202233231

(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 202233231 A

(43)公開日：中華民國 111 (2022) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：110141678　(22)申請日：中華民國 110 (2021) 年 11 月 09 日

(51)Int. Cl.：　*A61K39/00 (2006.01)*　*A61K35/17 (2015.01)*

A61K31/436 (2006.01)　*A61K31/519 (2006.01)*

A61P35/00 (2006.01)　*A61P37/02 (2006.01)*

(30)優先權：2020/11/10　歐洲專利局　20206567.8

2021/02/08　歐洲專利局　21155823.4

2021/05/07　歐洲專利局　21172623.7

2021/07/23　歐洲專利局　21187472.2

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG　(CH)
瑞士

(72)發明人：海格爾　海倫　喜賽爾 HAEGEL, HELENE CECILE (FR)；克萊　克里斯俊 KLEIN, CHRISTIAN (DE)；路克萊爾　嘉布麗葉兒 LECLERCQ, GABRIELLE (FR)；托索　阿爾貝托 TOSO, ALBERTO (IT)；齊默爾曼　蒂娜 ZIMMERMANN, TINA (DE)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：56 項　圖式數：104　共 338 頁

(54)名稱

T細胞接合劑相關之不良反應之預防或減輕

(57)摘要

本發明涉及預防或減輕與 T 細胞接合劑相關之不良反應，例如細胞激素釋放症候群。具體而言，本發明涉及使用 JAK 及/或 mTOR 抑制劑預防或減輕此類副作用。

The present invention relates to the prevention or mitigation of adverse effects related to T cell engaging agents, such as cytokine release syndrome. Specifically, the invention relates to the prevention or mitigation of such side effects using an inhibitor of JAK and/or mTOR.

指定代表圖：

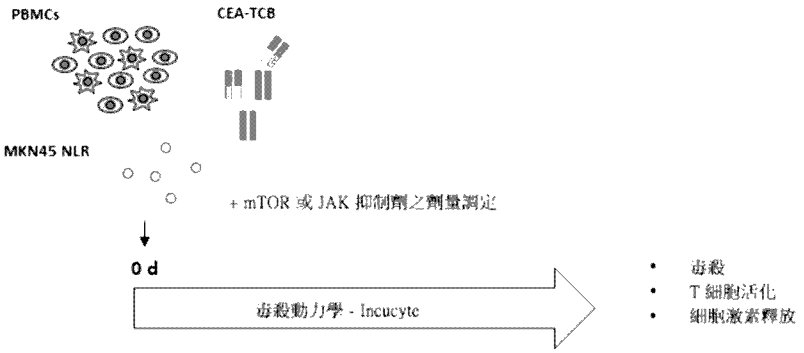

PBMCs
CEA-TCB
MKN45 NLR
+ mTOR 或 JAK 抑制劑之劑量調定
0 d
毒殺動力學 - Incucyte
毒殺
T 細胞活化
細胞激素釋放

圖 1

【發明摘要】

【中文發明名稱】　T 細胞接合劑相關之不良反應之預防或減輕

【英文發明名稱】　Prevention or mitigation of T-cell engaging agent-related adverse effects

【中文】本發明涉及預防或減輕與 T 細胞接合劑相關之不良反應，例如細胞激素釋放症候群。具體而言，本發明涉及使用 JAK 及/或 mTOR 抑制劑預防或減輕此類副作用。

【英文】The present invention relates to the prevention or mitigation of adverse effects related to T cell engaging agents, such as cytokine release syndrome. Specifically, the invention relates to the prevention or mitigation of such side effects using an inhibitor of JAK and/or mTOR.

【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　T 細胞接合劑相關之不良反應之預防或減輕

【英文發明名稱】　Prevention or mitigation of T-cell engaging agent-related adverse effects

【技術領域】

【0001】 本發明涉及預防或減輕與 T 細胞接合劑相關之不良反應，例如細胞激素釋放症候群。具體而言，本發明涉及使用 JAK 及/或 mTOR 抑制劑預防或減輕此類副作用。

【先前技術】

【0002】 T 細胞接合劑，諸如 T 細胞雙特異性抗體 (TCB) 或表現嵌合抗原受體 (CAR) 的 T 細胞 (CAR-T 細胞)，掌握了作為癌症免疫治療劑的廣闊前景。然而，由於標靶上腫瘤上、標靶上腫瘤外細胞毒殺活性及細胞激素釋放，以 T 細胞接合劑治療有時與安全責任相關。據報導，T 細胞接合劑最常見的不良反應之一是細胞激素釋放症候群 (CRS)。這種複雜的臨床症候群以發燒、低血壓和呼吸窘迫 (respiratory deficiency) 為特徵，並與促發炎細胞激素諸如 IL-6、TNF-α、IFN-γ 和 IL-10 的釋放有關 (參見例如 Shimabukuro-Vornhagen et al., J Immunother Cancer (2018) 6, 56)。非常需要減輕這些危及生命的毒性之方法。Src 抑制劑達沙替尼 (dasatinib) 被確定為預防或減輕 CAR-T 細胞不良反應的有效候選藥物 (Weber et al., Blood Advances (2019) 3, 711-7；Mestermann et al., Sci Transl Med (2019) 11, eaau5907) 以及 TCB (Leclercq et al., J Immunother Cancer

(2020) 8 (Suppl 3): A690 (摘要 653))。然而，達沙替尼會完全關閉 CAR-T 細胞功能以及 TCB 誘導的 T 細胞功能，而不會區分這些藥物的所需活性和非所需活性。非常需要一種在保持其治療功效的同時預防或減輕 T 細胞接合劑的不良反應之方法。提出了阻斷諸如 IL-6 或 TNF-α 之個別細胞激素作為預防 CRS 而不影響 TCB 誘導的 T 細胞活性之策略 (Li et al., Sci Transl Med 11, eaax8861 (2019))。除了抗 IL-6 治療 (例如使用托珠單抗)，糖皮質素也用於 CRS 的治療。然而，一些患者對這些方法有頑抗性，因此需要開發緩解 CRS 的新穎方法。

【發明內容】

【0003】 本發明人已發現 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑可用於藉由 T 細胞參與療法減輕 CRS。發現例如 (諸如替西羅莫司 (temsirolimus)、西羅莫司 (sirolimus) 和依維莫司 (everolimus) 的 mTOR 抑制劑以及例如如魯索替尼 (ruxolitinib) 的 JAK 抑制劑可有效阻止 TCB 誘導的細胞激素釋放，同時保留 TCB 介導的標靶細胞毒殺。這些結果提供證據表明 TCB 依賴性細胞激素釋放和標靶細胞毒殺機制可以去耦合，並表明 mTOR 及/或 JAK 抑制劑是目前使用的策略 (諸如類固醇或 IL-6/IL-6R 阻斷) 的誘人的潛在優勢替代或補充，用於緩解與 T 細胞參與療法相關的 CRS。

【0004】 因此，在第一方面，本發明提供用於治療個體中之疾病的 T 細胞接合劑，其中該治療包含

(a) 對個體投予 T 細胞接合劑，及

(b) 對個體投予 Janus 激酶 (JAK) 及/或哺乳動物雷帕黴素標靶蛋白 (mammalian target of rapamycin，mTOR) 傳訊抑制劑。

【0005】 本發明進一步提供 T 細胞接合劑在製造用於治療個體疾病之藥物中的用途，其中該治療包含

(a) 對個體投予 T 細胞接合劑，及

(b) 對個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【0006】 本發明還提供了治療個體中的疾病之方法，其中該方法包含

(a) 對個體投予 T 細胞接合劑，及

(b) 對個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【0007】 根據上述任何方面，投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑可用於預防或減輕與投予 T 細胞接合劑相關的不良反應。

【0008】 在另一方面，本發明提供 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑，其用於預防或減輕與對個體投予 T 細胞接合劑相關的不良反應。

【0009】 本發明進一步提供 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑在製造用於預防或減輕與對個體投予 T 細胞接合劑相關不良反應之藥物中的用途。

【0010】 本發明亦提供預防或減輕與對個體投予 T 細胞接合劑相關的不良反應之方法，該方法包含對該個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【0011】 供使用的 T 細胞接合劑、供使用的 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、上述及本文所述的用途或方法可以單獨或組合地併入以下進一步描述的任何特徵 (除非上下文另有說明)。

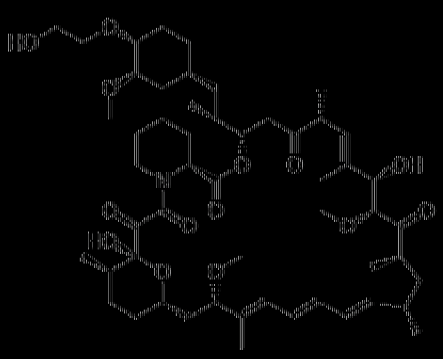
【0012】 除非本文另外定義，否則本文所用的術語為本技術領域中的一般使用。

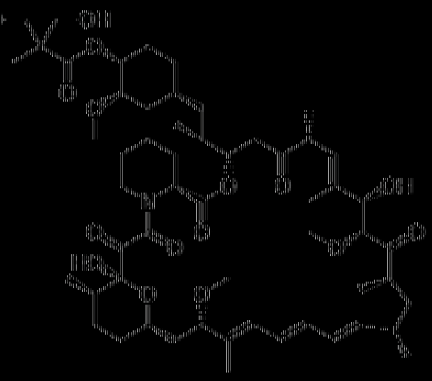
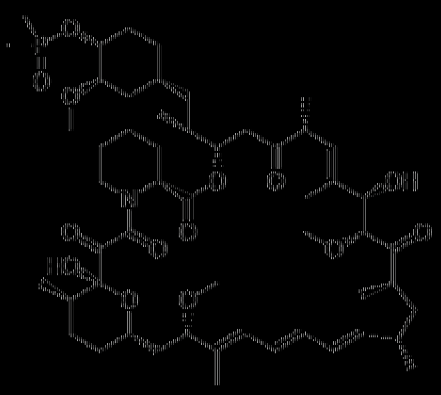
【0013】 在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 mTOR 抑制劑。在更具體的方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 mTOR 激酶抑制劑，特別是小分子 mTOR 激酶抑制劑。

[0014] 「mTOR」代表哺乳動物雷帕黴素標靶蛋白(亦稱為 FK506 結合蛋白 12-雷帕黴素複合物相關蛋白 1 (FRAP1)),是一種絲胺酸/蘇胺酸特異性蛋白激酶,屬於磷脂酸肌醇-3 激酶 (PI3K) 相關激酶家族。其為 mTOR 複合物 1 (TORC1) 與 mTOR 複合物 2 (TORC2) 兩種不同的蛋白質複合物的核心成分,可調節不同的細胞過程。人類 mTOR 在 UniProt 數據庫 P42345 (版本 218) 中進行了描述。mTOR 抑制劑為抑制 mTOR 的化合物。最被確立的 mTOR 抑制劑是所謂的雷帕黴素類似物 (rapalog),其為雷帕黴素的衍生物。雷帕黴素類似物包括西羅莫司、替西羅莫司、依維莫司和地磷莫司 (ridaforolimus)。第二代 mTOR 抑制劑是 ATP 競爭性 mTOR 激酶抑制劑,旨在與 mTOR 之催化位點中的 ATP 競爭。

