



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202231663 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 08 月 16 日

(21) 申請案號：110148176 (22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 12 月 22 日

(51) Int. Cl. : C07K16/24 (2006.01) A61K39/395 (2006.01)  
 C12N15/13 (2006.01) C12N15/64 (2006.01)  
 A61P35/00 (2006.01)

(30) 優先權：2020/12/22 中國大陸 202011529235.1

(71) 申請人：大陸商江蘇恆瑞醫藥股份有限公司 (中國大陸) JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD. (CN)  
 中國大陸  
 大陸商上海盛迪醫藥有限公司 (中國大陸) SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD (CN)  
 中國大陸

(72) 發明人：王歡 WANG, HUAN (CN)；林源 LIN, YUAN (CN)；唐昱澄 TANG, YUCHENG (CN)；柯可 KE, KE (CN)；林侃 LIN, KAN (CN)；廖成 LIAO, CHENG (CN)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：22 項 圖式數：10 共 127 頁

## (54) 名稱

抗 I L - 4 R 抗體或其抗原結合片段的複合物及醫藥用途

## (57) 摘要

本揭露關於抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物及醫藥用途。具體而言，提供特異性結合 IL-4R 的抗體或其抗原結合片段與毒素共價連接的複合物，含有該複合物的醫藥組成物，及其在製備治療 IL-4R 介導的疾病或病症的藥物中的用途，尤其在用於製備抗癌藥物中的用途。

The present disclosure relates to a complex of anti-IL-4R antibody or antigen-binding fragment thereof, and pharmaceutical use thereof. Specifically, there is provided a complex in which an antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds IL-4R is covalently linked to a toxin, a pharmaceutical composition containing the complex, and the use in the preparation of medicament for the treatment of IL-4R-mediated diseases, especially for the preparation of anti-cancer drugs.

## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物及醫藥用途

【英文發明名稱】 A COMPLEX OF ANTI-IL-4R ANTIBODY OR  
ANTIGEN-BINDING FRAGMENT THEREOF, AND  
PHARMACEUTICAL USE THEREOF

### 【中文】

本揭露關於抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物及醫藥用途。具體而言，提供特異性結合 IL-4R 的抗體或其抗原結合片段與毒素共價連接的複合物，含有該複合物的醫藥組成物，及其在製備治療 IL-4R 介導的疾病或病症的藥物中的用途，尤其在用於製備抗癌藥物中的用途。

### 【英文】

The present disclosure relates to a complex of anti-IL-4R antibody or antigen-binding fragment thereof, and pharmaceutical use thereof. Specifically, there is provided a complex in which an antibody or antigen-binding fragment thereof that specifically binds IL-4R is covalently linked to a toxin, a pharmaceutical composition containing the complex, and the use in the preparation of medicament for the treatment of IL-4R-mediated diseases, especially for the preparation of anti-cancer drugs.

【指定代表圖】 無。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物及醫藥用途

【英文發明名稱】 A COMPLEX OF ANTI-IL-4R ANTIBODY OR  
ANTIGEN-BINDING FRAGMENT THEREOF, AND  
PHARMACEUTICAL USE THEREOF

【0001】 本申請要求 2020 年 12 月 22 日提交的中國專利申請 202011529235.1 的優先權。

### 【技術領域】

【0002】 本申請關於一種抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，以及其作為抗癌藥物的用途。

### 【先前技術】

【0003】 惡性腫瘤（癌症）是全球第二位死因，僅排在心臟病之後。神經膠質母細胞瘤（GBM）是最常見的惡性原發性腦瘤。經歷標準療法治療的膠質母細胞瘤患者的中位生存期小於 15 個月。儘管在腫瘤生物學方面的研究取得進展，但並未轉化成使患者受益的產品或療法。因此，有迫切需求去開發有效的方法用來治療神經膠質母細胞瘤。

【0004】 IL-4R 是白介素 4 受體，在腦膠質母細胞瘤腫瘤細胞以及浸潤的免疫抑制細胞（如腫瘤相關巨噬細胞（TAM）、髓系來源免疫抑制細胞（MDSC）等）上表達。靶向 IL-4R 的治療不僅可以殺傷腫瘤細胞，還

可以改善腫瘤微環境。在腦膠質母細胞瘤臨床前動物模型以及早期臨床實驗中，靶向 IL-4R 的治療均顯示優於傳統治療的效果。

【0005】 Medicenna 公司開發的 MDNA55 是 IL-4 與細菌毒素假單胞菌外毒素 A (PE38KDEL) 形成的融合蛋白，在臨床開發實驗中顯示了積極療效（參見 WO9527732、Biochem. J. (1995) 307, 29-37、CANCER RESEARCH 55, 3357-3363, August 1, 1995）。

【0006】 但是第一代的免疫毒素治療存在與靶標親和力不夠強等問題。提高免疫毒素的靶向性和親和力是腫瘤免疫毒素治療研究的重點與難點之一（參見“中國腫瘤臨床年鑑 2009”，趙平主編，中國協和醫科大學出版社，2010 年 07 月，第 61 頁）。

【0007】 抗體-藥物偶聯物 (ADC) 旨在將單株抗體 (mAbs) 的選擇性與化療藥物的細胞毒性潛力結合起來。抗體-藥物偶聯物由“抗體 (antibody)”、“接頭 (linker)”和“藥物分子 (drug)”三個主要組件構成。和傳統的完全或部分人源化抗體或抗體片段相比，抗體-藥物偶聯物因為能在腫瘤組織內釋放高活性的細胞毒素從而理論上療效更高；和融合蛋白相比，具有更高的耐受性或較低的副作用。抗體-藥物偶聯物與靶抗原的親和力影響抗體-藥物偶聯物滲透到腫瘤組織與靶抗原結合過程，並直接影響抗體-藥物偶聯物的黏合效率（參見“生物技術製藥”，馮美卿主編，中國醫藥科技出版社，2016 年 01 月，第 209-211 頁）。

【0008】 設計抗體-藥物偶聯物時，最關鍵的因素之一就是抗體的選擇，重要的是對抗原的高特異性。缺乏高特異性並與其他抗原發生交叉反應的抗體可能無法發揮預期作用，例如，藉由與健康組織相互作用而引起

脫靶毒性，或在到達腫瘤部位之前被機體過早清除（參見：“Introduction to Antibody–Drug Conjugates (ADCs)” ，Ilona Pysz ，Paul J. M. Jackson and David E. Thurston ，CHAPTER 1：Introduction to Antibody–Drug Conjugates (ADCs) ，in Cytotoxic Payloads for Antibody–Drug Conjugates ，2019）。

【0009】目前各國已有多家製藥公司正在研發針對 IL-4R 的單株抗體，相關專利申請如 WO2010053751、WO2001092340、WO2008054606、WO2014031610 等。發明人的在先申請 WO2020038454 也關於一類新的抗 IL-4R 抗體。但是，IL-4R 定向的抗體-藥物偶聯物鮮有明確報導，如 WO2015188934、WO2014124227、WO2018217227 等均僅泛泛提及抗體-藥物偶聯物中抗體可選靶向 IL-4R，但均未披露具體的抗 IL-4R 抗體-藥物偶聯物。

【0010】本揭露利用高親和力的抗 IL-4R 抗體製備靶向遞送藥物的第二代免疫毒素藥物，達到強效殺傷癌細胞的目的，用於滿足癌症治療或延緩癌症進展的需求。

#### 【發明內容】

【0011】本揭露關於抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物、製備方法及醫藥用途。

#### 複合物

【0012】本揭露提供了一種抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其包含：

抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段以及一個或多個毒素分子。

【0013】 一些實施方案中，複合物中抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中重鏈可變區包含：

(I) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：12 和 SEQ ID NO：13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

和/或，抗體輕鏈可變區包含：

(I) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：15 和 SEQ ID NO：16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：38、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：42、SEQ ID NO：39 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

其中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段與該毒素共價或非共價連接。

表1 抗IL-4R抗體或其抗原結合片段的CDR序列

名稱	序列	編號
HCDR1	GFTFSDYGMH	SEQ ID NO : 3
HCDR2	FISSGSSIIYYADIVKG	SEQ ID NO : 4
HCDR3	GNKRGFFDY	SEQ ID NO : 5
LCDR1	NASSSVSYMY	SEQ ID NO : 6
LCDR2	LTSNLAS	SEQ ID NO : 7
LCDR3	QQWRSNPPMLT	SEQ ID NO : 8
HCDR1	GYTFTSYWMH	SEQ ID NO : 11
HCDR2	LIHPNSDTTKFSENFKT	SEQ ID NO : 12
HCDR3	SKIITTIVARHWYFDV	SEQ ID NO : 13
LCDR1	KASQSVDYGGDSYMN	SEQ ID NO : 14
LCDR2	AASNLES	SEQ ID NO : 15
LCDR3	QHSNENPPT	SEQ ID NO : 16
LCDR1	RASSVPYMY	SEQ ID NO : 38
LCDR2	LASSRPS	SEQ ID NO : 39
LCDR3	QQWRAYPPMLT	SEQ ID NO : 40
LCDR1	RASPGVPPLA	SEQ ID NO : 42

【0014】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含選自以下 (I) 至 (IV) 中的任一項：

(I) 重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO : 3、SEQ ID NO : 4 和 SEQ ID NO : 5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(II) 重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：12 和 SEQ ID NO：13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：15 和 SEQ ID NO：16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(III) 重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：38、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(IV) 重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：42、SEQ ID NO：39 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

【0015】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含重鏈可變區和輕鏈可變區，其中，

重鏈可變區包含：

(I) 如 SEQ ID NO：1 所示或與 SEQ ID NO：1 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO：9 所示或與 SEQ ID NO：9 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO : 43 所示或與 SEQ ID NO : 43 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

和/或，輕鏈可變區包含：

(I) 如 SEQ ID NO : 2 所示或與 SEQ ID NO : 2 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO : 10 所示或與 SEQ ID NO : 10 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO : 37 所示或與 SEQ ID NO : 37 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(IV) 如 SEQ ID NO : 41 所示或與 SEQ ID NO : 41 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列。

25G7 HCVR (25G7 重鏈可變區)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGFTFSDYGMHWVRQAPEKGLE  
WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNKNTLFLQMTSLRSEDAMY  
YCTRGNKRGFFDYWGQGTILTVSS

SEQ ID NO : 1 ;

25G7 LCVR (25G7 輕鏈可變區)

QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCNASSSVSYMYWYQRKPRSSPKPWI  
YLTSNLAGVPPVRFSGSGSGTSYSLTSSMEAEADAATYYCQQWRSNPP  
MLTFGSGTKLEVK

SEQ ID NO : 2 ;

7B10 HCVR (7B10 重鏈可變區)

QVQLQQPGTELLKPGASVSLSCKASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLE  
 WIGLIHPNSDTTKFSENFKTRATLTIDKSSSTAYMKLSSLTSEDSAVYY  
 CAKSKIITTIVARHWYFDVWGTGTTVTVSS

SEQID NO : 9 ;

7B10 LCVR (7B10 輕鏈可變區)

DIVLTQSPPSLAVSLGQRATISCKASQSVDYGGDSYMNWYQQKLGQP  
 PKVLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDVATYYCQHSN  
 ENPPTFGGGTKLEIK

SEQID NO : 10 ;

hu25G7-A LCVR (hu25G7-A 輕鏈可變區)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSSVPYMYWYQQKPGQAPRLLIY  
 LTSNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWRAYPPML  
 TFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 37 ;

hu25G7-B LCVR (hu25G7-B 輕鏈可變區)

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASPGVPPLAWYQQKPGQAPRLLIYL  
 ASSRPSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLT  
 FGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 41

hu25G7-VH (hu25G7 重鏈可變區)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE  
 WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY  
 YCTRGNKRGFFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO : 43 。

【0016】 在至少一個實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段中：  
重鏈可變區如序列 SEQ ID NO : 1 所示，輕鏈可變區如序列 SEQ ID  
NO : 2 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 9 所示，輕鏈可變區序列如 SEQ ID  
NO : 10 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 43 所示，輕鏈可變區序列如 SEQ ID  
NO : 37 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 43 所示，輕鏈可變區序列如 SEQ ID  
NO : 41 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 47 所示，輕鏈可變區序列如 SEQ ID  
NO : 48 所示。

【0017】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含重  
鏈可變區和輕鏈可變區，其中，

重鏈可變區包含：

(I) 如 SEQ ID NO : 25-27 之一所示或與 SEQ ID NO : 25-27 之一具  
有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO : 31-33 之一所示或與 SEQ ID NO : 31-33 之一  
具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

和/或，輕鏈可變區包含：

(I) 如 SEQ ID NO : 28-30 之一所示或與 SEQ ID NO : 28-30 之一具  
有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO : 34-36 之一所示或與 SEQ ID NO : 34-36 之一  
具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列。

hu25G7-VH-a :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAFISSGSSIIYYADIVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY  
YCARGNKRGGFFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO : 25 ;

hu25G7-VH-b :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAFISSGSSIIYYADIVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY  
YCTRGNKRGGFFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO : 26 ;

hu25G7-VH-c :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVY  
YCTRGNKRGGFFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO : 27 ;

hu25G7-VL-a :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIY  
LTSNLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWRSNPPML  
TFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 28 ;

hu25G7-VL-b :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIY  
LTSNLAGIPARFSGSGSGTDYTLTISSELEPEDFAVYYCQQWRSNPPML  
TFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 29 ;

hu25G7-VL-c :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRPWIY  
LTSNLAGIPARFSGSGSGTDYTLTISSELEPEDFAVYYCQQWRSNPPML  
TFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 30 ;

hu7B10-VH-a :

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGL  
EWMGLIHPNSDITTKFSENFKTRVTMTRDTSISTAYMELSRRLRSDDTAV  
YYCARSKIITIVARHWYFDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO : 31 ;

hu7B10-VH-b :

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGL  
EWMGLIHPNSDITTKFSENFKTRVTMTIDTSISTAYMELSRRLRSDDTAV  
YYCAKSKIITIVARHWYFDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO : 32 ;

hu7B10-VH-c :

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGL  
EWMGLIHPNSDITTKFSENFKTRVTLTIDKSISTAYMELSRRLRSDDTAV  
YYCAKSKIITIVARHWYFDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO : 33 ;

hu7B10-VL-a :

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYGGDSYMNWYLQKPGQP  
PQLLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHS  
NENPPTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 34 ;

hu7B10-VL-b :

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYGGDSYMNWYLQKPGQP  
PQLLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHS  
NENPPTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 35 ;

hu7B10-VL-c :

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYGGDSYMNWYLQKPGQP  
PQLLIYAASNLESGIPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCQHS  
NENPPTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO : 36 。

【0018】 在一些具體的實施方案中，重鏈可變區如序列 SEQ ID NO : 25-27 之一所示，和輕鏈可變區如序列 SEQ ID NO : 28-30 之一所示；或

【0019】 重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 31-33 之一所示，和輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 34-36 之一所示。

【0020】 在一些實施方案中，重鏈可變區第 44 位（VH-44）和輕鏈可變區第 100 位（VL-100）位置的胺基酸可選地突變成半胱胺酸。

【0021】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的包含重鏈和輕鏈，其中重鏈包含：

(I) 如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO：19 所示或與 SEQ ID NO：19 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO：44 所示或與 SEQ ID NO：44 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

和/或輕鏈包含：

(I) 如 SEQ ID NO：18 所示或與 SEQ ID NO：18 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO：20 所示或與 SEQ ID NO：20 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO：45 所示或與 SEQ ID NO：45 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(IV) 如 SEQ ID NO：46 所示或與 SEQ ID NO：46 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的序列。

hu25G7 HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE  
WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVY  
YCTRGNKRGFFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA  
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTV  
PSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS  
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVH

NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
 WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV  
 MHEALHNHYTQ KSLSLSLGK

SEQ ID NO : 17 ;

hu25G7 LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCNASSSVSYMYWYQQKPGQAPRLLIY  
 LTSNLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQWRSNPPML  
 TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA  
 KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYSLSSTLTLSKADYEEKHK  
 VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 18 ;

hu7B10 HC

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYWMHWVRQAPGQGL  
 EWMGLIHPNSDITTKFSENFKTRVTMTIDTSISTAYMELSRRLRSDDTAV  
 YYCAKSKIITTIVARHWYFDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK  
 STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS  
 LSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP  
 CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN  
 WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
 KVSNAKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV  
 KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR  
 WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO : 19 ;

hu7B10 LC

DIVLTQTPLSLSVTPGQPASISCKASQSVDYGGDSYMNWYLQKPGQP  
 PQLLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCQHS  
 NENPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF  
 YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTKAD  
 YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 20 ;

hu25G7 HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLE  
 WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVY  
 YCTRGNKRGFFDYWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA  
 ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV  
 PSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPS  
 VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVH  
 NAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI  
 EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE  
 WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV  
 MHEALHNHYTQKSLSLGLGK

SEQ ID NO : 44 ;

hu25G7-A LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVPMYQKPGQAPRLLIY  
 LTSNLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQWRAYPPML  
 TFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA

KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYKHK  
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 45 ;

hu25G7-B LC

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASPGVPLAWYQQKPGQAPRLLIYL  
ASSRPSGIPARFSGSGGTDFLTLSLEPEDFAVYYCQQWRSNPPMLT  
FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK  
VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYKHKV  
YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO : 46 。

【0022】 在至少一個實施方案中，重鏈序列如 SEQ ID NO : 17 所示，  
和輕鏈序列如 SEQ ID NO : 18 所示；或

重鏈序列如 SEQ ID NO : 19 所示，和輕鏈序列如 SEQ ID NO : 20 所  
示；或

重鏈序列如 SEQ ID NO : 44 所示，和輕鏈序列如 SEQ ID NO : 45 所  
示；或

重鏈序列如 SEQ ID NO : 44 所示，和輕鏈序列如 SEQ ID NO : 46 所  
示。

【0023】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段是鼠源  
抗體、嵌合抗體、全人抗體、人源化抗體或其片段。在一些具體的實施方  
案中，該抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段是人源化的。

【0024】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，包  
含來源於人種系輕鏈模板 IGKV3-11\*01 (SEQ ID NO:22, 用於抗體 25G7)

的 FR 區序列或與其至少有 95% 同一性的回復突變序列。在一些具體實施方案中，該回復突變選自 46P、47W、71Y 中的一個或多個。

【0025】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，包含來源於人種系重鏈模板 IGHV3-48\*01 (SEQ ID NO: 21, 用於抗體 25G7) 的 FR 區序列或與其至少有 95% 同一性的回復突變序列。在一些具體實施方案中，該回復突變選自 94A、67S、93T 中的一個或多個。

【0026】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，包含來源於人種系輕鏈模板 IGKV2D-29\*01 (SEQ ID NO: 24, 用於抗體 7B10) 的 FR 區序列或與其至少有 95% 同一性的回復突變序列。在一些具體實施方案中，該回復突變選自 4L 和/或 58I。

【0027】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，包含來源於人種系重鏈模板 IGHV1-2\*02 (SEQ ID NO: 23, 用於抗體 7B10) 的 FR 區序列或與其至少有 95% 同一性的回復突變序列。在一些具體實施方案中，該回復突變選自 69L、71I、73K、94K 中的一個或多個。

人種系重鏈模版 IGHV3-48\*01 :

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLE  
WVSYISSSSSTIYYADS VKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVY  
YCAR

SEQ ID NO : 21 ;

人種系輕鏈範本 IGKV3-11\*01 :

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIY  
DASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWP

SEQ ID NO : 22 ;

人種系重鏈模版 IGHV1-2\*02 :

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGL  
 EWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDT  
 AVYYCAR

SEQ ID NO : 23 ;

人種系輕鏈範本 IGKV2D-29\*01 :

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLHSDGKTYLYWYLQKPGQP  
 PQLLIYEVS NRFSGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQS  
 IQLP

SEQ ID NO : 24 。

【0028】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含選自人源 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 的重鏈恆定區或其變體。一些具體的方案中，包含人源 IgG1 的重鏈恆定區或其變體。在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含人源  $\kappa$ 、 $\lambda$  鏈或其變體的恆定區。

【0029】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為人源化抗體，重鏈序列如 SEQ ID NO : 17 所示或與其具有至少 85% 序列同一性；輕鏈序列如 SEQ ID NO : 18 所示或與其具有至少 85% 序列同一性。

【0030】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為人源化抗體，重鏈序列如 SEQ ID NO : 19 所示或與其具有至少 85% 序列同一性；輕鏈序列如 SEQ ID NO : 20 所示或與其具有至少 85% 序列同一性。

【0031】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為人源化抗體，重鏈序列如 SEQ ID NO : 44 所示或與其具有至少

85%序列同一性；輕鏈序列如 SEQ ID NO：45 所示或與其具有至少 85% 序列同一性。

【0032】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，其中該抗體為人源化抗體，重鏈序列如 SEQ ID NO：44 所示或與其具有至少 85%序列同一性；輕鏈序列如 SEQ ID NO：46 所示或與其具有至少 85% 序列同一性。

【0033】 在一些實施方案中，提供一種分離的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，其特徵在於與如上所述的任一抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段競爭結合人 IL-4R 或其表位。

【0034】 在一些實施方案中，提供一種雙特異性抗體或多特異性抗體，其含有如上所述的任一抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的輕鏈可變區和/或重鏈可變區。

