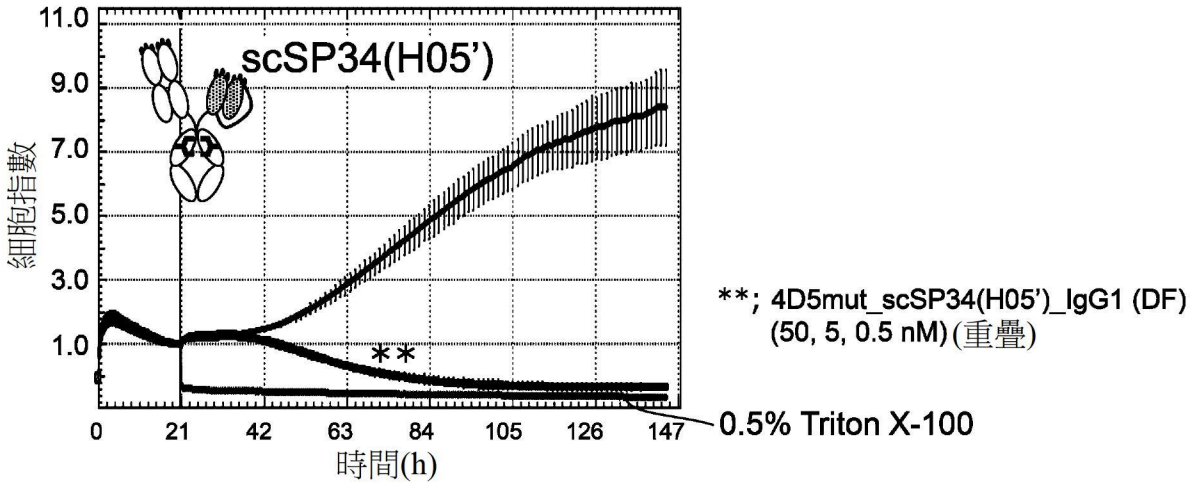
* 4D5mut_scT3a_IgG1 (DF) (0.5 nM)
4D5mut_scT3a_IgG1 (DF) (50 nM)
4D5mut_scT3a_IgG1 (DF) (5 nM)

** 4D5_scT3a_IgG1 (DF) (0.5 nM)
4D5_scT3a_IgG1 (DF) (50 nM)
4D5_scT3a_IgG1 (DF) (5 nM)
0.5% Triton X-100

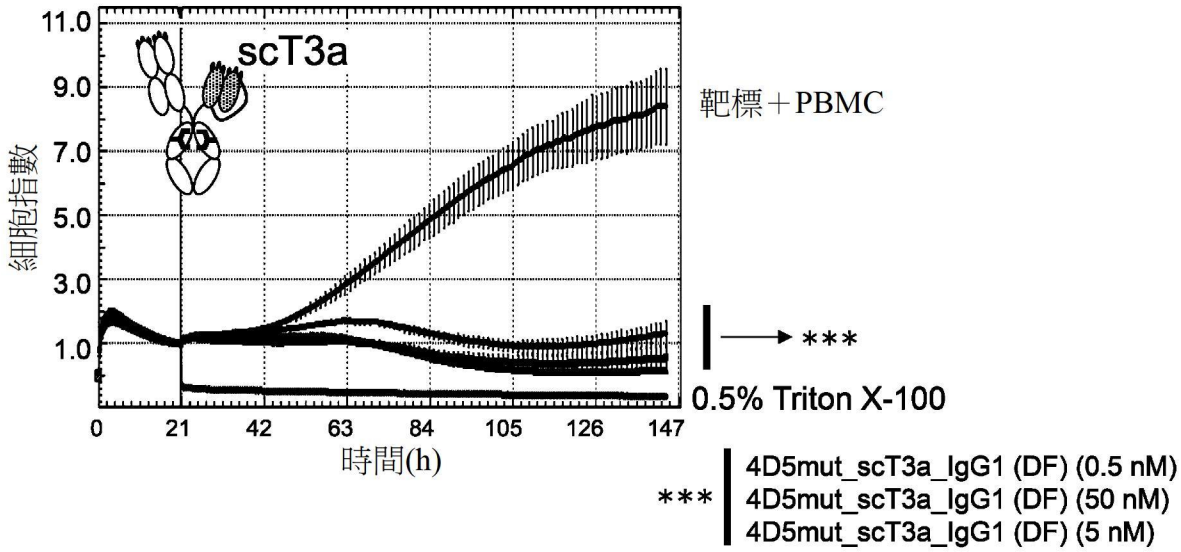
【圖21】


scSP34
細胞指數
時間(h)
11.0
9.0
7.0
5.0
3.0
1.0
0
21
42
63
84
105
126
147
*
*; 4D5mut_scSP34_IgG1 (DF)
(50, 5, 0.5 nM)(重疊)
0.5% Triton X-100

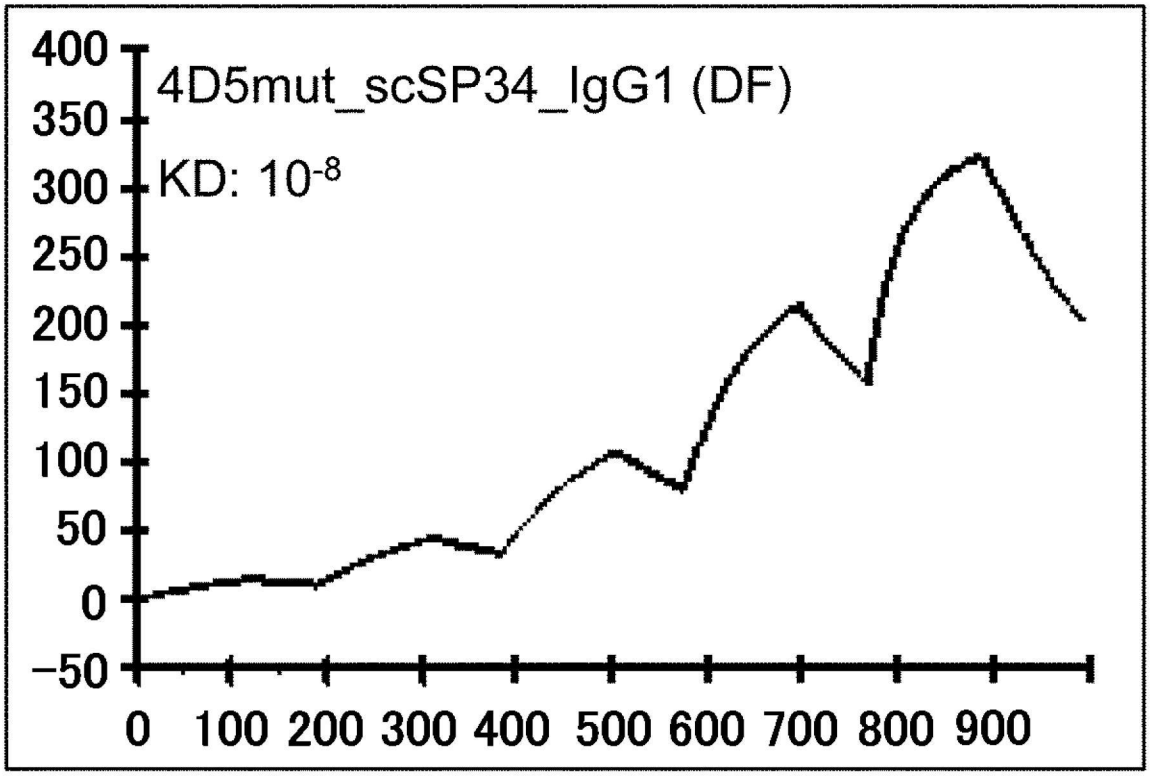
【圖22A】


scSP34(H05')
細胞指數
時間(h)
11.0
9.0
7.0
5.0
3.0
1.0
0
21
42
63
84
105
126
147
**
**; 4D5mut_scSP34(H05')_IgG1 (DF)
(50, 5, 0.5 nM)(重疊)
0.5% Triton X-100

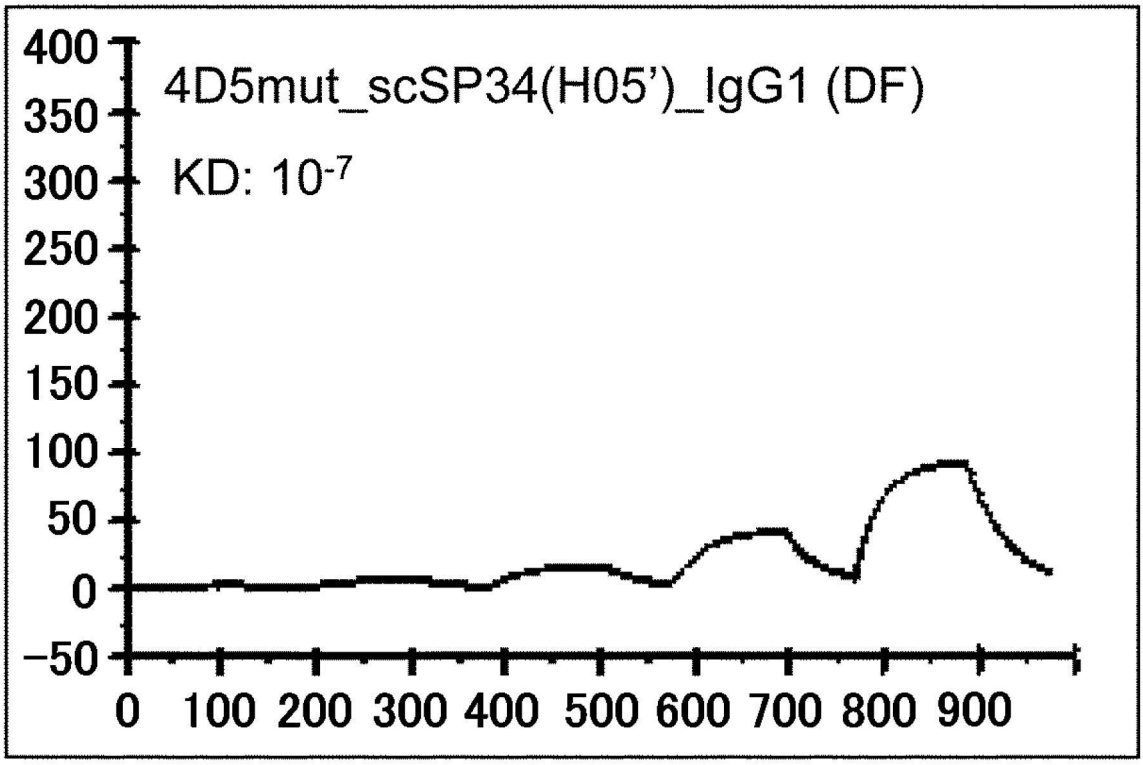
【圖22B】


scT3a
細胞指數
時間(h)
11.0
9.0
7.0
5.0
3.0
1.0
0
21
42
63
84
105
126
147
靶標＋PBMC
***
0.5% Triton X-100
***
4D5mut_scT3a_IgG1 (DF) (0.5 nM)
4D5mut_scT3a_IgG1 (DF) (50 nM)
4D5mut_scT3a_IgG1 (DF) (5 nM)

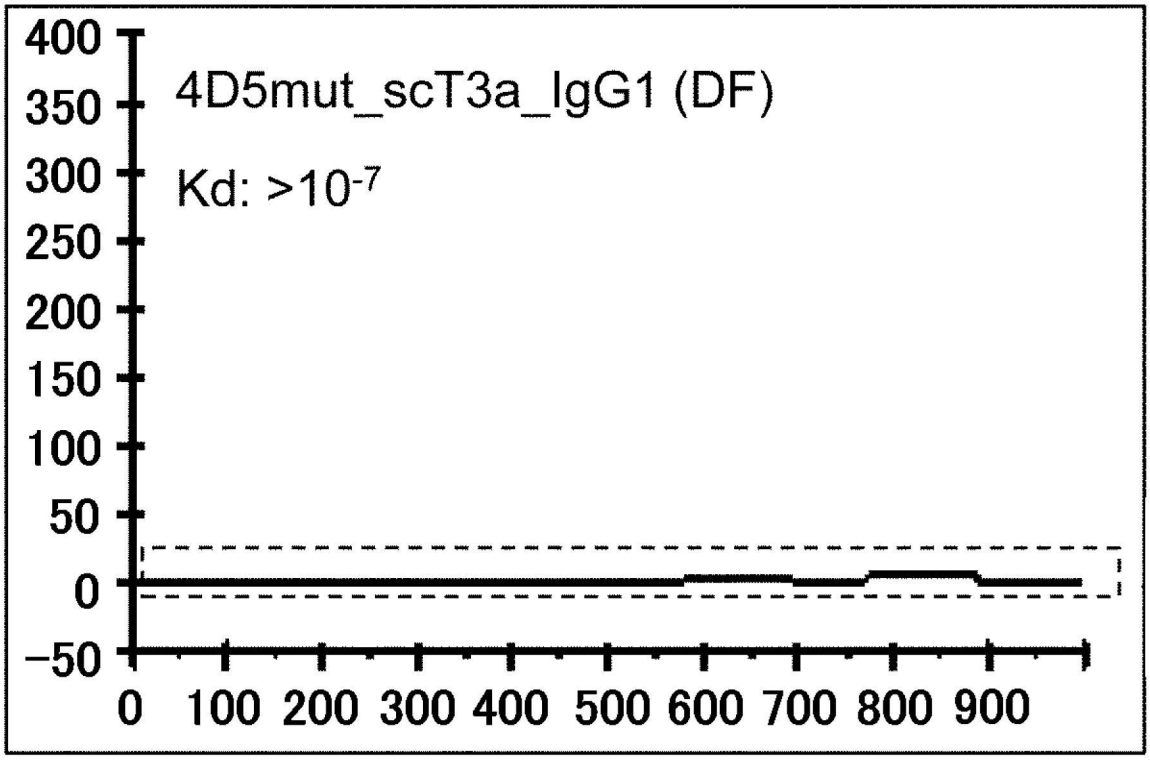
【圖22C】


4D5mut_scSP34_IgG1 (DF)
KD: 10-8
400
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900

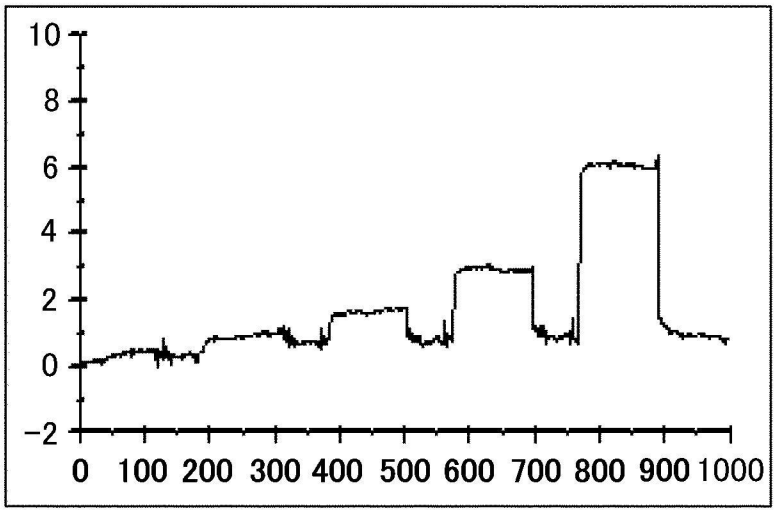
【圖22D】


4D5mut_scSP34(H05')_IgG1 (DF)
KD: 10-7
400
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900

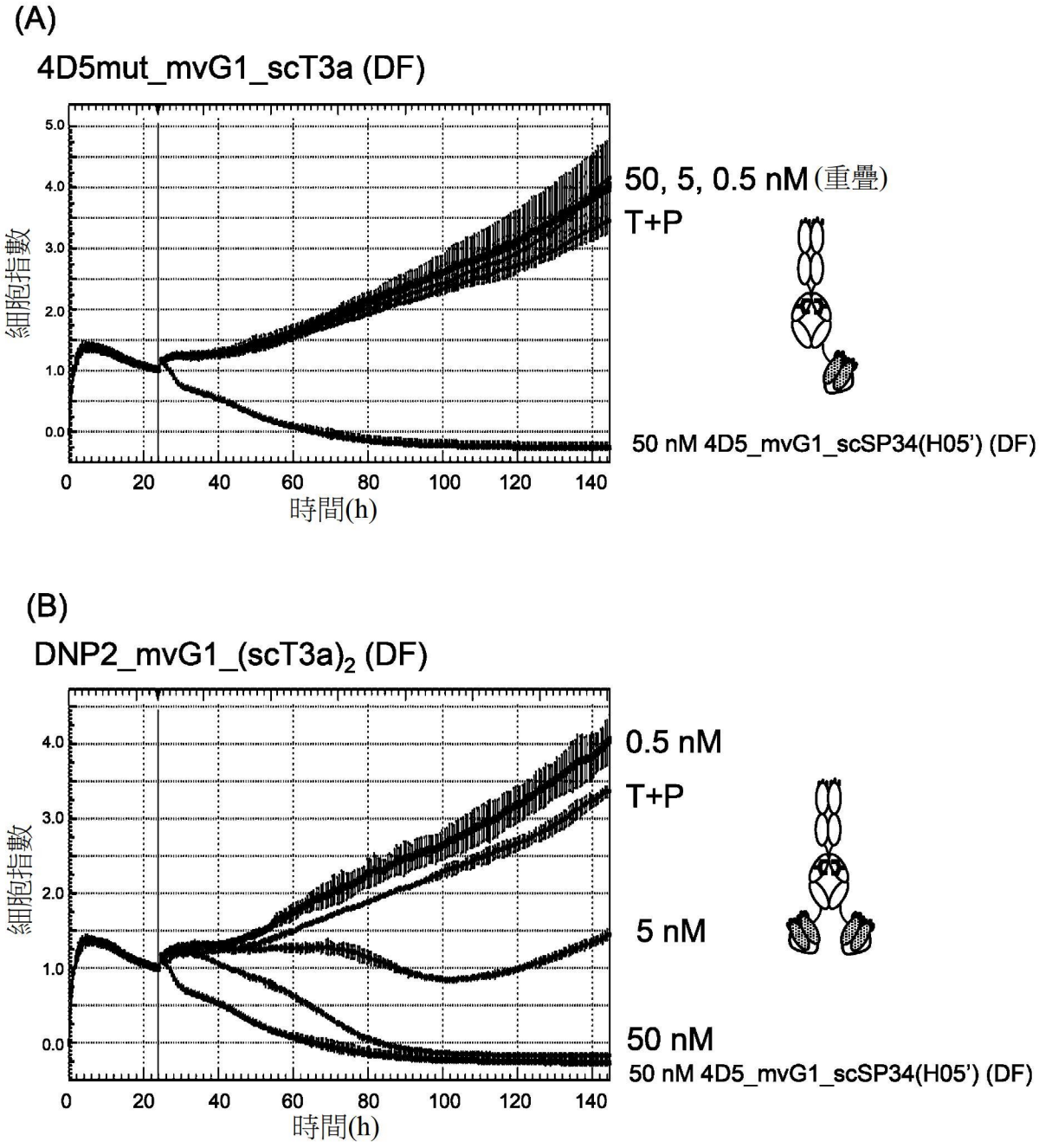
【圖22E】


4D5mut_scT3a_IgG1 (DF)
Kd: >10-7
400
350
300
250
200
150
100
50
0
−50
0 100 200 300 400 500 600 700 800 900