[0015] 可用於本發明的例示性 mTOR 抑制劑提供於下表 1 中的。

[0016] 表 1.mTOR 抑制劑。

INN	結構
西羅莫司	
依維莫司	

替西羅莫司	
地磷莫司	

[0017] 在一些方面，mTOR 抑制劑是雷帕黴素的衍生物 (也稱為雷帕霉素類似物)。

[0018] 在一些方面，mTOR 抑制劑選自由西羅莫司、替西羅莫司、依維莫司和地磷莫司所組成之群組，特別是西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司。

[0019] 在具體方面，mTOR 抑制劑是西羅莫司。在進一步的具體方面，mTOR 抑制劑是替西羅莫司。在更進一步的具體方面，mTOR 抑制劑是依維莫司。

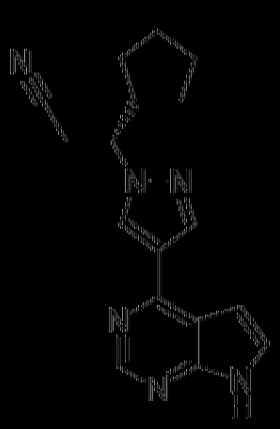
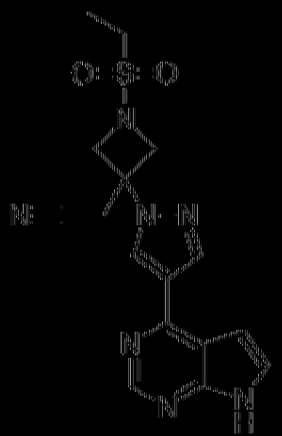
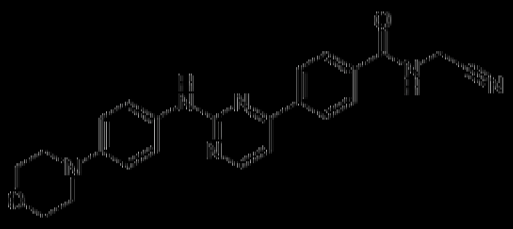
[0020] 在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 JAK 抑制劑。在更具體方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 JAK 激酶抑制劑，特別是小分子 JAK 激酶抑制劑。

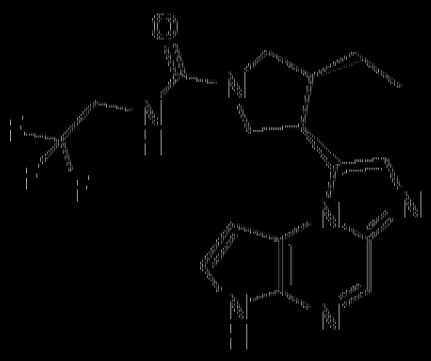
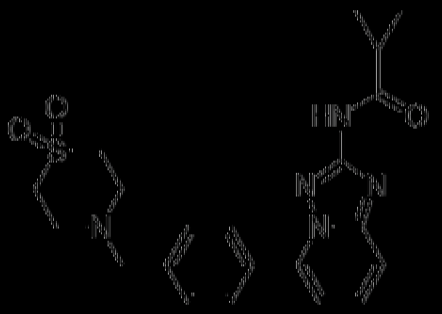
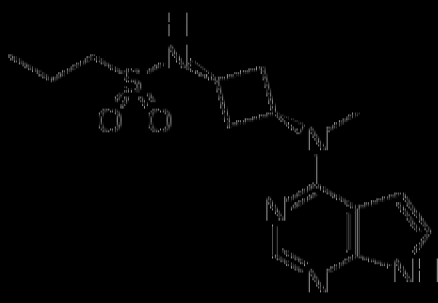
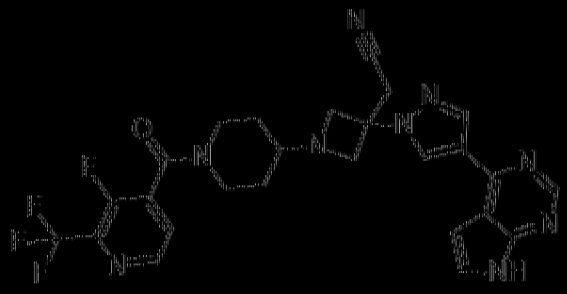
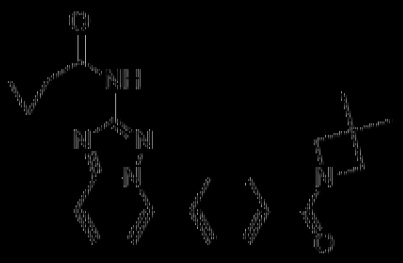
[0021] 「JAK」代表喬納斯 (Janus) 激酶，涉及經由 JAK/STAT 路徑轉導細胞激素介導的訊號的細胞內非受體酪胺酸激酶家族。JAK 擁有兩個幾乎相同的磷酸轉移結構域，一個顯示激酶活性而另一個負調節第一個的激酶活性。四個

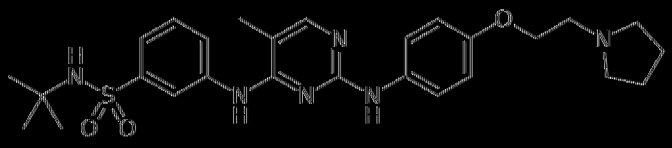
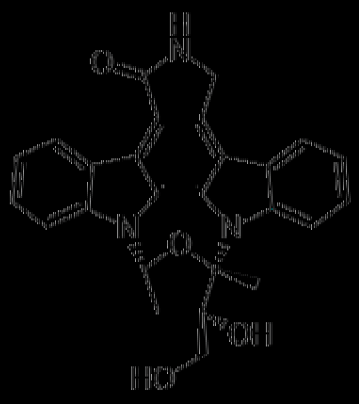
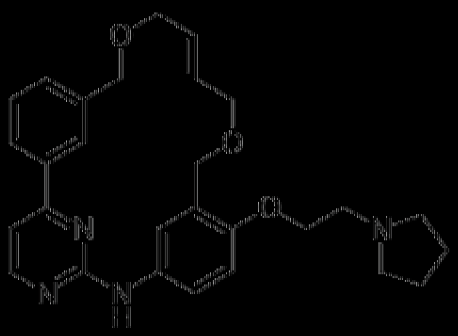
JAK 家族成員是 JAK1、JAK2、JAK3 和 TYK2 (酪胺酸激酶 2)。在本文的特定方面，JAK 為 JAK1 及/或 JAK2 (JAK1/2)。人類 JAK1 和 JAK2 分別敘述於 UniProt 項目 P23458 (版本 221) 和 P60674 (版本 224) 中。JAK 抑制劑 (有時亦稱為 jakinib) 是抑制一種或多種 JAK 酶家族 (JAK1、JAK2、JAK3、TYK2) 活性的化合物，從而干擾 JAK/STAT 傳訊路徑。

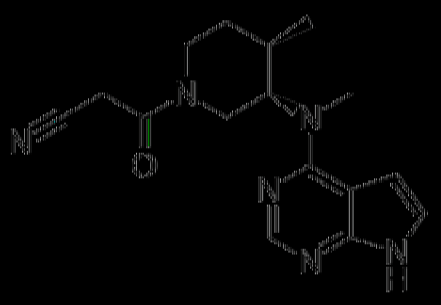
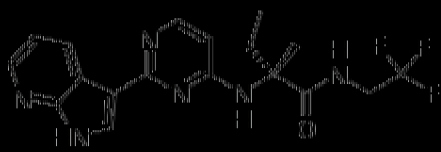
[0022] 可用於本發明的例示性 JAK 抑制劑提供於下表 2 中。

[0023] 表 2.JAK 抑制劑。

INN	主要靶標性	結構
魯索替尼 (Ruxolitinib)	JAK1、JAK2	
巴瑞替尼 (Baricitinib)	JAK1、JAK2	
莫羅替尼 (Momelotinib)	JAK1、JAK2	

烏帕替尼 (Upadacitinib)	JAK1	
菲戈替尼 (Filgotinib)	JAK1	
阿布替尼 (Abrocitinib)	JAK1	
伊他替尼 (Itacitinib)	JAK1	
索西替尼 (Solcitinib)	JAK1	

奧拉替尼 (Oclacitinib)	JAK1	
芙拉替尼 (Fedratinib)	JAK2	
甘多替尼 (Gandotinib)	JAK2	
來他替尼 (Lestaurtinib)	JAK2	
帕克替尼 (Pacritinib)	JAK2	

培非替尼 (Peficitinib)	泛JAK (JAK3)	
托法替尼 (Tofacitinib)	泛JAK (JAK3)	
地諾替尼 (Decernotinib)	JAK3	

[0024] 在一些方面，JAK抑制劑為JAK1及/或JAK2 (JAK1/2)抑制劑。在一些方面，JAK抑制劑選自由魯索替尼、巴瑞替尼、莫羅替尼、烏帕替尼、非戈替尼、阿布替尼、伊他替尼、索匹替尼、奧拉替尼、費拉替尼、甘多替尼、來他替尼和吡克替尼所組成之群組。

[0025] 在特定方面，JAK抑制劑為JAK1和JAK2抑制劑。在具體的這些方面，JAK抑制劑選自由魯索替尼、巴瑞替尼和莫羅替尼所組成之群組。

[0026] 在一些方面，JAK抑制劑為JAK1抑制劑。在具體的這些方面，JAK抑制劑選自由烏帕替尼、非戈替尼、阿布替尼、伊他替尼、索匹替尼及奧拉替尼所組成之群組。

[0027] 在一些方面，JAK抑制劑為JAK2抑制劑。在具體的這些方面，JAK抑制劑選自由費拉替尼、甘多替尼、來他替尼和吡克替尼所組成之群組。在具體的此類方面，JAK抑制劑為費拉替尼。

【0028】 在一些方面，JAK 抑制劑為泛 JAK 抑制劑。在具體的這些方面，JAK 抑制劑為托法替尼 (tofacitinib) 或培非替尼，特別是托法替尼。

【0029】 在特定方面，JAK 抑制劑為魯索替尼。在進一步的特定方面，JAK 抑制劑為巴瑞替尼。在一些方面，JAK 抑制劑為托法替尼。在一些方面，JAK 抑制劑為費拉替尼。

【0030】 在特定方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑選自由西羅莫司、替西羅莫司、依維莫司和魯索替尼所組成之群組。在進一步的特定方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑選自西羅莫司、替西羅莫司、依維莫司、魯索替尼和巴瑞替尼。

【0031】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致 T 細胞接合劑活性的抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑不會引起對 T 細胞接合劑的另一活性的抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致 T 細胞接合劑的第一活性的抑制但不導致 T 細胞接合劑的第二活性的抑制。在一些這些方面中，該抑制為完全抑制。

【0032】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞接合劑的第一活性的抑制及 T 細胞接合劑的第二活性的抑制，其中該第一活性的抑制強於該第二活性的抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞接合劑的第一活性的抑制及 T 細胞接合劑的第二活性的抑制，其中該第一活性的抑制為完全抑制且該第二活性的抑制為部分抑制。

【0033】 T 細胞接合劑的「活性」涉及 T 細胞接合劑在個體體內引起的反應。這種活性可以包括 T 細胞，特別是 CD4+ 及/或 CD8+ T 細胞的細胞反應，諸如增殖、分化、細胞激素分泌、細胞毒性效應分子釋放、細胞毒殺活性和活化標誌物的表現，及/或對標靶細胞的效應，特別是表現 T 細胞接合劑的標靶細胞抗原的標靶細胞 (例如腫瘤細胞)，諸如標靶細胞的裂解。