【0035】 在另一些實施方案中，提供一種單鏈抗體，其含有如上所述的任一抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的輕鏈可變區和/或重鏈可變區。

【0036】 在一些實施方案中，人源化抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段，還包含人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的重鏈恆定區、或其變體。在至少一個實施方案中，包含的是人源 IgG2 或 IgG4 重鏈恆定區，因為 IgG2 或 IgG4 沒有 ADCC 毒性。在另一個實施方案中，使用胺基酸突變後無 ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity，抗體依賴的細胞介導的細胞毒作用) 毒性的 IgG1。在至少一個實施方案中，變體包含 ADCC 效應功能降低或缺失的重鏈恆定區突變，例如但不限於 IgG1 的 297A、234A、235A。

【0037】 在一些實施方案中，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段可以為抗體變體，該變體在輕鏈有 1 至 10 個 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、

9、10 個) 胺基酸變化, 和/或重鏈有 1 至 10 個 (例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 個) 胺基酸變化。

【0038】 在一些實施方案中, 上述變體具有與親本抗 IL-4R 抗體或其片段相同或相似的生物學功能或效果。

【0039】 在一些實施方案中, 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段可以是已知的, 如在例如 WO2010053751、WO2001092340、WO2008054606、WO2014031610、WO2020038454 (其各自藉由引用併入本文) 中所描述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段。

【0040】 在一些實施方案中, 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包括但不限於 Dupixent、PRS-060、AK-120、63 IgG1、CBP201、AMG-317 或其抗原結合片段。

【0041】 在一些實施方案中, 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段是抗人 IL-4R 的抗體或其抗原結合片段。

【0042】 在一些實施方案中, 抗原結合片段包括但不限於 Fab、Fab'、Fv、F(ab')<sub>2</sub>、線性抗體、scFv (單鏈 Fv 抗體)、串聯二-scFv、串聯三-scFv、雙鏈抗體 (diabody)、三鏈抗體 (triabody)、四鏈抗體 (tetrabody)、sdAb (單域抗體或奈米抗體)、sdFv、肽抗體 (peptibody)、結構域抗體、多特異性抗體 (例如雙特異性抗體、三特異性抗體或四特異性抗體)、dsFv (二硫鍵穩定化的 Fv)、ScdsFv (二硫鍵穩定化的單鏈 Fv 抗體)。

【0043】 在一些實施方案中, 抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段引入穩定抗體結構的突變, 例如一些胺基酸殘基突變為半胱胺酸殘基。在一些具體實施方案中, 該突變發生在框架區; 在一些具體實施方案中, 該突變發生

在重鏈可變區和\或輕鏈可變區；在一些具體實施方案中，該突變發生在重鏈或輕鏈可變區和框架區。

【0044】 在一些實施方案中，位於選自以下一組或多組位置上的胺基酸殘基突變成半胱胺酸殘基：VL100 和 VH44；VL101 和 VH44；VL34 和 VH100；VL43 和 VH91；VL43 和 VH103；VL49 和 H100；VL87 和 VH45；VL91 和 VH98；VL91 和 VH99；VL96 和 VH47；VL98 和 VH45。

【0045】 在一些具體的實施方案中，位於選自以下一組或多組位置上的胺基酸殘基突變成半胱胺酸殘基：VL100 和 VH44；VL43 和 VH91；VL43 和 VH103；VL98 和 VH45。

【0046】 在一個具體的實施方案中，VH44 和 VL100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0047】 除非另有說明，本揭露的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合蛋白中的胺基酸序列根據 Kabat 編碼。

【0048】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段是 scFv 或 ScdsFv，重鏈可變區（VH）和輕鏈可變區（VL）間用連接肽（linking peptide）L2 連接。

【0049】 在一些實施方案中，連接肽 L2 大於 12 個胺基酸殘基的長度，且富含小的、非極性的胺基酸殘基、極性的胺基酸殘基和/或親水的胺基酸殘基，例如，甘胺酸、絲胺酸和蘇胺酸。

【0050】 在一些實施方案中，連接肽 L2 可以選自多種現有技術已知的接頭，包括“GS”接頭，例如， $(GxS)_n$ 、 $(SxG)_n$ 、 $(GGGGS)_n$ 、 $(G)_n$ ，其中 x 是 1-6 的整數，且 n 是 1-30 的整數。

【0051】 在一些實施方案中，連接肽 L2 非限制性例子包括 GKSSGSGSESKS (SEQ ID NO : 54)、EGKSSGSGSESKEF (SEQ ID NO : 55)、GSTSGSGKSSEGGK (SEQ ID NO : 56)、GSTSGSGKSSEGGSGSTKG (SEQ ID NO : 57)、GSTSGSGKPGSGEGSTKG (SEQ ID NO : 58)、SRSSG (SEQ ID NO : 59) 和 SGSSC (SEQ ID NO : 60)。

【0052】 在一些實施方案中，連接肽 L2 由重複的 GGGGS 胺基酸序列 (SEQ ID NO : 61) 或其變體組成，例如 (GGGGS) $n$ ，其中  $n$  可以為 0、1、2、3、4、5 或者更多，例如  $n$  為 2、3、4，例如  $n$  為 3。

【0053】 在一些實施方案中，ScFv 的構建形式是 VH-L2-VL，表示 L2 與 VH 的 C 端連接並與 VL 的 N 端連接；

在一些實施方案中，ScFv 的構建形式是 VL-L2-VH，表示 L2 與 VL 的 C 端連接並與 VH 的 N 端連接；

在一些實施方案中，ScdsFv 的構建形式是 VH-L2-VL，表示 L2 與 VH 的 C 端連接並與 VL 的 N 端連接；

在一些實施方案中，ScdsFv 的構建形式是 VL-L2-VH，表示 L2 與 VL 的 C 端連接並與 VH 的 N 端連接。

【0054】 在一些實施方案中，毒素選自：細菌毒素、動物毒素或植物毒素。

【0055】 在一些實施方案中，毒素包括截短型毒素或毒素變體，該毒素變體包含胺基酸缺失、插入、替換或其組合。

【0056】 在一些實施方案中，毒素包括成孔毒素。

【0057】 在一些實施方案中，成孔毒素包括嗜水氣單胞菌氣溶素 (aerolysin) 或氣單胞菌溶素原 (proaerolysin)。

【0058】 在一些實施方案中，毒素包括布加寧 (bougainin)、蓖麻毒素、假單胞菌外毒素 (pseudomonas exotoxin、PE)、霍亂毒素 (cholera toxin) 或白喉毒素 (diphtheria toxin)。

【0059】 在一些實施方案中，毒素包括但不限於假單胞菌外毒素的細胞毒性片段或細胞毒性變體。在例如美國專利第 4,892,827 號；第 5,512,658 號；第 5,602,095 號；第 5,608,039 號；第 5,821,238 號；第 5,854,044 號；第 8,871,906 號；第 8,907,060 號；第 8,936,792 號；第 9,346,859 號；第 9,206,240 號；和第 9,388,222 號 (將其各自藉由引用併入本文) 中該 PE-LR、PE-LO10R456A、PE-T20、PE-T20-KDEL、PE4E、PE40、PE38、PE24、PE25、PE38QQR、PE38KDEL 和 PE35 中的任一種或多種。

【0060】 在一些實施方案中毒素包括如 SEQ ID NO: 49 所示的 PE38KDEL，也可以使用類似功能的 PE38DKEL、PE38RDEL 和 PE38KNEL 等變體。

【0061】 本揭露的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，可選的進一步包含接頭 (linker) L1。

【0062】 接頭 L1 連接毒素和抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段。

【0063】 合適的接頭 L1 通常允許本揭露的每個組分以三維結構進行折疊，這種三維結構非常類似於各組分在沒有任何接頭或其它組分的情況下所形成的結構。

【0064】 在一些實施方案中，接頭 L1 在細胞外是穩定的，使得 ADC 在存在於細胞外環境中時保持完整，但在例如癌細胞的細胞中內化時能夠被裂解。

【0065】 在一些實施方案中，合適的接頭 L1 可以包括，例如，蛋白酶敏感的、環境氧化還原電位敏感的、pH 敏感的、酸可切割的、光可切割的和/或熱敏感的接頭。

【0066】 在一些實施方案中，接頭 L1 可以是非蛋白性的，例如，化學接頭。非蛋白性化學接頭的例子包括但不限於：N-琥珀醯亞胺基（4-碘乙醯基）-胺基苯甲酸酯，S-（N-琥珀醯亞胺基）硫代乙酸酯（SATA），N-琥珀醯亞胺基-氧基羰基- $\omega$ -甲基- $\alpha$ -（2-吡啶基二硫基）甲苯（SMPT），N-琥珀醯亞胺基 4-（2-吡啶基二硫基）-戊酸酯（SPP），琥珀醯亞胺基 4-（N-馬來醯亞胺基甲基）環己烷甲酸酯（SMCC 或 MCC），磺基琥珀醯亞胺基（4-碘乙醯基）-胺基苯甲酸酯，4-琥珀醯亞胺基-氧基羰基- $\alpha$ -（2-吡啶基二硫基）甲苯，磺基琥珀醯亞胺基-6-（ $\alpha$ -甲基- $\alpha$ -（吡啶基二硫醇）-甲苯醯胺基）己酸酯，N-琥珀醯亞胺基-3-（-2-吡啶基二硫基）-丙酸酯（SPDP），琥珀醯亞胺基 6（3（-（-2-吡啶基二硫基）-丙醯胺基）己酸酯，磺基琥珀醯亞胺基 6（3（-（-2-吡啶基二硫基）-丙醯胺基）己酸酯，馬來醯亞胺基己醯基（MC），馬來醯亞胺基己醯基-纈胺酸-瓜胺酸-p-胺基苄氧基羰基（MC-vc-PAB），3-馬來醯亞胺基苯甲酸 N-羥基琥珀醯亞胺酯（MBS）， $\alpha$ -烷基衍生物，磺基 NHS-ATMBA（磺基琥珀醯亞胺基 N-[3-（乙醯基硫基）-3-甲基丁醯基- $\beta$ -丙胺酸]），磺基二氯苯酚，2-亞胺基硫雜環戊烷（2-

iminothiolane)，3-(2-吡啶基二硫基)-丙醯基醯肼，Ellman 氏試劑，二氯三嗪酸和 S-(2-硫代吡啶基)-L-半胱胺酸。

【0067】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段與毒素形成的複合物是融合蛋白的形式。

【0068】 在一些實施方案中，接頭 L1 是蛋白性接頭，包括但不限定於 1 個或多個胺基酸或多肽。接頭 L1 典型地包含約 2-50 個胺基酸殘基，例如約 5-30 個胺基酸殘基。通常，蛋白性的接頭包含大多數具有極性的、不帶電荷的和/或帶電荷的殘基的胺基酸殘基，例如，蘇胺酸、脯胺酸、穀胺醯胺、甘胺酸和丙胺酸等。蛋白性的接頭的非限制性例子包括丙胺酸-絲胺酸-甘胺酸-甘胺酸-脯胺酸-谷胺酸 (ASGGPE) (SEQ ID NO: 50)、纈胺酸-甲硫胺酸 (VM)、丙胺酸-甲硫胺酸 (AM)、AM (G2-4S) xAM，其中 G 是甘胺酸，S 是絲胺酸，且 x 是 1-10 的整數。

【0069】 在一些實施方案中，接頭 L1 選自以下以標準單字母代碼列出的肽：ASGCGPE (SEQ ID NO: 62)、ASGCCGPE (SEQ ID NO: 63)、ASGCGSCPE (SEQ ID NO: 64)、ASCGTTGCPE (SEQ ID NO: 65)、KASGKKYGCKKGPE (SEQ ID NO: 66)、KGGGCAGGPE (SEQ ID NO: 67)。

【0070】 本揭露複合物的各個組分，例如抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段、接頭 L1 和毒素，可以藉由本領域眾所周知的和/或本文描述的方式適當地彼此連接或融合。

【0071】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段藉由接頭 L1 與毒素彼此連接或融合。

【0072】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段的 C 端與接頭 L1 連接或融合。在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段的 N 端與接頭 L1 連接或融合。在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或抗原結合片段 C 端和 N 端分別連接或融合相同或不同的接頭 L1。

【0073】 在一些實施方案中，毒素是假單胞菌外毒素、假單胞菌外毒素的截短型片段或毒素變體。

【0074】 在一些實施方案中，毒素是假單胞菌外毒素的截短型片段 PE38。

【0075】 在一些實施方案中，毒素是 SEQ ID NO：49 所示的 PE38KDEL，也可以使用類似功能的 PE38DKEL、PE38RDEL 和 PE38KNEL 等變體。

【0076】 在一些實施方案中，L1 是蛋白性接頭。

【0077】 在一些實施方案中，L1 選自 ASGGPE (SEQ ID NO：50)、ASGCCGPE (SEQ ID NO：63)、ASGCGSCPE (SEQ ID NO：64)、ASCGTTGCPE (SEQ ID NO：65)、KASGKKYGCKKGPE (SEQ ID NO：66)、KGGGCAGGPE (SEQ ID NO：67)、AM (G<sub>2-4</sub>S)<sub>x</sub>AM，其中 x 是 1-10 的整數。

【0078】 在一些實施方案中，ScFv 特異性結合 IL-4R，其中 VH 和 VL 間用連接肽 L2 連接，且 VH 和 VL 在框架區引入穩定抗體結構的突變。在一些實施方案中，VH-44、VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0079】 在一些實施方案中，ScFv 的構建形式是 VH-L2-VL 或 VL-L2-VH。

【0080】 L2 由重複的 GGGGS 胺基酸序列或其變體組成，例如為 (GGGGS) $n$ ，其中  $n$  可以為 0、1、2、3、4、5 或者更多，例如  $n$  為 2、3、4，例如  $n$  為 3。

【0081】 在一些實施方案中，上述 ScFv 中所述 VH 包含：

(I) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；或

(II) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：12 和 SEQ ID NO：13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；

和/或該 VL 包含：

(I) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(II) 胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：15 和 SEQ ID NO：16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(III) 分別如 SEQ ID NO：38、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；或

(IV) 分別如 SEQ ID NO：42、SEQ ID NO：39 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

【0082】 在一些實施方案中，上述 ScFv 包含選自以下 (I) 至 (IV) 中的任一項：

(I) VH，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

VL，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(II) VH，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：12 和 SEQ ID NO：13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

VL，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：15 和 SEQ ID NO：16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(III) VH，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

VL，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：38、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(IV) VH，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

VL，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：42、SEQ ID NO：39 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

【0083】 在一些實施方案中，上述 ScFv 中：

VH 包含：

(I) 如 SEQ ID NO：1 所示或與 SEQ ID NO：1 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO：9 所示或與 SEQ ID NO：9 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO：43 所示或與 SEQ ID NO：43 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

和/或，VL 包含：

(I) 如 SEQ ID NO : 2 所示或與 SEQ ID NO : 2 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO : 10 所示或與 SEQ ID NO : 10 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO : 37 所示或與 SEQ ID NO : 37 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列；或

(IV) 如 SEQ ID NO : 41 所示或與 SEQ ID NO : 41 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、99% 同一性的序列。

【0084】視需要地，VH 和 VL 在框架區引入穩定抗體結構的突變，在一些實施方案中，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0085】在至少一個實施方案中，該 ScFv 中 VH 序列如 SEQ ID NO : 1 所示，VL 序列如 SEQ ID NO : 2 所示；或

VH 序列如 SEQ ID NO : 9 所示，VL 序列如 SEQ ID NO : 10 所示；  
或

VH 序列如 SEQ ID NO : 43 所示，VL 序列如 SEQ ID NO : 37 所示；  
或

VH 序列如 SEQ ID NO : 43 所示，VL 序列如 SEQ ID NO : 41 所示，視需要地，VH 和 VL 在框架區引入穩定抗體結構的突變。

【0086】在一些實施方案中，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。VH 序列如 SEQ ID NO : 47 所示，VL 序列如 SEQ ID NO : 48 所示。

【0087】在一些實施方案中，該 ScFv，其中，

VH 包含：

(I) 如 SEQ ID NO：25-27 之一所示或與 SEQ ID NO：25-27 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO：31-33 之一所示或與 SEQ ID NO：31-33 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99%同一性的序列；

和/或 VL 包含：

(I) 如 SEQ ID NO：28-30 之一所示或與 SEQ ID NO：28-30 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO：34-36 之一所示或與 SEQ ID NO：34-36 之一具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列，

視需要地，VH 和 VL 在框架區引入穩定抗體結構的突變。在一些實施方案中，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0088】 在一些具體的實施方案中，VH 如序列 SEQ ID NO：25-27 之一所示，和 VL 如序列 SEQ ID NO：28-30 之一所示，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸；或

VH 序列如 SEQ ID NO：31-33 之一所示，和 VL 序列如 SEQ ID NO：34-36 之一所示，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0089】 視需要地，VH 和 VL 在框架區引入穩定抗體結構的突變。在一些實施方案中，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0090】 在一些實施方案中，該 ScFv 包含重鏈和輕鏈，其中重鏈包含：

(I) 如 SEQ ID NO：17 所示或與 SEQ ID NO：17 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%或 99%同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO : 19 所示或與 SEQ ID NO : 19 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99% 同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO : 44 所示或與 SEQ ID NO : 44 具有至少 70%、80%、90%、95%、98%、或 99% 同一性的序列；

和/或輕鏈包含：

(I) 如 SEQ ID NO : 18 所示或與 SEQ ID NO : 18 具有至少 70%、80%、90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；或

(II) 如 SEQ ID NO : 20 所示或與 SEQ ID NO : 20 具有至少 70%、80%、90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；或

(III) 如 SEQ ID NO : 45 所示或與 SEQ ID NO : 45 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；或

(IV) 如 SEQ ID NO : 46 所示或與 SEQ ID NO : 46 具有至少 90%、95%、98% 或 99% 同一性的序列；

視需要地，VH 和 VL 在框架區引入穩定抗體結構的突變。在一些實施方案中，VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

**【0091】** 在至少一個實施方案中，重鏈可變區 VH 序列如 SEQ ID NO : 17 所示，和輕鏈可變區 VL 序列如 SEQ ID NO : 18 所示；或

VH 序列如 SEQ ID NO : 19 所示，和 VL 序列如 SEQ ID NO : 20 所示，其中 VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸；或

VH 序列如 SEQ ID NO : 44 所示，和 VL 序列如 SEQ ID NO : 45 所示，其中 VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸；或

VH 序列如 SEQ ID NO : 44 所示，和 VL 序列如 SEQ ID NO : 46 所示，其中 VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸。

【0092】 在一些實施方案中，抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物具有如 SEQ ID NO：52 或 SEQ ID NO：53 所示的序列。

【0093】 本揭露還提供了一種抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其包含：抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段以及一個或多個毒素；其中，該毒素選自成孔毒素、嗜水氣單胞菌氣溶素、氣單胞菌溶素原、布加寧、蓖麻毒素、假單胞菌外毒素、霍亂毒素或白喉毒素；較佳地，該毒素選自 PE-LR、PE-LO10R456A、PE-T20、PE-T20-KDEL、PE4E、PE40、PE38、PE24、PE25、PE38QQR、PE35、PE38KDEL、PE38DKEL、PE38RDEL、PE38KNEL；更佳地，該毒素是如 SEQ ID NO：49 所示的 PE38KDEL。

【0094】 本揭露提供一種多核苷酸，其編碼本揭露所述的任一種抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物。在其中一些實施方案中，多核苷酸為 DNA 或 RNA。

【0095】 本揭露提供一種含有如上所述多核苷酸的載體 (vector)，其為真核表達載體、原核表達載體或病毒載體。

【0096】 本揭露提供一種包含如上所述的載體的宿主細胞，該宿主細胞選自原核細胞或真核細胞。在至少一個實施方案中，原核細胞選自細菌，例如大腸桿菌。在至少一個實施方案中，真核細胞選自酵母菌或哺乳動物細胞，例如畢赤酵母或 CHO 細胞或人胚腎 (HEK) 293 細胞。

【0097】 本揭露提供一種用於製備抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物的方法，包括如下步驟：

【0098】 在上述宿主細胞中表達抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，以及從該宿主細胞中分離該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物；以及視需要地，純化該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物。

## 醫藥組成物

【0099】本揭露進一步提供一種醫藥組成物，其活性成分含有如上所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其用作藥物。

【0100】本揭露的醫藥組成物除活性成分外，可含有一種或多種可藥用的賦形劑、稀釋劑或載體 (vehicle)。醫藥組成物可含有 0.1 至 99 重量 % 的活性成分。

【0101】本揭露進一步提供選自以下的任一項或組合在製備藥物中的用途：根據本揭露的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段、抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物、根據本揭露的醫藥組成物；其中，該抗體或其抗原結合片段或其複合物用於治療和/或預防增殖性疾病或延緩增殖性疾病進展。該增殖性病徵可以是癌症或腫瘤；例如其中該癌症或腫瘤為與 IL-4R 表達相關的癌症或腫瘤。該癌症或腫瘤選自前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、子宮內膜癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、淋巴瘤（例如，霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或復發性間變性大細胞淋巴瘤）、肺癌、腎癌、肝癌（例如，小細胞肺癌和非小細胞肺癌）、大腸癌（例如結腸癌）、胰腺癌、胃癌、白血病（例如，急性淋巴細胞白血病、急性髓細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性髓細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病）和腦癌、中樞神經系統腫瘤。