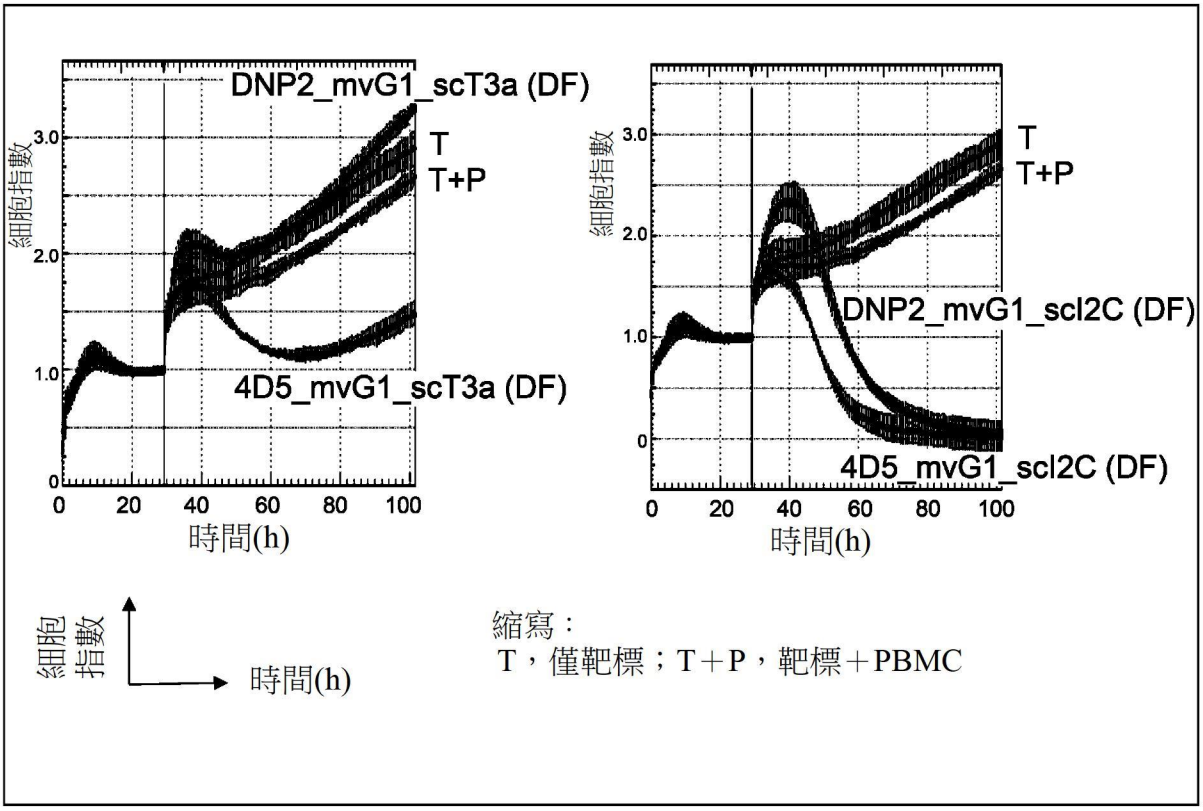
【圖22F】



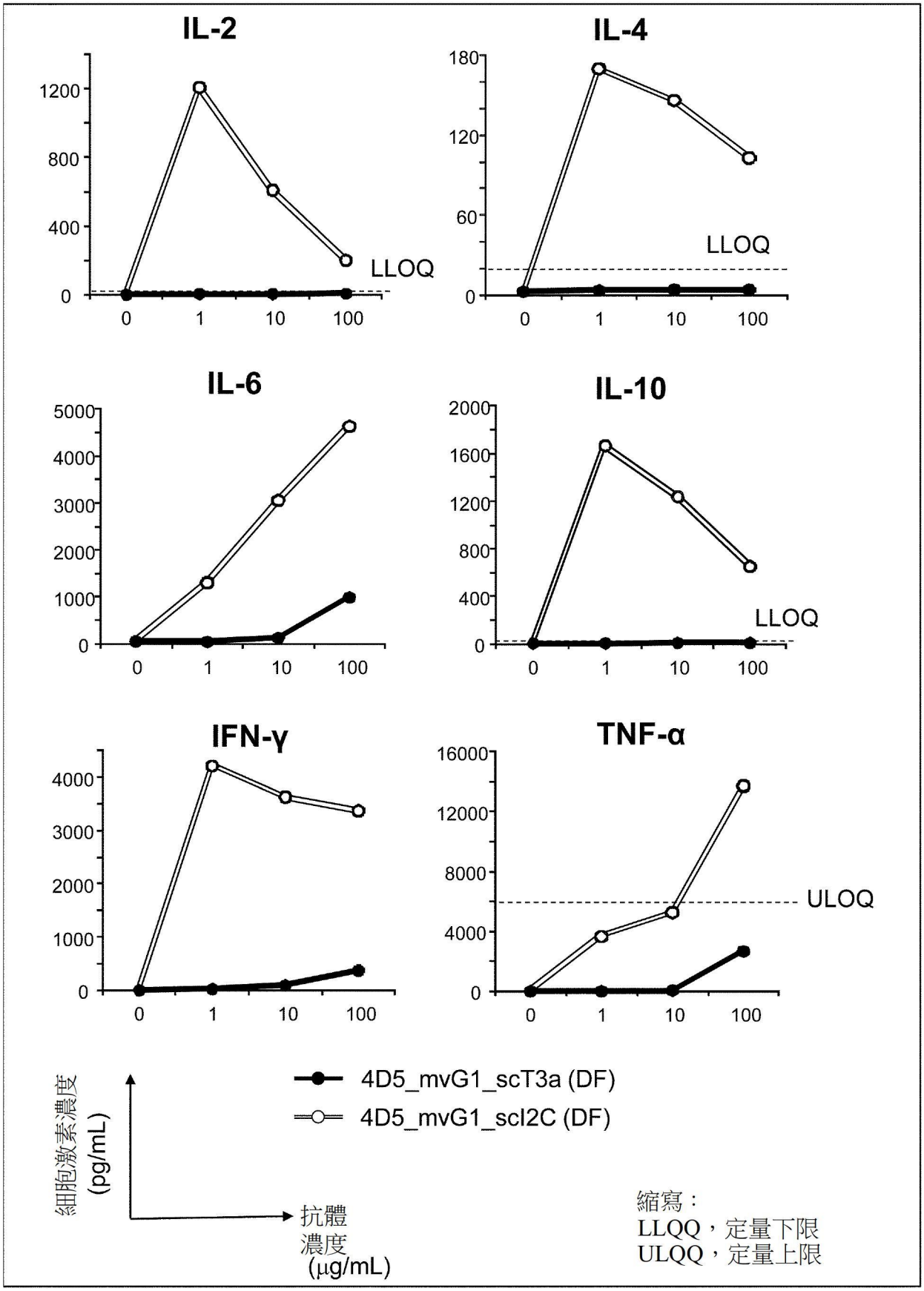
【圖22G】


(A)
4D5mut_mvG1_scT3a (DF)
細胞指數
時間(h)
50, 5, 0.5 nM (重疊)
T+P
50 nM 4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
(B)
DNP2_mvG1_(scT3a)2 (DF)
細胞指數
時間(h)
0.5 nM
T+P
5 nM
50 nM
50 nM 4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)

【圖23】


DNP2_mvG1_scT3a (DF)
T
T+P
4D5_mvG1_scT3a (DF)
細胞指數
時間(h)
DNP2_mvG1_scl2C (DF)
4D5_mvG1_scl2C (DF)
細胞指數
時間(h)
縮寫：
T，僅靶標；T＋P，靶標＋PBMC

【圖24A】


IL-2
1200
800
400
0
LLOQ
0
1
10
100
IL-4
180
120
60
0
LLOQ
IL-6
5000
4000
3000
2000
1000
IL-10
2000
1600
1200
800
400
IFN-γ
TNF-α
16000
12000
8000
4000
ULOQ
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_mvG1_scI2C (DF)
細胞激素濃度 (pg/mL)
抗體濃度 (μg/mL)
縮寫：
LLQQ，定量下限
ULQQ，定量上限

【圖24B】

(A)

		CDRL1	CDRL2	CDRL3
SP34_VL		RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRAP	ALWYSNLWV
L01	L32-YA	RSSTGAVTTSN**A**AN	GTNKRAP	ALWYSNLWV
L02	L50-GP	RSSTGAVTTSNYAN	**P**TNKRAP	ALWYSNLWV
L03	L53-KA	RSSTGAVTTSNYAN	GTN**A**RAP	ALWYSNLWV
L04	L53-KI	RSSTGAVTTSNYAN	GTN**I**RAP	ALWYSNLWV
L05	L53-KS	RSSTGAVTTSNYAN	GTN**S**RAP	ALWYSNLWV
L06	L56-PG	RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRA**G**	ALWYSNLWV
L07	L92-YA	RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRAP	ALW**A**SNLWV
L08	L92-YR	RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRAP	ALW**R**SNLWV
L09	L92-YT	RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRAP	ALW**T**SNLWV
L10	L93-SE	RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRAP	ALWY**E**NLWV
L11	L96-WD	RSSTGAVTTSNYAN	GTNKRAP	ALWYSNL**D**V

		CDRH1	CDRH2	CDRH3
SP34 VH		TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGNFGNSYVSWFAY
H01	H32-YA	T**A**AMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGNFGNSYVSWFAY
H02	H98-FA	TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGN**A**GNSYVSWFAY
H03	H98-FY	TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGN**Y**GNSYVSWFAY
H04	H100A-SE	TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGNFGN**E**YVSWFAY
H05	H100B-YD	TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGNFGNS**D**VSWFAY
H06	H100B-YE	TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGNFGNS**E**VSWFAY
H07	H100B-YR	TYAMN	RIRSKYNNYATYYADSVKD	HGNFGNS**R**VSWFAY

(B)

No.	VL突變			VH突變
2-01	L32-YA	L93-SE		
2-02	L32-YA	L53-KA	L93-SE	
2-03	L32-YF			H98-FY
2-04	L32-YF			H100A-SE
2-05	L32-YF			H100B-YD
2-06	L32-YF			H100B-YE
2-07	L32-YF	L93-SE		H98-FY
2-08	L32-YF	L93-SE		H100A-SE
2-09	L32-YF	L93-SE		H100B-YD
2-10	L32-YF	L93-SE		H100B-YE
2-11	L53-KA	L93-SE		H98-FY
2-12	L53-KA	L93-SE		H100A-SE
2-13	L92-YA	L93-SE		
2-14	L92-YT	L93-SE		H98-FY
2-15	L92-YT	L93-SE		H100A-SE

No.	VL突變		VH突變	
2-16	L92-YT	L93-SE	H100B-YD	
2-17	L92-YT	L93-SE	H100B-YE	
2-18		L93-SE	H98-FY	H100A-SE
2-19		L93-SE	H98-FY	H100B-YD
2-20		L93-SE	H98-FY	H100B-YE
2-21	L32-YA	L93-SE	H100B-YR	
2-22	L53-KA	L93-SE	H100B-YR	
2-23	L92-YT	L93-SE	H100B-YR	
2-24		L93-SE	H100B-YA	
2-25		L93-SE	H100B-YL	
2-26		L93-SE	H100B-YM	
2-27		L93-SE	H100B-YN	
2-28		L93-SE	H100B-YS	

【圖25】

(A)

	FR L1		FR L2		FR L3		FR L4
SP34 VL	QAVVTQESALTTSPGETVTLTC		WVQEKPDHLFTGLIG		GVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC		FGGGTKLTVL
LV0	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLIC		WFQQKPGQAPTTLIY		WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYC		FGCGTKLTVL
LV4a	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLIC		WVQQKPGQAFTGLIG		WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYC		FGCGTKLTVL
LV4b	QAVVTQEPSLTVSPGETVTLTC	CDR L1	WFQQKPGQAFTTLIY	CDR L2	WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAIYYC	CDR L3	FGCGTKLTVL
LV5	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC		WVQQKPGQAPTTLIG		GVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAIYYC		FGCGTKLTVL
LV8a	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC		WVQQKPGQAFTGLIG		GVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAIYFC		FGCGTKLTVL
LV8b	QAVVTQEPSLTVSPGETVTLTC		WVQQKPGQAFTGLIG		WVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAIYYC		FGCGTKLTVL
LV13	QAVVTQESSLTTSPGETVTLTC		WVQQKPDQAFTGLIG		WVPARFSGSLLGDKAALTLSGAQTEDEAIYYC		FGCGTKLTVL

(B)

	FR H1		FR H2		FR H3		FR H4
SP34 VH	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFN		WVRQAPGKGLEWVA		RFTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVR		WGQGTLVTVSS
HV0	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		WVRQAPGKCLEWVG		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		WVRQAPGKCLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV2a	EVQLVESGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTFS	CDR H1	WVRQAPGKCLEWVG	CDR H2	RFTISRDDSKNILYLQMNSLKTEDTAVYYCAR	CDR H3	WGQGTLVTVSS
HV2b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN		WVRQAPGKCLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV2c	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		WVRQAPGKCLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAMYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN		WVRQAPGKCLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVR		WGQGTLVTVSS
HV5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN		WVRQAPGKCLEWVA		RFTISRDDSKSSLYLQMNSLKTEDTAMYYCVR		WGQGTLVTVSS

(C)

	FR L1		FR L2		FR L3		FR L4
SP34 VL	QAVVTQESALTTSPGETVTLTC		WVQEKPDHLFTGLIG		GVPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC		FGGGTKLTVL
LV0	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLIC		WFQQKPGQAPTTLIY		WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYC		FGGGTKLTVL
LV3	QAVVTQEPSLTVSPGETVTLIC		WFQQKPGQAFTTLIY		WTPARFSGSILGGKAALTLSGAQPFDEAIYYC		FGGCTKLTVL
LV4	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC	CDR	WVQQKPGQAFTGLIG	CDR	WTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEADYYC	CDR	FGGGTKLTVL
LV5	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLIC	L1	WVQQKPGQAPTTLIG	L2	GVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAIYYC	L3	FGGGTKLTVL
LV8a	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTC		WVQQKPGQAFTGLIG		GVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAIYFC		FGGGTKLTVL
LV8b	QAVVTQEPSLTVSPGETVTLTC		WVQQKPGQAFTGLIG		WVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAIYYC		FGGGTKLTVL
LV12	QAVVTQESSLTTSPGETVTLTC		WVQQKPDQAFTGLIG		WVPARFSGSILGDKAALTLSGAQTEDEAIYYC		FGGCTKLTVL