【0034】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起免疫細胞，特別是 T 細胞之細胞激素分泌的抑制 (由 T 細胞接合劑誘導)。在一些方面，該細胞激素為選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組中的一種或多種細胞激素。免疫細胞可包括各種免疫細胞類型，諸如 T 細胞、巨噬細胞、單核球、NK 細胞等。在一些方面，該 T 細胞是 CD8+T 細胞或 CD4+ 細胞。在一些方面，該抑制為完全抑制。

【0035】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑不引起 T 細胞活化 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制。在一些方面，該抑制為完全抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞活化 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，其中該抑制為部分抑制。

【0036】 如本文中所使用的「T 細胞活化」 (Activation of T cells 或 T cell activation)，係指 T 淋巴細胞 (特定而言 CD4+ 或 CD8+ T 細胞) 之一種或多種細胞反應，選自：增殖、分化、細胞毒性效應分子釋放、細胞毒殺活性及活化標記之表現。測定 T 細胞活化之適宜分析係本技術中已知的並在本文中描述。在特定方面，T 細胞活化是活化標誌物的表現，特別是 CD25 及/或 CD69 的表現 (視情況地藉由流式細胞分析技術測量)。在特定方面，T 細胞活化藉由測量 T 細胞上 CD25 和/或 CD69 的表現來確定，例如藉由流式細胞分析技術。

【0037】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑不引起 T 細胞細胞毒殺活性 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制。在一些方面，該抑制為完全抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞細胞毒殺活性 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，其中該抑制是部分抑制。

【0038】 T 細胞的「細胞毒殺活性」是指 T 淋巴細胞，特別是 CD4+ 或 CD8+ T 細胞對標靶細胞的裂解（即毒殺）的誘導。細胞毒殺活性通常涉及 T 淋巴細胞的去顆粒，這與 T 淋巴細胞釋放細胞毒效應分子諸如顆粒酶 B 和/或穿孔素有關。

【0039】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞的細胞激素分泌 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，但不引起 T 細胞的活化及/或細胞毒殺活性 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制。在一些這些方面中，該抑制為完全抑制。

【0040】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞的細胞激素分泌 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，且引起 T 細胞的活化及/或細胞毒殺活性 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，其中該細胞激素分泌的抑制強於該活化及/或細胞毒殺活性的抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑引起 T 細胞的細胞激素分泌 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，且引起 T 細胞的活化及/或細胞毒殺活性 (由 T 細胞接合劑誘導) 的抑制，其中該細胞激素分泌的抑制是完全抑制，且該活化及/或細胞毒殺活性的抑制是部分抑制。

【0041】 本文的抑制可為部分抑制或完全抑制。完全抑制是比部分抑制更強的抑制。在一些方面，部分抑制是抑制不超過 30%、不超過 40%、不超過 50%、不超過 60% 或不超過 70%。在一些方面，部分抑制是不超過 30% 的抑制。在一些方面，部分抑制是不超過 40% 的抑制。在一些方面，部分抑制是不超過 50% 的抑制。在一些方面，部分抑制是不超過 60% 的抑制。在一些方面，部分抑制是不超過 70% 的抑制。在一些方面，完全抑制是至少 80%、至少 90% 或 100% 的抑制。在一些方面，完全抑制是抑制至少 80%。在一些方面，完全抑制是抑制至少 90%。在一些方面，完全抑制是 100% 的抑制。在一些方面，部分抑制是不超過 50% 的抑制，且完全抑制是至少 80% 的抑制。在一些方面，完全抑制具有臨床意義的及/或統計學意義的，及/或部分抑制是沒有臨床意義的及/或統計學意義的。

【0042】 在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑在個體中引起一種或多種細胞激素的血清中含量降低。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR

傳訊抑制劑在個體中引起免疫細胞，特別是 T 細胞的一種或多種細胞激素的分泌降低。在一些方面，該一種或多種細胞激素選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組。免疫細胞可包括各種免疫細胞類型，諸如 T 細胞、巨噬細胞、單核球、NK 細胞等。

【0043】 在一些方面，在 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑於給定的時間內沒有被投予 (至個體) 後，該降低仍持續。在一些方面，該時間量是約 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時、7 小時、8 小時、12 小時、16 小時、20 小時、24 小時、36 小時、48 小時、72 小時或 96 小時。在一些方面，在後續投予 T 細胞接合劑之後該降低仍持續。特別地，即使在停止投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑/不再投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑後，該降低仍持續。該血清中含量/細胞激素分泌的降低，特別是與沒有投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的個體 (包括同一個體) 中的血清中含量/細胞激素分泌相比 (即，在這種情況下，與沒有/之前投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的血清中含量/細胞激素分泌相比，血清中含量/細胞激素的分泌降低)。該血清中含量/細胞激素分泌的降低，特別是與投予 (特別是第一次投予) T 細胞接合劑但未投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的個體 (包括同一個體)的血清中含量/細胞激素分泌相比 (即，在這種情況下，與投予 T 細胞接合劑時/之後但未投予/投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑之前的血清中含量/細胞激素分泌相比，血清中含量/細胞激素分泌降低)。在沒有該降低的情況下，血清中含量及/或細胞激素分泌特別地可相對於 (投予) T 細胞接合劑而升高/增加。在一些方面，該減少具有臨床意義和/或統計學意義。在一些方面，該減少為至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 60% 或至少 70%。在一些方面，該減少為至少 30%。在一些方面，該減少為至少 40%。在一些方面，該減少為至少 50%。在一些方面，該減少為至少 60%。在一些方面，該減少為至少 70%。

【0044】在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致抑制與投予 T 細胞接合劑相關的不良反應。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑並不會導致抑制與投予 T 細胞接合劑相關的所需效果。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致抑制與投予 T 細胞接合劑相關的不良反應，但不導抑制致與投予 T 細胞接合劑相關的所需效果。在一些這些方面中，該抑制為完全抑制。在一些此等方面，該抑制具有臨床意義的及/或統計學意義的。

【0045】在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致抑制與投予 T 細胞接合劑相關的不良反應和抑制與投予 T 細胞接合劑相關的所需效果，其中該抑制不良反應強於該抑制所需效果。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致抑制與投予 T 細胞接合劑相關的不良反應及抑制與投予 T 細胞接合劑相關的所需效果，其中該抑制不良反應是完全抑制，且該抑制有益作用是部分抑制。在一些方面，(投予) JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致抑制與投與 T 細胞接合劑相關的不良反應及抑制與投予 T 細胞接合劑相關的所需效果，其中該抑制不良反應是臨床上有意義的及/或統計學上顯著的抑制，且該抑制有益作用不是臨床上有意義的及/或統計學上顯著的抑制。

【0046】「所需效果（desired effect）」是一種在個體治療中由藥物 (在本文中特別是使用 T 細胞接合劑) 產生的有益且所需的效果，即治療或預防效果，諸如例如毒殺腫瘤細胞、降低或延緩腫瘤生長、降低腫瘤體積、降低或預防腫瘤轉移、增加無進展或總生存期、緩解疾病症狀等。

【0047】有時也稱為「副作用」或「不良事件」(特別是在臨床研究中) 的「不良反應」是藥物在個體治療 (在本文中特別是使用 T 細胞接合劑) 中導致的有害和不希望的作用。

【0048】根據本發明，不良反應與 T 細胞接合劑的投予有關。在一些方面，不良反應與第一次投予 T 細胞接合劑有關。在一些方面，不良反應發生在第一

次投予 T 細胞接合劑時。在一些方面，不良反應主要或僅在第一次投予 T 細胞接合劑時發生。在一些方面，不良反應發生在投予 T 細胞接合劑，特別是第一次投予的 12 小時、24 小時、36 小時、48 小時、72 小時或 96 小時內。在一些方面，特別是其中僅進行單次投予 T 細胞接合劑時 (在以 T 細胞接合劑治療的過程中)，不良反應發生在投予 T 細胞接合劑的 3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、10 天、14 天或 21 天內。

【0049】 在一些方面，該不良反應是細胞激素釋放症候群 (CRS)。

【0050】 「細胞激素釋放症候群」 (簡稱「CRS」) 涉及在投予治療劑 (例如 T 細胞接合劑) 期間或之後不久後 (例如，在 1 天內)，在受試者的血液中細胞激素含量升高，諸如腫瘤壞死因子 α (TNF-α)、干擾素 γ (IFN-γ)、介白素 6 (IL-6)、介白素 10 (IL-10) 及其他，而導致不良症狀。CRS 是對治療劑的不良反應，且與投予治療劑及時相關。它通常發生在投予治療劑期間或之後不久，即通常在投予（通常是輸注）之後 24 小時內，主要是在第一次投予時。在一些情況下，例如在投予 CAR-T 細胞後，CRS 也可能會在稍後發生，例如在 CAR-T 細胞擴增投予之後數天。發生率和嚴重程度通常隨著後續投予而降低。症狀可能從症狀性不適到致命事件，並且可能包括發燒、寒顫、頭暈、高血壓、低血壓、缺氧、呼吸困難、煩躁、出汗、潮紅、皮疹、心動過速、呼吸急促、頭痛、腫瘤痛、噁心、嘔吐和/或器官衰竭。CRS 可根據 Lee et al., Blood (2014) 124: 188-195 或 Lee et al., Biol Blood Marrow Transplant (2019) 25(4): 625-638 (各藉由引用其整體而併入本文中) 所建立的改良型細胞激素釋放症候群分級系統進行分級。有關 CRS 的評論，請參見例如 Shimabukuro-Vornhagen et al., Journal for ImmunoTherapy of Cancer (2018) 6:56 (藉由引用其整體而併入本文中)。

【0051】 在一些方面，該不良反應是發燒、低血壓和/或缺氧。

【0052】在一些方面，該不良反應是一種或多種細胞激素的血清中含量升高。該升高的血清中含量特別是與健康個體的血清中含量及/或未投予 T 細胞接合劑的個體 (包括同一個體) 中的血清中含量相比 (即與未投予 T 細胞接合劑的血清中含量相比，在這種情況下血清中含量升高)。在一些方面，該一種或多種細胞激素選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組。

【0053】在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是在 (個體中) 不良反應的 (臨床上) 表現時。該投予可以是，例如，在不良反應顯現（即出現副作用的臨床症狀，如發燒）後約 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時、7 小時、8 小時、12 小時、16 小時、20 小時或 24 小時內。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是在對於 (個體中) 不良反應的 (臨床上) 表現的回應 。

【0054】在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是在 T 細胞接合劑的投予之前。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予與 T 細胞接合劑的投予同時進行。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是在 T 細胞接合劑的投予之後。當 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是在 T 細胞接合劑的投予之前或之後，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的此類投予可例如分別在 T 細胞接合劑的投予之前或之後的約 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時、7 小時、8 小時、12 小時、16 小時、20 小時或 24 小時內。JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予可為間歇性或連續性的。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是口服的。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予是腸胃外的，特別是靜脈內的。

【0055】在一些方面，以足以引起抑制 T 細胞接合劑之活性的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，以不足以引起抑制 T 細胞接合劑之

另一種活性的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，以足以引起抑制 T 細胞接合劑之第一活性但不足以引起抑制 T 細胞接合劑之第二活性的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些這些方面中，該抑制為完全抑制。