【0102】在一些實施方案中，該中樞神經系統腫瘤包括神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、星形細胞瘤、髓母細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突膠質瘤、血管瘤、腦膜瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、成年母細胞瘤。

【0103】在一些實施方案中，該中樞神經系統腫瘤是神經膠質母細胞瘤。

【0104】 在一些實施方案中，該神經膠質母細胞瘤是復發性或難治性膠質母細胞瘤。

【0105】 在一些實施方案中，該神經膠質母細胞瘤中 O6-甲基鳥嘌呤-DNA 甲基轉移酶（O6-methylguanine-DNA methyltransferase，MGMT）表達為陽性或陰性。

#### 治療方法

【0106】 本揭露提供一種治療和/或預防增殖性疾病或延緩增殖性疾病進展的方法，該方法包括給予需要的受試者治療或延緩疾病有效量的根據本揭露的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段、或根據本揭露的醫藥組成物、或根據本揭露的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物；其中，該增殖性病變可以是癌症或腫瘤。

【0107】 本揭露提供在患有、疑似患有、易感於細胞增殖性病變的受試者中增強免疫功能的方法。一些實施方案中，該細胞增殖性病變為癌症或腫瘤。

【0108】 例如，該癌症或腫瘤為與 IL-4R 表達相關的癌症或腫瘤。該癌症或腫瘤選自前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、子宮內膜癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、淋巴瘤（例如，霍奇金淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤或復發性間變性大細胞淋巴瘤）、肺癌、腎癌、肝癌（例如，小細胞肺癌和非小細胞肺癌）、大腸癌（例如結腸癌）、胰腺癌、胃癌、白血病（例如，急性淋巴細胞白血病、急性髓細胞白血病、急性早幼粒細胞白血病、慢性髓細胞白血病、慢性淋巴細胞白血病）和腦癌、中中神經系統腫瘤。

【0109】 在一些實施方案中，該中樞神經系統腫瘤包括神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、星形細胞瘤、髓母細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松

果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突膠質瘤、血管瘤、腦膜瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、成年母細胞瘤。

【0110】 在一些實施方案中，該中樞神經系統腫瘤是神經膠質母細胞瘤。

【0111】 在一些實施方案中，該神經膠質母細胞瘤是復發性或難治性膠質母細胞瘤。

【0112】 在一些實施方案中，該神經膠質母細胞瘤中 O6-甲基鳥嘌呤-DNA 甲基轉移酶 (O6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT) 表達陽性或陰性。

【0113】 本揭露治療和/或預防方法中所用化合物 (如本揭露的複合物或組成物) 的劑量通常將隨疾病的嚴重性、受試者的體重和化合物的相對功效而改變。作為一般性指導，合適的單位劑量可以是 0.1mg 至 1000mg。

【0114】 如所屬技術領域具有通常知識者所熟知的，藥物的給藥劑量依賴於多種因素，包括但並非限定於以下因素：所用具體化合物的活性、受試者的年齡、受試者的體重、受試者的健康狀況、受試者的行為、受試者的飲食、給藥時間、給藥方式、排泄的速率、藥物的組合等，可以根據公知的治療方案來驗證。

#### 【圖式簡單說明】

【0115】 圖 1A 和圖 1B 為示例性的複合物的結構示意圖；抗體 25G7 的 scdsFv 與毒素 PE38KDEL 的抗體偶聯藥物 25G7-scdsFv-PE38KDEL (圖 1A) 和 25G7-scFv-PE38KDEL (圖 1B)。

【0116】圖 2A 和圖 2B 為複合物 25G7-scFv-PE38KDEL 和 25G7-scFv-PE38KDEL 純化後的 SDS-PAGE 圖，其中 M 為分子量標記(Marker)。

【0117】圖 3 為流式細胞法檢測神經膠質母細胞瘤 (GBM) 細胞系中的 IL-4R 表達水準。利用慢病毒系統構建人 IL-4R 穩轉的 LN229、U251、U87 腦膠質瘤細胞株，用流式細胞法檢測 IL-4R 的過表達水準，對照為未轉染人 IL-4R 構建體的對應細胞。

【0118】圖 4A 至圖 4C 為流式細胞法檢測複合物在神經膠質母細胞瘤細胞表面的結合。利用流式細胞法測定 25G7-scFv-PE38KDEL 和 MDNA55 分別在 IL-4R 穩轉細胞株 LN229-IL4R、U251-IL4R、U87-IL4R 細胞表面的結合能力。

【0119】圖 5A 至圖 5C 為複合物在神經膠質母細胞瘤細胞中的內吞效率；利用流式細胞法測定 25G7-scFv-PE38KDEL(25G7-IT)和 MDNA55 分別在 LN229-IL4R、U251-IL4R、U87-IL4R 細胞中 0 至 24 小時的內吞效率。

【0120】圖 6A 至圖 6F 為複合物對神經膠質母細胞瘤細胞的體外細胞毒性；用 CTG 法測定 25G7-scFv-PE38KDEL (25G7-IT) 和 MDNA55 分別對 LN229-IL4R、U251-IL4R、U87-IL4R 以及對照細胞的體外細胞毒性結果。

【0121】圖 7A 至圖 7D 為用 CTG 法比較 25G7-scFv-PE38KDEL 與 25G7-scFv-PE38KDEL、MDNA55 分別在 LN229-IL4R、U251-IL4R 以及對照神經膠質瘤細胞的體外細胞毒性結果。

【0122】圖 8A 至圖 8C 為複合物在 U87-MG 皮下接種的裸鼠腫瘤模型中體內藥效比較結果；25G7-scdsFv-PE38KDEL (25G7-IT) 和 MDNA55 的給藥劑量均為 0.5 mg/kg (mpk) ，瘤內給藥 (i.t.) 。

【0123】圖 9 A 至圖 9C 為複合物在 LN229-IL4R (過表達 IL-4R 的 LN229 細胞) 皮下接種裸鼠腫瘤模型中的體內藥效比較結果；25G7-scdsFv-PE38KDEL (25G7-IT) 和 MDNA55 藥物給藥劑量均為 0.25 mpk (i.t.) ，或 25G7-scdsFv-PE38KDEL 0.25 mpk (i.v.) 。

【0124】圖 10 A 至圖 10C 為複合物在 LN229-IL4R 皮下接種裸鼠腫瘤模型中的體內藥效結果；25G7-scdsFv-PE38KDEL (25G7-IT) 藥物給藥劑量為 0.1 mpk (第二次及以後降為 0.05 mpk) 、0.3 mpk (第二次及以後降為 0.15 mpk) 、MDNA55 藥物給藥劑量為 0.1 mpk (第二次及以後降為 0.05 mpk) ，瘤內給藥 (i.t.) 。

## 【實施方式】

### 術語

【0125】為了更容易理解本申請，以下具體定義了某些技術和科學術語。除顯而易見在本檔中的它處另有明確定義，否則本文使用的所有其它技術和科學術語都具有所屬技術領域具有通常知識者通常理解的含義。

【0126】本揭露將專利文本 WO2020/038454A1 的內容全部引入本申請。

【0127】本申請所用胺基酸三字母代碼和單字母代碼如 J. Biol. Chem, 243, p3558 (1968) 中所述。

【0128】“人 IL-4R” (hIL-4R) 意指與白細胞介素-4 (IL-4)、IL-4R $\alpha$  特異性結合的人細胞因數受體。hIL-4R 旨在涵蓋 IL-4R 在體內各階段中的各種形式的分子，例如但不限於 IL-4R 基因在擴增、複製、轉錄、剪接、加工、翻譯、修飾過程中所產生的分子，例如前體 IL-4R、成熟 IL-4R、天然存在的 IL-4R 剪接變體、修飾的 IL-4R、或其片段。

【0129】“抗體”指免疫球蛋白，是由兩條相同的重鏈和兩條相同的輕鏈藉由鏈間二硫鍵連接而成的四肽鏈結構。免疫球蛋白重鏈恆定區的胺基酸組成和排列順序不同，故其抗原性也不同。據此，可將免疫球蛋白分為五類，或稱為免疫球蛋白的同種型，即 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE，其相應的重鏈分別為  $\mu$  鏈、 $\delta$  鏈、 $\gamma$  鏈、 $\alpha$  鏈和  $\epsilon$  鏈。同一類 Ig 根據其鉸鏈區胺基酸組成和重鏈二硫鍵的數目和位置的差別，又可分為不同的亞類，如 IgG 可分為 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。輕鏈藉由恆定區的不同分為  $\kappa$  鏈或  $\lambda$  鏈。五類 Ig 中每類 Ig 都可以有  $\kappa$  鏈或  $\lambda$  鏈。

【0130】抗體輕鏈可進一步包含輕鏈恆定區，該輕鏈恆定區包含人源或鼠源的  $\kappa$ 、 $\lambda$  鏈或其變體。

【0131】抗體重鏈可進一步包含重鏈恆定區，該重鏈恆定區包含人源或鼠源的 IgG1，IgG2，IgG3，IgG4 或其變體。

【0132】抗體重鏈和輕鏈靠近 N 端的約 110 個胺基酸的序列變化很大，為可變區 (V 區)；靠近 C 端的其餘胺基酸序列相對穩定，為恆定區 (C 區)。可變區包括 3 個高變區 (HVR) 和 4 個序列相對保守的骨架區 (FR)。3 個高變區決定抗體的特異性，又稱為互補性決定區 (CDR)。每條輕鏈可變區 (LCVR) 和重鏈可變區 (HCVR) 由 3 個 CDR 區 4 個 FR

區組成，從胺基端到羧基端依次排列的順序為：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。輕鏈的 3 個 CDR 區指輕鏈互補決定區 1（LCDR1），輕鏈互補決定區 2（LCDR2），和輕鏈互補決定區 3（LCDR3）；重鏈的 3 個 CDR 區指重鏈互補決定區 1（HCDR1），重鏈互補決定區 2（HCDR2）和重鏈互補決定區 3（HCDR3）。

【0133】 抗體包括鼠源抗體，嵌合抗體，人源化抗體，全人抗體，其可以是重組獲得的，例如可以是親和力成熟得到的重組全人抗體。

【0134】 “重組全人抗體”包括藉由重組方法製備、表達、創建或分離的全人抗體，所涉及的技術和方法在本領域中是熟知的，諸如（1）從人免疫球蛋白基因的轉基因、轉染色體動物（例如小鼠）或由其製備的融合瘤中分離的抗體；（2）從經轉化以表達抗體的宿主細胞如轉染瘤中分離的抗體；（3）從重組組合人抗體文庫中分離的抗體；以及（4）藉由將人免疫球蛋白基因序列剪接到其他 DNA 序列等方法製備、表達、創建或分離的抗體。此類重組全人抗體包含可變區和恆定區，這些區域利用特定的由種系基因編碼的人種系免疫球蛋白序列，但也包括隨後諸如在抗體成熟過程中發生的重排和突變。

【0135】 術語“宿主細胞”是指已向其中引入了表達載體的細胞。宿主細胞可包括細菌、微生物、植物或動物細胞。易於轉化的細菌包括腸桿菌科（*enterobacteriaceae*）的成員，例如大腸桿菌（*Escherichia coli*）或沙門氏菌（*Salmonella*）的菌株；芽孢桿菌科（*Bacillaceae*）例如枯草芽孢桿菌（*Bacillus subtilis*）；肺炎球菌（*Pneumococcus*）；鏈球菌（*Streptococcus*）和流感嗜血菌（*Haemophilus influenzae*）。適當的微生物包括釀酒酵母

(*Saccharomyces cerevisiae*) 和畢赤酵母 (*Pichia pastoris*)。適當的動物宿主細胞系包括 CHO (中國倉鼠卵巢細胞系) 和 NS0 細胞。

【0136】“鼠源抗體”在本文中為根據本領域知識和技能製備的對人 IL-4R 的單株抗體。製備時用 IL-4R 抗原 (或包含表位的多肽) 注射試驗物件，然後分離表達具有所需序列或功能特性的抗體的融合瘤。在一些實施方案中，該鼠源結合人 IL-4R 的抗體或其抗原結合片段，可進一步包含鼠源  $\kappa$ 、 $\lambda$  鏈或其變體的輕鏈恆定區，或進一步包含鼠源 IgG1, IgG2, IgG3 或 IgG4 或其變體的重鏈恆定區。

【0137】“全人抗體”包括具有人種系免疫球蛋白序列的可變和恆定區的抗體。本文的全人抗體可包括不由人種系免疫球蛋白序列編碼的胺基酸殘基 (如藉由體外隨機或位點特異性誘變或藉由體內體細胞突變所引入的突變)。然而，術語“全人抗體”不包括這樣的抗體，即其中已將衍生自另一種哺乳動物物種 (諸如小鼠) 種系的 CDR 序列移植到人骨架序列上 (即“人源化抗體”)。

【0138】“人源化抗體 (humanized antibody)”，也稱為 CDR 移植抗體 (CDR-grafted antibody)，是指將非人 CDR 序列移植到人的抗體可變區框架中產生的抗體。可以克服嵌合抗體由於攜帶大量異源蛋白成分，從而誘導的強烈的免疫應答反應。為避免在免疫原性下降的同時引起活性的下降，可對該人抗體可變區可進行最少反向突變，以保持活性。

【0139】“嵌合抗體 (chimeric antibody)”，是將鼠源性抗體的可變區與人抗體的恆定區融合而成的抗體，可以減輕鼠源性抗體誘發的免疫應答反應。建立嵌合抗體，要選建立分泌鼠源性特異性單抗的融合瘤，然後從小鼠融合瘤細胞中選殖可變區基因，再要據需要選殖人抗體的恆定區基因，將小鼠可變區基因與人恆定區基因連接成嵌合基因後插入人載體中，最後

在真核工業系統或原核工業系統中表達嵌合抗體分子。人抗體的恆定區可選自人源 IgG1, IgG2, IgG3 或 IgG4 或其變體的重鏈恆定區, 例如包含人源 IgG2 或 IgG4 重鏈恆定區, 或者使用胺基酸突變後無 ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, 抗體依賴的細胞介導的細胞毒作用) 毒性的 IgG1。

【0140】“抗原結合片段”指具有抗原結合活性的 Fab 片段、Fab' 片段、F(ab')<sub>2</sub> 片段, 與人 IL-4R 結合的 Fv 片段、scFv 片段, 以及, 包含該片段的多肽或蛋白。該“抗原結合片段”包含本文該抗體的一個或多個 CDR 區。Fv 片段含有抗體重鏈可變區和輕鏈可變區, 但沒有恆定區, 並具有全部抗原結合位元元點的最小抗體片段。一般地, Fv 抗體還包含在 VH 和 VL 結構域之間的多肽接頭, 且能夠形成抗原結合所需的結構。也可以用不同的連接物將兩個抗體可變區連接成一條多肽鏈, 稱為單鏈抗體 (single chain antibody) 或單鏈 Fv (scFv)。

【0141】術語“單鏈抗體”、“單鏈 Fv”或“scFv”意指包含藉由接頭 (或連接肽) 連接的重鏈可變結構域 (或區域; VH) 和輕鏈可變結構域 (或區域; VL) 的分子。此類 scFv 分子可具有一般結構: NH<sub>2</sub>-VL-接頭-VH-COOH 或 NH<sub>2</sub>-VH-接頭-VL-COOH。合適的現有技術接頭由重複的 GGGGS 胺基酸序列或其變體組成, 例如包含 1-4 個重複的變體 (Holliger 等人 (1993), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448)。可用於本揭露的其他接頭由 Alfthan 等人 (1995), Protein Eng. 8: 725-731, Choi 等人 (2001), Eur. J. Immunol. 31: 94-106, Hu 等人 (1996), Cancer Res. 56: 3055-3061, Kipriyanov 等人 (1999), J. Mol. Biol. 293: 41-56 和 Roovers 等人 (2001), Cancer Immunol. 描述。

【0142】術語“抗體框架”，是指可變結構域 VL 或 VH 的一部分，其用作該可變結構域的抗原結合環（CDR）的支架。從本質上講，其是不具有 CDR 的可變結構域。

【0143】“與 IL-4R 結合”，指能與人 IL-4R（或其表位、片段）相互作用。本文的術語“抗原結合位點”指由本文抗體或抗原結合片段識別的三維空間位點。

【0144】“表位”是指抗原上與免疫球蛋白或抗體特異性結合的位點。表位可以由相鄰的胺基酸形成、或不相鄰的胺基酸藉由三級折疊而形成。由相鄰的胺基酸形成的表位通常在暴露於變性溶劑後保持，而藉由三級折疊形成的表位通常在變性溶劑處理後喪失。表位通常以獨特的空間構象包括至少 3-15 個胺基酸。確定什麼表位被給定抗體所結合的方法在本領域中是熟知的，包括免疫印跡和免疫沉澱檢測分析等。確定表位的空間構象的方法包括本領域中的技術和本文所述的技術，例如 X 射線晶體分析法和二維核磁共振等。

【0145】“特異性結合”、“選擇性結合”、“選擇性地結合”和“特異性地結合”是指抗體與預定的抗原上的表位結合。通常，當使用重組人 IL-4R 作為分析物並使用抗體作為配體，在儀器中藉由表面電漿共振（SPR）技術測定時，抗體以大約低於  $10^{-7}M$  或甚至更小的平衡解離常數（KD）與預定的抗原結合，並且其與預定抗原結合的親和力是其與預定抗原或緊密相關的抗原之外的非特異性抗原（如 BSA 等）結合的親和力的至少兩倍。術語“識別抗原的抗體”在本文中可以与術語“特異性結合的抗體”互換使用。

【0146】“交叉反應”是指本文的抗體與來自不同物種的 IL-4R 結合的能力。例如，結合人 IL-4R 的本文的抗體也可以結合另一物種的 IL-4R。交叉反應性是藉由在結合測定（例如 SPR 和 ELISA）中檢測與純化抗原的特異性反應性，或與生理表達 IL-4R 的細胞的結合或功能性相互作用來測量。確定交叉反應性的方法包括如本文所述的標準結合測定，例如表面電漿共振（SPR）分析，或流式細胞術。

【0147】“中和”或“阻斷”抗體意指其與 hIL-4R 的結合造成對 hIL-4 和/或 hIL-13 生物活性抑制的抗體。這種 hIL-4 和/或 IL-13 生物活性的抑制可藉由測量本領域眾所周知的一個或多個 hIL-4/或 hIL-13 生物活性指標，如 hIL-4/或 hIL-13 誘導的細胞活化和 hIL-4 與 hIL-4R 的結合等指標來評估。例如參見 CN103739711A 中的。“抑制生長”（例如關於細胞）旨在包括細胞生長任何可測量的降低。

【0148】“誘導免疫應答”和“增強免疫應答”可互換使用，並指免疫應答對特定抗原的刺激（即，被動或適應性的）。針對誘導 CDC 或 ADCC 的術語“誘導”是指刺激特定的直接細胞殺傷機制。

【0149】“ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)”，抗體依賴的細胞介導的細胞毒作用，是指表達 Fc 受體的細胞藉由識別抗體的 Fc 段直接殺傷被抗體包被的靶細胞。可藉由對 IgG 上 Fc 段的修飾，降低或消除抗體的 ADCC 效應功能。該修飾指在抗體的重鏈恆定區進行突變，如選自 IgG1 的 N297A，L234A，L235A；IgG2/4 嵌合體，IgG4 的 F235E，或 L234A/E235A 突變。

【0150】融合蛋白是一種藉由 DNA 重組得到的兩個基因共表達的蛋白產物。例如抗 IL-4R 抗體-PE38KDEL 融合蛋白藉由 DNA 重組，把抗 IL-4R 抗體和毒素分子 PE38KDEL 共表達的融合蛋白。生產和純化抗體和抗原結合片段的方法在現有技術中熟知和能找到，如冷泉港的抗體實驗技術指南，5-8 章和 15 章。如，小鼠可以用人 IL-4R 或其片段免疫，所得到的抗體能被覆性，純化，並且可以用常規的方法進行胺基酸測序。抗原結合片段同樣可以用常規方法製備。本文所述的抗體或抗原結合片段用基因工程方法在非人源的 CDR 區加上一個或多個人 FR。人 FR 種系序列可以從 ImMunoGeneTics (IMGT) 的網站得到，或者從免疫球蛋白雜誌，2001ISBN012441351 上獲得。

【0151】工程化的抗體或抗原結合片段可用常規方法製備和純化。作為一個示例，編碼重鏈和輕鏈的 cDNA 序列，可以選殖並重組至 GS 表達載體。重組的免疫球蛋白表達載體可以穩定地轉染 CHO 細胞。利用分子選殖技術將本文的人源化抗體的序列插入到相應的表達載體中，利用 HEK293 細胞表達系統表達生產，即可獲得相應的人源化抗體。作為一個示例，哺乳動物類表達系統會導致抗體的糖基化，特別是在 Fc 區的高度保守 N 端。藉由表達與人源抗原特異性結合的抗體得到穩定的純株。陽性的純株在生物反應器的無血清培養基中擴大培養以生產抗體。分泌了抗體的培養液可以用常規技術純化、收集。抗體可用常規方法進行過濾濃縮。可溶的混合物和多聚體，也可以用常規方法去除，比如分子篩，離子交換。得到的產物需立即冷凍，如-70℃，或者凍乾。