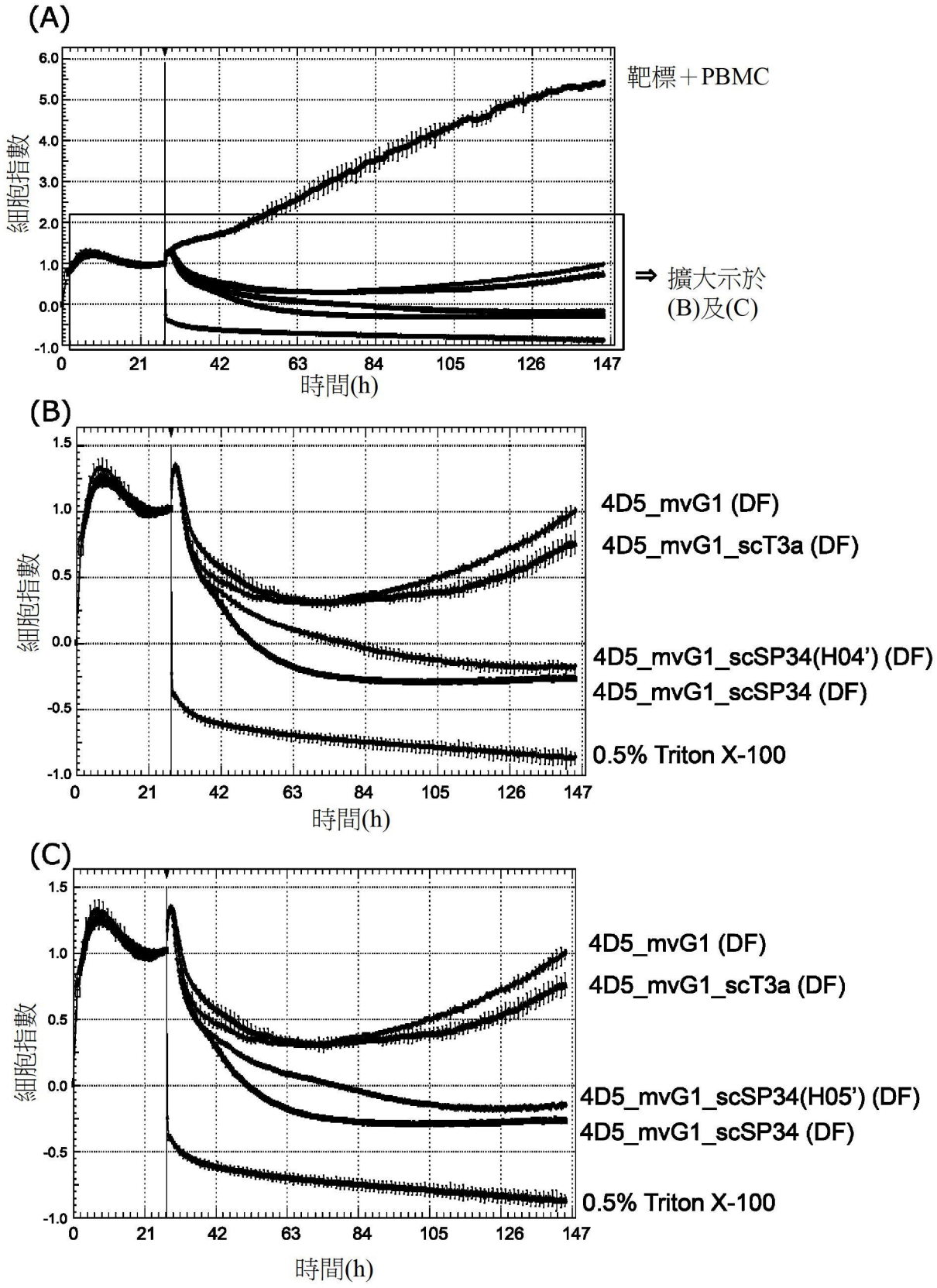
(D)

	FR H1		FR H2		FR H3		FR H4
SP34 VH	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFN		WVRQAPGKGLEWVA		RFTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVR		WGQGTLVTVSS
HV0	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		WVRQAPGKGLEWVG		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		WVRQAPGKGLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV2a	EVQLVESGGGLVQPKGSLRLSCAASGFTFS	CDR	WVRQAPGKGLEWVG	CDR	RFTISRDDSKNILYLQMNSLKTEDTAVYYCAR	CDR	WGQGTLVTVSS
HV2b	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN	H1	WVRQAPGKGLEWVA	H2	RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR	H3	WGQGTLVTVSS
HV2c	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS		WVRQAPGKGLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAMYYCAR		WGQGTLVTVSS
HV3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN		WVRQAPGKGLEWVA		RFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVR		WGQGTLVTVSS
HV5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFN		WVRQAPGKGLEWVA		RFTISRDDSKSSLYLQMNSLKTEDTAMYYCVR		WGQGTLVTVSS

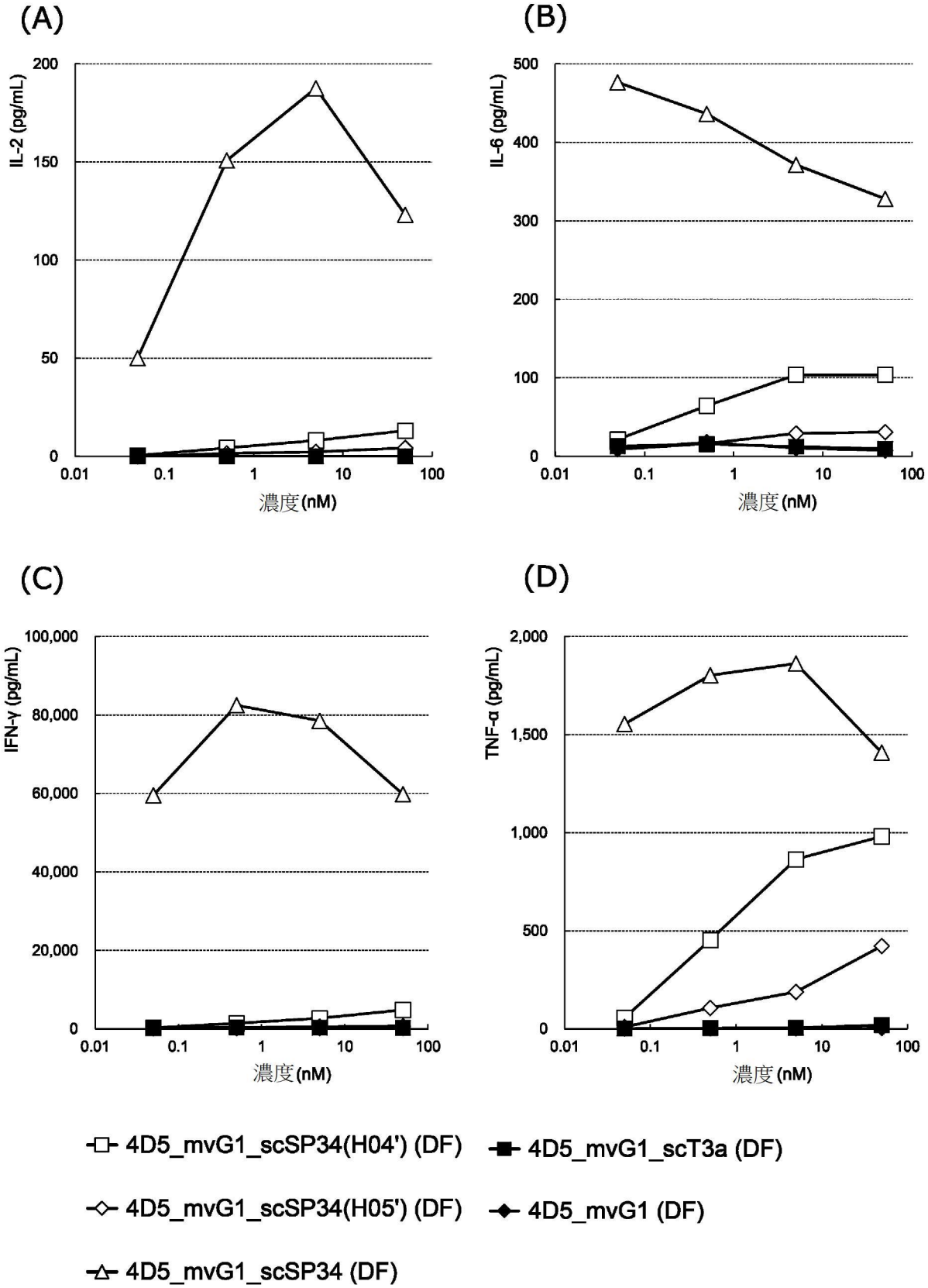
【圖26】

抗體	突變	週期	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
01. 4D5_mvG1_scSP34(L03)	L53-KA	週期： 13	2.24E+5	7.34E-3	3.28E-8
02. 4D5_mvG1_scSP34(L04)	L53-KI	週期： 16	2.85E+5	3.77E-3	1.32E-8
03. 4D5_mvG1_scSP34(L08)	L92-YR	週期： 19	3.04E+5	8.00E-3	2.63E-8
04. 4D5_mvG1_scSP34(L09)	L92-YT	週期： 22	4.89E+5	26.81E-3	5.48E-8
05. 4D5_mvG1_scSP34(H03)	H98-FY	週期： 25	4.62E+5	36.71E-3	7.95E-8
06. 4D5_mvG1_scSP34(H04)	H100A-SE	週期： 28	5.88E+5	44.69E-3	7.60E-8
07. 4D5_mvG1_scSP34(H05)	H100B-YD	週期： 31	5.50E+5	45.91E-3	8.35E-8
08. 4D5_mvG1_scSP34(H06)	H100B-YE	週期： 34	3.29E+5	25.01E-3	7.61E-8
09. 4D5_mvG1_scSP34(L03')	L53-KA, L93-SE	週期： 37	2.59E+5	6.85E-3	2.65E-8
10. 4D5_mvG1_scSP34(L04')	L53-KI, L93-SE	週期： 40	1.89E+5	3.10E-3	1.64E-8
11. 4D5_mvG1_scSP34(L08')	L92-YR, L93-SE	未獲得蛋白質			
12. 4D5_mvG1_scSP34(L09')	L92-YT, L93-SE	週期： 43	2.96E+5	15.09E-3	5.10E-8
13. 4D5_mvG1_scSP34(H03')	H98-FY, L93-SE	週期： 46	2.46E+5	35.10E-3	14.25E-8
14. 4D5_mvG1_scSP34(H04')	H100A-SE, L93-SE	週期： 49	7.10E+5	48.56E-3	6.84E-8
15. 4D5_mvG1_scSP34(H05')	H100B-YD, L93-SE	週期： 52	3.06E+5	30.96E-3	10.12E-8
16. 4D5_mvG1_scSP34(H06')	H100B-YE, L93-SE	週期： 55	2.18E+5	18.70E-3	8.57E-8
17. 4D5_mvG1_scSP34	-	週期： 7	3.86E+5	3.50E-3	0.91E-8
18. 4D5_mvG1_scSP34	-	週期： 58	3.96E+5	3.59E-3	0.91E-8

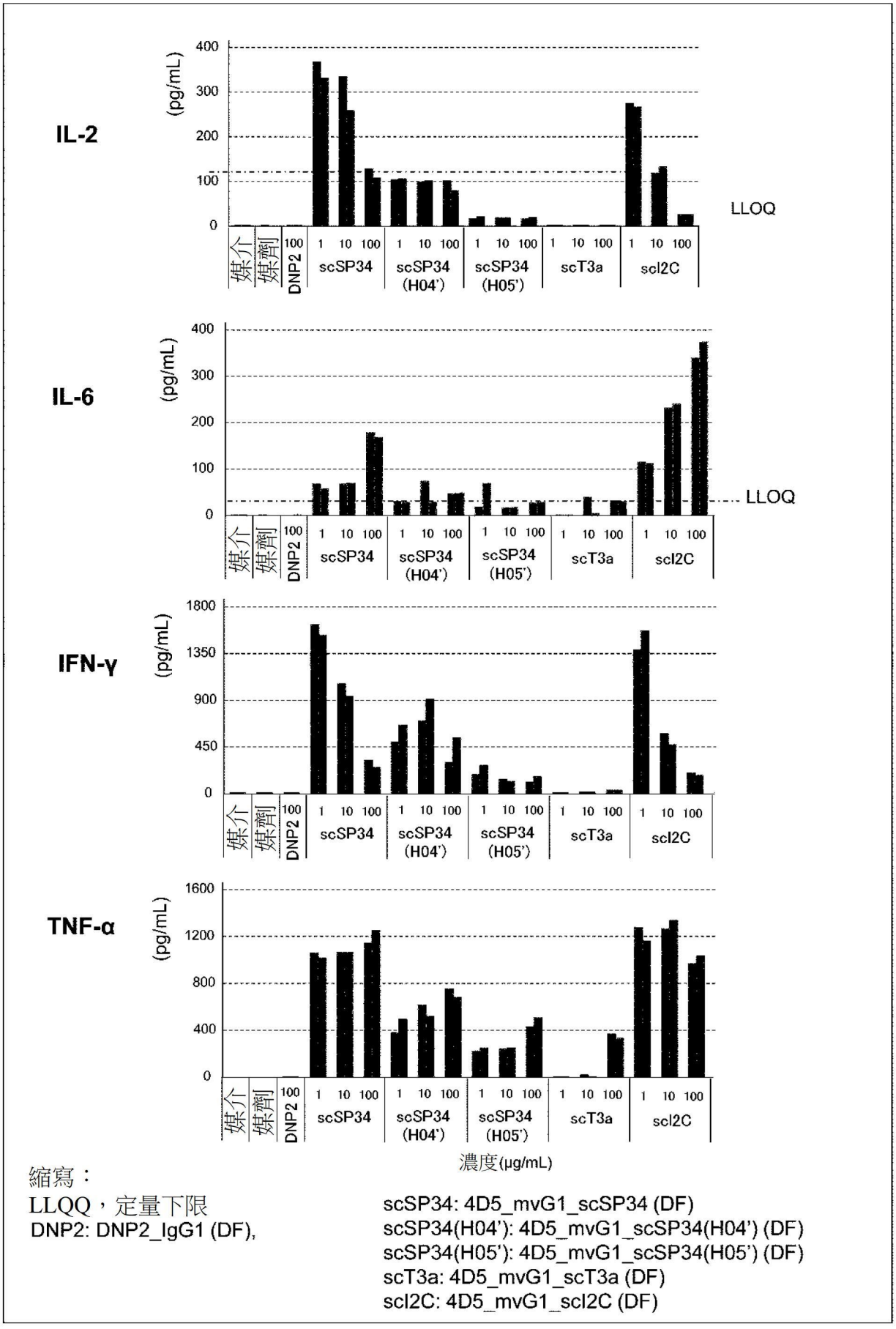
【圖27】


(A)
細胞指數
時間(h)
靶標＋PBMC
⇒ 擴大示於
(B)及(C)
(B)
細胞指數
時間(h)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H04') (DF)
4D5_mvG1_scSP34 (DF)
0.5% Triton X-100
(C)
細胞指數
時間(h)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1_scSP34 (DF)
0.5% Triton X-100

【圖28】


(A)
IL-2 (pg/mL)
200
150
100
50
0
0.01
0.1
1
10
100
濃度(nM)
(B)
IL-6 (pg/mL)
500
400
300
200
100
0
0.01
0.1
1
10
100
濃度(nM)
(C)
IFN-γ (pg/mL)
100,000
80,000
60,000
40,000
20,000
0
0.01
0.1
1
10
100
濃度(nM)
(D)
TNF-α (pg/mL)
2,000
1,500
1,000
500
0
0.01
0.1
1
10
100
濃度(nM)
4D5_mvG1_scSP34(H04') (DF)
4D5_mvG1_scT3a (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scSP34 (DF)

【圖29】


IL-2
IL-6
IFN-γ
TNF-α
(pg/mL)
LLOQ
媒介
媒劑
DNP2
scSP34
scSP34 (H04')
scSP34 (H05')
scT3a
scI2C
濃度(μg/mL)
縮寫：
LLQQ，定量下限
DNP2: DNP2_IgG1 (DF),
scSP34: 4D5_mvG1_scSP34 (DF)
scSP34(H04'): 4D5_mvG1_scSP34(H04') (DF)
scSP34(H05'): 4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
scT3a: 4D5_mvG1_scT3a (DF)
scI2C: 4D5_mvG1_scI2C (DF)