【0056】 在一些方面，以足以引起抑制免疫細胞 (特別是 T 細胞) 分泌細胞激素 (經由 T 細胞接合劑誘導) 的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，該細胞激素為選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組中的一種或多種細胞激素。免疫細胞可包括各種免疫細胞類型，諸如 T 細胞、巨噬細胞、單核球、NK 細胞等。在一些方面，該 T 細胞是 CD8+T 細胞或 CD4+ 細胞。在一些方面，該抑制為完全抑制。

【0057】 在一些方面，以足以引起抑制 T 細胞活化 (經由 T 細胞接合劑誘導) 的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，該抑制為完全抑制。

【0058】 在一些方面，以足以引起抑制 T 細胞之細胞毒殺活性 (經由 T 細胞接合劑誘導) 的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，該抑制為完全抑制。

【0059】 在一些方面，以足以引起抑制 T 細胞分泌細胞激素 (經由 T 細胞接合劑誘導) 但不足以引起抑制 T 細胞之活化及/或細胞毒殺活性 (由 T 細胞接合劑誘導) 的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些這些方面中，該抑制為完全抑制。

【0060】 在一些方面，以足以引起降低個體中一腫或多種細胞激素之血清中含量的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，以足以引起降低個體中免疫細胞 (特別是 T 細胞) 分泌一種或多種細胞激素的劑量投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，該一種或多種細胞激素選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組。免疫細胞可包括各種免疫細胞類型，諸如 T 細胞、巨噬細胞、單核球、NK 細胞等。

【0061】在一些方面，以足以引起抑制與投予T細胞接合劑相關之不良反應的劑量投予JAK及/或mTOR傳訊抑制劑。在一些方面，以不足以引起抑制與投予T細胞接合劑相關之所需效果的劑量投予JAK及/或mTOR傳訊抑制劑。在一些方面，以足以引起抑制與投予T細胞接合劑相關之不良反應但不足以引起抑制與投予T細胞接合劑相關之所需效果的劑量投予JAK及/或mTOR傳訊抑制劑。在一些這些方面中，該抑制為完全抑制。在一些此等方面，該抑制具有臨床意義的及/或統計學意義的。

【0062】在一些方面，以有效劑量投予JAK及/或mTOR傳訊抑制劑。

【0063】例如JAK及/或mTOR傳訊抑制劑或T細胞接合劑的藥劑的「有效量」或「有效劑量」涉及在必要的劑量和時間段內有效的量，以達到所需的治療或預防結果。

【0064】在一些方面，以等於JAK及/或mTOR傳訊抑制劑可用之劑量強度的劑量投予JAK及/或mTOR傳訊抑制劑。通常，對於給定的JAK及/或mTOR傳訊抑制劑，可使用多種劑量強度(即，具有特定量之活性成分的劑型，諸如錠劑或膠囊)。以此類(商業上)可用的劑量強度給藥JAK及/或mTOR傳訊抑制劑將是最方便的。例如，若JAK及/或mTOR傳訊抑制劑是依維莫司，則可較佳地投予2.5 mg、5 mg、7.5 mg或10 mg的劑量(投予較佳為口服投予)。例如，若JAK及/或mTOR傳訊抑制劑為西羅莫司，則可較佳地投予0.5 mg、1 mg或2 mg的劑量(投予較佳為口服投予)。例如，若JAK及/或mTOR傳訊抑制劑為魯索替尼，則可較佳地投予5 mg、10 mg、15 mg、20 mg或25 mg的劑量(投予較佳為口服投予)。若JAK及/或mTOR傳訊抑制劑為是替西羅莫司，則可投予例如12.5 mg或25 mg的劑量(投予較佳為靜脈內投予，特別是使用25 mg/ml活性成分的溶液)。

【0065】在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為每天投予。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為每天投予一次。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑是以如上所述的劑量每天投予一次。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑是在不良反應持續期間的時間段內投予 (即，是從出現不良反應開始投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑直到不良反應減少或消失)。在一些方面，在防止或減緩不良反應後停止投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。在一些方面，在不良反應減輕或消失後停止投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。該減輕特別是具有臨床意義及/或統計學意義。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑在以 T 細胞接合劑治療個體的過程中投予一次、兩次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或十次，特別是一次、兩次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次或十次。在一些方面， JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑持續投予 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天或 10 天。在一些方面，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為每日投予一次持續 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天、6 天、7 天、8 天、9 天或 10 天。投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑通常與投予 T 細胞接合劑相關。在一些方面，投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑與第一次投予 T 細胞接合劑相關。該第一次投予特別是在以 T 細胞接合劑治療個體的過程中第一次投予 T 細胞接合劑。在一些方面，投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑與第一次投予 T 細胞接合劑同時進行。在一些方面，投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑早於第一次投予 T 細胞接合劑。在一些方面，投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑是在第一次投予 T 細胞接合劑之後。在一些方面，投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑是在第一次投予 T 細胞接合劑之後並且在第二次投予 T 細胞接合劑之前。當 投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑是在 (第一次) 投予 T 細胞接合劑之前或之後時，JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的這種投予可例如分別在投予

T 細胞接合劑之前或之後的約 1 小時、2 小時、3 小時、4 小時、5 小時、6 小時、7 小時、8 小時、12 小時、16 小時、20 小時、24 小時、48 小時或 72 小時內。

【0066】 在一些方面，投予 T 細胞接合劑比投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑持續更長的時間。在一些方面，在停止投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑後繼續投予 T 細胞接合劑。在一些方面，投予 T 細胞接合劑是單次投予或重複投予。在用 T 細胞雙特異性抗體治療個體的過程中，T 細胞雙特異性抗體可以投予一次或多次。在以 T 細胞接合劑治療個體的過程中，可投予 T 細胞接合劑一次或數次。例如，以 T 細胞接合劑治療個體可包含多個治療週期，每個治療週期包含一次或多次投予 T 細胞接合劑。在一些方面，投予 T 細胞接合劑包含第一次和第二次投予。

【0067】 為了在本發明中使用，T 細胞接合劑將以符合良好醫療實踐的方式予以配製、給藥及投予。在此情況中考量的因素包括待治療的特定疾病、待治療的特定哺乳動物、個別患者的臨床狀況、疾病原因、遞送藥劑的部位、投予方法、投予日程及醫療從業人員已知的其他因素。

【0068】 在一些方面，以有效劑量投予 T 細胞接合劑。對於全身投予，最初可以從諸如細胞培養物測定的體外測定估計有效劑量。然後可以在動物模型中製定劑量，以達到包括細胞培養物中確定的 IC_{50} 在內的循環濃度範圍。此等資訊可用於更準確地確定對人體有用的劑量。也可以使用本技術領域中熟知的技術，根據體內資料 (例如動物模型) 估計初始劑量。可個別調整劑量和間隔以提供足以維持治療效果的 T 細胞接合劑的血漿中含量。透過注射投予的常見患者劑量在約 0.1-50 mg/kg/天的範圍內，典型範圍為 0.5-1 mg/kg/天。可以透過每天投予多種劑量來達到治療有效的血漿含量。血漿中含量可以例如透過 HPLC 來測量。

【0069】 可投予有效量之T細胞接合劑來預防或治療疾病。T細胞接合劑的適當投予途徑和劑量可基於待治療的疾病類型、T細胞接合劑的類型、疾病的嚴重程度和病程、個體的臨床狀況、個體的臨床病史和對治療的反應，以及主治醫生的判斷力來確定。給藥可透過任何合適的途徑進行，例如透過注射，例如靜脈內或皮下注射，部分取決於短暫投予還是長期投予。本文中考慮各種給藥方案，其包括但不限於在多種時間點單次或多次投予、快速注射投予和脈衝輸注。

【0070】 T細胞接合劑和JAK及/或mTOR傳訊抑制劑可藉由任何合適的途徑投予，並且可藉由相同的投予途徑或藉由不同的投予途徑來投予。在一些方面，T細胞接合劑的投予是腸胃外的，特別是靜脈內的。

【0071】 在一些方面，投予T細胞接合劑是對個體的第一次投予T細胞接合劑，特別是在以T細胞接合劑治療個體的過程中第一次投予T細胞接合劑。

【0072】 在一些方面，(投予)T細胞接合劑誘導(即引起或增加)T細胞的活化。在一些方面，(投予)T細胞接合劑誘導T細胞的細胞毒殺活性。在一些方面，(投予)T細胞接合劑誘導T細胞分泌細胞激素。在一些方面，細胞激素是選自由IL-2、IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α及GM-CSF所組成之群組中的一種或多種細胞激素。在一些方面，該T細胞是CD8+ T細胞或CD4+細胞。

【0073】 在一些方面，投予T細胞接合劑導致T細胞活化，特別是細胞毒性T細胞的活化，特別是在癌症部位(例如在實性瘤癌症內)。該活化可包含T細胞增殖、T細胞分化、T細胞分泌細胞激素、T細胞釋放細胞毒性效應分子、T細胞的細胞毒殺活性和T細胞活化標誌物的表現。在一些方面，投予T細胞接合劑導致在癌症部位(例如實性瘤癌症內)的T細胞數量增加，特別是細胞毒性T細胞數量增加。

【0074】 「T細胞接合劑」意指通過T細胞的活性，特別是細胞毒性T細胞的活性，而發揮其作用的免疫治療劑。T細胞的這種活性可包括T細胞的細胞

反應，特別是 CD4+ T 細胞及/或 CD8+ T 細胞的細胞反應，諸如增殖、分化、活化標記的表現、細胞激素分泌、細胞毒性效應分子釋放及/或細胞毒殺活性。如本文所考慮的 T 細胞接合劑通常包含抗原結合部分，該抗原結合部分能使其等能夠與標靶細胞 (諸如腫瘤細胞) 上的標靶細胞抗原結合。此類 T 細胞接合劑通過 T 細胞的活性對其標靶細胞產生影響，諸如標靶細胞的裂解。例示性 T 細胞接合劑包括 T 細胞雙特異性抗體、表現嵌合抗原受體 (CAR) 的 T 細胞 (CAR-T 細胞) 和基於 T 細胞受體 (TCR) 的方法，諸如 ImmTAC (「抗癌免疫驅動單株 T 細胞受體」；工程化 TCR 和抗體片段的雙特異性融合蛋白，能夠結合 T 細胞和標靶細胞) 或 TCR 修飾 T 細胞 (TCR-T 細胞)，其以具有能夠與標靶細胞上之特定抗原決定位結合的工程化 T 細胞受體為特徵。

【0075】 在本發明的特定方面，T 細胞接合劑為 T 細胞雙特異性抗體。

【0076】 在其他方面，T 細胞接合劑為 CAR-T 細胞。在一些方面，CAR-T 細胞為通用 CAR-T 細胞。「通用」CAR-T 細胞意指通過承接分子(adaptor molecule) 與標靶細胞抗原結合的 CAR-T 細胞，該承接分子諸如抗體，其與標靶細胞抗原結合。通用 CAR-T 細胞表現包含與承接分子結合的抗原結合部分的 CAR，且承接分子與標靶細胞抗原結合。通過不同的承接分子 (結合不同的標靶細胞抗原)，通用的 CAR-T 細胞可以結合不同的標靶細胞抗原，而無需針對每個標靶細胞抗原表現不同的 CAR。承接分子是這樣的分子：(i) 可被 CAR 結合，且 (ii) 可結合標靶細胞抗原，舉例而言，例如結合標靶細胞抗原並包含 可被 CAR 結合之 Fc 區的抗體。在一些方面，CAR-T 細胞表現包含抗原結合部分的 CAR，該抗原結合部分結合抗體 Fc 區，特別是 IgG Fc 區，更特別是 IgG_1 Fc 區，且特別是人類 Fc 區。在一些方面，CAR-T 表現包含抗原結合部分的 CAR，該抗原結合部分結合包含胺基酸取代 P329G (Kabat EU 索引編號) 的 IgG Fc 區，特別是人類 IgG_1Fc 區。在特定的此方面，抗原結合部分為 scFv。在其他方面，CAR-T 表現包含抗