【0152】 抗體可以是單株抗體（mAb），是指由單一的純株細胞株得到的抗體，該細胞株不限於真核的，原核的或噬菌體的純株細胞株。單株抗體或抗原結合片段可以用如融合瘤技術、重組技術、噬菌體展示技術，合成技術（如 CDR-grafting），或其它現有技術進行重組得到。

【0153】 抗體可以是單特異、雙特異或多特異抗體。多特異性抗體可對靶標肽的不同表位元顯示特異性，或也可包含對一個以上靶標肽顯示特異性的抗原結合域。人抗 IL-4R 抗體可被連接到另一個功能分子（如另一個肽或蛋白質）上，或與之共表達。例如，抗體或其片段可功能性地（如藉由化學偶聯、基因融合、非共價結合或其他方式）與一個或多個其他分子（如另一個抗體或抗原結合片段）連接，以產生具有至少一種結合特異性的雙特異或多特異抗體。

【0154】 “施用”、“給予”和“處理”當應用於動物、人、實驗受試者、細胞、組織、器官或生物流體時，是指外源性藥物、治療劑、診斷劑或組成物與動物、人、受試者、細胞、組織、器官或生物流體的接觸。“施用”、“給予”和“處理”可以指例如治療、藥物代謝動力學、診斷、研究和實驗方法。細胞的處理包括試劑與細胞的接觸，以及試劑與流體的接觸，其中該流體與細胞接觸。“施用”、“給予”和“處理”還意指藉由試劑、診斷、組成物或藉由另一種細胞體外和離體處理例如細胞。“處理”當應用於人、獸醫學或研究受試者時，是指治療處理、預防或預防性措施、研究和診斷應用。

【0155】 “治療”意指給予受試者內用或外用治療劑，諸如本文的任一種複合物或組成物，該受試者具有（疑似具有、易感於）一種或多種疾病症狀，而該治療劑對這些症狀具有治療作用。通常，在受治療受試者或群

體中以有效緩解一種或多種疾病症狀的量給予治療劑，無論是藉由誘導這類症狀退化還是抑制這類症狀發展到任何臨床可測量的程度。有效緩解任何具體疾病症狀的治療劑的量（也稱作“治療有效量”）可根據多種因素變化，例如受試者的疾病狀態、年齡和體重，以及藥物在受試者產生需要療效的能力。藉由醫生或其它專業衛生保健人士通常用於評價該症狀的嚴重性或進展狀況的任何臨床檢測方法，可評價疾病症狀是否已被減輕。儘管本實施方案（例如治療方法或製品）在緩解單個受試者的目標疾病症狀方面可能無效，但是根據本領域已知的任何統計學檢驗方法如 Student t 檢驗、卡方檢驗、依據 Mann 和 Whitney 的 U 檢驗、Kruskal-Wallis 檢驗（H 檢驗）、Jonckheere-Terpstra 核對總和 Wilcoxon 檢驗確定，其在統計學顯著數目的受試者中應當減輕目標疾病症狀。

**【0156】** 應用於某個物件的術語“天然存在的”是指這樣的事實，即該物件可在自然界中發現。例如存在於可從自然界來源分離得到的生物體（包括病毒）、且未經人工有意修飾的多肽序列或多核苷酸序列即是天然存在的。

**【0157】** “有效量”包含足以改善或預防醫學病症的症狀或病症的量。有效量還意指足以允許或促進診斷的量。用於特定受試者或獸醫學受試者的有效量可依據以下因素而變化：如待治療的病症、受試者的總體健康情況、給藥的方法途徑和劑量以及副作用嚴重性。有效量可以是避免顯著副作用或毒性作用的最大劑量或給藥方案。

**【0158】** “外源性”指根據背景在生物、細胞或人體外產生的物質。

**【0159】** “內源性”指根據背景在生物、細胞或人體內產生的物質。

【0160】“同源性”或“同一性”是指兩個多核苷酸序列之間或兩個多肽之間的序列相似性。當兩個比較序列中的位置均被相同鹼基或胺基酸單體亞基佔據時，例如如果兩個 DNA 分子的每一個位置都被腺嘌呤佔據時，那麼該分子在該位置是同源的。兩個序列之間的同源性百分率是兩個序列共有的匹配或同源位置數除以比較的位置數 $\times 100\%$ 的函數。例如，在序列最佳比對時，如果兩個序列中的 10 個位置有 6 個匹配或同源，那麼兩個序列為 60%同源。一般而言，當比對兩個序列而得到最大的同源性百分率時進行比較。本文所述“至少 85%序列同一性”是指變體與親本序列相比，兩序列具有至少 85%同源，在一些方案中，其具有至少 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%序列同源；在一些具體的方案中，其具有 90%、95%或 99%以上；在另一些具體的方案中，其具有至少 95%序列同源。該具有至少 85%序列同一性的胺基酸序列包括藉由對親本序列進行一個或者多個胺基酸缺失、插入或替換突變獲得。

【0161】本文使用的術語“細胞”、“細胞系”、“細胞株”和“細胞培養物”可互換使用，並且所有這類術語都包括其後代。因此，術語“轉化體”和“轉化細胞”包括原代受試細胞和由其衍生的培養物，而不考慮傳代的次數。還應當理解的是，由於有意或非有意的突變，後代和親本細胞在 DNA 含量方面不可能精確相同。該術語包括具有與親本細胞相同的功能或生物學活性的突變後代，其中親本細胞是從初始轉化的細胞中篩選所得。

【0162】“視需要”或“視需要地”意味著隨後所描述的事件或環境可以但不必發生，該說明包括該事件或環境發生或不發生的場合。例如，“視需要包含 1-3 個抗體重鏈可變區”意味著抗體重鏈可變區可以但不必須存在。

【0163】術語“載體 (vector)”是指能夠運輸已與其連接的另一個核酸的核酸分子。在一個實施方案中，載體是“質粒”，其是指可將另外的 DNA 區段連接至其中的環狀雙鏈 DNA 環。在另一個實施方案中，載體是病毒載體，其中可將另外的 DNA 區段連接至病毒基因組中。本文中公開的載體能夠在已引入它們的宿主細胞中自主複製（例如，具有細菌的複製起點的細菌載體和附加型哺乳動物載體）或可在引入宿主細胞後整合入宿主細胞的基因組，從而隨宿主基因組一起複製（例如，非附加型哺乳動物載體）。

【0164】“醫藥組成物”表示含有一種或多種本文所述複合物或其生理學上/可藥用的鹽或前體藥物與其他組分的混合物，其中該其他組分是例如生理學/可藥用的載體 (vehicle) 或賦形劑。醫藥組成物的目的是促進對生物體的給藥，利於活性成分的吸收進而發揮生物活性。

【0165】術語“賦形劑”是在藥物製劑中除活性成分以外的附加物，也可稱為輔料。如片劑中的黏合劑、填充劑 (filler)、崩解劑、潤滑劑；半固體製劑軟膏劑、霜劑中的基質部分；液體製劑中的防腐劑、抗氧劑、矯味劑、芳香劑、助溶劑、乳化劑、增溶劑、滲透壓調節劑、著色劑等均可稱為賦形劑。

【0166】術語“稀釋劑 (diluent)”又稱填充劑 (filler)，其主要用途是增加片劑的重量和體積。稀釋劑的加入不僅保證一定的體積大小，而且減少主要成分的劑量偏差，改善藥物的壓縮成型性等。當片劑的藥物含有

油性組分時，需加入吸收劑吸收油性物，使保持“乾燥”狀態，以利於製成片劑。如澱粉、乳糖、鈣的無機鹽、微晶纖維素等。

**【0167】**“免疫組織化學評分”是處理免疫組化結果的一種組織學評分方法，將每張切片內陽性的細胞數量及其染色強度轉化為相應的數值，達到對組織染色半定量的目的。評分 0 表示未觀察到染色或在小於 10% 的腫瘤細胞中觀察到膜染色；評分+1 表示在大於 10% 的腫瘤細胞中檢測到微弱/勉強可覺察的膜染色；對於評分+2，在大於 10% 的腫瘤細胞中觀察到中等完全膜染色；評分+3 表示在大於 10% 的腫瘤細胞中觀察到強的完全膜染色。在本揭露中，IL-4R 表達為 0 或+1 評分的那些樣品可以視為不過表達 IL-4R，而+2 或+3 評分的那些樣品可以視為過表達 IL-4R。

**【0168】**以下結合實施例用於進一步描述本申請，但這些實施例並非限制保護範圍。

**【0169】**實施例或測試例中未註明具體條件的實驗方法，通常按照常規條件，或按照原料或商品製造廠商所建議的條件。參見 Sambrook 等，分子選殖，冷泉港實驗室；當代分子生物學方法，Ausubel 等著，Greene 出版協會，Wiley Interscience，NY。未註明具體來源的試劑，為市場購買的常規試劑。

#### **【0170】 實施例 1. 示例性免疫毒素的製備**

**【0171】**將人源化 IL-4R 單株抗體 hu25G7（重鏈可變區序列如 SEQ ID NO：43 所示，hu25G7-VH；輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO：37 所示，hu25G7-A LCVR）的單鏈可變區段（scFv）藉由接頭 ASGGPE（SEQ ID NO：50）與突變且截短的假單胞菌外毒素（PE38KDEL）（SEQ ID NO：

49) 融合表達；其中將 hu25G7 抗體 VH-44 和 VL-100 位置的胺基酸突變成半胱胺酸 (如 SEQ ID NO : 47-48) , VH 與 VL 由連接肽 (GGGGS)<sub>3</sub> (SEQ ID NO : 51) 連接；據此獲得靶向 IL-4R 的免疫毒素 25G7-(scdsFv)-PE38KDEL (以下稱 25G7-IT) , 完整序列如 SEQ ID NO : 52 所示。

【0172】圖 1A 和圖 1B 是兩種免疫毒素的結構示意圖。在大腸桿菌 BL21 中表達 25G7-IT , 從包涵體中進行蛋白純化和複性；然後去除內毒素，獲得純化的 25G7-IT 蛋白，分子量約為 63 KDa (SDS-PAGE 結果如圖 2 A 和圖 2B 所示)。

【0173】人源化抗人 IL-4R 的抗體 25G7 的重鏈序列如 SEQ ID NO : 17 所示，輕鏈序列如 SEQ ID NO : 18 所示。可以根據本領域常規的抗體表達和純化方法，例如根據專利申請 WO2020038454A1 中描述的方法表達和純化抗體。前述專利申請藉由引用將其全文併入本文中。

#### **hu25G7-VH-44 序列**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGK  
CLEWVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTA  
VYYCTRGNKRGFFDYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO : 47 ;

#### **hu25G7-VL-100 序列**

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSVPYMYWYQQKPGQAPRL  
LIYLTSNLAGIPARFSGSGSGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWRAYP  
PMLTFGCGTKVEIK

SEQ ID NO : 48 ;

**PE38KDEL 序列：**

EGGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQCGYPVQRLV  
 ALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPEQARLALTL  
 AAAESERFVRQGTGNDEAGAANGPADSGDALLERNYPTGAEFLGDG  
 GDVSFSTRGTQNWTVRLLQAHQRLEERGYVFGYHGTFLCAAQSI  
 VFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDARGRIRNG  
 ALLRVYVPRSSLPGFYRTSLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPLRLDAITGP  
 EEEGGRLEITILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSSIPDKEQAI  
 SALPDYASQPGKPPKDEL

SEQ ID NO : 49 ;

**接頭 L1 序列：**

ASGGPE

SEQ ID NO : 50 ;

**連接肽 L2 序列：**

GGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO : 51 ;

**25G7- (scdsFv) -PE38KDEL (25G7-IT) 序列：**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYGMHWVRQAPGKCLE  
 WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY  
 YCTRGNKRGFFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQS  
 PATLSLSPGERATLSCRASSVPMYQKPGQAPRLLIYLTSLAS  
 GIPARFSGSGGTDFLTLSLEPEDFAVYYCQQWRAYPPMLTFGCGT  
 KVEIKASGGPEEGGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQC  
 GYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPE  
 QARLALTLAAAESERFVRQGTGNDEAGAANGPADSGDALLERNYPT

GAEFLGDGGDVSFSTRGTQNWTVERLLQHRQLEERGYVFGYHGT  
 FLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDA  
 RGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTSLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPL  
 RLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSS  
 IPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDEL

SEQ ID NO : 52 .

【0174】此外，我們還開發了沒有額外引入鏈間二硫鍵形式的免疫毒  
 素融合蛋白 25G7- (scFv) -PE38KDEL，其胺基酸序列如 SEQ ID NO :  
 53 所示。

**25G7- (scFv) -PE38KDEL 序列：**

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYGMHWVRQAPGKGLE  
 WVAFISSGSSIIYYADIVKGRSTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVY  
 YCTRGNKRGFFDYWGQGTLLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSEIVLTQS  
 PATLSLSPGERATLSCRASSVPMYQKPGQAPRLLIYLTSLAS  
 GIPARFSGSGGTDFTLTISSELEPEDFAVYYCQQWRAYPPMLTFGGGT  
 KVEIKASGGPEEGSLAALTAHQACHLPLETFTRHRQPRGWEQLEQC  
 GYPVQRLVALYLAARLSWNQVDQVIRNALASPGSGGDLGEAIREQPE  
 QARLALTLAAESERFVRQGTGNDEAGAANGPADSGDALLERNYPT  
 GAEFLGDGGDVSFSTRGTQNWTVERLLQHRQLEERGYVFGYHGT  
 FLEAAQSIVFGGVRARSQDLDAIWRGFYIAGDPALAYGYAQDQEPDA  
 RGRIRNGALLRVYVPRSSLPGFYRTSLTLAAPEAAGEVERLIGHPLPL  
 RLDAITGPEEEGGRLETILGWPLAERTVVIPSAIPTDPRNVGGDLDPSS  
 IPDKEQAISALPDYASQPGKPPKDEL

**【0175】 實施例 2. 相互作用的親和動力學測定**

**【0176】** 使用 Biacore 生物大分子相互作用儀 (biacore 8K,GE)，藉由表面電漿共振 (Surface Plasmon Resonance, SPR) 技術，測定 25G7-IT 和參照樣品 MDNA55 (在大腸桿菌系統中進行表達純化) 分別與 hrIL-4R-Fc (ILR-H5253, Acro) 相互作用的親和動力學。

**【0177】** 本實驗採用捕獲法，將抗人 IgG 抗體 (29234600, GE) 共價偶聯到 CM5 晶片 (29149603, GE) 上，然後將 rhIL-4R-Fc 作為配體捕獲於晶片上，隨後將 25G7-IT 和參照樣品 MDNA55 作為分析物分別進樣，進行親和力分析和計算。

**【0178】** 實驗結果顯示，25G7-IT 和參照樣品 MDNA55 與 rhIL-4R-Fc 具有強親和力，KD 分別為  $1.01E-10$  和  $4.39E-10$  M (表 2)。25G7-IT 與 rhIL-4R-Fc 親和力顯著強於參照樣品 MDNA55 與 rhIL-4R-Fc 親和力。

表 2. Biacore 測定的複合物的動力學親和力

配體	待測試樣品	ka (1/MS)	kd (1/s)	KD (M)
rhIL-4R-Fc	25G7-scdsFv-PE38KDEL	2.77E+06	2.79E-04	1.01E-10
	MDNA55	6.62E+06	2.90E-03	4.39E-10

**【0179】 實施例 3. 與 GBM 靶細胞的結合能力測定**

**【0180】** GBM 細胞系 U87、U251、LN229 中內源性 IL-4R 表達比較低，因此利用慢病毒系統在這三株 GBM 細胞系中過表達人源 IL-4R。經過

G418 篩選後，利用流式細胞技術鑑定 IL-4R 過表達的效果（圖 3），結果顯示 IL-4R 在這三株細胞系中穩定過表達。

【0181】在 DMEM 培養基中加入 10% FBS 和 1% 青黴素/鏈黴素製備成完全培養基，在 37°C 含 5% CO<sub>2</sub> 培養箱中培養 U87-、U251-、LN229-IL4R 穩轉細胞株。T75 培養瓶裡的細胞用 1.5ml TrpLE（Gibco，#12605-010）在 37°C 消化 3-5 分鐘，然後用含有 FBS 的 DMEM 培養基中和，離心後製備成濃度為  $2 \times 10^6$  個/ml 的細胞懸液，以每孔 50 $\mu$ l 的體積加入 96 孔圓底板。將 25G7-IT、MDNA55 以及 hIgG1 同種型對照分別用 DMEM 培養基稀釋成 8 個濃度點（三倍梯度：20；6.67；2.22；0.74；0.25；0.08；0.03；0  $\mu$ g/ml），分別以每孔 50  $\mu$ l 的體積加入 96 孔板與細胞混合均勻，並在冰上共孵育 40 分鐘。孵育結束後，用 200  $\mu$ l 的流式檢測緩衝液洗滌三次，用流式檢測緩衝液 1：300 稀釋抗 PE38 抗體（Sigma-aldrich，Cat：P2318-1ML），並以每孔 50 $\mu$ l 的體積加入 96 孔板重新懸浮細胞，讓抗體和細胞在冰上共孵育 40 分鐘。接下來用 200 $\mu$ l 的流式檢測緩衝液洗滌三次，用流式檢測緩衝液 1：500 稀釋抗兔 IgG Fab2 Alexa Fluor 647（Cell Signaling Technology，#02/2020），並以每孔 50 $\mu$ l 的體積加入 96 孔板重新懸浮細胞，讓抗體和細胞在冰上共孵育 30 分鐘。離心並用 200 $\mu$ l 的流式檢測緩衝液洗滌三次後重新懸浮細胞，用 BD FACSCelesta™ 流式細胞儀檢測每孔單細胞 Alexa Fluor647 的信號。

【0182】分析平均螢光強度（MFI），實驗結果如表 3 和圖 4A 至圖 4C 顯示，25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 均能與 IL-4R 陽性 GBM 細胞系結

合，而且 25G7-IT 與 U87-、U251-、LN229-IL4R 穩轉細胞株的結合能力強於 MDNA55。

表 3. 複合物與 GBM 靶細胞的結合能力測試結果

LN229-IL4R	平均 MFI		
濃度 (µg/ml)	25G7-scdsFv-PE38KDEL	MDNA55	人 IgG1
20	28521.5	24309	231
6.666667	27154	21148	244.5
2.222222	26803.5	19382	361
0.740741	26046	16242	286.5
0.246914	19769	12443	300
0.082305	10449.5	8311	318.5
0.027435	4750.5	4474.5	352.5
0	498		
U87-IL4R	平均 MFI		
濃度 (µg/ml)	25G7-scdsFv-PE38KDEL	MDNA55	人 IgG1
20	30861	32745.5	317.5
6.666667	29485.5	29702	306.5
2.222222	28386	25262	334.5
0.740741	27025	21574	339
0.246914	23766.5	17098	321.5
0.082305	13190.5	12020.5	393.5
0.027435	6168	9121	588.5
0	426		
U251-IL4R	平均 MFI		
濃度 (µg/ml)	25G7-scdsFv-PE38KDEL	MDNA55	人 IgG1
20	25827	22597	275
6.666667	24461	17477	288
2.222222	22952	13736	282
0.740741	20635	10682	284
0.246914	13672	8131	287
0.082305	6511	5860	274
0.027435	2947	3179	263
0	237		

**【0183】 實施例4. GBM靶細胞中的內吞效率測定**

【0184】 為測定 25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 在 GBM 靶細胞中的內吞效率，比較了 25G7-IT 與 MDNA55 分別在上述三株 IL-4R 穩轉腦膠質瘤細胞中的內吞效率。

【0185】 根據實施例 3 中的實驗結果，選擇終濃度  $2\mu\text{g}/\text{ml}$  作為檢測內吞效率的濃度，因為在該濃度時三種細胞樣品中的內吞效率基本到達飽和狀態。將 25G7-IT、MDNA55 以及 hIgG1 同種型對照用 DMEM 培養基稀釋成  $2\mu\text{g}/\text{ml}$ 。以每孔  $50\mu\text{l}$  的體積加入 96 孔板與細胞混合均勻，並在冰上共孵育 40 分鐘。利用 DMEM 完全培養基洗滌三次後，用  $100\mu\text{l}$  DMEM 完全培養基重新懸浮細胞，將 96 孔板中標註為 0h 的  $100\mu\text{l}$  細胞轉移到另一塊 96 孔圓底板，並加入  $100\mu\text{l}$  的 4% 多聚甲醛固定液， $4^\circ\text{C}$  固定。將剩下的細胞放入  $37^\circ\text{C}$  培養箱中分別培養 1 小時、2 小時、4 小時和 24 小時後，取出相應的細胞轉移到另一塊 96 孔板中以同樣的方法  $4^\circ\text{C}$  固定。

【0186】 0 小時至 4 小時內吞的細胞在當天進行流式抗體染色；24 小時內吞後的細胞在孵育至實驗結束時，即進行流式抗體染色和流式分析。當 4 小時內吞的細胞被固定達半小時以後，將所有固定的細胞離心並用流式檢測緩衝洗滌兩次。用流式檢測緩衝液 1:300 稀釋抗 PE38 抗體 (Sigma-aldrich, Cat: P2318-1ML)，並以每孔  $50\mu\text{l}$  的體積加入 96 孔板重新懸浮細胞，接下來將抗體和細胞在冰上共孵育 40 分鐘。後續實驗步驟同實施例 3，分析結果如表 4 和圖 5A 至圖 5C 所示。