【圖30】

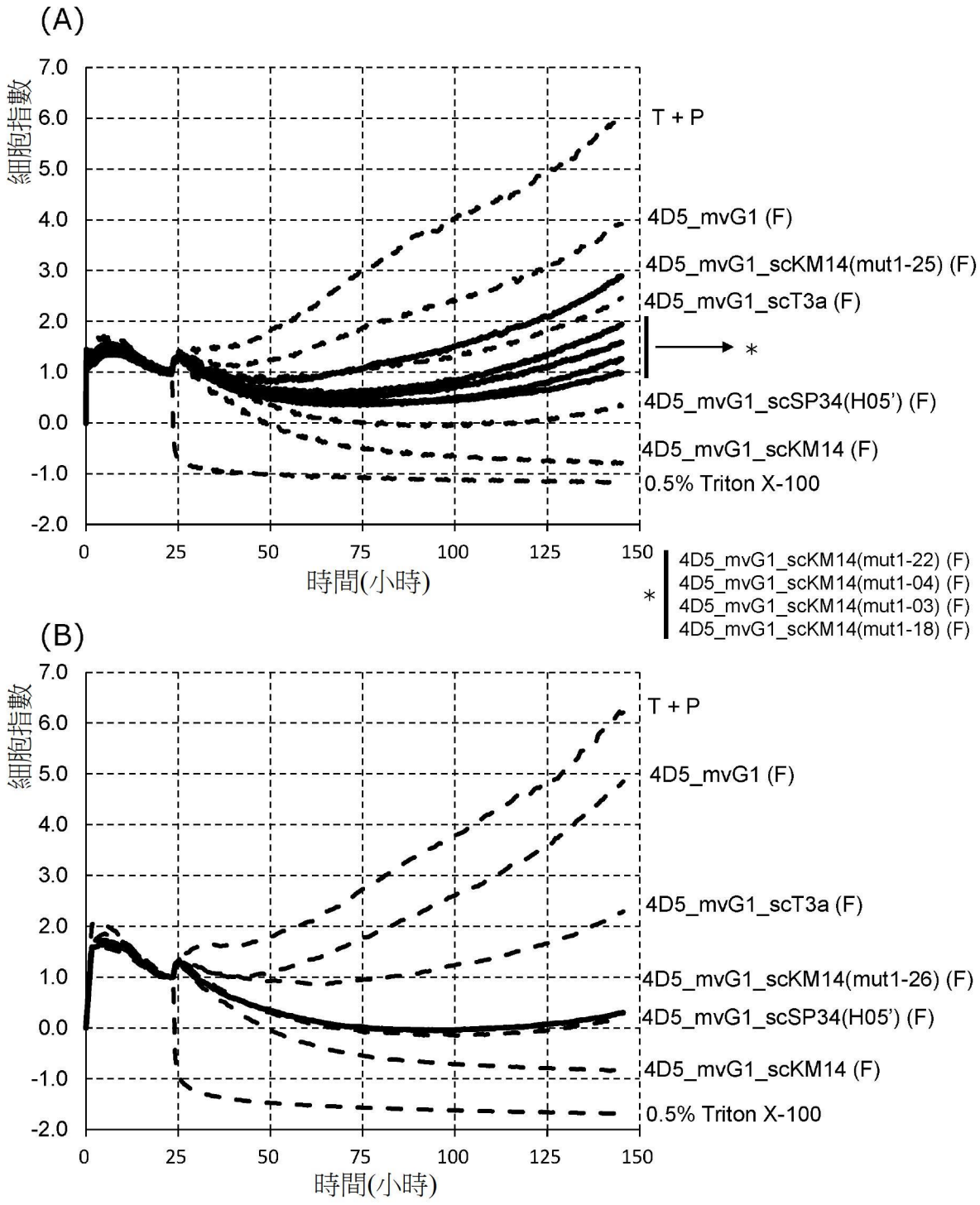
		CDRL1	CDRL2	CDRL3
KM14 VL		RASQGISSALA	DASSLES	QQFNSYPRT
mut1-01	L29-IK	RASQG**K**SSALA	DASSLES	QQFNSYPRT
mut1-02	L29-IE	RASQG**E**SSALA	DASSLES	QQFNSYPRT
mut1-03	L29-IR	RASQG**R**SSALA	DASSLES	QQFNSYPRT
mut1-04	L29-IQ	RASQG**Q**SSALA	DASSLES	QQFNSYPRT
mut1-05	L54-LH	RASQGISSALA	DASS**H**ES	QQFNSYPRT
mut1-06	L91-FA	RASQGISSALA	DASSLES	QQ**A**NSYPRT
mut1-07	L91-FD	RASQGISSALA	DASSLES	QQ**D**NSYPRT
mut1-08	L94-YA	RASQGISSALA	DASSLES	QQFNS**A**PRT
mut1-09	L94-YD	RASQGISSALA	DASSLES	QQFNS**D**PRT
mut1-10	L94-YE	RASQGISSALA	DASSLES	QQFNS**E**PRT
mut1-11	L94-YN	RASQGISSALA	DASSLES	QQFNS**N**PRT

		CDRH1	CDRH2	CDRH3
KM14 VH		SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-12	H31-SW	**W**HGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-13	H31-SY	**Y**HGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-14	H52-WS	SHGMH	SI**S**YDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-15	H52-WD	SHGMH	SI**D**YDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-16	H52-WE	SHGMH	SI**E**YDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-17	H53-DA	SHGMH	SIWY**A**GSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-18	H53-DE	SHGMH	SIWY**E**GSKKYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-19	H56-KA	SHGMH	SIWYDGS**A**KYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-20	H56-KD	SHGMH	SIWYDGS**D**KYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-21	H56-KE	SHGMH	SIWYDGS**E**KYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-22	H56-KV	SHGMH	SIWYDGS**V**KYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-23	H56-KW	SHGMH	SIWYDGS**W**KYYADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-24	H58-YA	SHGMH	SIWYDGSKK**A**YADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-25	H58-YD	SHGMH	SIWYDGSKK**D**YADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-26	H58-YS	SHGMH	SIWYDGSKK**S**YADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-27	H58-YT	SHGMH	SIWYDGSKK**T**YADSVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-28	H61-DS	SHGMH	SIWYDGSKKYYA**S**SVKG	TLYYYGSERAHGLDV
mut1-29	H97-YA	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TL**A**YYGSERAHGLDV
mut1-30	H97-YD	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TL**D**YYGSERAHGLDV
mut1-31	H97-YE	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TL**E**YYGSERAHGLDV
mut1-32	H98-YA	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLY**A**YGSERAHGLDV
mut1-33	H98-YD	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLY**D**YGSERAHGLDV
mut1-34	H98-YE	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLY**E**YGSERAHGLDV
mut1-35	H99-YA	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYY**A**GSERAHGLDV
mut1-36	H99-YD	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYY**D**GSERAHGLDV
mut1-37	H99-YE	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYY**E**GSERAHGLDV
mut1-38	H100B-EA	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGS**A**RAHGLDV
mut1-39	H100B-ET	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGS**T**RAHGLDV
mut1-40	H100C-RK	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSE**K**AHGLDV
mut1-41	H100C-RS	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSE**S**AHGLDV
mut1-42	H100C-RY	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSE**Y**AHGLDV
mut1-43	H100E-HA	SHGMH	SIWYDGSKKYYADSVKG	TLYYYGSERA**A**GLDV

【圖31】

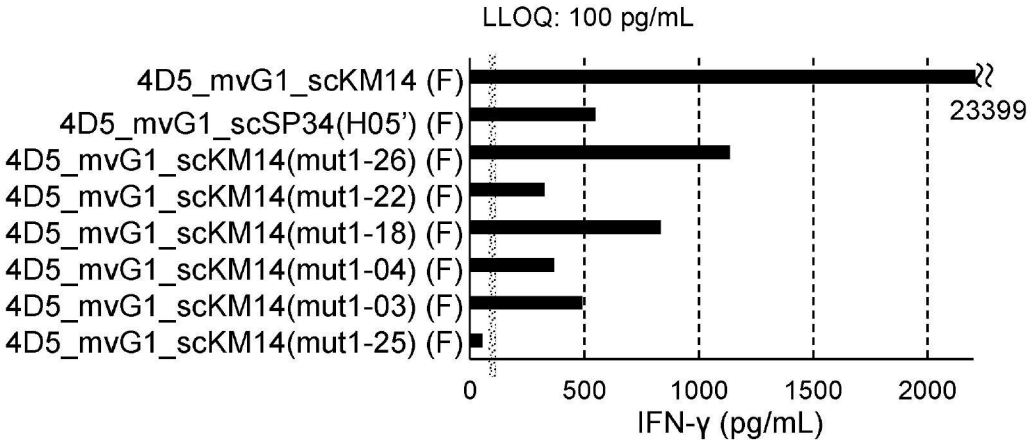
scFv	KD (M) （表面電漿子 共振分析儀）	專一性細胞毒性
KM14	5.78E-8	+++
mut1-01	8.08E-8	未測試
mut1-03	9.80E-8	++
mut1-04	24.77E-8	++
mut1-05	6.33E-8	+++
mut1-12	4.34E-8	+++
mut1-13	7.19E-8	未測試
mut1-18	22.10E-8	++
mut1-19	11.94E-8	未測試
mut1-22	42.60E-8	++
mut1-23	9.15E-8	未測試
mut1-24	10.34E-8	未測試
mut1-25	46.90E-8	+
mut1-26	13.55E-8	++
mut1-27	9.70E-8	未測試
mut1-28	6.36E-8	未測試
mut1-35	8.22E-8	+++
mut1-37	26.81E-8	未測試
mut1-38	8.33E-8	未測試
mut1-39	7.48E-8	+++
mut1-40	6.79E-8	+++
mut1-42	91.57E-8	未測試

【圖32】

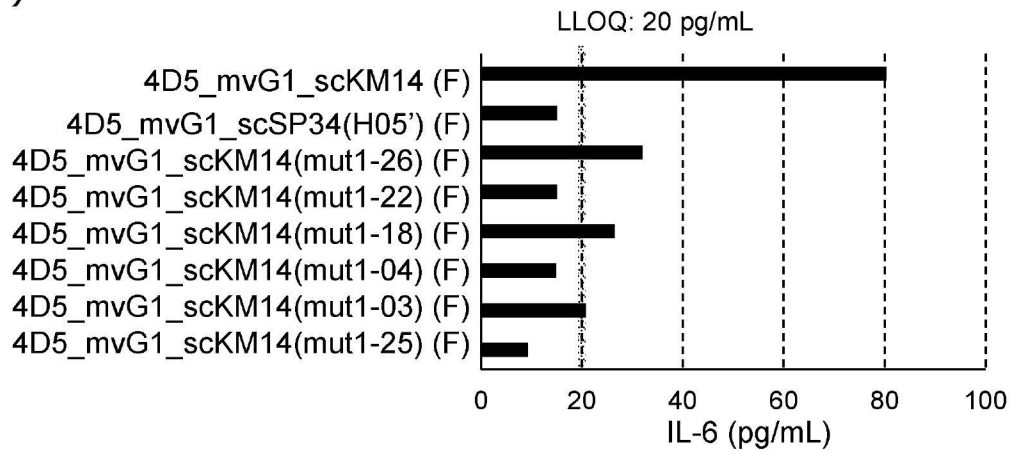

(A)
細胞指數
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
-1.0
-2.0
0
25
50
75
100
125
150
時間(小時)
T + P
4D5_mvG1 (F)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (F)
4D5_mvG1_scT3a (F)
*
4D5_mvG1_scSP34(H05') (F)
4D5_mvG1_scKM14 (F)
0.5% Triton X-100
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (F)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (F)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (F)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (F)
(B)
細胞指數
時間(小時)
T + P
4D5_mvG1 (F)
4D5_mvG1_scT3a (F)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (F)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (F)
4D5_mvG1_scKM14 (F)
0.5% Triton X-100
細胞指數
時間
縮寫：
T＋P，靶標＋PBMC

【圖33】

(A)

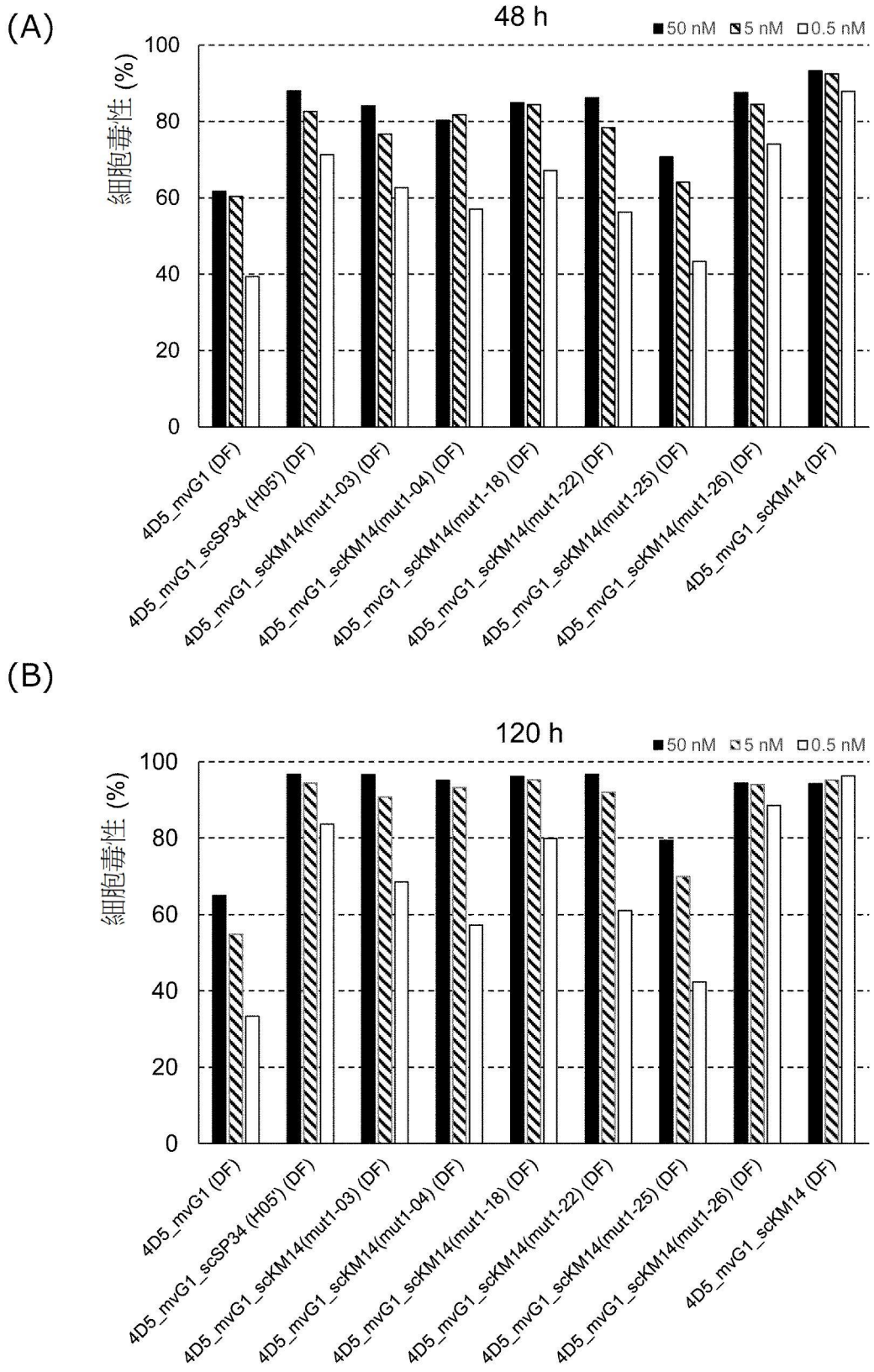


(B)