原結合部分的 CAR，該抗原結合部分結合野生型 Fc 區，特別是野生型人類 IgG_1 Fc 區。在特定的此方面，抗原結合部分為 CD16 或其 Fc 結合片段 (例如，CD16 的胞外域)。

【0077】 在一些方面，T 細胞接合劑為 ImmTAC。在一些方面，T 細胞接合劑為 TCR-T 細胞。

【0078】 下面描述可用於本發明的 T 細胞雙特異性抗體。

【0079】 「T 細胞雙特異性抗體」是指能夠結合，包括同時結合 T 細胞（通常經由在 T 細胞上表現的抗原決定位，諸如 CD3）和標靶細胞（通常經由在標靶細胞上表現的抗原決定位，諸如 CEA、CD19、CD20 或 HLA-A2/MAGE-A4) 的抗體。

【0080】 在根據本發明的較佳方面，T 細胞雙特異性抗體能夠同時結合 T 細胞上的抗原決定位（即第一抗原，例如 CD3）和標靶細胞上的抗原決定位（即第二抗原，例如 CEA、CD19、CD20 或 HLA-A2/MAGE-A4)。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體能夠藉由同時結合 CD3 及標靶細胞抗原而交聯 T 細胞及標靶細胞。在甚至更佳的方面，此等同時結合導致標靶細胞，特定而言表現腫瘤細胞之標靶細胞抗原 (例如 CEA、CD19、CD20 或 HLA-A2/MAGE-A4) 裂解。在一些方面，此等同時結合導致 T 細胞活化。在一些方面，此等同時結合導致 T 細胞之細胞回應，該細胞回應選自以下項的組：增殖、分化、細胞激素分泌、細胞毒性效應分子釋放、細胞毒殺活性及活化標誌物之表現。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體與 CD3 結合而不同時與標靶細胞抗原結合，不導致 T 細胞活化。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體能夠將 T 細胞之細胞毒殺活性重定向至標靶細胞。在較佳方面，該重定向不依賴於標靶細胞之 MHC 介導的肽抗原呈遞及/或 T 細胞之特異性。

【0081】 術語「雙特異性」意指抗體能夠與至少二個不同的抗原決定位結合。通常，雙特異性抗體包含二個抗原結合位點，各個抗原結合位點對不同抗原決定位具有特異性。在某些方面，雙特異性抗體能夠同時結合兩個抗原決定位，特定而言在兩種不同細胞上表現之兩個抗原決定位。

【0082】 如本文中所使用的術語「抗原決定位 (antigenic determinant)」與「抗原」及「抗原決定基 (epitope)」同義，且係指抗原結合部分結合的多肽大分子上的形成抗原結合部分-抗原複合體之位點 (例如，胺基酸之連續延伸或由非連續胺基酸之不同區域構成的構象構型)。例如，可用之抗原決定位可存在於腫瘤細胞之表面上、受病毒感染之細胞之表面上、其他患病細胞之表面上、免疫細胞的表面上，不存在於血清中，及/或存在於細胞外基質 (ECM) 中。

【0083】 如本文所使用，術語「抗原結合部分」，係指結合，包括特異性結合抗原決定位之多肽分子。在一些方面，抗原結合部分能夠將其所附接之實體 (例如第二抗原結合部分) 導引至標靶位點，例如導引至載有抗原決定位的特定類型之腫瘤細胞。在另外的方面，抗原結合部分能夠藉由其標靶抗原 (例如 T 細胞受體複合體抗原) 活化傳訊。抗原結合部分包括如本文進一步定義的抗體及其片段。特定抗原結合部分包括抗體之抗原結合域，其包含抗體重鏈可變區及抗體輕鏈可變區。在某些方面，抗原結合部分可包括如本文進一步定義及本技術中已知之抗體恆定區。可用之重鏈恆定區包括五種同型 (isotype) 中之任一者：α、δ、ε、γ 或 μ。可用之輕鏈恆定區包括二種同型中之任一者：κ 及 λ。

【0084】 「特異性結合」意指結合對抗原具有選擇性且可區分出非所欲或非特定之相互作用。本文中的術語「結合」（bind/binding）一般是指「特異性結合」。抗原結合部分結合特異性抗原決定基之能力可藉由酶聯免疫吸附檢定 (ELISA) 或熟習此項技術者熟悉的其他技術，例如表面電漿子共振 (SPR) 技術 (例如於 BIAcore 儀器上分析) (Liljeblad 等人，Glyco J 17，323-329 (2000)) 及傳

統的結合檢定 (Heeley，Endocr Res 28，217-229 (2002)) 來測定。在一些方面，抗原結合部分結合不相關的蛋白質之程度小於抗原結合部分結合抗原的約 10%，例如藉由 SPR。在某些方面，與抗原結合之抗原結合部分或包含該抗原結合部分之抗體具有≤1 μM、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM 或≤0.001 nM（例如 10^{-8} M 或更小，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如，10^{-9} M 至 10^{-13} M）之解離常數 (K_D)。

【0085】「親和力」係指分子 (例如受體) 之單個結合位點與其結合配偶體 (例如配位體) 之間的非共價相互作用總和的強度。除非另有說明，否則如本文中所使用的「結合親和力」，係指反映結合對成員 (例如，抗原結合部分及抗原或受體及其配位體) 之間 1:1 相互作用之內在結合親和力。分子 X 對其搭配物 Y 之親和力通常可以解離常數 (K_D)表示，其係解離速率常數與締合速率常數 (分別為 k_{off} 及 k_{on}) 之比。因此，等效親和力可包括不同速率常數，只要速率常數比保持相同即可。可透過本領域已知的既定方法測量親和力，該方法包括那些本文所述之方法。用於測定親和力之特定方法為表面電漿子共振 (SPR)。

【0086】除非另有說明，否則「CD3」係指源自任何脊椎動物的任何天然 CD3，該脊椎動物包括哺乳動物，諸如靈長類動物 (例如人)、非人靈長類動物 (例如食蟹獼猴) 及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。術語涵蓋「全長」未經加工的 CD3 以及在細胞中加工所產生的任何形式之 CD3。該術語亦涵蓋天然生成之 CD3 變異體，例如，剪接變異體或對偶基因變異體。在一些方面，CD3 是人 CD3，特定而言人 CD3 的 ε 次單元 (CD3ε)。人類 CD3ε 的胺基酸序列顯示於 UniProt (www.uniprot.org) 登錄號 P07766 (版本 144) 或 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_000724.1。亦可參見 SEQ ID NO: 1。食蟹獼猴 [Macaca fascicularis] CD3ε 的胺基酸序列顯示於 NCBI GenBank 號 BAB71849.1。亦可參見 SEQ ID NO: 2。

【0087】 如本文中所使用的「標靶細胞抗原」係指呈現於標靶細胞之表面上之抗原決定位，該標靶細胞例如腫瘤中的細胞，諸如癌細胞或腫瘤基質之細胞(在此情況下為「腫瘤細胞抗原」)。較佳地，標靶細胞抗原不是 CD3，且/或與 CD3 在不同之細胞上表現。在一些方面，標靶細胞抗原為 CEA，特定而言人 CEA。在一些方面，標靶細胞抗原為 CD20，特定而言人 CD20。在其他方面，標靶細胞抗原為 HLA-A2/MAGE-A4，特定而言人 HLA-A2/MAGE-A4。在一些方面，標靶細胞抗原為 CD19，特定而言人 CD19。

【0088】 如本文所使用，關於抗原結合部分等的術語「第一」、「第二」或「第三」，係用於方便區分每一類型之部分何時存在多於一個。除非明確說明，否則使用此等術語並非旨在賦予雙特異性抗體特定之順序或方向。

【0089】 如本文中所使用的術語「化合價 (valent)」，表示抗體中存在指定數量之抗原結合位點。因此，術語「單價結合抗原 (monovalent binding to an antigen)」表示抗體中存在對抗原具有特異性之一個 (且不超過一個) 抗原結合位點。

【0090】 本文中的術語「抗體」為在最寬廣意義上使用且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體 (例如雙特異性抗體) 及抗體片段，只要其等展示出所需抗原結合活性即可。

【0091】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，係指具有與天然抗體結構實質上類似的結構之抗體。

【0092】 「抗體片段」係指除完整抗體以外的分子，其包含結合完整抗體所結合抗原之完整抗體的一部分。抗體片段之實例包括 (但不限於) Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')$_2$、雙功能抗體、線性抗體、單鏈抗體分子 (例如 scFv) 及單域抗體。關於某些抗體片段的綜述，參見 Hudson 等人，Nat Med 9，129-134 (2003)。關於 scFv 片段的綜述，請參見例如 Pluckthün，The Pharmacology of Monoclonal

Antibodies，第 113 卷，Rosenburg 及 Moore 編，Springer-Verlag，New York，第 269-315 頁 (1994)；亦可參見 WO 93/16185；及美國專利第 5,571,894 號及第 5,587,458 號。關於包含補救受體（salvage receptor）結合抗原決定基殘基且具有增加的*活體內*半衰期之 Fab 及 $F(ab')_2$ 片段的論述，參見美國專利號 5,869,046。雙功能抗體為具有兩個抗原結合位點 (其可係二價或雙特異性的) 之抗體片段。參見例如 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人，Nat Med 9，129-134 (2003)；及 Hollinger 等人，Proc Natl Acad Sci USA 90，6444-6448 (1993)。Hudson 等人，Nat Med 9，129-134 (2003) 中亦描述三功能抗體及四功能抗體。單域抗體為包含抗體重鏈可變域之全部或部分或抗體輕鏈可變域之全部或部分的抗體片段。在某些方面，單域抗體為人單域抗體 (Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如美國專利號 6,248,516 B1)。抗體片段可藉由各種技術製造，包括但不限於如本文所述之完整抗體之蛋白水解消化以及重組宿主細胞 (例如大腸桿菌或噬菌體) 之產生。

【0093】 術語「可變區」或「可變域」涉及參與抗體與抗原結合之抗體重鏈結構域或輕鏈結構域。天然抗體之重鏈及輕鏈（分別為 VH 及 VL）之可變域通常具有類似的結構，且每個域均包含四個保守性骨架區 (FR) 及三個高度可變區 (HVR)。參見例如 Kindt 等人，Kuby Immunology，第 6 版，W.H. Freeman and Co.，第 91 頁 (2007)。單個 VH 或 VL 域可能足以賦予抗原結合特異性。如在本文中結合可變區序列所使用的「Kabat 編號」，係指 Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第 5 版 Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda, MD (1991) 描述的編號系統。