【0187】 實驗結果顯示，25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 均能在 IL-4R 過表達 GBM 細胞中有效內吞，在 4 小時時間點於三種細胞中內吞效率達

60%至 80%，而且 25G7-IT 在 LN229-、U251-IL4R 穩轉細胞株中的內吞效率高於 MDNA55。

表 4. GBM 靶細胞中的內吞效率測定結果

	平均內吞效率 (%)	
LN229-IL4R	225G7-scdsFv-PE38KDEL	MDNA55
0h	0	0
1h	40.005	32.765
2h	54.405	34.3
4h	85.25	78.4
24h	98.83	98.57
U87-IL4R	25G7-scdsFv-PE38KDEL	MDNA55
0h	0	0
1h	41.81	40.52
2h	51.155	44.06
4h	75.145	75.41
24h	98.25	98.18
U251-IL4R	25G7-scdsFv-PE38KDEL	MDNA55
0h	0	0
1h	27.72	25.335
2h	41.515	21.96
4h	73.98	60.015
24h	98.295	97.43

**【0188】 實施例5. GBM靶細胞中的體外殺傷效率測定**

【0189】為測定 25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 在 GBM 靶細胞中的體外殺傷效率，藉由 CTG (CELL TITER-GLO) 法比較了兩者在上述三株穩轉人 IL-4R 腦瘤細胞中的體外藥效。

【0190】DMEM 培養基中加入 10% FBS 和 1% 青黴素/鏈黴素製備成完全培養基。在 37°C 含 5% CO<sub>2</sub> 的培養箱中，培養 U87-IL4R、U251-IL4R、LN229-IL4R 穩轉細胞株和 U87、U251、LN229 對照細胞。

【0191】在 96 孔板中按照每孔 4000 個細胞以及 130 $\mu$ l 培養基的密度進行鋪板。過夜後，待細胞完全貼壁，加入 20 $\mu$ l 分別含 25G7-IT 或 MDNA55 的梯度濃度藥物（終濃度：100 nM、20 nM、4 nM、0.8 nM、0.16 nM、0.032 nM、0.0064 nM、0.00128 nM、0.000256 nM、0 nM），在培養箱中培養 3 天。三天後，將 96 孔板拿出培養箱並平衡到室溫，在細胞懸液中加入 50 $\mu$ l 的 CTG 試劑 (CellTiter-Glo Luminescent, Promega, #G7573)，用搖床混勻 2 分鐘後，室溫靜置 10 分鐘。用 EnVision2105 Multimode Plate Reader (PerkinElmer) 中內置的 Luminescence 模式檢測細胞活率。將吸光度結果換算成百分比後用 Prism 8 分析結果。

【0192】實驗結果（圖 6A 至圖 6F）顯示，25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 均能在 IL-4R 過表達 GBM 細胞中高效殺傷靶細胞，特別是對 LN229-IL4R 有較高的藥效，於 0.1 nM 濃度達到 80% 的體外殺傷效果。總體來看，25G7-IT 在 LN229、U251、U87 三株 IL-4R 穩轉腦膠質瘤細胞株中的體外殺傷效率高於 MDNA55。

【0193】此外，還比較了沒有鏈間二硫鍵形式的藥物 25G7-scFv-PE38KDEL 與 25G7-scdsFv-PE38KDEL (25G7-IT)、MDNA55 在 LN229

和 U251 IL-4R 穩轉腦膠質瘤細胞株中的體外殺傷效率。圖 7A 至圖 7D 顯示 25G7-scFv-PE38KDEL 與 25G7-IT、MDNA55 在腦膠質瘤細胞中的體外殺傷效率相當。

#### **【0194】 實施例 6. 靶向 IL-4R 的藥物在 GBM 腫瘤模型中的體內藥效**

**【0195】** 為測定 25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 在 GBM 腫瘤模型中的體內藥效，首先構建了 IL-4R 表達為 1+（免疫組織化學評分）的 U87-MG 皮下接種的模型。

**【0196】** 在實驗小鼠於右側背部皮下接種  $2 \times 10^6$  U87-MG 細胞，細胞重新懸浮在 1:1 的 PBS 與基質膠中（0.1ml/隻），定期觀察腫瘤生長情況。當皮下接種腫瘤的平均大小達到約 100-150 mm<sup>3</sup> 時，進行分組，每組 8 隻小鼠。多位點瘤內給藥，藥物 25G7-scFv-PE38KDEL（25G7-IT）和 MDNA55 的給藥劑量均為 0.5 mg/kg（mpk），每週給藥一次，總共給藥四次。開始給藥後，每週測量兩次小鼠的體重和腫瘤的大小，腫瘤體積計算公式：腫瘤體積（mm<sup>3</sup>）=  $1/2 \times (a \times b^2)$ （其中 a 表示長徑，b 表示短徑）。

**【0197】** 實驗結果如圖 8A 至圖 8C 和表 5 顯示，在 IL-4R 低表達的 U87-MG 腫瘤模型中（免疫組織化學評分為 1+），0.5 mpk 每週給藥一次，給藥 4 次後，25G7-IT 的 TGI（腫瘤生長抑制率）為 80%，而參照樣品 MDNA55 的 TGI 為 51%。該結果說明在 IL-4R 低表達的神經膠質瘤模型中，25G7-IT 的腫瘤生長抑制效果顯著優於 MDNA55。

表5. 靶向IL-4R的藥物在小鼠膠質瘤模型中的體內藥效總結

接種細胞 (s.c.)	IL-4R 表達	藥物	劑量 (mpk , QW)	給藥 方式	小鼠 數量 #	腫瘤生長抑 制率 (相對 於對照的統 計差異)
U87-MG	1+	hIgG1 同種 型對照			8	
		25G7- scdsFv- PE38KDEL	0.5	i.t.	8	80% ***
		MDNA55	0.5	i.t.	8	51.5% **

註：s.c.：皮下；mpk：mg/kg（毫克每千克體重）；i.t.：瘤內注射；i.v.：靜脈注射；QW：每週一次。\*\*表示  $p < 0.01$ ，\*\*\*表示  $p < 0.001$ 。

#### 【0198】實施例7. 靶向IL-4R的藥物在GBM腫瘤模型（IL-4R 3+）的體內藥效

【0199】為進一步測定 25G7-IT 與參照樣品 MDNA55 在 GBM 腫瘤模型中的體內藥效，利用 IL-4R 過表達的 LN229 細胞系（標註為 LN229-IL4R，免疫組織化學評分為 3+）建立了皮下接種的模型。

【0200】在實驗小鼠於右側背部皮下接種  $1 \times 10^7$  LN229-IL4R 細胞，細胞重新懸浮在 1:1 的 PBS（0.1ml/隻），定期觀察腫瘤生長情況。當皮下接種腫瘤的平均大小達到約 100-150 mm<sup>3</sup> 時，進行分組，每組 6-7 隻小鼠。MDNA55 給藥劑量為 0.25 mpk (i.t.)，25G7-scdsFv-PE38KDEL (25G7-IT) 劑量為 0.25 mpk (i.t. 或 i.v.)，每週給藥一次，總共給藥四次，腫瘤生長監測和計算同實施例 6。

【0201】實驗結果如圖 9A 至圖 9C 和表 6 顯示，在 IL-4R 高表達的 LN229-IL4R 腫瘤模型中（免疫組織化學評分為 3+），0.25 mpk (i.t.) 的 25G7-IT、MDNA55 的 TGI（腫瘤生長抑制率）均達到 99%（完全緩解），而同劑量 0.25 mpk 的 25G7-IT (i.v.) 的 TGI 為 68%，瘤內給藥效果優於靜脈給藥。

【0202】此外，在 IL-4R 高表達的 LN229-IL4R 腫瘤模型中（免疫組織化學評分為 3+），進一步降低了免疫毒素的劑量，25G7-scdsFv-PE38KDEL（25G7-IT）給藥劑量為 0.1（第二次及以後降為 0.05）、0.3（第二次及以後降為 0.15）mpk，MDNA55 給藥劑量為 0.1（第二次及以後降為 0.05）mpk，瘤內給藥。

【0203】實驗結果如圖 10A 至圖 10C 和表 6 顯示，在 LN229-IL4R 腫瘤模型中（免疫組織化學評分為 3+），0.1（第一次給藥）或 0.05（第二至第四次給藥）mpk 每週給藥一次，給藥 4 次後，25G7-IT 的 TGI（腫瘤生長抑制率）為 77%，而參照樣品 MDNA55 的 TGI 為 59%；而且 25G7-IT 藥物在 0.3（第一次給藥）或 0.15（第二至第四次給藥）mpk 的劑量下，荷瘤小鼠的腫瘤完全緩解（TGI=99%）。該結果說明在 IL-4R 高表達的神經膠質瘤模型中，低濃度的 25G7-IT 的腫瘤生長抑制效果優於等劑量的 MDNA55，而高劑量的 25G7-IT 藥物可以讓荷瘤小鼠完全緩解，呈現明顯的劑量效應。

表 6. 靶向 IL-4R 的藥物在小鼠膠質瘤模型中的體內藥效總結

接種細胞 (s.c.)	IL-4R 表達	藥物	劑量 (mpk , QW)	給藥 方式	小鼠 數量 #	腫瘤生長抑 制率 (相對 於對照的統 計差異)
LN229- IL4R	3+	hIgG1 同種 型對照?			6	
		25G7- scdsFv- PE38KDEL	0.25	i.t.	7	99% ***
		25G7- scdsFv- PE38KDEL	0.25	i.v.	6	68% ***
		MDNA55	0.25	i.t.	7	99% ***
LN229- IL4R	3+	hIgG1 同種 型對照			6	
		25G7- scdsFv- PE38KDEL	0.1 → 0.05	i.t.	7	78% ***
		25G7- scdsFv- PE38KDEL	0.3 → 0.15	i.t.	7	99% ***
		MDNA55	0.1 → 0.05	i.t.	7	61%**

註：s.c.：皮下；mpk：mg/kg（毫克每千克）；i.t.：瘤內注射；i.v.：靜脈注射；

QW：每週一次。\*\*表示  $p < 0.01$ ，\*\*\*表示  $p < 0.001$ 。

【0204】本揭露中實驗動物的使用及福利遵照國際實驗動物評估和認可委員會（AAALAC）的規定。每天監測動物的健康狀況及死亡情況，

例行檢查包括觀察受試物和藥物對動物日常行為表現的影響如行為活動，體重變化，外觀體徵等。

**【符號說明】**

無。

## 【序列表】

<110> 江蘇恆瑞醫藥股份有限公司(JIANGSU HENGRUI MEDICINE CO., LTD.)  
上海盛迪醫藥有限公司(SHANGHAI SHENGDI PHARMACEUTICAL CO., LTD)

<120> 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物及醫藥用途

<130> 721150CPCT

<150> CN202011529235.1

<151> 2020-12-22

<160> 67

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 1

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

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
20 25 30

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe  
65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Ile Leu Thr Val Ser Ser  
115

<210> 2

<211> 108

<212> PRT

<213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 2

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Asn Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Arg Lys Pro Arg Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr  
 35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu  
 65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys  
 100 105

<210> 3  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 3

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Gly Met His  
 1 5 10

<210> 4  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 4

Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val Lys  
 1 5 10 15

Gly

<210> 5  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 5

Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr  
 1 5

<210> 6  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 6

Asn Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Tyr  
 1 5 10

<210> 7  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 7

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser  
 1 5

<210> 8  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 8

Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met Leu Thr  
 1 5 10

<210> 9  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Thr Glu Leu Leu Lys Pro Gly Ala  
 1 5 10 15

Ser Val Ser Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr  
 20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Leu Ile His Pro Asn Ser Asp Thr Thr Lys Phe Ser Glu Asn Phe  
 50 55 60

Lys Thr Arg Ala Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Met Lys Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Lys Ser Lys Ile Ile Thr Thr Ile Val Ala Arg His Trp Tyr Phe  
 100 105 110

Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 10  
 <211> 111  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

&lt;400&gt; 10

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Pro Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly  
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Gly  
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Gly Gln Pro Pro  
35 40 45

Lys Val Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His  
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Asn  
85 90 95

Glu Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105 110

&lt;210&gt; 11

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小鼠(Mus musculus)

&lt;400&gt; 11

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Trp Met His  
1 5 10

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小鼠(Mus musculus)

&lt;400&gt; 12

Leu Ile His Pro Asn Ser Asp Thr Thr Lys Phe Ser Glu Asn Phe Lys  
1 5 10 15

Thr

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 16

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 小鼠(Mus musculus)

&lt;400&gt; 13

Ser Lys Ile Ile Thr Thr Ile Val Ala Arg His Trp Tyr Phe Asp Val  
1 5 10 15

&lt;210&gt; 14

<211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 14

Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Gly Gly Asp Ser Tyr Met Asn  
 1 5 10 15

<210> 15  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 15

Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser  
 1 5

<210> 16  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 小鼠(Mus musculus)

<400> 16

Gln His Ser Asn Glu Asn Pro Pro Thr  
 1 5

<210> 17  
 <211> 445  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu25G7 HC)

<400> 17

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
115 120 125

Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly  
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys  
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln  
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
435 440 445

<210> 18

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu25G7 LC)

<400> 18

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 19  
<211> 455  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (hu7B10 HC)

<400> 19

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 Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Leu Ile His Pro Asn Ser Asp Thr Thr Lys Phe Ser Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Thr Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Ser Lys Ile Ile Thr Thr Ile Val Ala Arg His Trp Tyr Phe  
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr  
115 120 125

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
130 135 140

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
145 150 155 160

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
165 170 175

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser

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

450

455

&lt;210&gt; 20

&lt;211&gt; 218

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成序列 (hu7B10 LC)

&lt;400&gt; 20

Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Gly  
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
65 70 75 80

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Asn  
85 90 95

Glu Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg  
100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln  
115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr  
130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser  
145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr  
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210 215

<210> 21  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> 智人(Homo sapiens)  
 <400> 21

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

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

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

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Ala Arg

<210> 22  
 <211> 95  
 <212> PRT  
 <213> 智人(Homo sapiens)  
 <400> 22

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro  
 85 90 95

<210> 23  
 <211> 98  
 <212> PRT  
 <213> 智人(Homo sapiens)

&lt;400&gt; 23

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr  
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met  
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe  
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg

&lt;210&gt; 24

&lt;211&gt; 100

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人(Homo sapiens)

&lt;400&gt; 24

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser  
20 25 30

Asp Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro  
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu 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 Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser  
85 90 95

Ile Gln Leu Pro  
100

&lt;210&gt; 25

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成序列 (hu25G7-VH-a)

&lt;400&gt; 25

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
115

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成序列 (hu25G7-VH-b)

&lt;400&gt; 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 Thr Phe Ser Asp Tyr  
20 25 30

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 27  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu25G7-VH-c)

<400> 27

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 28  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu25G7-VL-a)

<400> 28

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
 20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 29

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu25G7-VL-b)

<400> 29

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 30

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu25G7-VL-c)

<400> 30

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Asn Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met  
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Trp Ile Tyr  
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 31

<211> 125

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu7B10-VH-a)

<400> 31

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 Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Leu Ile His Pro Asn Ser Asp Thr Thr Lys Phe Ser Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Thr Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Arg Ser Lys Ile Ile Thr Thr Ile Val Ala Arg His Trp Tyr Phe  
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 32

<211> 125  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu7B10-VH-b)

<400> 32

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 Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Leu Ile His Pro Asn Ser Asp Thr Thr Lys Phe Ser Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Thr Arg Val Thr Met Thr Ile Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Ser Lys Ile Ile Thr Thr Ile Val Ala Arg His Trp Tyr Phe  
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 33  
 <211> 125  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu7B10-VH-c)

<400> 33

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 Ser Tyr  
20 25 30

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

Gly Leu Ile His Pro Asn Ser Asp Thr Thr Lys Phe Ser Glu Asn Phe  
50 55 60

Lys Thr Arg Val Thr Leu Thr Ile Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Ala Lys Ser Lys Ile Ile Thr Thr Ile Val Ala Arg His Trp Tyr Phe  
100 105 110

Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 34  
<211> 111  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (hu7B10-VL-a)

<400> 34

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Gly  
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
65 70 75 80

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Asn  
85 90 95

Glu Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 35  
<211> 111  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (hu7B10-VL-b)

<400> 35

Asp Ile Val Leu Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Gly  
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35

40

45

Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
65 70 75 80

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Asn  
85 90 95

Glu Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 36

<211> 111

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu7B10-VL-c)

<400> 36

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser Val Thr Pro Gly  
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Gly  
20 25 30

Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro  
35 40 45

Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Asp  
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser  
65 70 75 80

Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln His Ser Asn  
85 90 95

Glu Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

<210> 37

<211> 108

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu25G7-A LCVR)

<400> 37

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met  
20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ala Tyr Pro Pro Met  
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 38  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (LCDR1)

<400> 38

Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met Tyr  
1 5 10

<210> 39  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (LCDR2)

<400> 39

Leu Ala Ser Ser Arg Pro Ser  
1 5

<210> 40  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (LCDR3)

<400> 40

Gln Gln Trp Arg Ala Tyr Pro Pro Met Leu Thr  
1 5 10

<210> 41  
<211> 108  
<212> PRT  
<213> 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成序列 (hu25G7-B LCVR)

&lt;400&gt; 41

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Pro Gly Val Pro Pro Leu  
 20 25 30

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Leu Ala Ser Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105

&lt;210&gt; 42

&lt;211&gt; 10

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成序列 (LCDR1)

&lt;400&gt; 42

Arg Ala Ser Pro Gly Val Pro Pro Leu Ala  
 1 5 10

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 118

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成序列 (hu25G7-VH)

&lt;400&gt; 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 Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val



Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser  
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys  
210 215 220

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu  
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu  
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln  
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys  
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu  
290 295 300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys  
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys  
325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser  
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys  
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln  
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly  
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln  
405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn  
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 435 440 445

<210> 45

<211> 215

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (hu25G7-A LC)

<400> 45

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met  
 20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ala Tyr Pro Pro Met  
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 46  
 <211> 215  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu25G7-B LC)

<400> 46

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Pro Gly Val Pro Pro Leu  
 20 25 30

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Leu Ala Ser Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ser Asn Pro Pro Met  
 85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 210 215

<210> 47  
 <211> 118

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu25G7-VH-44)

<400> 47

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
 50 55 60

Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 48  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (hu25G7-VL-100)

<400> 48

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Met  
 20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr  
 35 40 45

Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu  
 65 70 75 80

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg Ala Tyr Pro Pro Met  
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105

<210> 49

<211> 345

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (PE38KDEL)

<400> 49

Glu Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr Ala His Gln Ala Cys His Leu  
1 5 10 15

Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln  
20 25 30

Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu  
35 40 45

Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala  
50 55 60

Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu  
65 70 75 80

Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser  
85 90 95

Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala  
100 105 110

Asn Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro  
115 120 125

Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly Gly Asp Val Ser Phe Ser Thr  
130 135 140

Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu Arg Leu Leu Gln Ala His Arg  
145 150 155 160

Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe Val Gly Tyr His Gly Thr Phe  
165 170 175

Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser  
180 185 190

Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro  
195 200 205

Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly  
210 215 220

Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser  
225 230 235 240

Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Ser Leu Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala  
245 250 255

Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly His Pro Leu Pro Leu Arg Leu  
260 265 270

Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile  
275 280 285

Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr Val Val Ile Pro Ser Ala Ile  
290 295 300

Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile  
305 310 315 320

Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln  
325 330 335

Pro Gly Lys Pro Pro Lys Asp Glu Leu  
340 345

<210> 50  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (linker1)

<400> 50

Ala Ser Gly Gly Pro Glu  
1 5

<210> 51  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (Linker 2)

<400> 51

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10 15

<210> 52  
<211> 592  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>

<223> 合成序列 (25G7-(scdsFv)-PE38KDEL)

<400> 52

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

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

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu  
130 135 140

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser  
145 150 155 160

Ser Val Pro Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
165 170 175

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala  
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
195 200 205

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg  
210 215 220

Ala Tyr Pro Pro Met Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile  
225 230 235 240

Lys Ala Ser Gly Gly Pro Glu Glu Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr  
245 250 255

Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg  
260 265 270

Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln  
275 280 285

Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val  
290 295 300

Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp  
305 310 315 320

Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu  
325 330 335

Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly  
340 345 350

Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala  
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly  
370 375 380

Gly Asp Val Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu  
385 390 395 400

Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe  
405 410 415

Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe  
420 425 430

Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly  
435 440 445

Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp  
450 455 460

Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg  
465 470 475 480

Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Ser Leu  
485 490 495

Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly  
500 505 510

His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu  
515 520 525

Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr  
530 535 540

Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly  
545 550 555 560

Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala  
565 570 575

Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro Lys Asp Glu Leu  
580 585 590

<210> 53

<211> 592

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (25G7-(scFv)-PE38KDEL)

<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 Thr Phe Ser Asp Tyr  
20 25 30

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

Ala Phe Ile Ser Ser Gly Ser Ser Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ile Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Ser Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Thr Arg Gly Asn Lys Arg Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu  
130 135 140