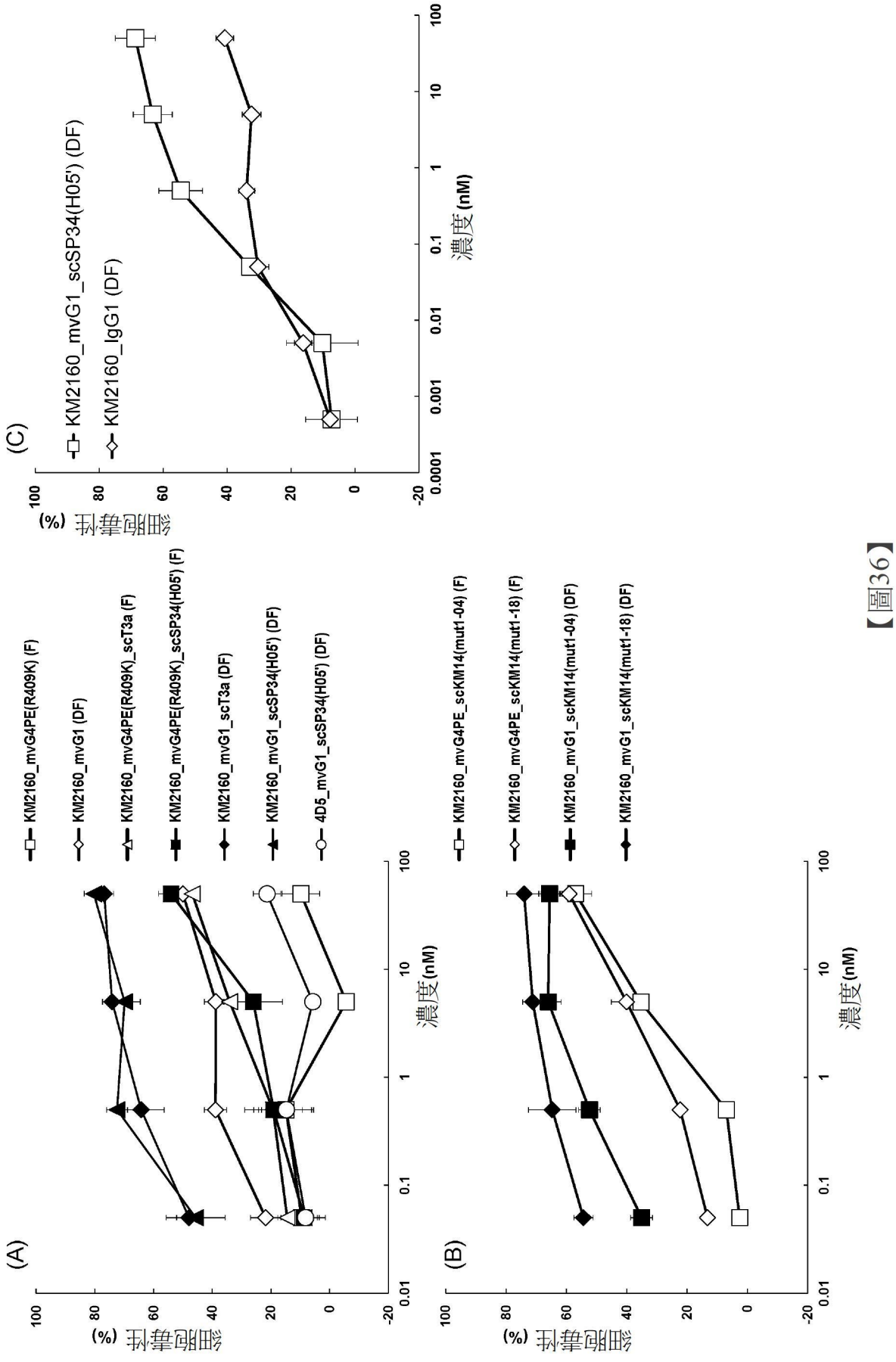


LLQQ，定量下限

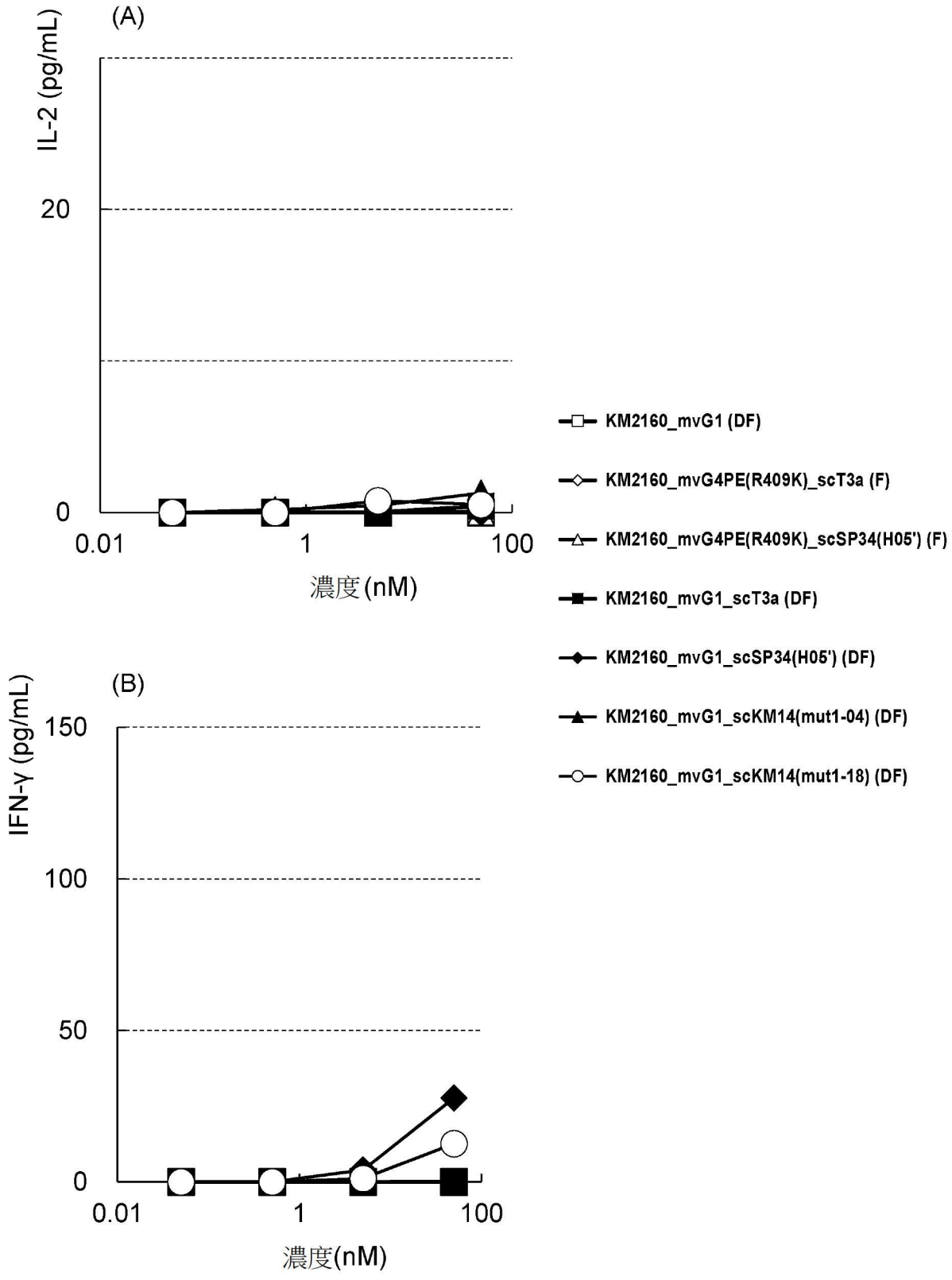
【圖34】


(A)
48 h
50 nM
5 nM
0.5 nM
細胞毒性 (%)
100
80
60
40
20
0
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scSP34 (H05') (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)
4D5_mvG1_scKM14 (DF)
(B)
120 h
50 nM
5 nM
0.5 nM
細胞毒性 (%)
100
80
60
40
20
0
4D5_mvG1 (DF)
4D5_mvG1_scSP34 (H05') (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)
4D5_mvG1_scKM14 (DF)

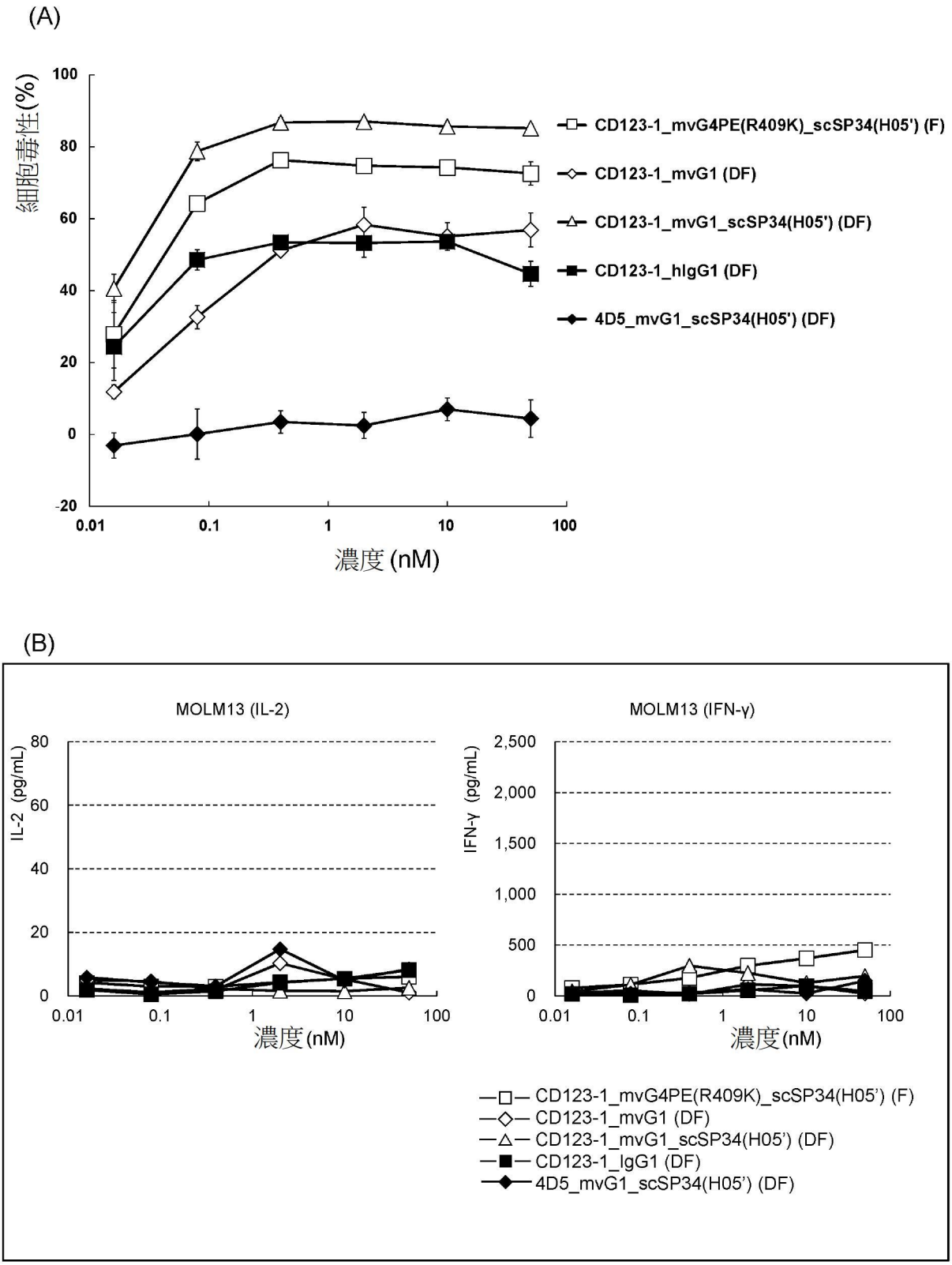
【圖35】


(A)
KM2160_mvG4PE(R409K) (F)
KM2160_mvG1 (DF)
KM2160_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
KM2160_mvG4PE(R409K)_scSP34(H05') (F)
KM2160_mvG1_scT3a (DF)
KM2160_mvG1_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
細胞毒性 (%)
濃度(nM)
(B)
KM2160_mvG4PE_scKM14(mut1-04) (F)
KM2160_mvG4PE_scKM14(mut1-18) (F)
KM2160_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
KM2160_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
細胞毒性 (%)
濃度(nM)
(C)
KM2160_mvG1_scSP34(H05') (DF)
KM2160_IgG1 (DF)
細胞毒性 (%)
濃度 (nM)

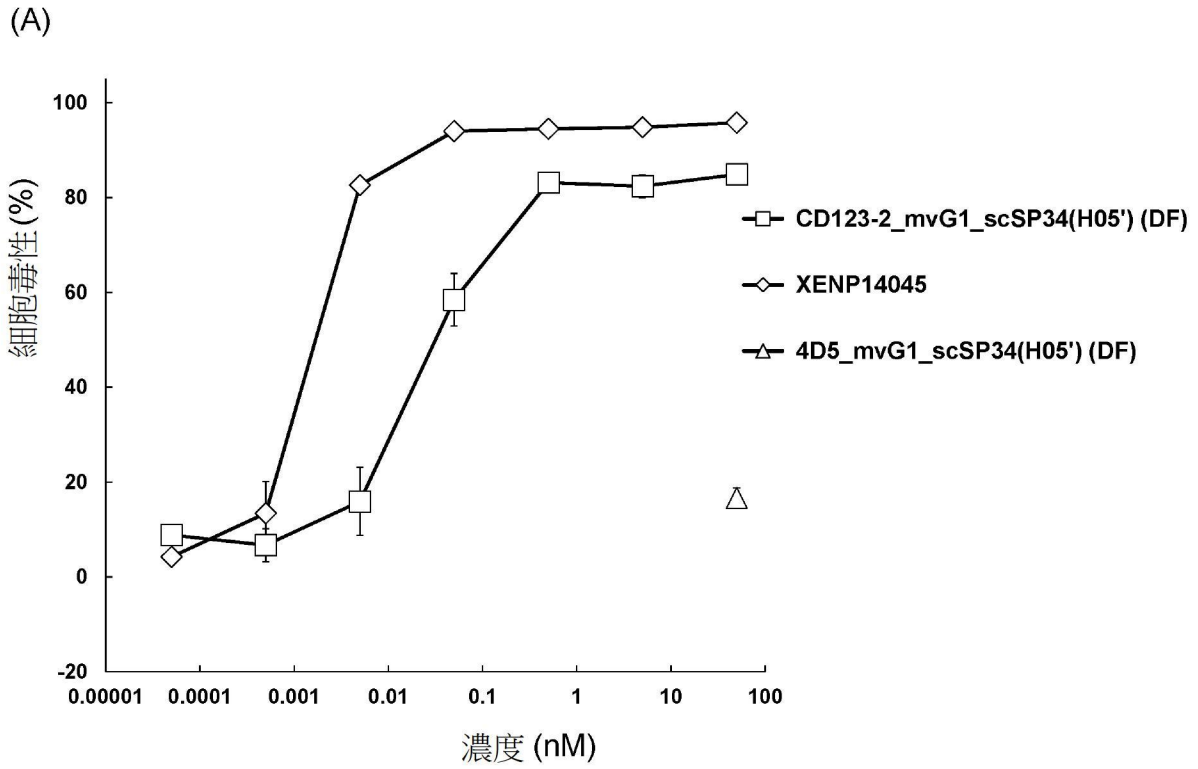
【圖36】

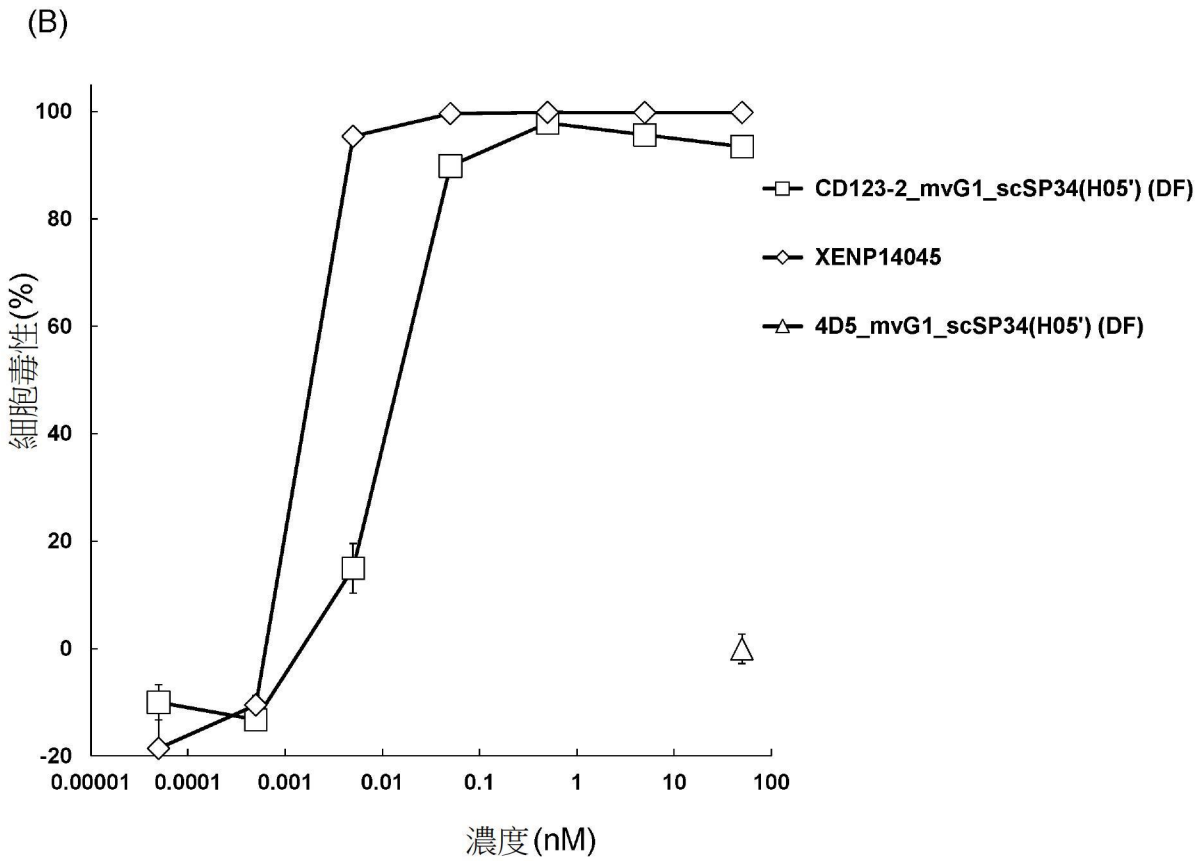

(A)
IL-2 (pg/mL)
20
0
0.01
1
100
濃度(nM)
KM2160_mvG1 (DF)
KM2160_mvG4PE(R409K)_scT3a (F)
KM2160_mvG4PE(R409K)_scSP34(H05') (F)
KM2160_mvG1_scT3a (DF)
KM2160_mvG1_scSP34(H05') (DF)
KM2160_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
KM2160_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
(B)
IFN-γ (pg/mL)
150
100
50
0
0.01
1
100
濃度(nM)