【0094】 如本文中所使用的重鏈及輕鏈之所有恆定區及域之胺基酸位置，係根據描述於 Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD (1991) 的 Kabat 編號系統 (在本文中稱為「根據 Kabat 編號」或「Kabat 編號」) 編號。具

體言之，Kabat 編號系統 (參見 Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda，MD (1991) 的第 647-660 頁) 係用於卡帕及蘭姆達同型之輕鏈恆定域 CL 及 Kabat 及 EU 索引編號系統 (參見第 661-723 頁) 係用於重鏈恆定域 (CH1、鉸鏈、CH2 及 CH3)，在此情況中，其於本文中藉由參考「根據 Kabat EU 索引編號」進一步闡明。

【0095】 如本文所用，術語「高度可變區」或「HVR」係指抗體可變域中序列高變並決定抗原結合特異性的各個區域，例如「互補決定區」(「CDR」)。一般而言，抗體包含六個 CDR；三個在 VH 中 (HCDR1、HCDR2、HCDR3)，且三個在 VL 中 (LCDR1、LCDR2、LCDR3)。在本文中，例示性 CDR 包括：

(a) 高度可變環存在於胺基酸殘基 26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)、及 96-101 (H3) 處 (Chothia 及 Lesk，*J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))；

(b) CDR 存在於胺基酸殘基 24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)、及 95-102 (H3) 處 (Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第 5 版 Public Health Service，National Institutes of Health，Bethesda, MD (1991))；以及

(c) 抗原接觸存在於胺基酸殘基 27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、30-35b (H1)、47-58 (H2)、及 93-101 (H3) 處 (MacCallum 等人 *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996))。

【0096】 除非另有說明，否則 CDR 根據 Kabat 等人在上述文獻中所述之方法來確定。本領域之技術人員將理解，亦可根據在上述文獻 Chothia、在上述文獻 McCallum 中所述之方法或任何其他科學上接受之命名系統來確定 CDR 命名。

【0097】「框架 (framework)」或「FR」係指除高度可變區 (hypervariable region) (HVR) 殘基之外的可變域殘基。可變域之 FR 通常由四個 FR 域組成：FR1、FR2、FR3、及 FR4。因此，HVR 及 FR 序列通常以如下順序出現在 VH (或 VL) 中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0098】抗體或免疫球蛋白之「類別 (class)」係指為其重鏈所具有的恆定域或恆定區之類型。有五大類抗體：IgA、IgD、IgE、IgG、及 IgM，且彼等中的幾種可進一步分為次類 (同型 (isotype))，例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及 IgA_2。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為 α、δ、ε、γ 及 μ。

【0099】「Fab 分子」係指由重鏈 (「Fab 重鏈」)之 VH 及 CH1 域及免疫球蛋白之輕鏈 (「Fab 輕鏈」)之 VL 及 CL 域組成之蛋白質。

【0100】「交換型 (crossover)」Fab 分子 (亦稱為「Crossfab」)意指 Fab 分子，其中，Fab 重鏈及輕鏈之可變域或恆定域被交換 (即彼此替換)，即，交換型 Fab 分子包含由輕鏈可變域 VL 及重鏈恆定域 1 CH1 組成之肽鏈 (VL-CH1，在 N 端至 C 端方向中)、及由重鏈可變域 VH 及輕鏈恆定域 CL 組成之肽鏈 (VH-CL，在 N 端至 C 端方向中)。為清楚起見，在其中 Fab 輕鏈及 Fab 重鏈之可變域被交換之交換型 Fab 分子中，包含重鏈恆定域 1 CH1 之肽鏈在本文中稱為 (交換型) Fab 分子之「重鏈」。相反地，在其中 Fab 輕鏈及 Fab 重鏈之恆定域被交換之交換型 Fab 分子中，包含重鏈可變域 VH 之肽鏈在本文中稱為 (交換型) Fab 分子之「重鏈」。

【0101】與此相反，「習用」Fab 分子意指其自然形式 (即包含由重鏈可變域及恆定域組成之重鏈 (VH-CH1，在 N 端至 C 端方向中) 及由輕鏈可變域及恆定域組成之輕鏈 (VL-CL，在 N 端至 C 端方向中))之 Fab 分子。

【0102】術語「免疫球蛋白分子 (immunoglobulin molecule)」係指具有天然生成之抗體之結構之蛋白質。例如，IgG 類的免疫球蛋白為約 150,000 道耳頓、

由二條輕鏈及二條重鏈經二硫鍵鍵合所構成之異四聚體糖蛋白。從 N 端至 C 端，每條重鏈具有可變域 (VH)，亦稱為重鏈可變域或重鏈可變區，接著係三個恆定域 (CH1、CH2 及 CH3)，亦稱為重鏈恆定區。類似地，從 N 端至 C 端，每條輕鏈具有可變域 (VL)，亦稱為輕鏈可變域或輕鏈可變區，接著為輕鏈恆定 (CL) 域，亦稱為輕鏈恆定區。免疫球蛋白之重鏈可被歸類為五種類型中的一種，稱為 α (IgA)、δ (IgD)、ε (IgE)、γ (IgG) 或 μ (IgM)，其中一些可進一步分為亞型，例如 γ_1 (IgG_1)、γ_2 (IgG_2)、γ_3 (IgG_3)、γ_4 (IgG_4)、α_1 (IgA_1) 及 α_2 (IgA_2)。基於其恆定域之胺基酸序列，免疫球蛋白之輕鏈可被歸類為兩種類型中的一種，稱為卡帕 (κ) 及蘭姆達 (λ)。免疫球蛋白基本上由經由免疫球蛋白鉸鏈區連接的二個 Fab 分子及一個 Fc 域組成。

【0103】 本文中的術語「Fc 域」或「Fc 區域」，用於定義包含至少一部分恆定區的免疫球蛋白重鏈的 C 端區域。該術語包括天然序列 Fc 區域和變異體 Fc 區域。儘管 IgG 重鏈之 Fc 區域之邊界可能略有變化，但通常將人 IgG 重鏈之 Fc 區域定義為從 Cys226 或 Pro230 延伸至該重鏈之羧基端。但是，由宿主細胞產生的抗體可能經歷重鏈 C 端的一種或多種，特定而言一種或兩種胺基酸之轉譯後切割。因此，由宿主細胞藉由表現編碼全長重鏈的特定核酸分子而產生的抗體可包括全長重鏈，或者可包括全長重鏈的切割變異體。重鏈的最後兩個 C 端胺基酸為甘胺酸 (G446) 及離胺酸 (K447，根據 Kabat EU 索引編號)。因此，可以存在或可以不存在 Fc 區域之 C 端離胺酸 (Lys447) 或 C 端甘胺酸 (Gly446) 及離胺酸 (K447)。除非本文另有說明，否則 Fc 區域或恆定區中胺基酸殘基之編號根據 EU 編號系統 (也稱為 EU 索引) 進行，如 Kabat 等人所述 (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991) (另見上文)。如本文中所使用的 Fc 域之「次單元」，係指形

成二聚體 Fc 域之兩個多肽之一，即包含能夠穩定自締合之免疫球蛋白重鏈之 C 端恆定區之多肽。例如，IgG Fc 域之次單元包含 IgG CH2 及 IgG CH3 恆定域。

【0104】「促進 Fc 域之第一次單元及第二次單元之締合之修飾」係對肽主鏈的操作或對 Fc 域次單元之轉譯後修飾，其減少或阻止包含 Fc 域次單元之多肽與相同多肽之締合形成同源二聚體。本文所用之促進締合之修飾，特別包括對期望締合之兩個 Fc 域次單元 (即 Fc 域之第一次單元及第二次單元) 中的每一個所進行之單獨修飾，其中，該修飾彼此互補，以便促進兩個 Fc 域次單元之締合。例如，促進締合之修飾可改變一個或兩個 Fc 域次單元之結構或電荷，以分別使其在空間或靜電上有利。因此，(雜)二聚化發生在包含第一 Fc 域次單元之多肽與包含第二 Fc 域次單元之多肽之間，其就進一步融合到每個次單元 (例如，抗原結合部分) 的組分而言可能有所不同。在一些方面，促進締合之修飾包含 Fc 域中之胺基酸突變，特別是胺基酸取代。在特定方面，促進締合之修飾包含 Fc 域之兩個次單元的每一個中之單獨的胺基酸突變，特別是胺基酸取代。

【0105】術語「效應功能」，係指歸因於抗體的 Fc 區域的那些生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應功能的實例包括：C1q 結合及補體依賴性細胞毒性 (CDC)、Fc 受體結合、抗體依賴性細胞介導之細胞毒性 (ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP)、細胞激素分泌、抗原呈遞細胞攝取之免疫複合物介導抗原、細胞表面受體 (例如，B 細胞受體) 降調及 B 細胞活化。

【0106】相對於參考多肽序列所述之「百分比 (%) 胺基酸序列同一性」，是指候選序列中胺基酸殘基與參考多肽序列中之胺基酸殘基相同之百分比，在比對序列並引入差異後 (如有必要)，可實現最大的序列同一性百分比，並且不考慮將任何保守取代作為序列同一性之一部分。為確定胺基酸百分比序列同一性之目的而進行的比對可透過本領域中技術範圍內之各種方式實現，例如，使用公開可用的電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、Clustal W、Megalign (DNASTAR)

軟體或 FASTA 程式包。本領域之技術人員可確定用於比對序列之合適參數，包括在所比較之序列全長上實現最大比對所需之任何演算法。但是，出於本文之目的，使用 FASTA 封裝 36.3.8c 版或更高版本的 ggsearch 程式及 BLOSUM50 比較矩陣來生成 % 胺基酸序列同一性值。FASTA 程式包由以下作者開發：W. R. W. R. Pearson and D. J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", PNAS 85:2444-2448；W. R. Pearson (1996) "Effective protein sequence comparison" Meth. Enzymol. 266:227- 258；及 Pearson et. al.(1997) (Genomics 46:24-36)，並可從以下網址公開存取：http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml。可替代地，可使用透過 http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/index.cgi 存取的公用伺服器，使用 ggsearch (global protein:protein) 程式和預設選項 (BLOSUM50; open: -10; ext: -2; Ktup = 2) 比較序列，以確保執行全局而不是局部比對。胺基酸同一性百分比提供於輸出比對標題中。

【0107】「活化 Fc 受體」為在抗體之 Fc 域參與之後引起刺激受體攜帶細胞執行效應功能的傳訊事件的 Fc 受體。人活化 Fc 受體包括 FcγRIIIa (CD16a)、FcγRI (CD64)、FcγRIIa (CD32) 和 FcαRI (CD89)。

【0108】「減少結合」，例如減少結合 Fc 受體，係指 (例如) 藉由 SPR 測得各自相互作用之親和力降低。為清楚起見，該術語亦包括將親和力降低至零 (或低於分析方法的檢測限度)，即相互作用完全廢除。相反，「增加結合」係指各自相互作用之結合親和性增加。

【0109】「融合」意指組分 (例如 Fab 分子及 Fc 域次單元) 經肽鍵直接或經由一或多個肽連接子連接。

【0110】 在特定方面，T 細胞雙特異性抗體結合 CD3 和標靶細胞抗原。因此，在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD3 的抗原結合部分和結合標靶細胞抗原的抗原結合部分。

【0111】 在一些方面，第一抗原結合部分和/或第二抗原結合部分為 Fab 分子。在一些方面，第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中 Fab 輕鏈和 Fab 重鏈的可變區或恆定區被交換。在此類方面，第二抗原結合部分較佳是習用 Fab 分子。