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser  
145 150 155 160

Ser Val Pro Tyr Met Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro  
165 170 175

Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala  
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
195 200 205

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Arg  
210 215 220

Ala Tyr Pro Pro Met Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
225 230 235 240

Lys Ala Ser Gly Gly Pro Glu Glu Gly Gly Ser Leu Ala Ala Leu Thr  
245 250 255

Ala His Gln Ala Cys His Leu Pro Leu Glu Thr Phe Thr Arg His Arg  
260 265 270

Gln Pro Arg Gly Trp Glu Gln Leu Glu Gln Cys Gly Tyr Pro Val Gln  
275 280 285

Arg Leu Val Ala Leu Tyr Leu Ala Ala Arg Leu Ser Trp Asn Gln Val  
290 295 300

Asp Gln Val Ile Arg Asn Ala Leu Ala Ser Pro Gly Ser Gly Gly Asp  
305 310 315 320

Leu Gly Glu Ala Ile Arg Glu Gln Pro Glu Gln Ala Arg Leu Ala Leu  
325 330 335

Thr Leu Ala Ala Ala Glu Ser Glu Arg Phe Val Arg Gln Gly Thr Gly  
340 345 350

Asn Asp Glu Ala Gly Ala Ala Asn Gly Pro Ala Asp Ser Gly Asp Ala  
355 360 365

Leu Leu Glu Arg Asn Tyr Pro Thr Gly Ala Glu Phe Leu Gly Asp Gly  
370 375 380

Gly Asp Val Ser Phe Ser Thr Arg Gly Thr Gln Asn Trp Thr Val Glu  
385 390 395 400

Arg Leu Leu Gln Ala His Arg Gln Leu Glu Glu Arg Gly Tyr Val Phe  
405 410 415

Val Gly Tyr His Gly Thr Phe Leu Glu Ala Ala Gln Ser Ile Val Phe  
420 425 430

Gly Gly Val Arg Ala Arg Ser Gln Asp Leu Asp Ala Ile Trp Arg Gly  
435 440 445

Phe Tyr Ile Ala Gly Asp Pro Ala Leu Ala Tyr Gly Tyr Ala Gln Asp  
450 455 460

Gln Glu Pro Asp Ala Arg Gly Arg Ile Arg Asn Gly Ala Leu Leu Arg  
465 470 475 480

Val Tyr Val Pro Arg Ser Ser Leu Pro Gly Phe Tyr Arg Thr Ser Leu  
485 490 495

Thr Leu Ala Ala Pro Glu Ala Ala Gly Glu Val Glu Arg Leu Ile Gly  
500 505 510

His Pro Leu Pro Leu Arg Leu Asp Ala Ile Thr Gly Pro Glu Glu Glu  
515 520 525

Gly Gly Arg Leu Glu Thr Ile Leu Gly Trp Pro Leu Ala Glu Arg Thr  
530 535 540

Val Val Ile Pro Ser Ala Ile Pro Thr Asp Pro Arg Asn Val Gly Gly  
545 550 555 560

Asp Leu Asp Pro Ser Ser Ile Pro Asp Lys Glu Gln Ala Ile Ser Ala  
565 570 575

Leu Pro Asp Tyr Ala Ser Gln Pro Gly Lys Pro Pro Lys Asp Glu Leu  
580 585 590

<210> 54  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (linker)

<400> 54

Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser  
1 5 10

<210> 55  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (linker)

<400> 55

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Glu Phe  
1 5 10

<210> 56  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>

<223> 合成序列 (linker)

<400> 56

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Glu Gly Lys Gly  
1 5 10

<210> 57

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (linker)

<400> 57

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Ser Ser Glu Gly Ser Gly Ser Thr  
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 58

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (linker)

<400> 58

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr  
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 59

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (linker)

<400> 59

Ser Arg Ser Ser Gly  
1 5

<210> 60

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成序列 (linker)

<400> 60

Ser Gly Ser Ser Cys  
1 5

<210> 61  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (linker)

<400> 61

Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5

<210> 62  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (linker)

<400> 62

Ala Ser Gly Cys Gly Pro Glu  
1 5

<210> 63  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (linker)

<400> 63

Ala Ser Gly Cys Cys Gly Pro Glu  
1 5

<210> 64  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (linker)

<400> 64

Ala Ser Gly Cys Gly Ser Cys Pro Glu  
1 5

<210> 65  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成序列 (linker)

<400> 65

Ala Ser Cys Gly Thr Thr Gly Cys Pro Glu  
1 5 10

<210> 66  
 <211> 14  
 <212> PRT

<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (linker)

<400> 66

Lys Ala Ser Gly Lys Lys Tyr Gly Cys Lys Lys Gly Pro Glu  
1 5 10

<210> 67  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 合成序列 (linker)

<400> 67

Lys Gly Gly Gly Cys Ala Gly Gly Pro Glu  
1 5 10

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其包含：

- 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段、以及
- 一個或多個毒素分子；

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段與該毒素分子共價或非共價連接；

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含選自以下 (I) 至 (IV) 中的任一項：

(I)

重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：38、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：40 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(II)

重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：11、SEQ ID NO：12 和 SEQ ID NO：13 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：14、SEQ ID NO：15 和 SEQ ID NO：16 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

(III)

重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：6、SEQ ID NO：7 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3；

## (IV)

重鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：3、SEQ ID NO：4 和 SEQ ID NO：5 所示的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3；和

輕鏈可變區，其包含胺基酸序列分別如 SEQ ID NO：42、SEQ ID NO：39 和 SEQ ID NO：8 所示的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。

**【請求項2】** 如請求項 1 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中該抗 IL-4R 抗體選自以下的任一項：鼠源抗體、嵌合抗體、全人抗體、人源化抗體。

**【請求項3】** 如請求項 1 或 2 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中，

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含來源於人種系輕鏈 IGKV3-11\*01 的 FR 或與其有至少 95%序列同一性 FR；較佳地，該 FR 包含回復突變，該回復突變選自 46P、47W、71Y 中的一個或多個；和/或

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含來源於人種系重鏈 IGHV3-48\*01 的 FR 或與其有至少 95%序列同一性的 FR；較佳地，該 FR 包含回復突變，該回復突變選自 49A、67S、93T 中的一個或多個。

**【請求項4】** 如請求項 1 或 2 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中，

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含來源於人種系輕鏈 IGKV2D-29\*01 的 FR 或與其有至少 95%序列同一性的 FR，較佳地，該 FR 包含回復突變，該回復突變選自 4L 和/或 58I；和/或

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含來源於人種系重鏈 IGHV1-2\*02 的 FR 或與其有至少 95% 序列同一性的 FR，較佳地，該 FR 包含回復突變，該回復突變選自 69L、71I、73K、94K 中的一個或多個。

**【請求項5】** 如請求項 1 或 2 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中，

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含重鏈恆定區，該重鏈恆定區為人源 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的重鏈恆定區、或其變體；和/或

該抗原結合片段為 Fab、Fv、scFv、F(ab')<sub>2</sub>、dsfv 或 ScdsFv，較佳為 scFv。

**【請求項6】** 如請求項 5 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中，

該 scFv 自 N 端至 C 端依次包含重鏈可變區、連接肽和輕鏈可變區，或者

該 scFv 自 N 端至 C 端依次包含輕鏈可變區、連接肽和重鏈可變區；

該連接肽選自以下任一項或其組合： $(GxS)_n$ 、 $(SxG)_n$ 、 $(GGGGS)_n$ 、 $(G)_n$ ，其中 x 是 1-6 的任一整數，且 n 是 1-30 的任一整數；或

該連接肽選自以下任一項或其組合：GKSSGSGSESKS、EGKSSGSGSESKEF、GSTSGSGKSSEGKG、GSTSGSGKSSEGSSTKG、GSTSGSGKPGSGEGSTKG、SRSSG 和 SGSSC，較佳  $(GGGGS)_3$ 。

**【請求項7】** 如請求項 1 至 6 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其包含選自以下 (I) 至 (IV) 中的任一項：

(I)

重鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：43 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：43 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；和

輕鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：37 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：37 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；

(II)

重鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：9 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：9 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；和

輕鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：10 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：10 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；

(III)

重鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：1 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：1 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；和

輕鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：2 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：2 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；

(IV)

重鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：43 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：43 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；和

輕鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：41 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：41 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；

(V)

重鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：47 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：47 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；和

輕鏈可變區，其包含如 SEQ ID NO：48 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：48 具有至少 90%、95%、98%、99% 同一性的胺基酸序列；

較佳地，

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO：43 所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO：37 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO：9 所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO：10 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO：1 所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO：2 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO：43 所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO：41 所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO：47 所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO：48 所示。

**【請求項8】** 如請求項 1 至 6 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中，

重鏈可變區包含如 SEQ ID NO：25-27 之一所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：25-27 之一具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

輕鏈可變區包含如 SEQ ID NO：28-30 之一所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：28-30 之一具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

或者

重鏈可變區包含如 SEQ ID NO：31-33 之一所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO：31-33 之一具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的胺基酸序列；

輕鏈可變區包含如 SEQ ID NO : 34-36 之一所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 34-36 之一具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

較佳地，

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 25-27 之一所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 28-30 之一所示；或

重鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 31-33 之一所示，且輕鏈可變區序列如 SEQ ID NO : 34-36 之一所示；

更佳地，重鏈可變區和/或輕鏈可變區包含用於穩定結構的突變；

進一步佳地，重鏈可變區第 44 位的胺基酸殘基突變成半胱胺酸殘基，

進一步佳地，輕鏈可變區第 100 位的胺基酸殘基突變成半胱胺酸殘基。

**【請求項9】** 如請求項 1 至 6 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段包含選自 (I) 至 (IV) 中的任一項：

(I)

重鏈，其包含如 SEQ ID NO : 44 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 44 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的胺基酸序列；和

輕鏈，其包含如 SEQ ID NO : 45 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 45 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

(II)

重鏈，其包含如 SEQ ID NO : 19 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 19 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的胺基酸序列；和

輕鏈，其包含如 SEQ ID NO : 20 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 20 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

(III)

重鏈，其包含如 SEQ ID NO : 17 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 17 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；和

輕鏈，其包含如 SEQ ID NO : 18 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 18 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

(IV)

重鏈，其包含如 SEQ ID NO : 44 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 44 具有至少 90%、95%、98%、或 99%同一性的胺基酸序列；和

輕鏈，其包含如 SEQ ID NO : 46 所示的胺基酸序列或與 SEQ ID NO : 46 具有至少 90%、95%、98%或 99%同一性的胺基酸序列；

較佳地，

重鏈序列如 SEQ ID NO : 44 所示，且輕鏈序列如 SEQ ID NO : 45 所示；或

重鏈序列如 SEQ ID NO : 19 所示，且輕鏈序列如 SEQ ID NO : 20 所示；或

重鏈序列如 SEQ ID NO : 17 所示，且輕鏈序列如 SEQ ID NO : 18 所示；或

重鏈序列如 SEQ ID NO : 44 所示，且輕鏈序列如 SEQ ID NO : 46 所示。

**【請求項10】** 如請求項 1 至 9 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中，

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段藉由接頭連接至該毒素分子；

該接頭為蛋白性或非蛋白性的接頭；

較佳地，該複合物為融合蛋白。

**【請求項11】** 如請求項 10 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，

該接頭選自以下任一項或其組合：ASGGPE、VM、AM、AM(G<sub>2-4</sub>S)<sub>p</sub>AM、ASGCGPE、ASGCCGPE、ASGCGSCPE、ASCGTTGCPE、KASGKKYGCKKGPE、KGGGCAGGPE；較佳 ASGCGPE；

其中 p 是 1-10 的任一整數。

**【請求項12】** 如請求項 1 至 11 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中該毒素分子選自以下任一項或其組合：成孔毒素、嗜水氣單胞菌氣溶素、氣單胞菌溶素原、布加寧、蓖麻毒素、假單胞菌外毒素、霍亂毒素或白喉毒素。

**【請求項13】** 如請求項 12 所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其中該毒素選自以下任一項或其組合：PE-LR、PE-LO10R456A、PE-T20、PE-T20-KDEL、PE4E、PE40、PE38、PE24、PE25、PE38QQR、PE35、PE38KDEL、PE38DKEL、PE38RDEL、PE38KNEL，較佳如 SEQ ID NO：49 所示的 PE38KDEL。

**【請求項14】** 如請求項 1 至 13 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其包含如 SEQ ID NO：52 或 SEQ ID NO：53 所示的序列。

**【請求項15】** 一種抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，其包含：  
- 抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段、以及

- 一個或多個毒素分子；

該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段與該毒素分子共價或非共價連接；

其中，

該毒素分子選自以下任一項或其組合：成孔毒素、嗜水氣單胞菌氣溶素、氣單胞菌溶素原、布加寧、蓖麻毒素、假單胞菌外毒素、霍亂毒素或白喉毒素；

較佳地，該毒素分子選自以下任一項或其組合：PE-LR、PE-LO10R456A、PE-T20、PE-T20-KDEL、PE4E、PE40、PE38、PE24、PE25、PE38QQR、PE35、PE38KDEL、PE38DKEL、PE38RDEL、PE38KNEL；

更佳地，該毒素分子是如 SEQ ID NO：49 所示的 PE38KDEL。

**【請求項16】** 一種多核苷酸，其編碼如請求項 1 至 15 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物。

**【請求項17】** 一種載體，其含有如請求項 16 所述的多核苷酸，其為真核表達載體、原核表達載體或病毒載體。

**【請求項18】** 一種宿主細胞，其包含如請求項 17 所述的載體，

較佳地，該宿主細胞為細菌、酵母或哺乳動物細胞，

更佳地，該宿主細胞為大腸桿菌、畢赤酵母、中國倉鼠卵巢細胞或人胚腎 293 細胞。

**【請求項19】** 一種醫藥組成物，其含有：

如請求項 1 至 15 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，以及

視需要地，可藥用的賦形劑、稀釋劑或載體。

**【請求項20】** 一種治療和/或預防癌症或腫瘤的方法，包括：

向受試者施用治療有效量或預防有效量的如請求項 1 至 15 中任一項所述的抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物、如請求項 16 所述的多核苷酸、或如請求項 19 所述的醫藥組成物，

較佳地，該癌症或腫瘤選自以下任一項或其組合：前列腺癌、卵巢癌、乳腺癌、子宮內膜癌、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、淋巴瘤、肺癌、腎癌、肝癌、大腸癌（例如結腸癌）、胰腺癌、胃癌、白血病和中樞神經系統腫瘤；

更佳地，中樞神經系統腫瘤選自以下任一項或其組合：神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、神經母細胞瘤、星形細胞瘤、髓母細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突膠質瘤、血管瘤、腦膜瘤、視網膜母細胞瘤。

**【請求項21】** 如請求項 20 所述的方法，該中樞神經系統腫瘤為神經膠質母細胞瘤；

較佳地，該中樞神經系統腫瘤為復發性或難治性膠質母細胞瘤、或 O6-甲基鳥嘌呤-DNA 甲基轉移酶表達陽性或陰性的神經膠質母細胞瘤。

**【請求項22】** 一種用於製備抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物的方法，包括如下步驟：

在如請求項 18 所述的宿主細胞中表達抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物，以及

從該宿主細胞中分離該抗 IL-4R 抗體或其抗原結合片段的複合物。

【發明圖式】

2607-*sedS* v-PE38KDaI.



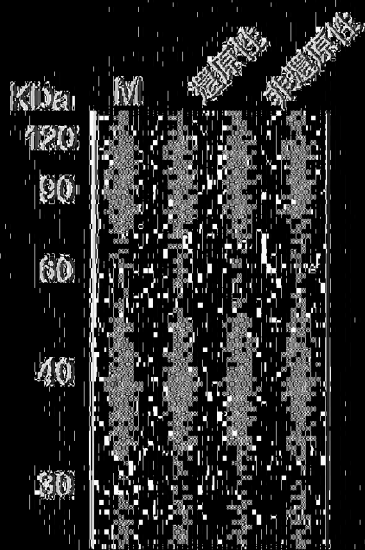
【圖1A】

2607-*sedS* v-PE38KDaI.



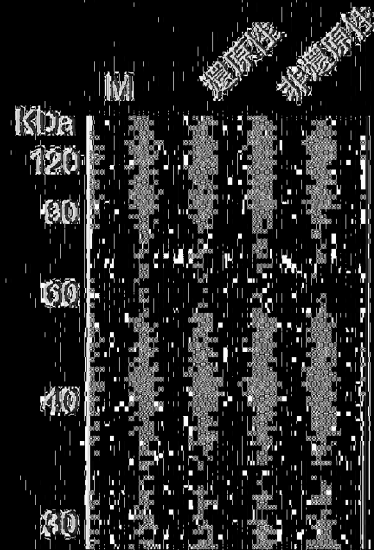
【圖1B】

2607-*sedS* v-PE38KDaI.



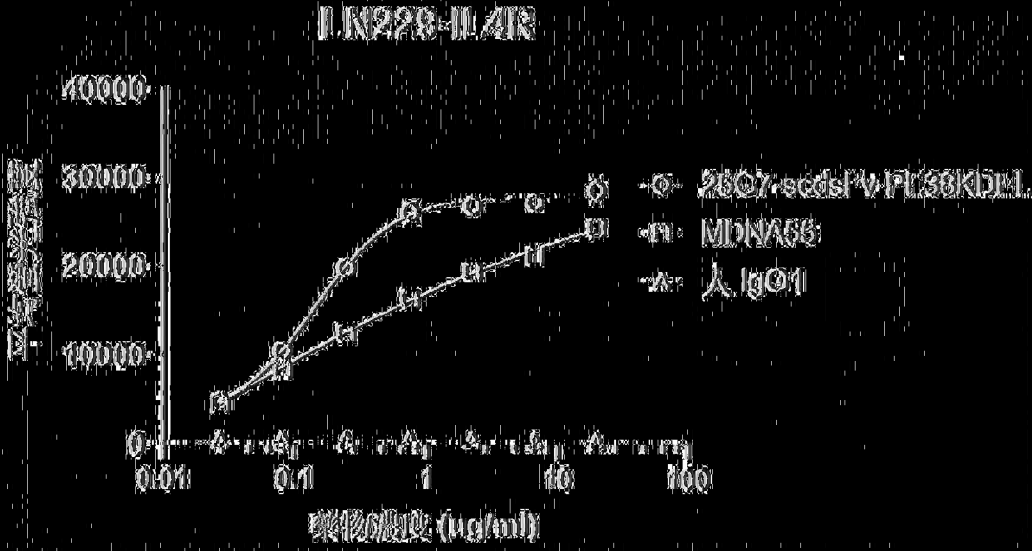
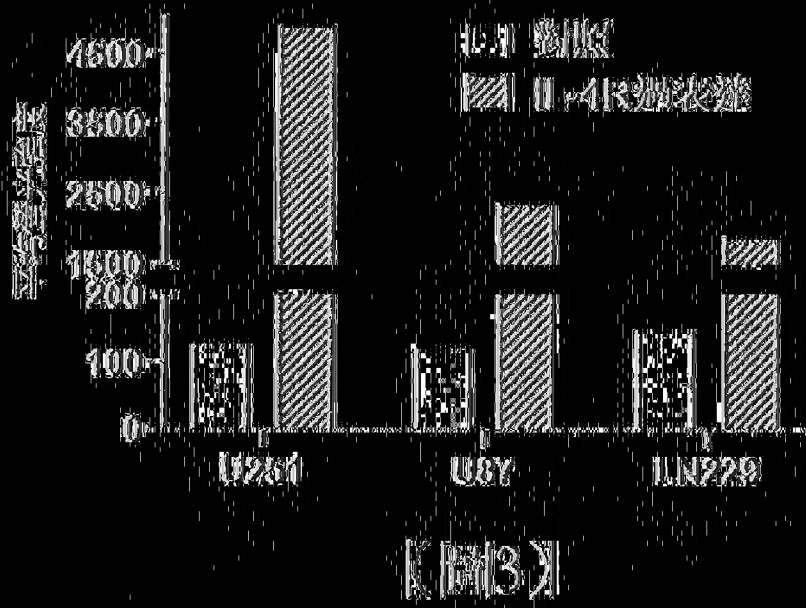
【圖2A】

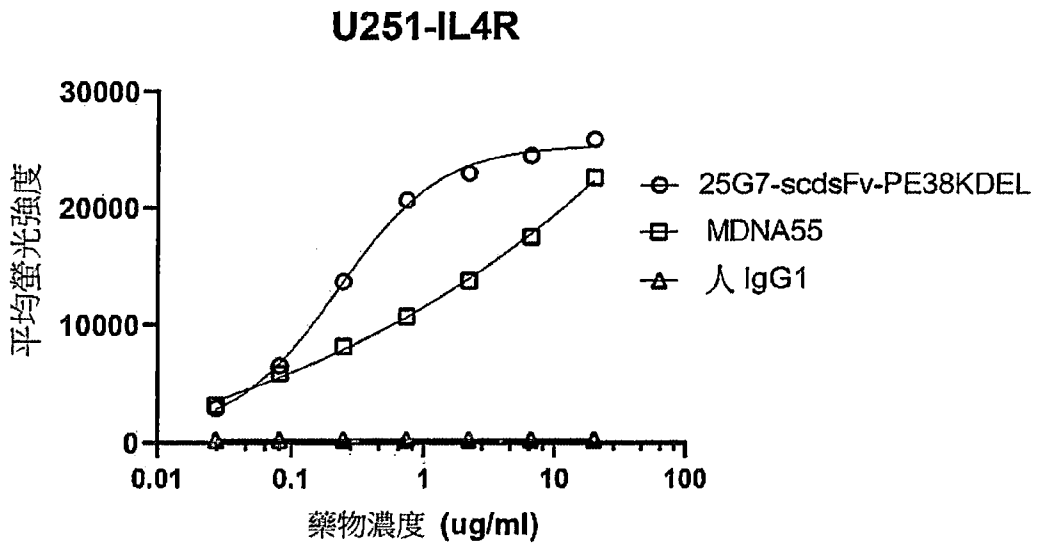
2607-*sedS* v-PE38KDaI.