【圖37】

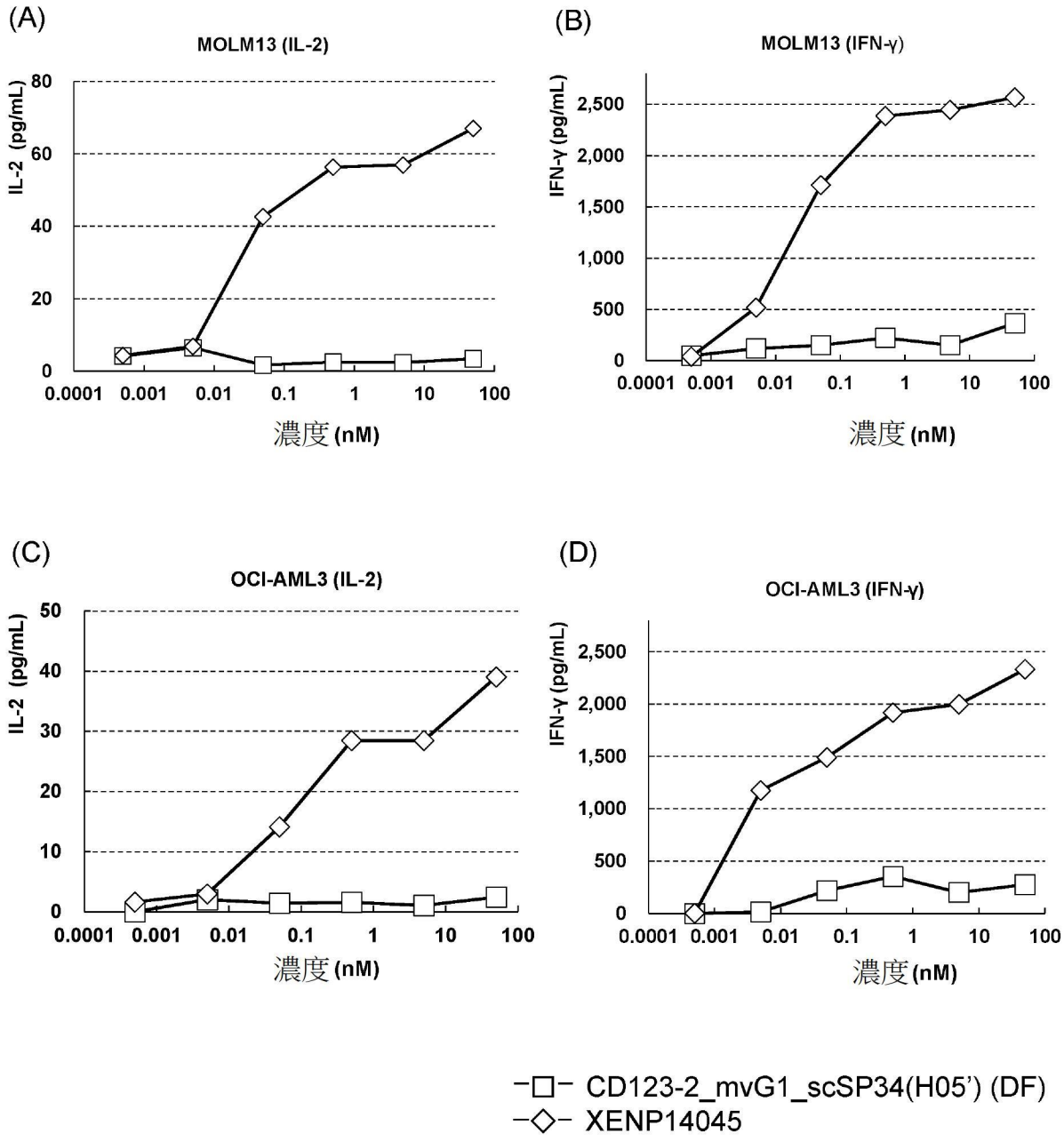

(A)
細胞毒性(%)
100
80
60
40
20
0
-20
0.01
0.1
1
10
100
濃度 (nM)
CD123-1_mvG4PE(R409K)_scSP34(H05') (F)
CD123-1_mvG1 (DF)
CD123-1_mvG1_scSP34(H05') (DF)
CD123-1_hIgG1 (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
(B)
MOLM13 (IL-2)
IL-2 (pg/mL)
80
60
40
20
0
濃度(nM)
MOLM13 (IFN-γ)
IFN-γ (pg/mL)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
濃度(nM)
CD123-1_mvG4PE(R409K)_scSP34(H05') (F)
CD123-1_mvG1 (DF)
CD123-1_mvG1_scSP34(H05') (DF)
CD123-1_IgG1 (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)

【圖38】

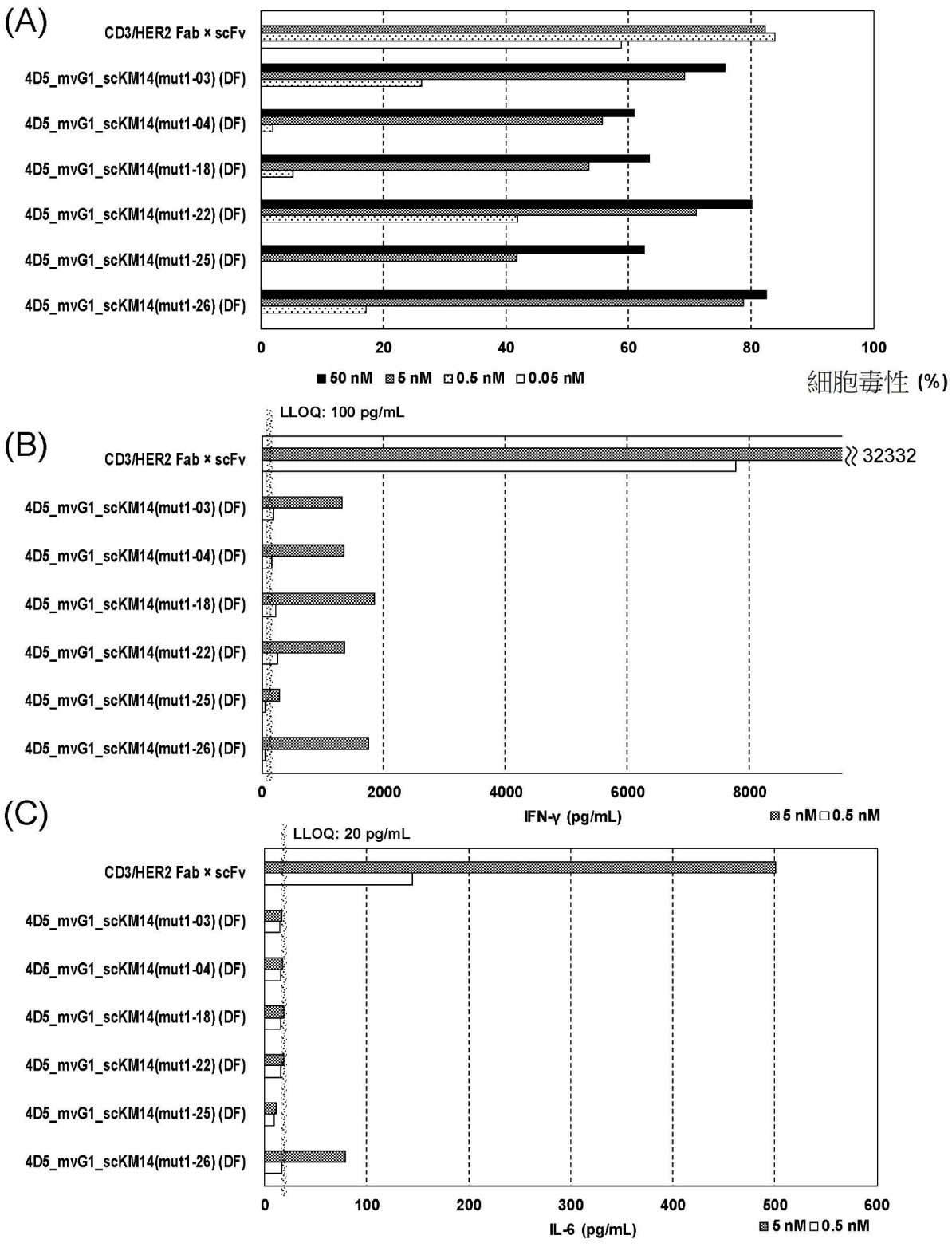

(A)
細胞毒性(%)
100
80
60
40
20
0
-20
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
濃度 (nM)
CD123-2_mvG1_scSP34(H05') (DF)
XENP14045
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)


(B)
細胞毒性(%)
100
80
60
40
20
0
-20
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
濃度(nM)
CD123-2_mvG1_scSP34(H05') (DF)
XENP14045
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)

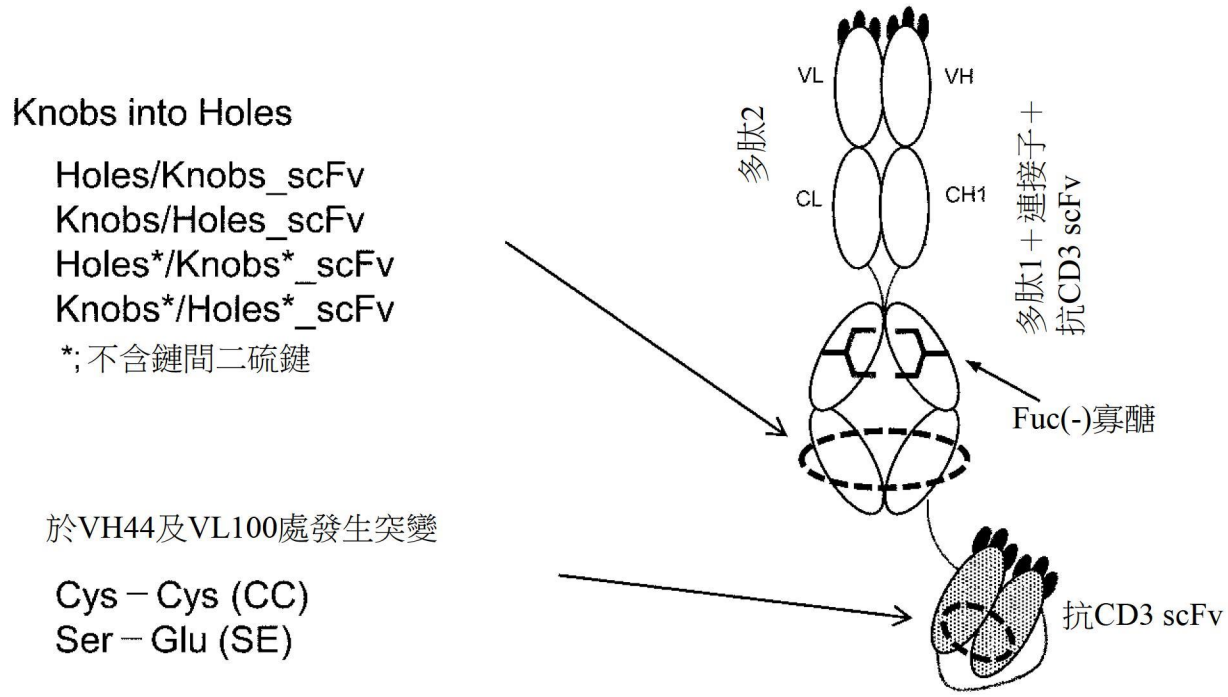
【圖39】


(A)
MOLM13 (IL-2)
IL-2 (pg/mL)
80
60
40
20
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
濃度 (nM)
(B)
MOLM13 (IFN-γ)
IFN-γ (pg/mL)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
濃度 (nM)
(C)
OCI-AML3 (IL-2)
IL-2 (pg/mL)
50
40
30
20
10
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
濃度 (nM)
(D)
OCI-AML3 (IFN-γ)
IFN-γ (pg/mL)
2,500
2,000
1,500
1,000
500
0
0.0001 0.001 0.01 0.1 1 10 100
濃度 (nM)
−□− CD123-2_mvG1_scSP34(H05') (DF)
−◇− XENP14045

【圖40】


(A)
CD3/HER2 Fab × scFv
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)
0
20
40
60
80
100
50 nM
5 nM
0.5 nM
0.05 nM
細胞毒性 (%)
(B)
LLOQ: 100 pg/mL
32332
2000
4000
6000
8000
IFN-γ (pg/mL)
5 nM
0.5 nM
(C)
LLOQ: 20 pg/mL
100
200
300
400
500
600
IL-6 (pg/mL)

【圖41】



【圖42】

CH3 (多肽1) / CH3(多肽2)	抗CD3 scFv	ScFv型	ScFv突變 (VH44 – VL100)
KIH-1: Knobs_scFv / Holes KIH-2: Holes_scFv / Knobs KIH-3: Knobs*_scFv / Holes* KIH-4: Holes*_scFv / Knobs*	scSP34(H05') scKM14(mut1-03) scKM14(mut1-04) scKM14(mut1-18) scKM14(mut1-22) scKM14(mut1-25) scKM14(mut1-26)	VH-連接子-VL VL-連接子-VH	Cys – Cys (CC) Ser – Glu (SE)

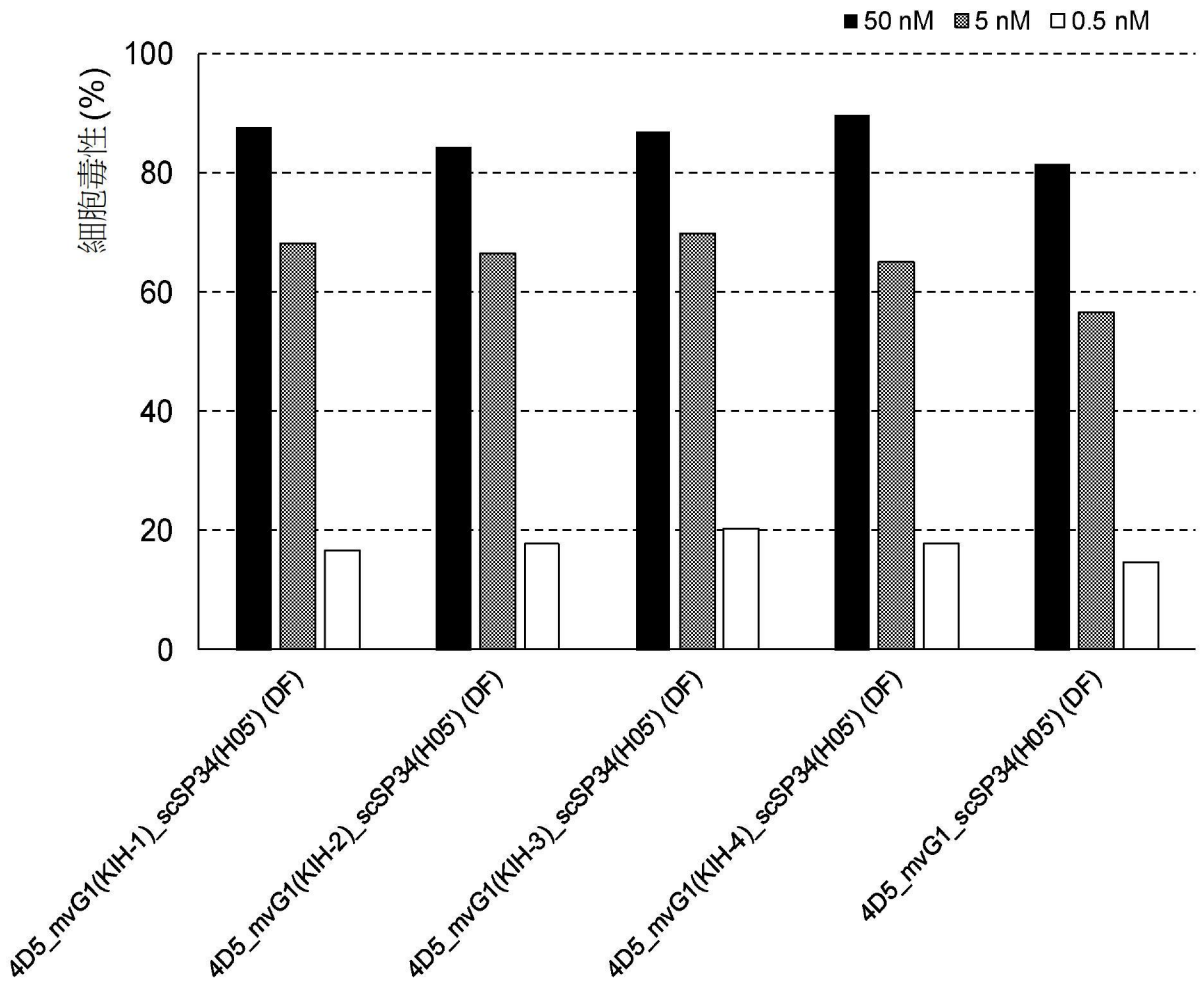
*; 不含鏈間二硫鍵

【圖43】

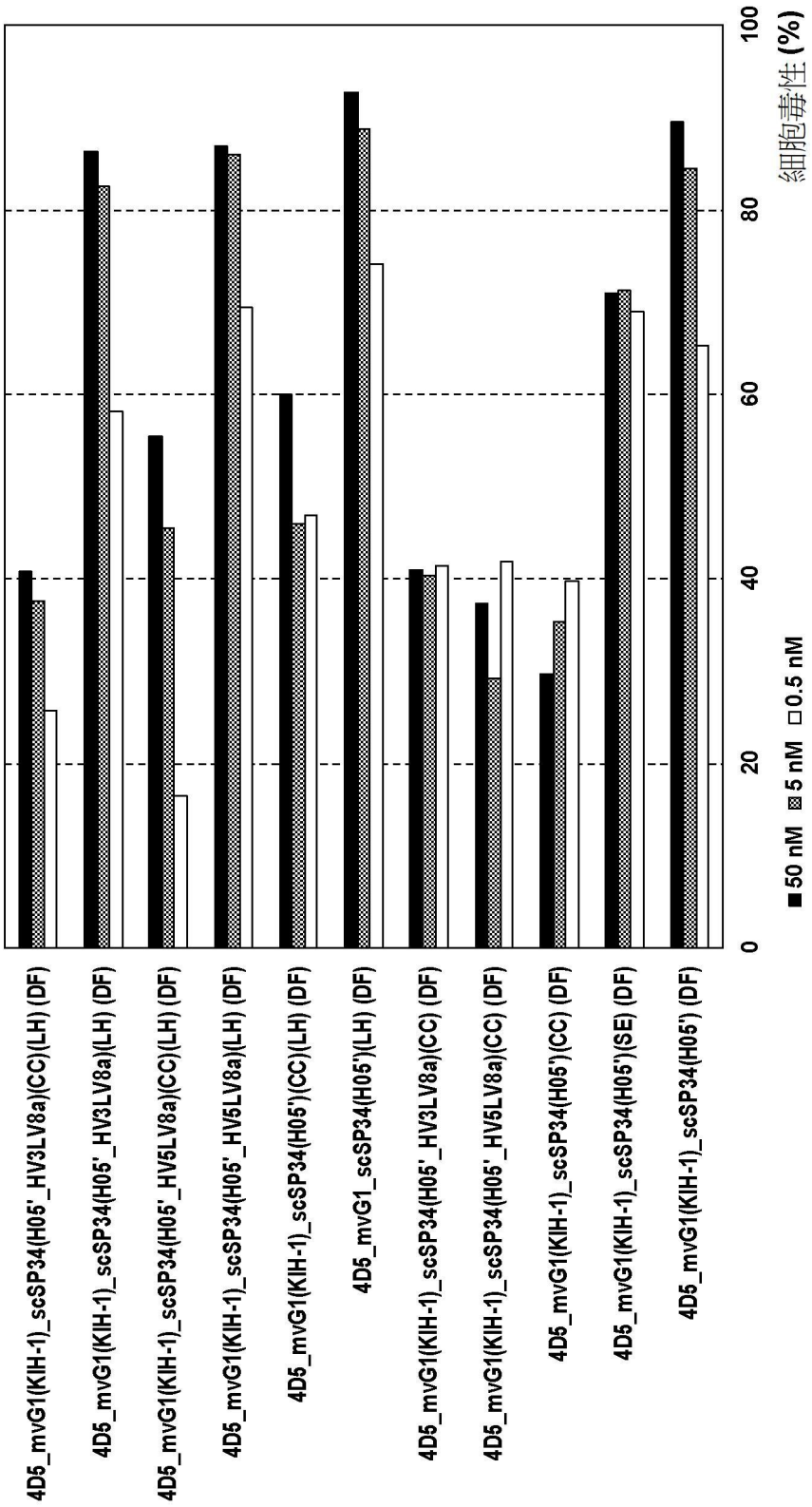
抗體	K_D(M) (表面電漿子共振分析儀)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF) -1	1.63E-7
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF) -2	1.60E-7
4D5_mvG1_scSP34(H05')(LH) (DF)	2.54E-7
4D5_mvG1_scSP34(H05')(CC) (DF)	7.07E-7
4D5_mvG1_scSP34(H05')(SE) (DF)	7.49E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05') (DF)	1.41E-7
4D5_mvG1(KIH-2)_scSP34(H05') (DF)	1.43E-7
4D5_mvG1(KIH-3)_scSP34(H05') (DF)	1.39E-7
4D5_mvG1(KIH-4)_scSP34(H05') (DF)	1.41E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC) (DF)	3.44E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC) (DF)	3.57E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(SE) (DF)	7.53E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(SE) (DF)	6.42E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC) (DF)	7.29E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(SE) (DF)	7.25E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)(LH) (DF)	8.42E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(LH) (DF)	2.70E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)(LH) (DF)	8.33E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(LH) (DF)	2.20E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC)(LH) (DF)	1.86E-6