【0112】 在一些方面，其中 T 細胞雙特異性抗體之第一抗原結合部分及第二抗原結合部分兩者均為 Fab 分子，並且在抗原結合部分之一 (特別是第一抗原結合部分) 中，Fab 輕鏈及 Fab 重鏈之可變域 VL 和 VH 彼此取代，

i) 在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被帶正電荷之胺基酸 (根據 Kabat 編號) 取代，且其中，在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被帶負電荷之胺基酸 (根據 Kabat EU 索引編號) 取代；或

ii) 在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被帶正電荷之胺基酸 (根據 Kabat 編號) 取代，且其中，在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被帶負電荷之胺基酸 (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【0113】 T 細胞雙特異性抗體不包含 i) 及 ii) 兩者下所提及的修飾。具有 VH/VL 交換之抗原結合部分之恆定域 CL 和 CH1 未彼此取代 (即保留未交換狀態)。

【0114】 在更具體的方面，

i) 在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第一抗原結合

部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 獨立取代；或

ii) 在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 獨立取代。

【0115】 在一些方面，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 獨立取代。

【0116】 在另一方面，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 獨立取代。

【0117】 在較佳方面，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，且位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 獨立取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 獨立取代。

【0118】 在一些方面，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147

的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【0119】 在一些方面，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 的胺基酸被精胺酸 (R) (根據 Kabat 編號) 取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【0120】 在特定的方面，如果根據上述方面之胺基酸取代發生在第二抗原結合部分之恆定域 CL 及恆定域 CH1 中，則第二抗原結合部分之恆定域 CL 為 κ 同型。

【0121】 在一些方面，第一抗原結合部分與第二抗原結合部分彼此融合，視情況經由肽連接子彼此融合。

【0122】 在一些方面，第一抗原結合部分和第二抗原結合部分各自為 Fab 分子，且 (i) 第二抗原結合部分在 Fab 重鏈的 C 端與第一抗原結合部分的 Fab 重鏈的 N 端融合，或 (ii) 第一抗原結合部分在 Fab 重鏈的 C 端與第二抗原結合部分的 Fab 重鏈的 N 端融合。

【0123】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體提供與 CD3 之單價結合。

【0124】 在特定方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD3 的單一抗原結合部分和結合標靶細胞抗原的兩個抗原結合部分。因此，在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合標靶抗原的第三抗原結合部分，特別是 Fab 分子，更特別是習用 Fab 分子。第三抗原結合部分可以單獨或組合地併入本文描述的與第二抗原結合部分相關的所有特徵（例如 CDR 序列、可變區序列和/或恆定區中的胺基酸取代）。在一些方面，第三抗原部分與第一抗原結合部分相同（例如也是習用 Fab 分子並包含相同的胺基酸序列）。

【0125】在特定的方面，T 細胞雙特異性抗體另外包含 Fc 域，該 Fc 域由第一次單元及第二次單元構成。在一些方面，Fc 域為 IgG Fc 域。在特定的方面，Fc 域為 IgG_1 Fc 域。在其他方面，Fc 域為 IgG_4 Fc 域。在更具體的方面，Fc 域為 IgG_4 Fc 域，其包含在位置 S228 (根據 Kabat EU 索引編號) 的胺基酸取代，特定而言胺基酸取代 S228P。該胺基酸取代減少體內 IgG_4 抗體之 Fab 臂交換 (參見 Stubenrauch 等人，Drug Metabolism and Disposition 38，84-91 (2010))。在進一步特定方面，Fc 域為人 Fc 域。在特定較佳的方面，Fc 域為人 IgG_1 Fc 域。人 IgG_1 Fc 區域的一個示例性序列在 SEQ ID NO: 3 中給出。

【0126】在一些方面，其中該第一抗原結合部分、該第二抗原結合部分和 (在存在時之) 第三抗原結合部分各自為 Fab 分子，(a) 該第二抗原結合部分在該 Fab 重鏈的 C 端與該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端融合，且該第一抗原結合部分在該 Fab 重鏈的 C 端與該 Fc 域的該第一次單元的 N 端融合，亦或是 (ii) 該第一抗原結合部分在該 Fab 重鏈的 C 端與該第二抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端融合，且該第二抗原結合部分在該 Fab 重鏈的 C 端與該 Fc 域的該第一次單元的 N 端融合；且 (b) 該第三抗原結合部分 (在存在時之) 在該 Fab 重鏈的 C 端與該 Fc 域的該第二次單元的 N 端融合。

【0127】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體基本上由第一、第二和第三抗原結合部分（特別是 Fab 分子）、由第一和第二次單元組成的 Fc 域以及視情況一個或多個肽連接子組成。

【0128】T 細胞雙特異性抗體的成分可直接彼此融合或較佳地經由一個或多個合適的肽連接子融合。在 Fab 分子與 Fc 域的次單元之 N 端融合的情況下，其通常透過免疫球蛋白鉸鏈區融合。

【0129】抗原結合部分可與 Fc 域直接融合或彼此融合，或者透過肽連接子與 Fc 融合或彼此融合，該肽連接子包含一個或多個胺基酸，通常約 2-20 個胺

基酸。肽連接子為本領域中所公知的並且如本文所述。合適的非免疫肽連接子包括例如 $(G_4S)_n$、$(SG_4)_n$、$(G_4S)_n$、$G_4(SG_4)_n$ 或 $(G_4S)_nG_5$ 肽連接子。「N」通常為 1 至 10 的整數，特別為 2 至 4。在一些方面，該肽連接子的長度為至少 5 個胺基酸；在一些方面，長度為 5 至 100 個胺基酸；在另外的方面，長度為 10 至 50 個胺基酸。在一些方面，該肽連接子為 $(GxS)_n$ 或 $(GxS)_nG_m$，其中 G = 甘胺酸，S = 絲胺酸，且 (x=3，n=3、4、5 或 6，且 m=0、1、2 或 3) 或 (x=4，n=1、2、3、4 或 5，且 m=0、1、2、3、4 或 5)；在一些方面，x=4 且 n=2 或 3；在另外的方面，x=4 且 n=2；在又另外的方面，x=4，n=1，且 m=5。在一些方面，該肽連接子為 $(G_4S)_2$。在其他方面，該肽連接子為 G_4SG_5。另外，連接子可包含免疫球蛋白鉸鏈區 (的一部分)。特定而言，在其中 Fab 分子與 Fc 域次單元之 N 端融合的情況下，可透過包含附加的肽連接子或不含附加的肽連接子的免疫球蛋白鉸鏈區或其一部分融合。

【0130】 在特定的方面，Fc 域包含促進 Fc 域之第一次單元與第二次單元之締合的修飾。人 IgG Fc 域之兩個次單元之間最廣泛的蛋白質-蛋白質相互作用位點在 CH3 域中。因此，在一些方面，該修飾在 Fc 域之 CH3 域中進行。

【0131】 在具體的方面，該促進 Fc 域之第一次單元及第二次單元之締合之修飾為所謂的「杵臼 (knob-into-hole)」修飾，其包括在 Fc 域之兩個次單元中的一個的「杵」修飾及 Fc 域之兩個次單元中的另一個的「臼」修飾。「杵臼」技術描述於例如：US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway 等人，Prot Eng 9，617-621 (1996)；及 Carter，J Immunol Meth 248，7-15 (2001)。通常，該方法包括在第一多肽之界面處引入一個突起 (「杵」)，並且在第二多肽之界面中引入一個對應的空腔 (「臼」)，以使該突起可定位於空腔中，從而促進異源二聚體形成並阻礙同源二聚體形成。透過用較大側鏈 (例如酪胺酸或色胺酸) 替換第一多肽界面上之較小的胺基酸側鏈來構建突起。透過將較大胺基酸側鏈替換為較小的胺基

酸側鏈 (例如丙胺酸或蘇胺酸)，在第二多肽之界面中形成與突起具有相同或相近大小的互補空腔。

【0132】 因此，在一些方面，該 Fc 域的該第一次單元的該 CH3 域中的胺基酸殘基被具有較大側鏈體積的胺基酸殘基取代，從而在該第一次單元的該 CH3 域內產生突起，該突起為可位在該第二次單元的 CH3 域內的空腔中，並且該 Fc 域的該第二次單元的該 CH3 域中的胺基酸殘基被具有較小側鏈體積的胺基酸殘基取代，從而在該第二次單元的該 CH3 域內產生空腔，該第一次單元的該 CH3 域內的該突起為可位在該空腔內。較佳地，該具有較大側鏈體積的胺基酸殘基選自精胺酸 (R)、苯丙胺酸 (F)、酪胺酸 (Y) 和色胺酸 (W)。較佳地，該具有較小側鏈體積的胺基酸殘基選自丙胺酸 (A)、絲胺酸 (S)、蘇胺酸 (T) 和纈胺酸 (V)。可透過改變編碼多肽的核酸 (例如透過針對特定位點之誘變或透過肽合成) 來製備突起和空腔。

【0133】 在具體的此類方面，在 Fc 域之第一次單元中，於位置 366 處的蘇胺酸殘基被色胺酸殘基 (T366W) 取代，並且在該 Fc 域之第二次單元中，於位置 407 處的酪胺酸殘基被纈胺酸殘基 (Y407V) 取代，並且視情況，於位置 366 處的蘇胺酸殘基被絲胺酸殘基 (T366S) 取代，並且於位置 368 處的白胺酸殘基被丙胺酸殘基 (L368A) 取代 (根據 Kabat EU 索引編號)。在另外的方面，在 Fc 域之第一次單元中，位置 354 的絲胺酸殘基又被半胱胺酸殘基替換 (S354C) 或位置 356 的麩胺酸殘基被半胱胺酸殘基替換 (E356C) (特定而言位置 354 的絲胺酸殘基被半胱胺酸殘基替換)，並且在 Fc 域之第二次單元中，位置 349 的酪胺酸殘基又被半胱胺酸殘基替換 (Y349C) (根據 Kabat EU 索引編號)。在較佳的方面，Fc 域之第一次單元包含胺基酸取代 S354C 和 T366W，並且 Fc 域之第二次單元包含胺基酸取代 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V (根據 Kabat EU 索引編號)。

【0134】在一些方面，Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應功能之一種或多種胺基酸取代。

【0135】在特定的方面，Fc 受體為 Fcγ 受體。在一些方面，Fc 受體為人 Fc 受體。在一些方面，Fc 受體為活化 Fc 受體。在具體的方面，Fc 受體為活化人 Fcγ 受體，更具體而言人 FcγRIIIa、FcγRI 或 FcγRIIa，最具體而言人 FcγRIIIa。在一些方面，效應子功能是選自補體依賴性細胞毒性 (CDC)、抗體依賴性細胞介導的細胞毒性 (ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬作用 (ADCP) 和細胞激素分泌的組中的一種或多種。在特定的方面，效應子功能為 ADCC。

【0136】通常，在 Fc 域之兩個次單元中的每個中都存在相同的一個或多個胺基酸取代。在一些方面，一個或多個胺基酸取代降低了 Fc 域與 Fc 受體的結合親和力。在一些方面，一個或多個胺基酸取代將 Fc 域與 Fc 受體的結合親和力降低至少 2 倍、至少 5 倍或至少 10 倍。