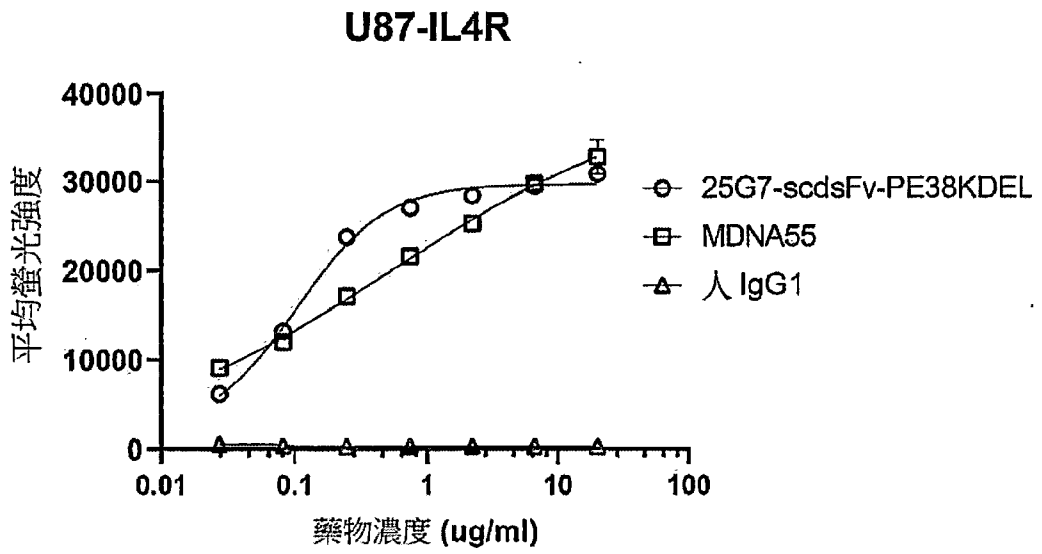
【圖2B】

2  
4  
6

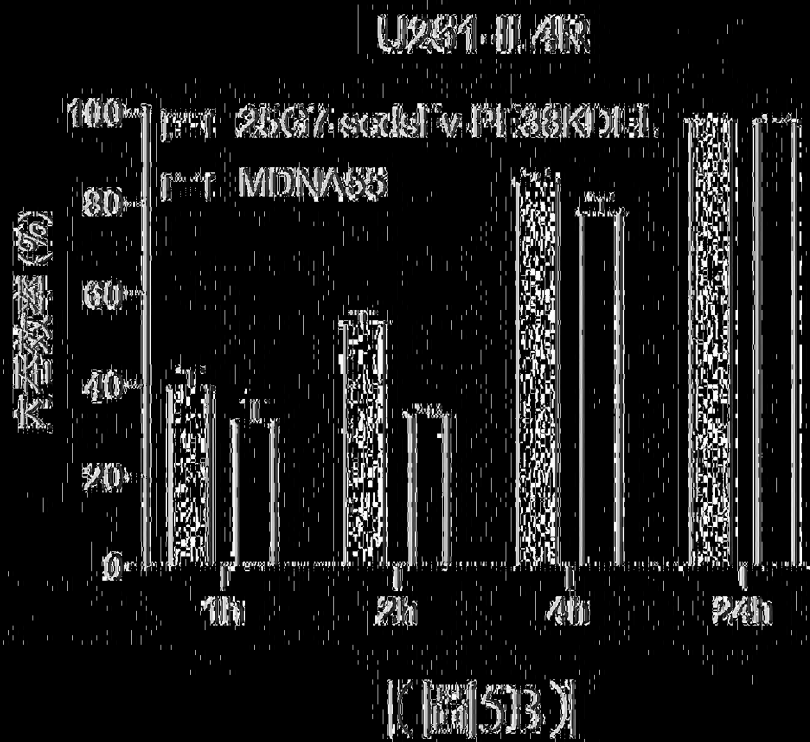
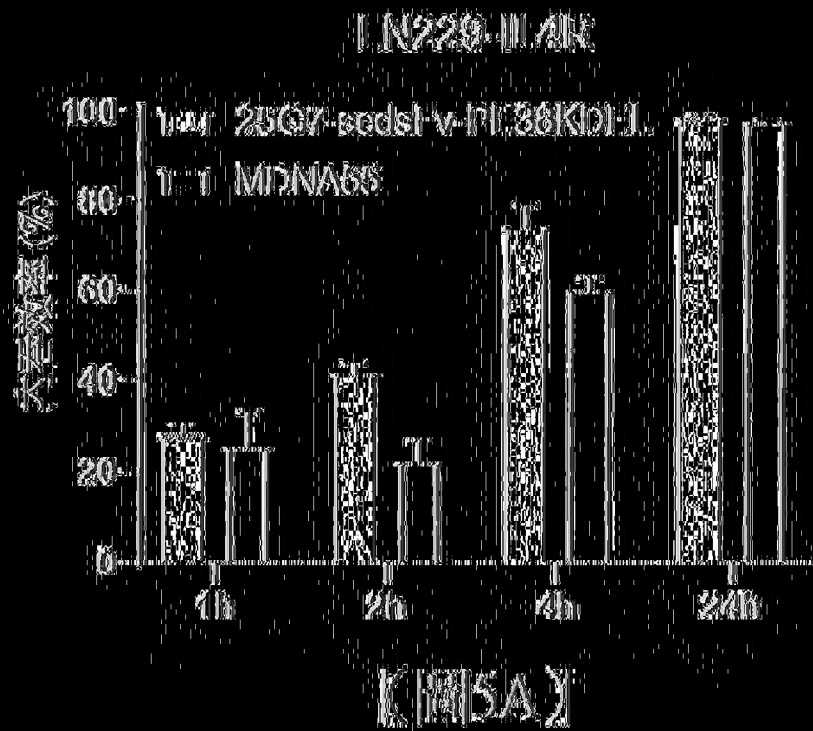


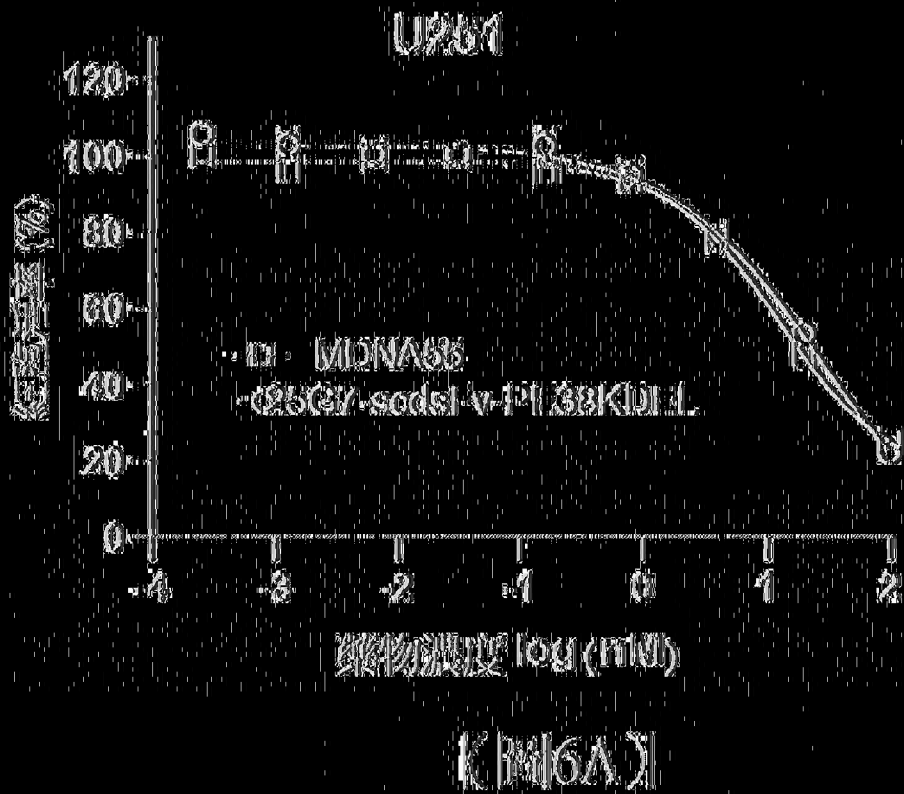
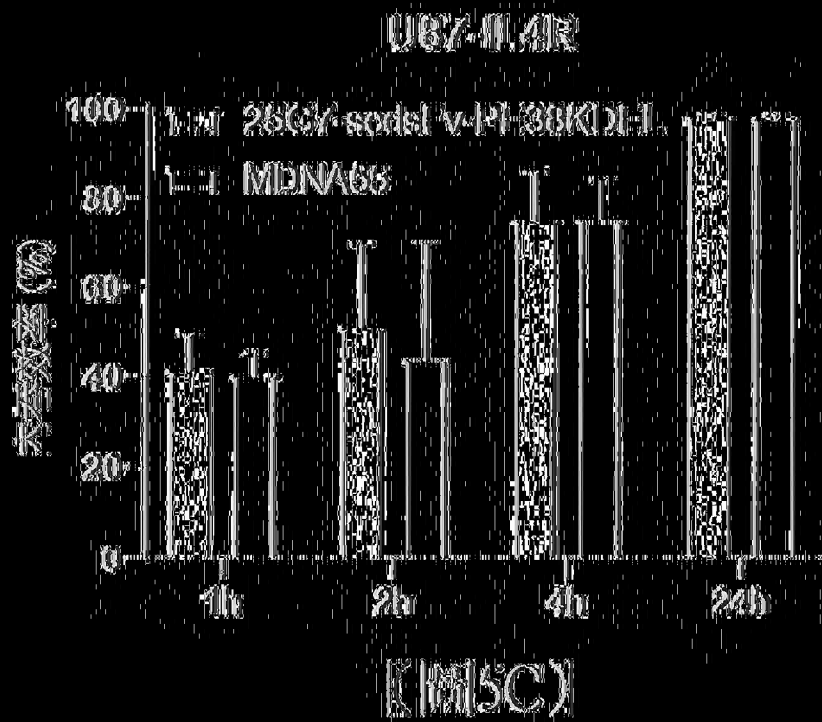