【圖44】

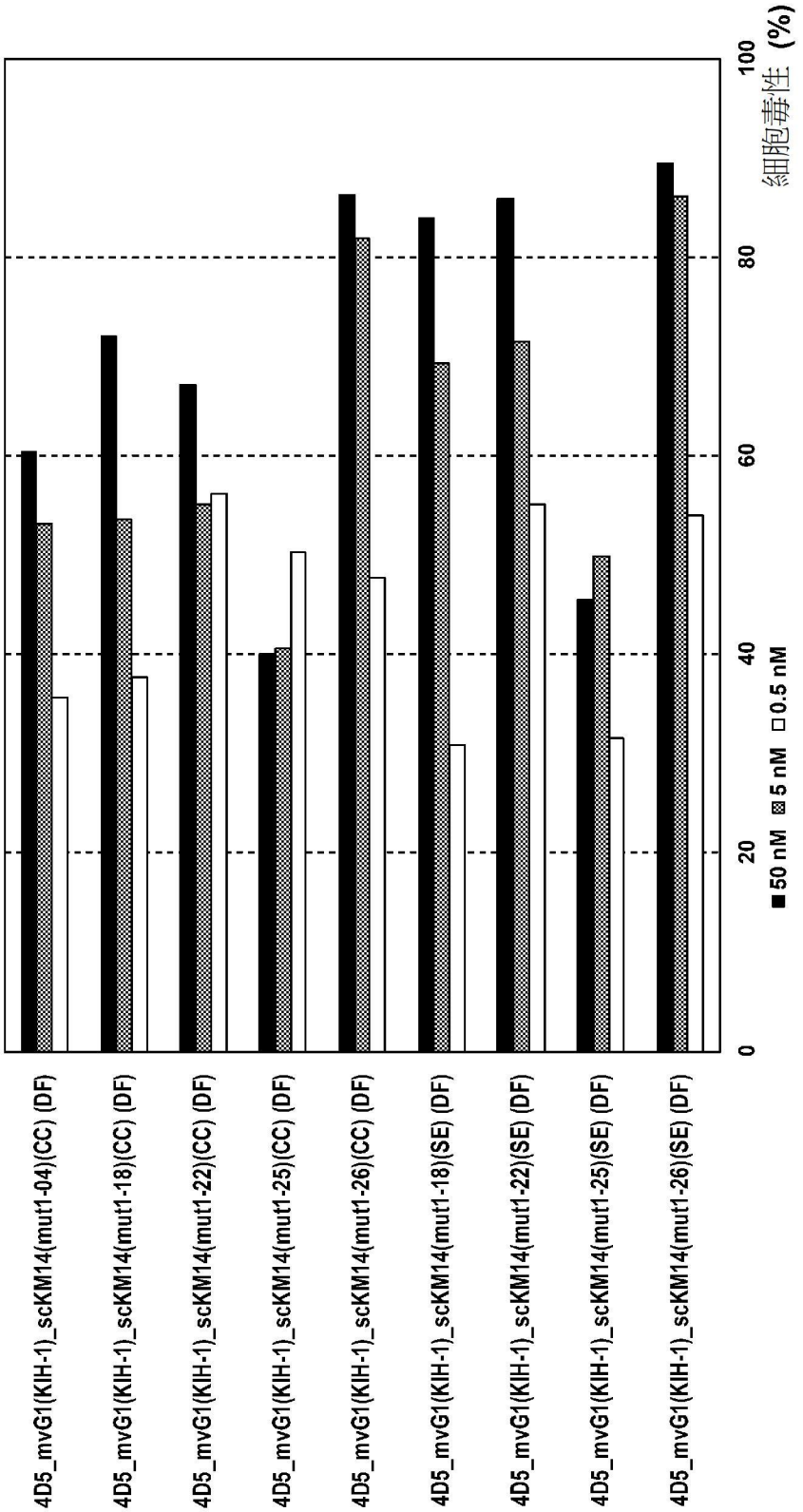
抗體	K_D(M) (表面電漿子共振分析儀)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)	1.72E-7
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)	1.44E-7
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)	8.16E-8
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)	1.15E-7
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)	1.18E-7
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)	8.06E-8
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(LH) (DF)	1.93E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(LH) (DF)	2.63E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(LH) (DF)	9.43E-8
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(LH) (DF)	1.09E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(LH) (DF)	1.12E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(LH) (DF)	2.72E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(CC) (DF)	2.45E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(CC) (DF)	1.55E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(CC) (DF)	1.74E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(CC) (DF)	2.77E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(CC) (DF)	2.74E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(SE) (DF)	2.04E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(SE) (DF)	1.06E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(SE) (DF)	2.23E-7
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(SE) (DF)	2.98E-7


50 nM
5 nM
0.5 nM
細胞毒性 (%)
100
80
60
40
20
0
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1(KIH-2)_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1(KIH-3)_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1(KIH-4)_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)

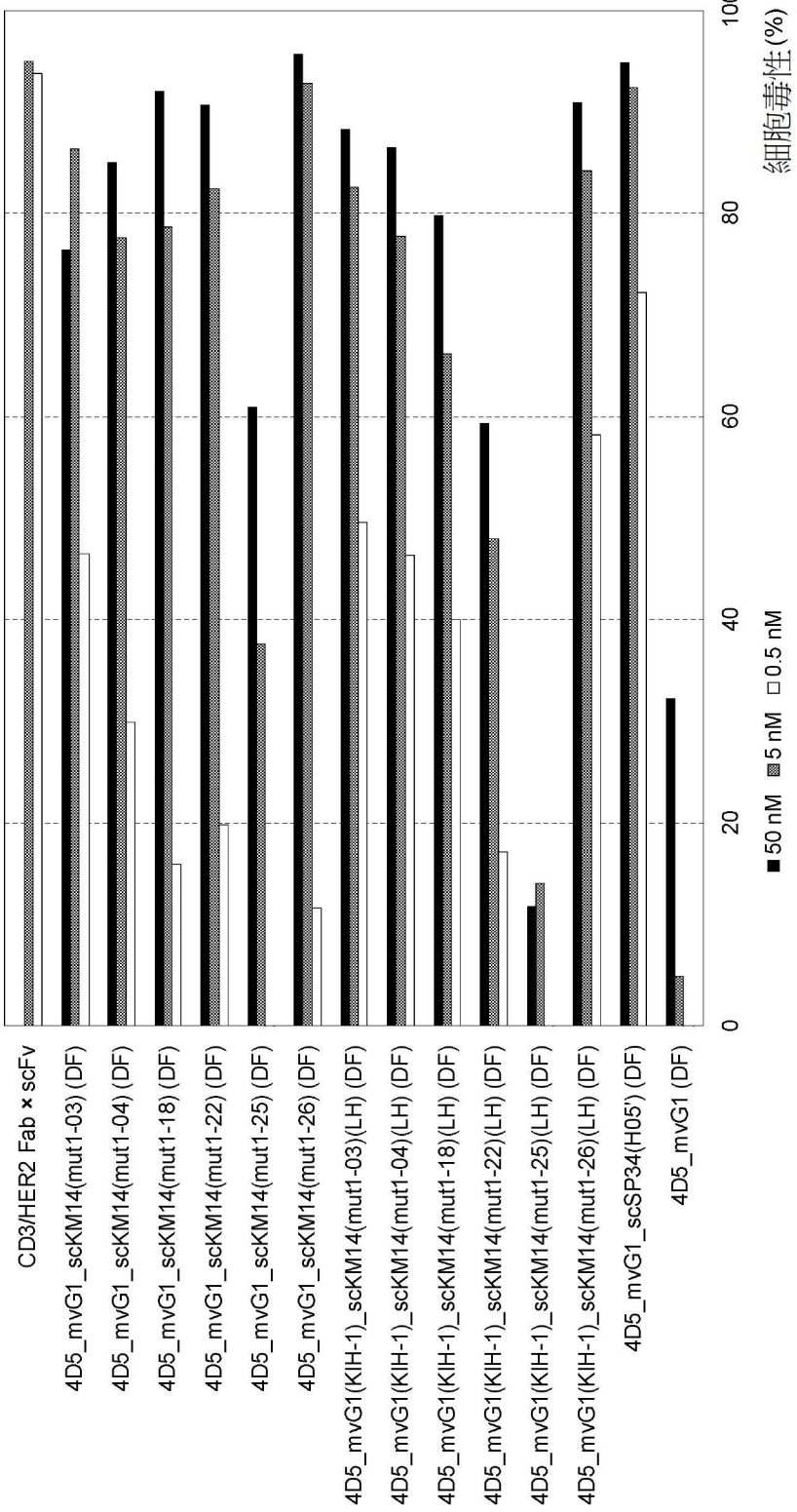
【圖45A】


細胞毒性 (%)
0
20
40
60
80
100
■50 nM ▨5 nM □0.5 nM
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05')(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05') (DF)

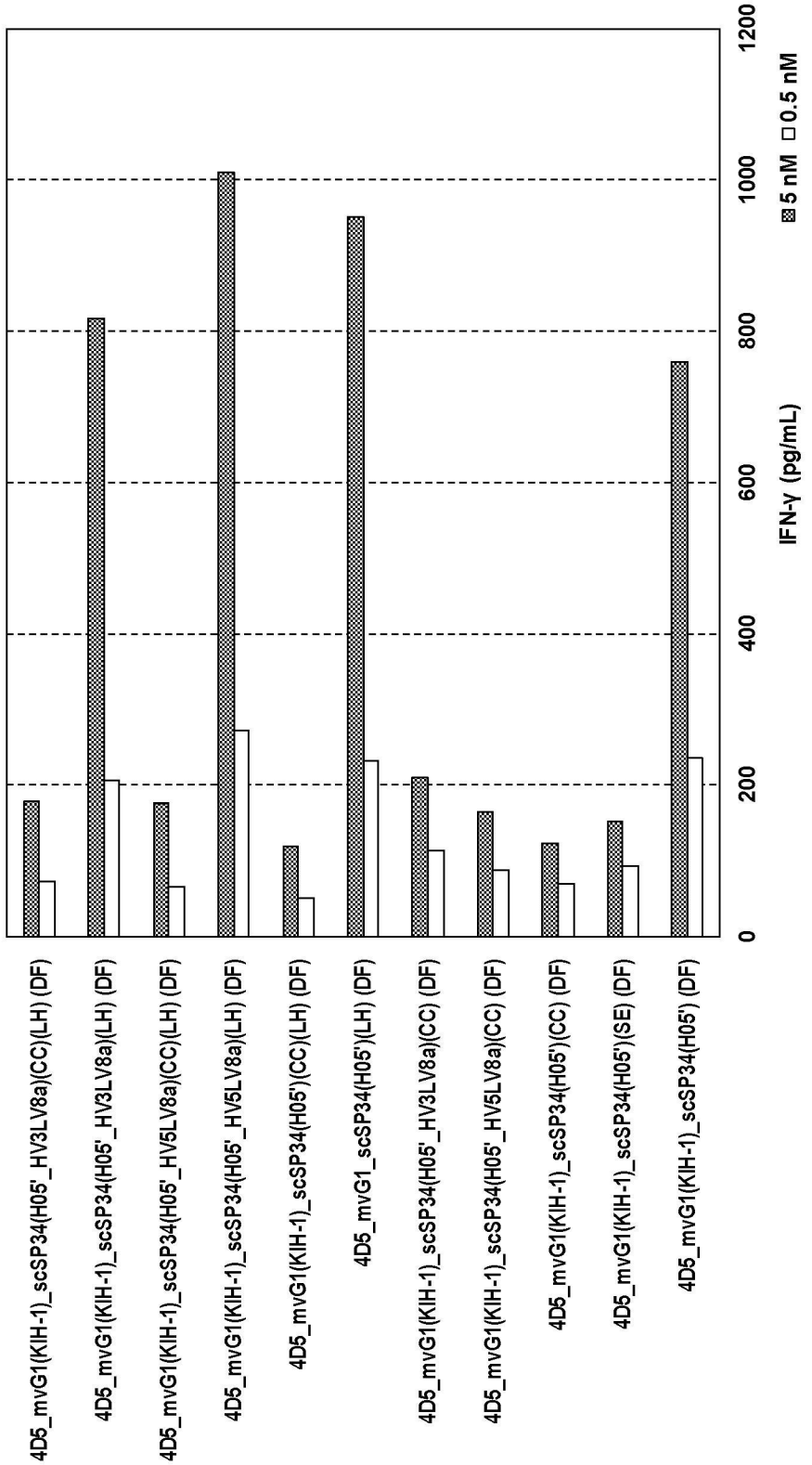
【圖45B】


細胞毒性 (%)
0
20
40
60
80
100
■50 nM ⊠5 nM □0.5 nM
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(SE) (DF)

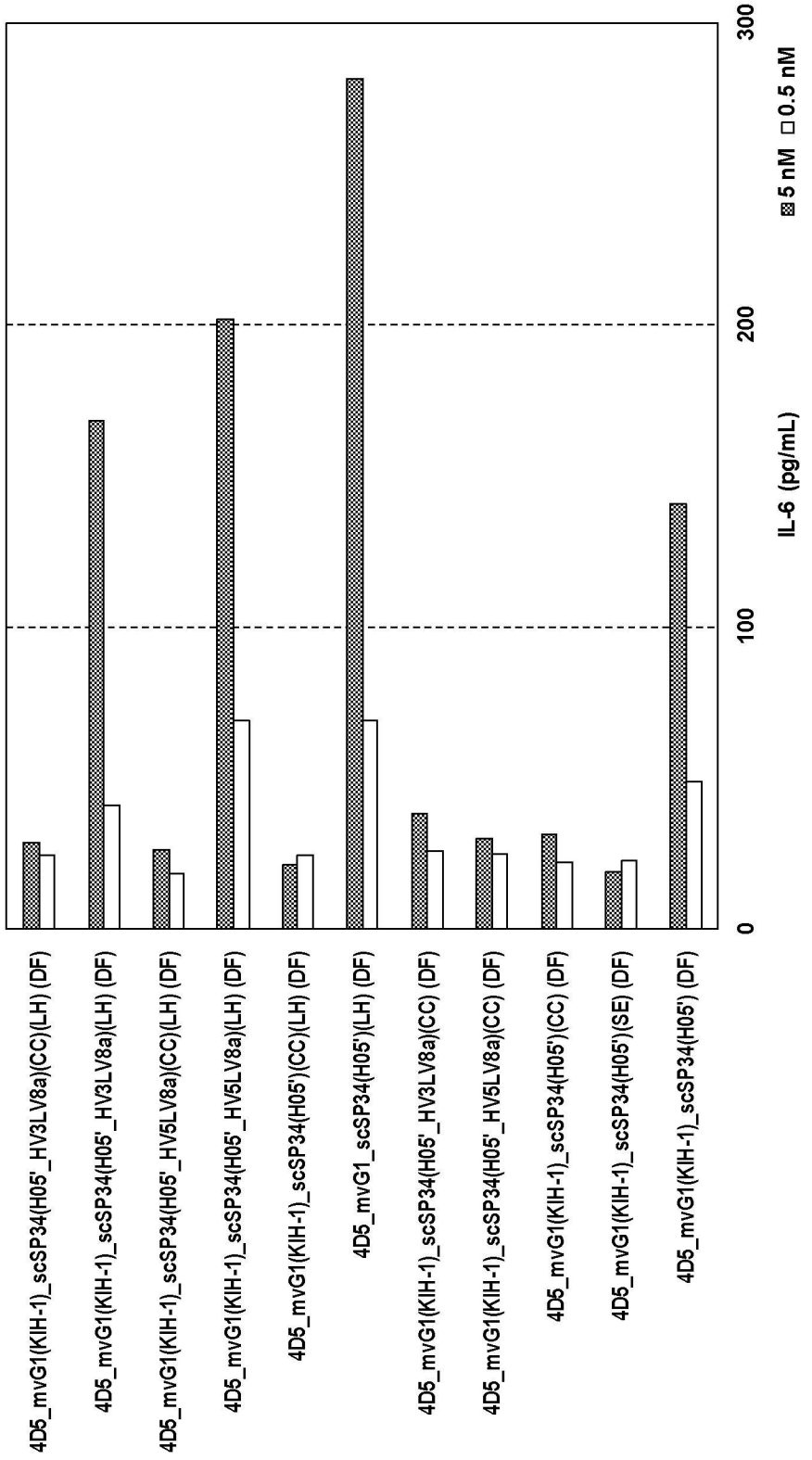
【圖45C】


CD3/HER2 Fab × scFv
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(LH) (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1 (DF)
0
20
40
60
80
100
細胞毒性(%)
■50 nM ■5 nM □0.5 nM

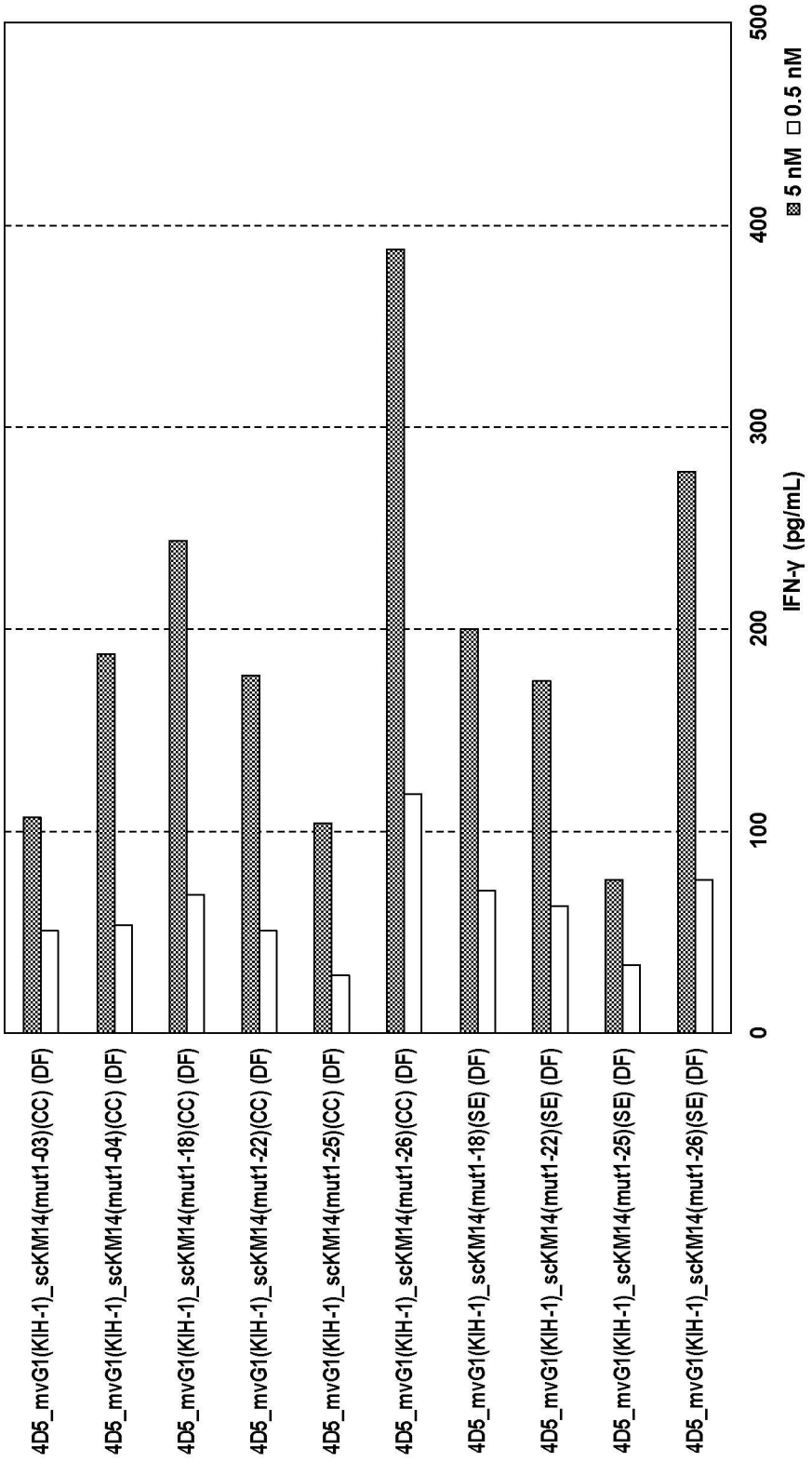
【圖45D】


0
200
400
600
800
1000
1200
IFN-γ (pg/mL)
5 nM
0.5 nM
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05')(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05') (DF)

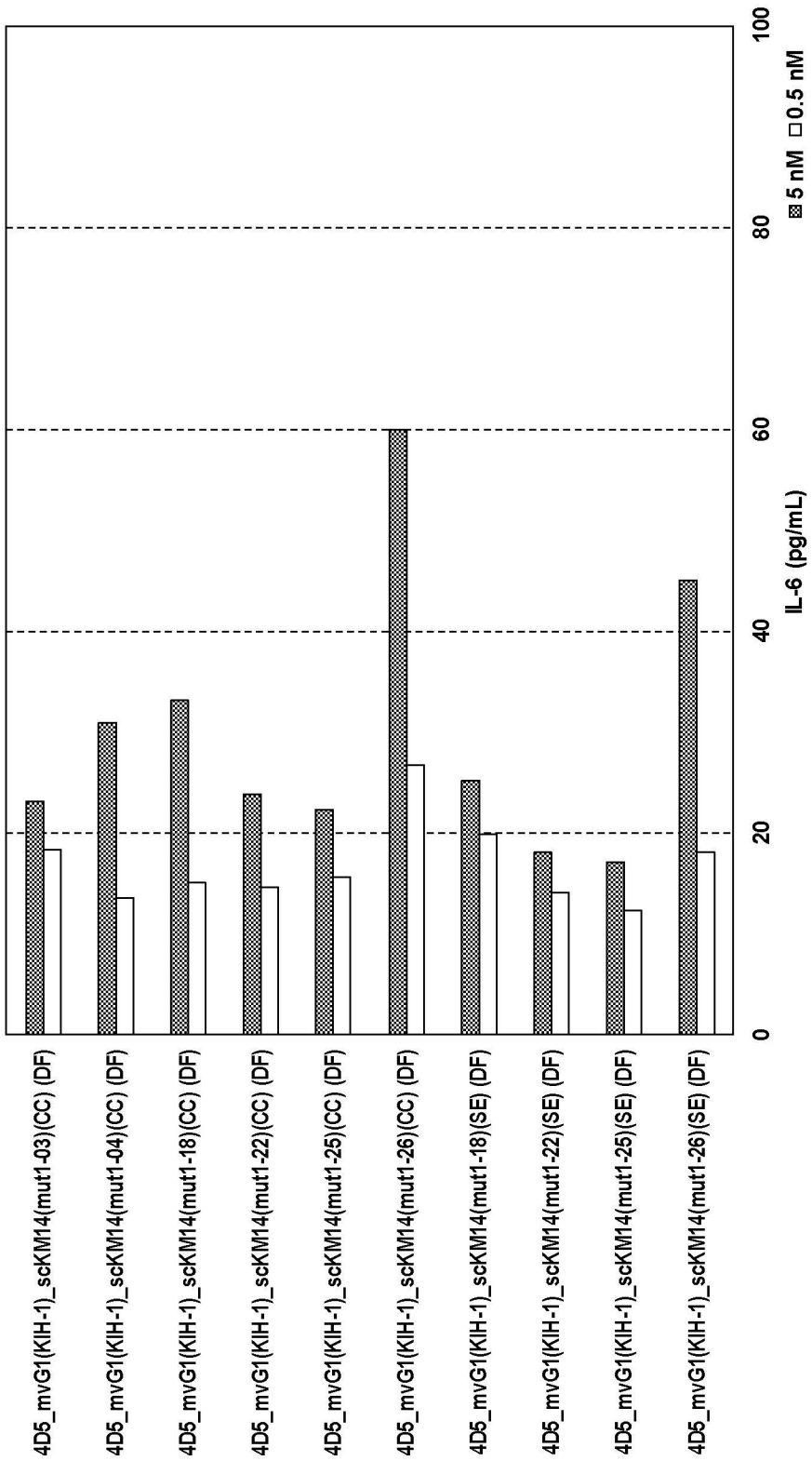
【圖46A】


300
200
100
0
IL-6 (pg/mL)
5 nM
0.5 nM
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC)(LH) (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05')(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV3LV8a)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05'_HV5LV8a)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05')(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scSP34(H05') (DF)

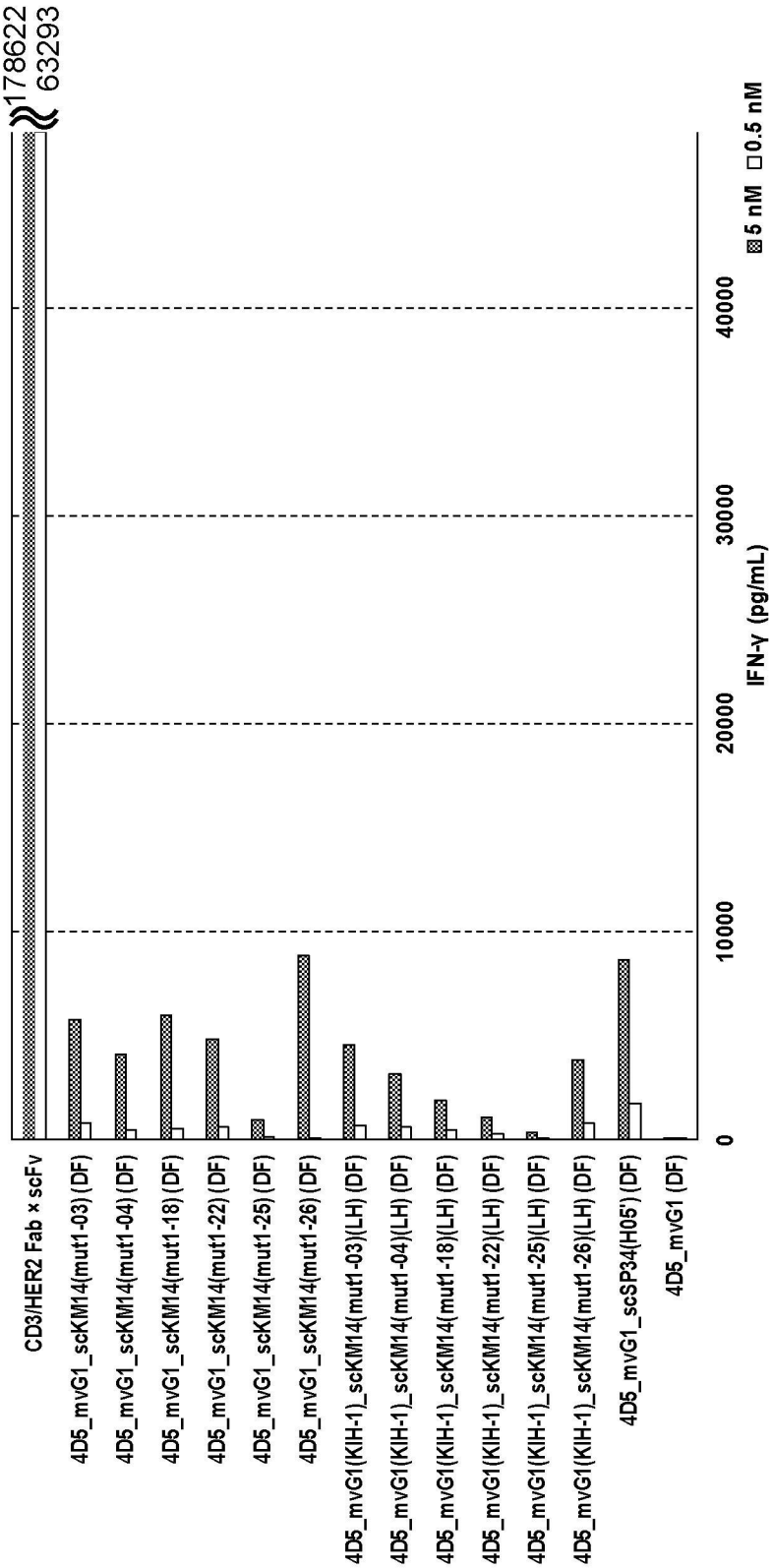
【圖46B】


IFN-γ (pg/mL)
0
100
200
300
400
500
■ 5 nM □ 0.5 nM
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(SE) (DF)

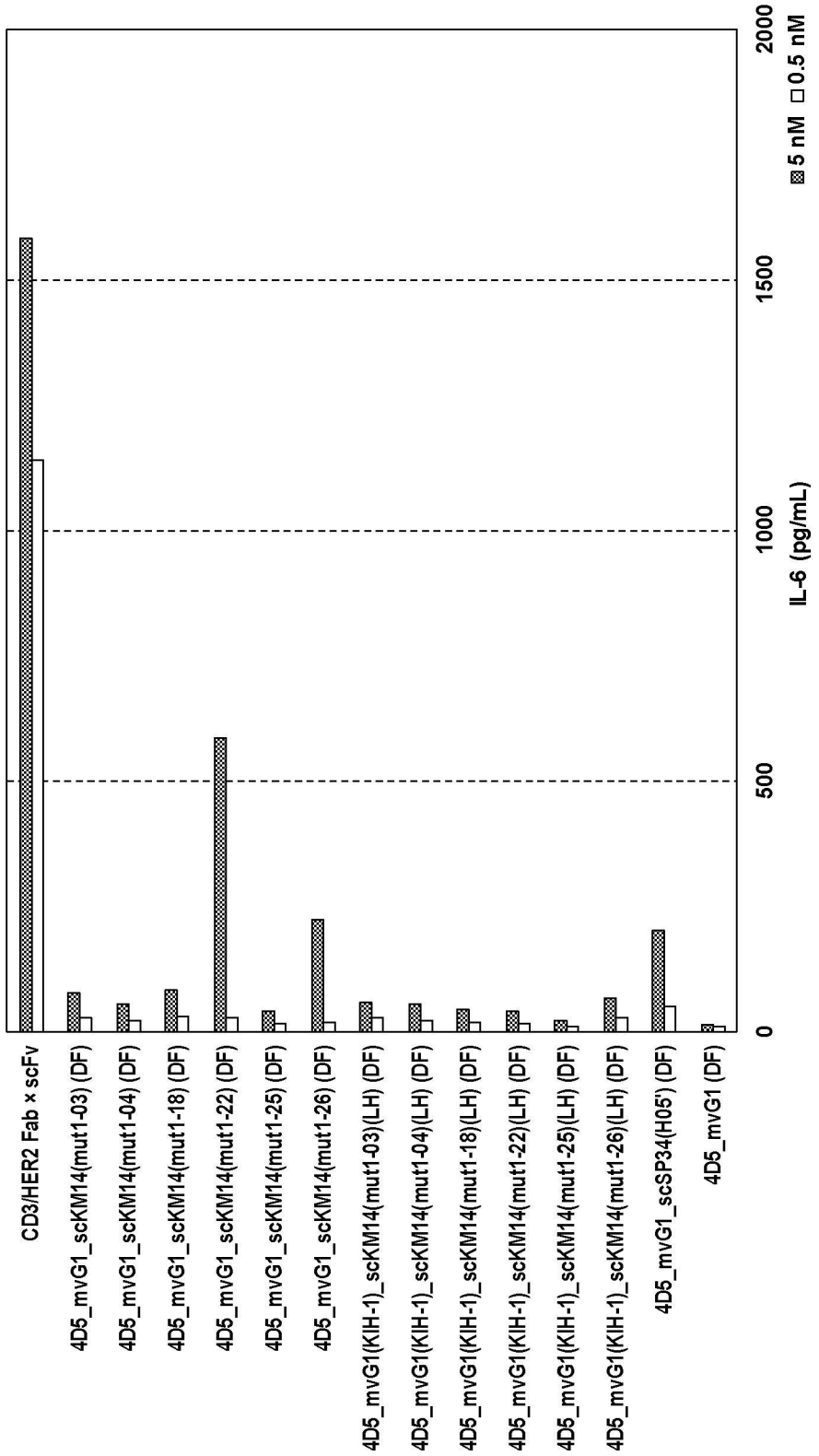
【圖46C】


IL-6 (pg/mL)
0
20
40
60
80
100
▩ 5 nM □0.5 nM
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(CC) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(SE) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(SE) (DF)

【圖46D】


178622
63293
CD3/HER2 Fab × scFv
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(LH) (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1 (DF)
0
10000
20000
30000
40000
IFN-γ (pg/mL)
5 nM
0.5 nM

【圖46E】


IL-6 (pg/mL)
0
500
1000
1500
2000
5 nM
0.5 nM
CD3/HER2 Fab × scFv
4D5_mvG1_scKM14(mut1-03) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-04) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-18) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-22) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-25) (DF)
4D5_mvG1_scKM14(mut1-26) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-03)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-04)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-18)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-22)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-25)(LH) (DF)
4D5_mvG1(KIH-1)_scKM14(mut1-26)(LH) (DF)
4D5_mvG1_scSP34(H05') (DF)
4D5_mvG1 (DF)

【圖46F】