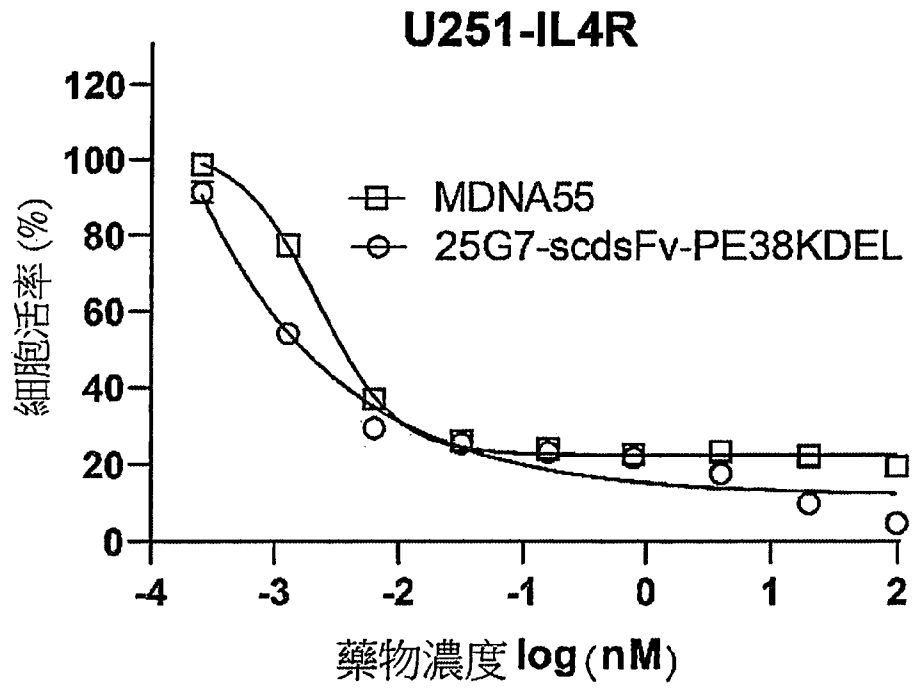
【圖4B】



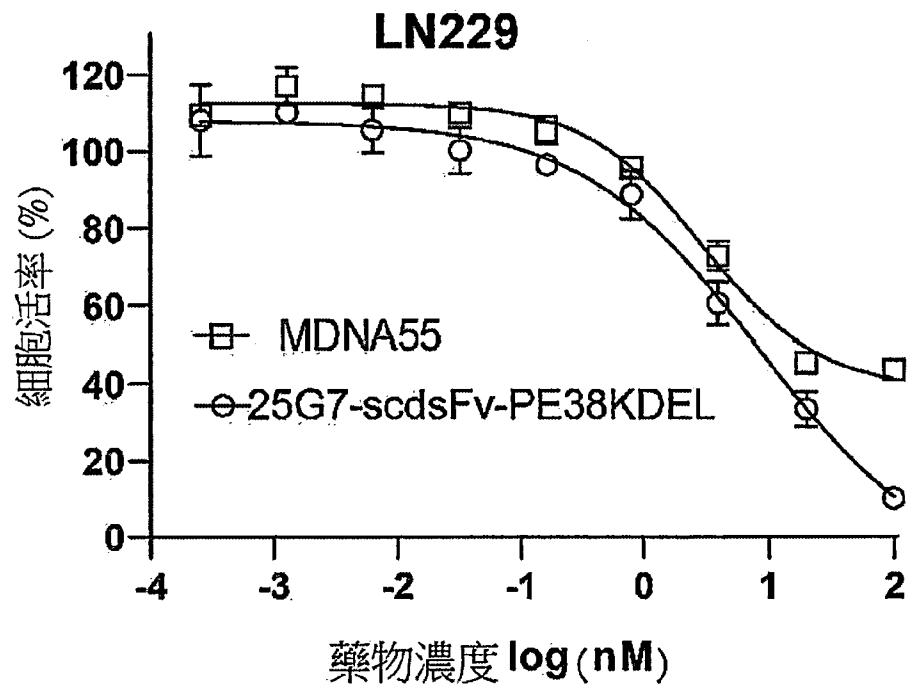
【圖4C】



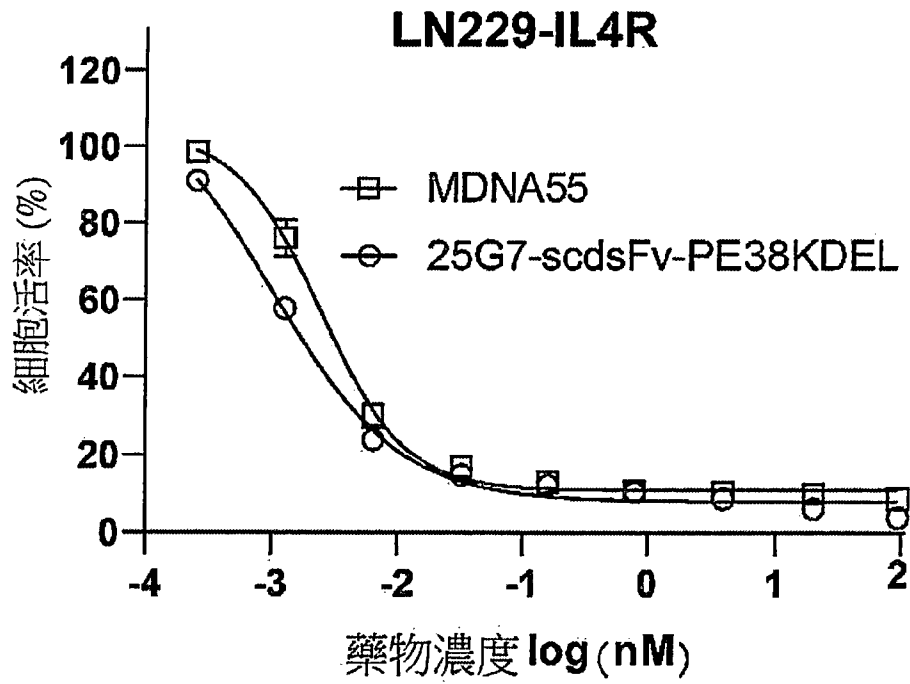




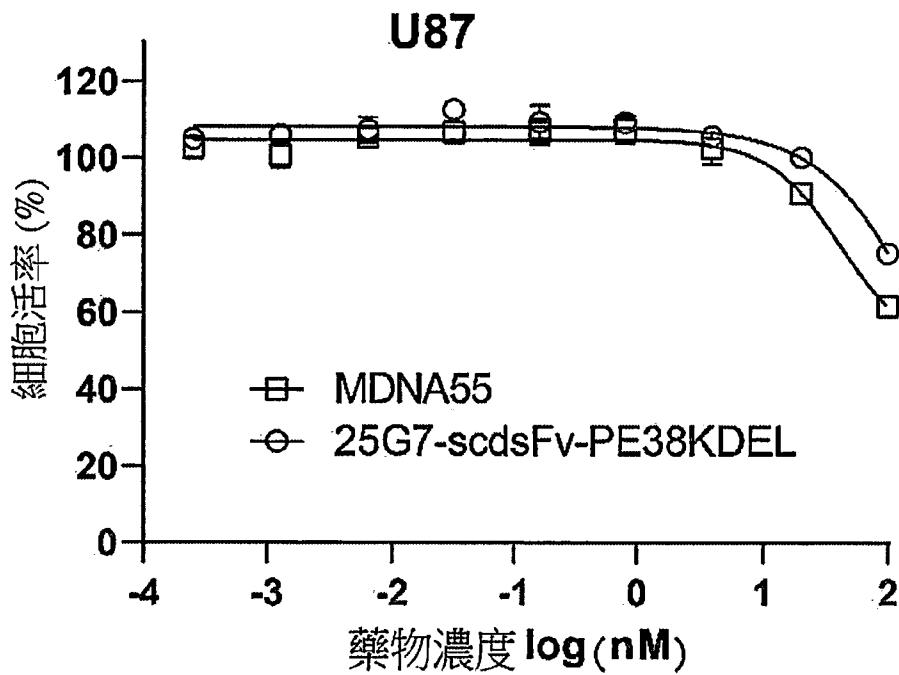
【圖6B】



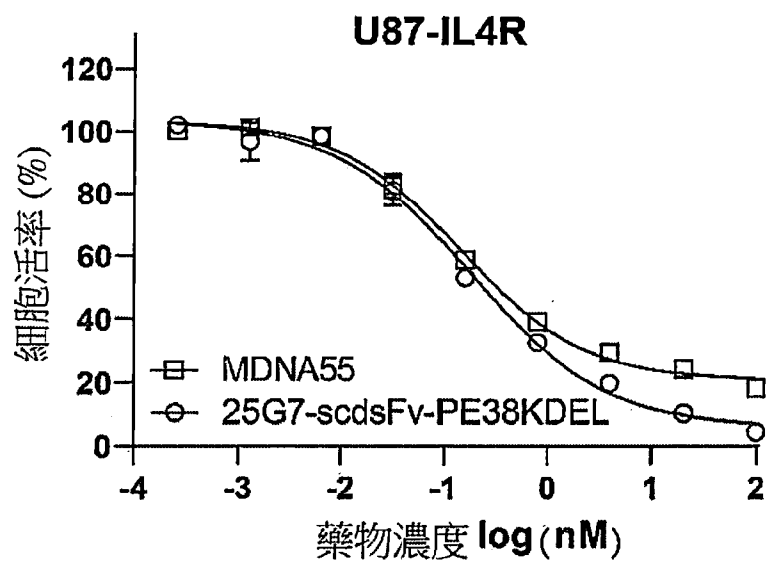
【圖6C】



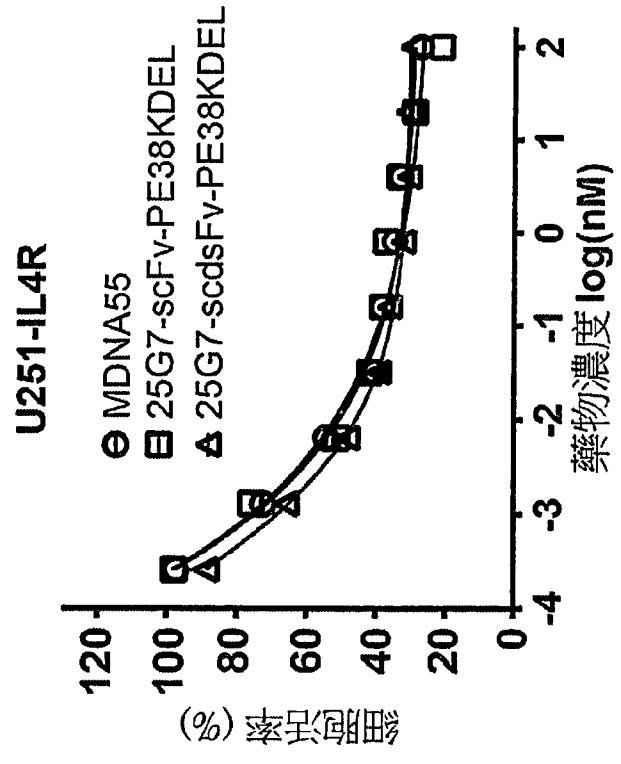
【圖6D】



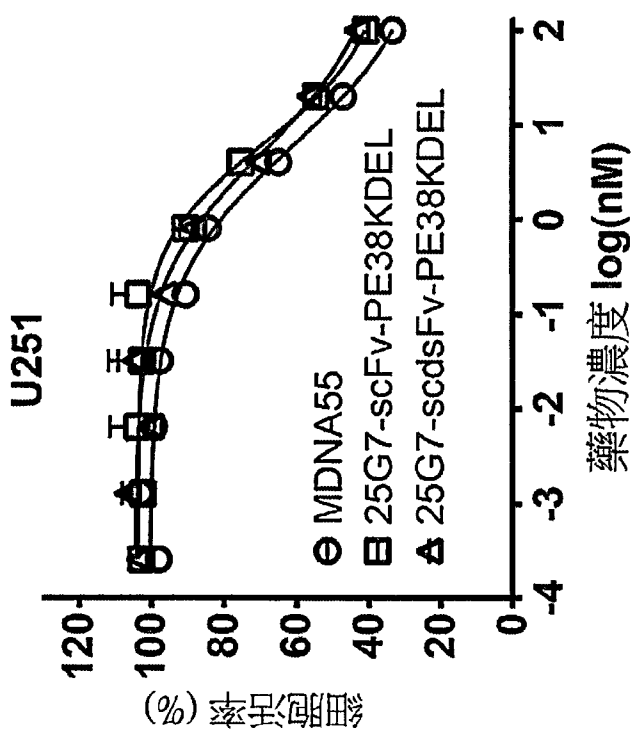
【圖6E】



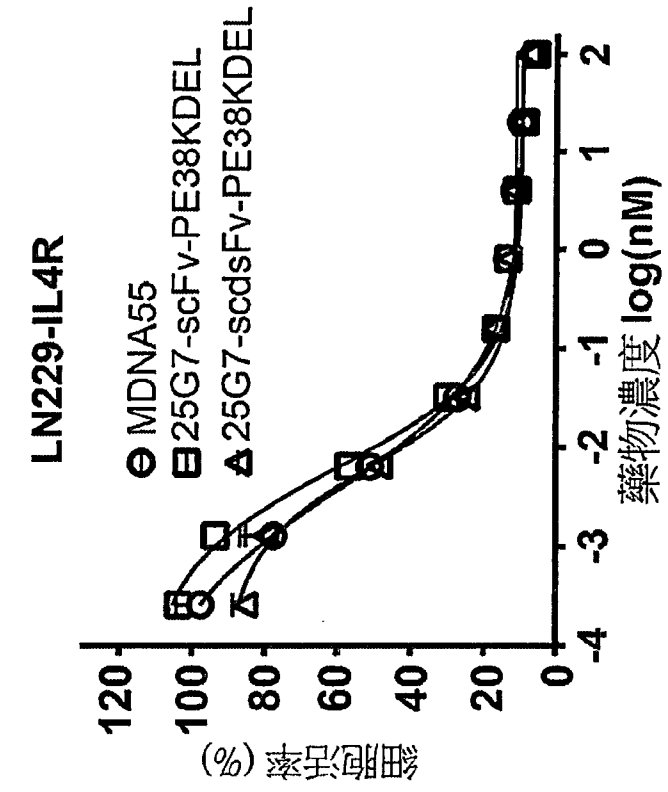
**【圖6F】**



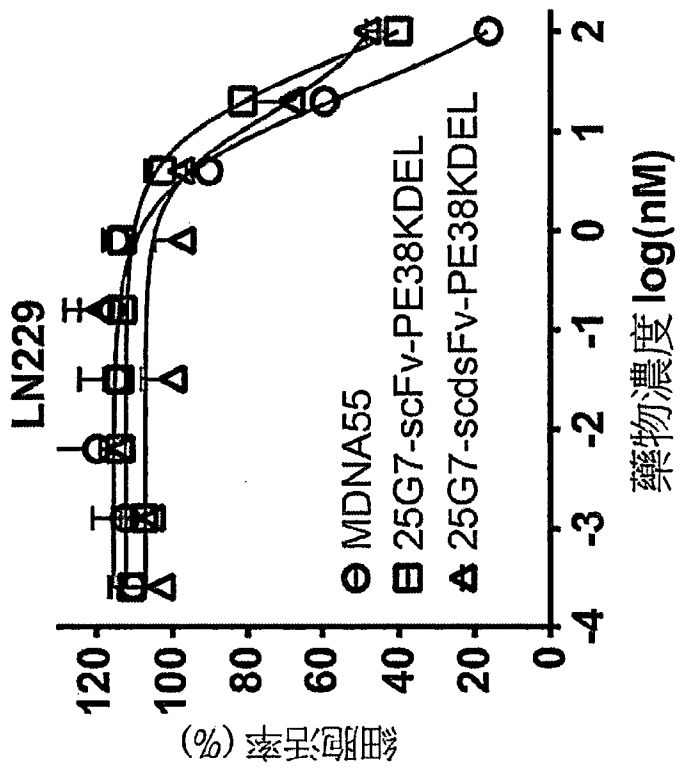
【圖7B】



【圖7A】



【圖7D】



【圖7C】

1000

2507-3000-230000 (SACS-V-DE30)

11.05 TOX

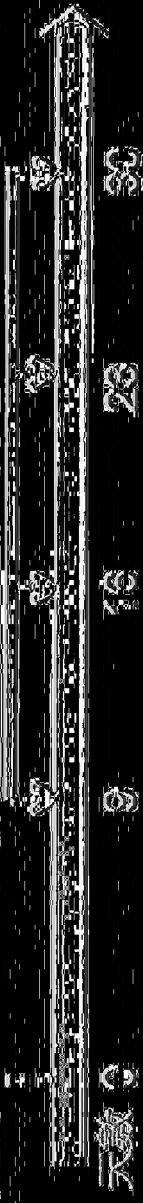
MDMA55

11.05 TOX

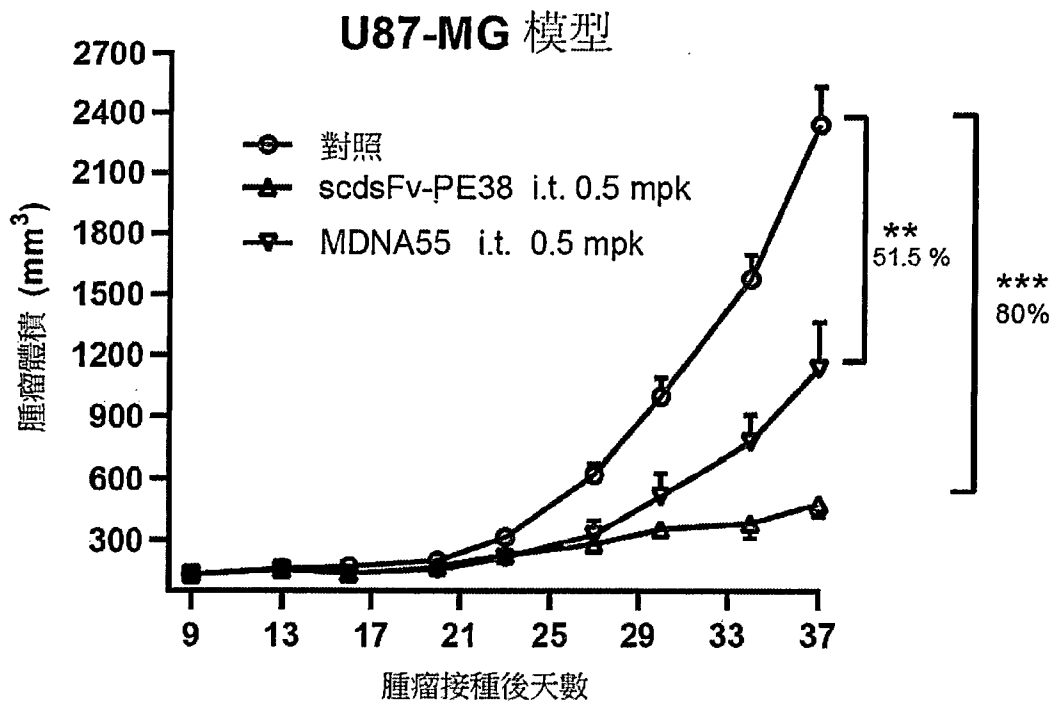
2507-3000-230000

(SACS-V-DE30)

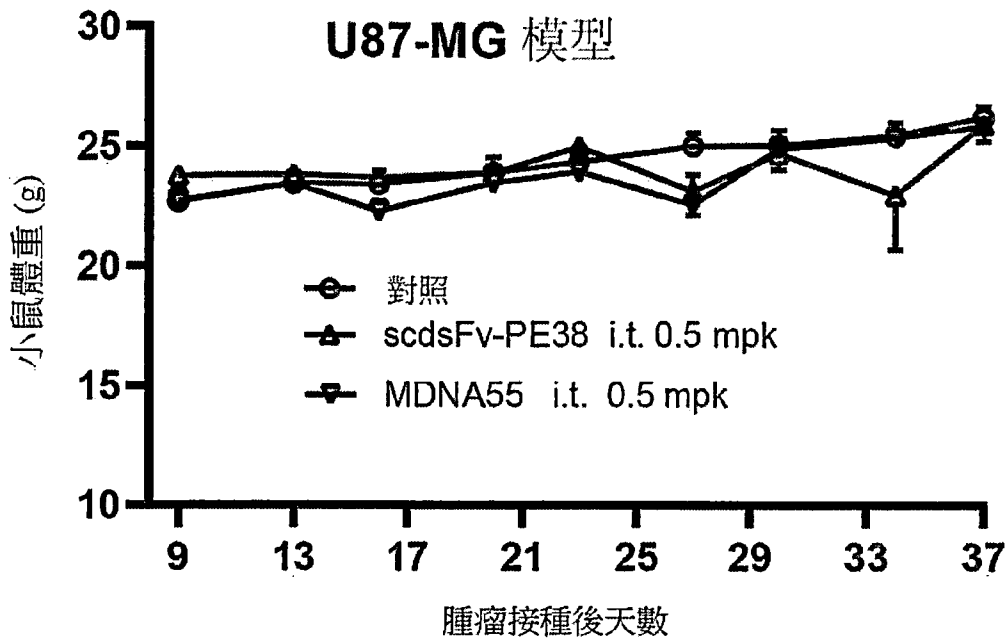
BALB/C 豚鼠



2507-3000-230000



【圖8B】



【圖8C】

10  
11  
12

2507-3035-V-238-QE (3035-V-238)

1. 3.25-3035  
1. 3.25-3035

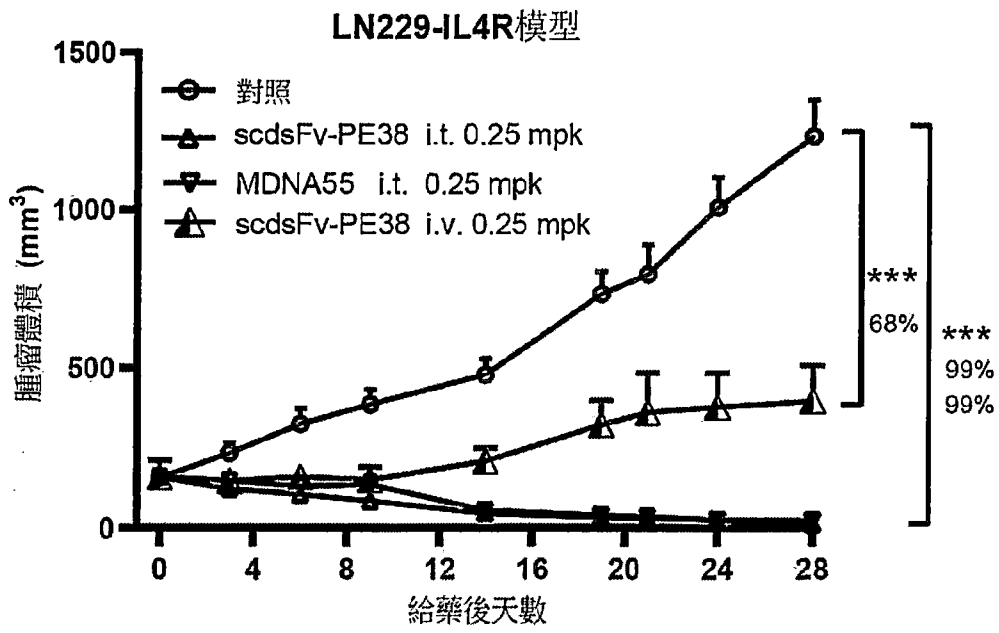
1. 3.25-3035  
1. 3.25-3035

LY220-4R  
(S.A. 1.23 (108))

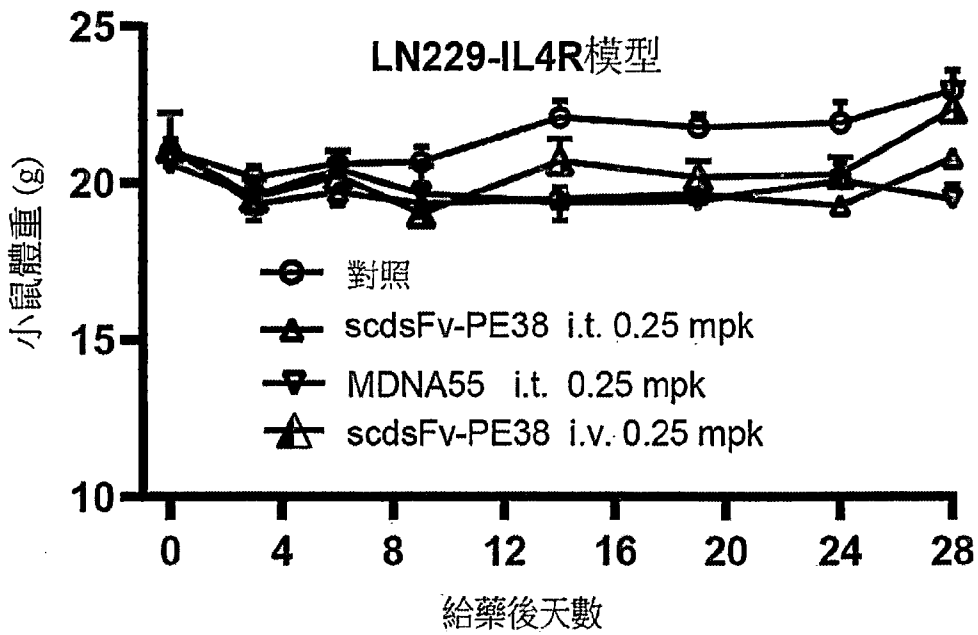
BAE/C 108



108A2



【圖9B】



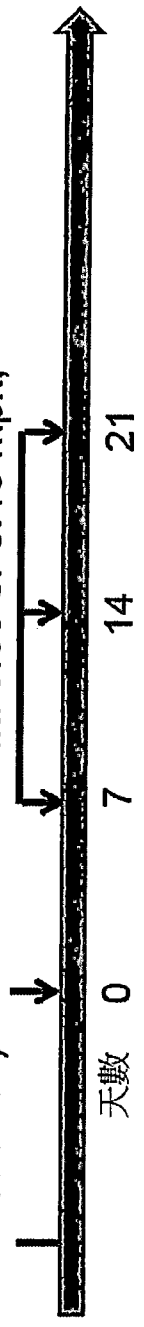
【圖9C】



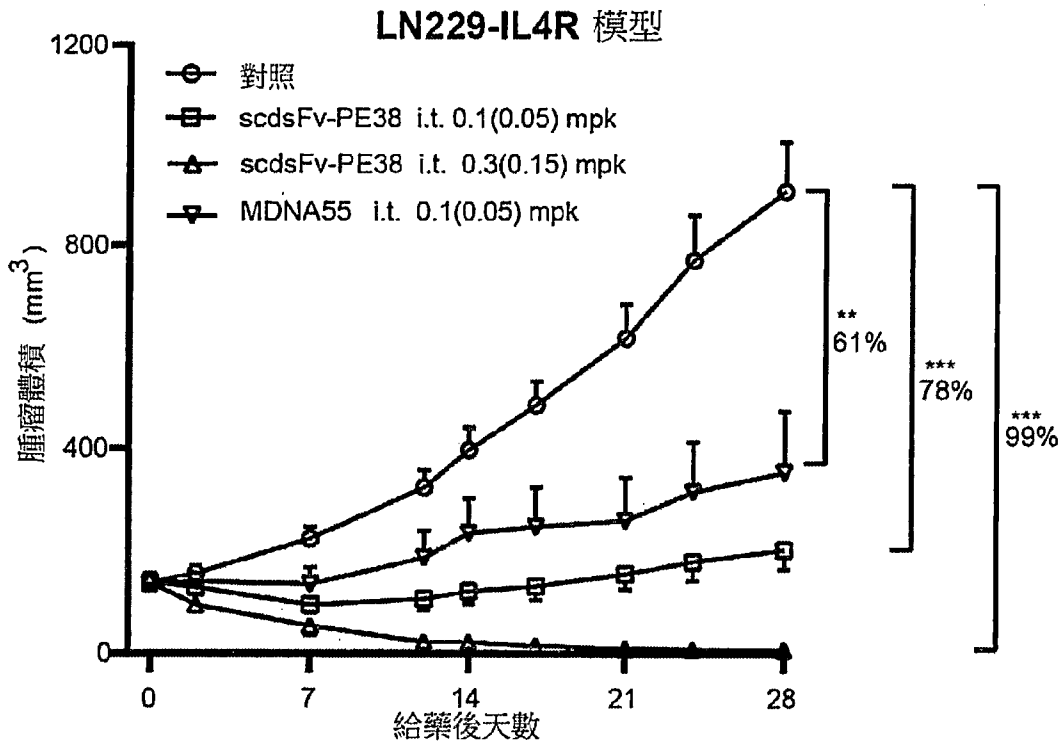
LN229-IL4R 模型  
(s.c. IL-4R IHC 3+)

- 25G7-scdsFv-PE38KDEL (scdsFv-PE38)
  - i.t. 0.1 或 0.3 mpk;
- MDNA55
  - i.t. 0.1 mpk

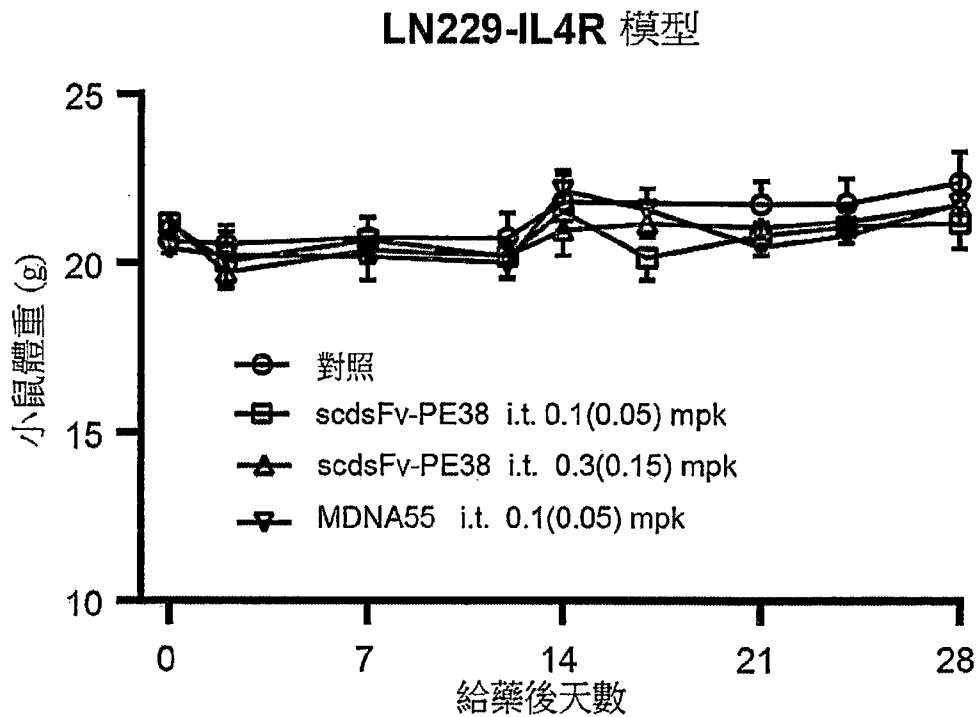
- i.t. 0.05 或 0.15 mpk;



【圖10A】



【圖10B】



【圖10C】