【0137】在一些方面，Fc 域包含在選自 E233、L234、L235、N297、P331 和 P329 (根據 Kabat EU 索引編號) 的組的位置處的胺基酸取代。在更具體的方面，Fc 域包含在選自 L234、L235 和 P329 (根據 Kabat EU 索引編號) 的組的位置處的胺基酸取代。在一些方面，Fc 域包含 L234A 和 L235A (根據 Kabat EU 索引編號) 的胺基酸取代。在一些此類方面，Fc 域為 IgG_1 Fc 域，特定而言人 IgG_1 Fc 域。在一些方面，Fc 域包含在位置 P329 的胺基酸取代。在更具體的方面，胺基酸取代為 P329A 或 P329G，特定而言 P329G (根據 Kabat EU 索引編號)。在一些方面，Fc 域包含在位置 P329 的胺基酸取代，以及在選自 E233、L234、L235、N297 和 P331 (根據 Kabat EU 索引編號) 的位置的另一個胺基酸取代。在更具體的方面，另一個胺基酸取代為 E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D 或 P331S。在特定方面，Fc 域包含在位置 P329、L234 和 L235 (根據 Kabat EU 索引編號) 的胺基酸取代。在更特定的方面，Fc 域包含胺基酸突變 L234A、L235A

和 P329G (「P329G LALA」、「PGLALA」或「LALAPG」)。具體而言，在較佳方面，Fc 域之每個次單元包含胺基酸取代 L234A、L235A 和 P329G (根據 Kabat Eu 索引編號)，即在 Fc 域之第一次單元及第二次單元中的每個中，位置 234 的白胺酸殘基被丙胺酸殘基取代 (L234A)，位置 235 的白胺酸殘基被丙胺酸殘基取代 (L235A)，並且位置 329 的脯胺酸殘基被甘胺酸殘基取代 (P329G) (根據 Kabat EU 索引編號)。在一些此類方面，Fc 域為 IgG_1 Fc 域，特定而言人 IgG_1 Fc 域。

【0138】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體的標靶細胞抗原是癌胚抗原 (CEA)。

【0139】除非另有說明，否則「癌胚抗原」或「CEA」(亦稱為癌胚抗原相關細胞黏著分子 5 (CEACAM5))，係指源自任何脊椎動物的任何天然 CEA，該脊椎動物包括哺乳動物，諸如靈長類動物 (例如人)、非人靈長類動物 (例如食蟹獼猴) 及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋「全長」、未處理之 CEA 以及在細胞處理中得到的任何形式的 CEA。該術語亦涵蓋天然生成之 CEA 變異體，例如，剪接變異體或對偶基因變異體。在一些方面，CEA 為人 CEA。人 CEA 的胺基酸序列顯示於 UniProt (www.uniprot.org) 登錄號 P06731 或 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_004354.2。在一些方面，CEA 是細胞膜結合的 CEA。在一些方面，CEA 是在細胞表面表現的 CEA，例如癌細胞。

【0140】結合 CEA 的用於本發明的有用的 T 細胞雙特異性抗體被描述於例如 PCT 公開號 WO 2014/131712（藉由引用整體併入本文）中。

【0141】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD3 的第一抗原結合部分和結合 CEA 的第二抗原結合部分。

【0142】在一些方面，第一抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可

變區；及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0143】在一些方面，第二抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 12 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 15 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0144】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CEA 且包含：含有 SEQ ID NO: 12 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 15 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0145】在一些方面，第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 10 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 11 之輕鏈可變區序列。

【0146】在一些方面，第二抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、

98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 18 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 19 之輕鏈可變區序列。

【0147】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CEA 和/或由第一和第二次單元組成的 Fc 域的第三抗原結合部分，如本文所述。

【0148】 在較佳的方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 4 的重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 的 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 的 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 7 的輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 的 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 的 LCDR3 的輕鏈可變區，其中第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中 Fab 輕鏈與 Fab 重鏈的可變區或恆定區，特定而言恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CEA 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 12 的重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 的 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 的 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 15 的輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 的 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 的 LCDR3 的輕鏈可變區，其中第二抗原結合部分及第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【0149】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CEA 和 CD3）的第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列至少約

95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 10 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 11 之輕鏈可變區序列。

【0150】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CEA 和 CD3）的第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 18 之重鏈可變區及 SEQ ID NO: 19 之輕鏈可變區。

【0151】 根據上述方面的 Fc 域可以單獨或組合地併入上文關於 Fc 域描述的所有特徵。

【0152】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CEA 和 CD3）的 Fc 域包含促進 Fc 域的第一和第二次單元締合的修飾，和/或 Fc 域包含減少與 Fc 受體和/或效應子功能結合的一個或多個胺基酸取代。

【0153】 在一些方面，抗原結合部分和 Fc 區藉由肽連接子彼此融合，特別是藉由 SEQ ID NO: 21 和 SEQ ID NO: 23 中的肽連接子。

【0154】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CEA 和 CD3）包含：含有與 SEQ ID NO: 20 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 21 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 22 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；以及含有與 SEQ ID NO: 23 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、

98% 或 99% 相同的序列的多肽。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CEA 和 CD3）包含：含有 SEQ ID NO: 20 之序列的多肽（特定而言兩種多肽）；含有 SEQ ID NO: 21 之序列的多肽；含有 SEQ ID NO: 22 之序列的多肽；及含有 SEQ ID NO: 23 之序列的多肽。

【0155】 在較佳的方面，T 細胞雙特異性抗體是 cibisatamab（WHO 藥物資訊（藥物的國際非專利名稱），推薦的 INN：List 80, 2018, vol. 32, no. 3, p. 438）。

【0156】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體的標靶細胞抗原是 CD20。

【0157】 除非另有說明，否則「CD20」，亦稱為「B 淋巴細胞抗原 B1」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然 CD20，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物 (例如人)、非人靈長類動物 (例如食蟹獼猴) 及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。術語涵蓋「全長」未經加工的 CD20 以及在細胞中加工所產生的任何形式之 CD20。該術語亦涵蓋天然生成之 CD20 變異體，例如，剪接變異體或對偶基因變異體。在一些方面，CD20 為人 CD20。人 CD20 描述於 UniProt (www.uniprot.org) 登錄號 P11836 (輸入版本 200) 中，且人 CD20 之胺基酸序列亦示於 SEQ ID NO: 36 中。

【0158】 用於本發明與 CD20 結合的有用的 T 細胞雙特異性抗體被描述於例如 PCT 公開號 WO 2016/020309（藉由引用整體併入本文）中。

【0159】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD3 的第一抗原結合部分和結合 CD20 的第二抗原結合部分。

【0160】 在一些方面，第一抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0161】在一些方面，第二抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0162】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CD20 且包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0163】在一些方面，第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 10 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 11 之輕鏈可變區序列。

【0164】在一些方面，第二抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 30 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 31 之輕鏈可變區序列。

【0165】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD20 和/或由第一和第二次單元組成的 Fc 域的第三抗原結合部分，如本文所述。

【0166】在較佳的方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中 Fab 輕鏈與 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區，特定而言可變區係經交換的；

(ii) 結合至 CD20 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【0167】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD20 和 CD3）的第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及（在存在時之）第三抗原結合部分是習用 Fab 分子，其中在該恆定域 CL 中，位置 124 的

胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H)（根據 Kabat 編號）取代，且位置 123 的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H)（根據 Kabat 編號）取代，且在該恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸是獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)（根據 Kabat EU 索引編號）取代，且位置 213 的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)（根據 Kabat EU 索引編號）取代。

【0168】特定而言，在上述方面，在 (ii) 下之第二 Fab 分子及第三 Fab 分子的恆定域 CL 中，處於位置 124 處胺基酸可被離胺酸 (K) 取代（根據 Kabat 編號），且處於位置 123 之胺基酸可被離胺酸 (K) 或精胺酸 (R)（特定而言被精胺酸 (R)）取代（根據 Kabat 編號），並且在 (ii) 下之第二 Fab 分子及第三 Fab 分子的恆定域 CH1 中，處於位置 147 之胺基酸可被麩胺酸 (E) 取代（根據 Kabat EU 索引編號），且處於位置 213 處之胺基酸可被麩胺酸 (E) 取代（根據 Kabat EU 索引編號）。

【0169】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD20 和 CD3）的第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 10 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 11 之輕鏈可變區序列。

【0170】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD20 和 CD3）的第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分和（在存在時

之）第三抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 30 之重鏈可變區及 SEQ ID NO: 31 之輕鏈可變區。

【0171】 根據上述方面的 Fc 域可以單獨或組合地併入上文關於 Fc 域描述的所有特徵。

【0172】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD20 和 CD3）的 Fc 域包含促進 Fc 域的第一和第二次單元締合的修飾，和/或 Fc 域包含減少與 Fc 受體和/或效應子功能結合的一個或多個胺基酸取代。

【0173】 在一些方面，抗原結合部分和 Fc 區藉由肽連接子彼此融合，特別是藉由 SEQ ID NO: 33 和 SEQ ID NO: 35 中的肽連接子。

【0174】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD20 和 CD3）包含：含有與 SEQ ID NO: 32 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 33 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 34 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；以及含有與 SEQ ID NO: 35 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD20 和 CD3）包含：含有 SEQ ID NO: 32 之序列的多肽（特定而言兩種多肽）；含有 SEQ ID NO: 33 之序列的多肽；含有 SEQ ID NO: 34 之序列的多肽；及含有 SEQ ID NO: 35 之序列的多肽。

【0175】 在較佳的方面，T 細胞雙特異性抗體是格菲妥單抗（WHO 藥物資訊（藥物的國際非專利名稱），推薦的 INN：List 83, 2020, vol. 34, no. 1, p. 39）。

【0176】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體的標靶細胞抗原是 HLA-A2/MAGE-A4。

【0177】「MAGE-A4」代表「與黑色素瘤相關的抗原4」，其是癌症睪丸抗原 (CTA) 之 MAGE 家族的成員。MAGE-A 家族蛋白涵蓋 12 个高度同源基因，其叢集在 Xq26-28 处且特征是存在保守域 (MAGE 同源域 (MHD))。人 MAGE-A4 描述於 UniProt (www.uniprot.org) 登錄號 P43358 (輸入版本 163) 中，且人 MAGE-A4 之胺基酸序列亦示於本文的 SEQ ID NO: 57 中。除非另有說明，否則本文中所用之「MAGE-A4」係指源自任何脊椎動物的任何天然 MAGE-A4，該脊椎動物包括哺乳動物，諸如靈長類動物 (例如人)、非人靈長類動物 (例如食蟹獼猴) 及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。術語涵蓋「全長」未經加工的 MAGE-A4 以及在細胞中加工所產生的任何形式之 MAGE-A4。該術語亦涵蓋天然生成之 MAGE-A4 變異體，例如，剪接變異體或對偶基因變異體。在一個方面，MAGE-A4 是人 MAGE-A4，特定而言 SEQ ID NO: 57 之蛋白質。

【0178】「MAGE-A4 $_{p230-239}$」或「p230-239 肽」意指具有胺基酸序列 GVYDGREHTV (SEQ ID NO: 58；SEQ ID NO: 57 之 MAGE-A4 蛋白質的位置 230-239) 之 MAGE-A4 衍生肽。

【0179】「HLA-A2」、「HLA-A*02」、「HLA-A02」或「HLA-A*2」(可互換使用) 係指 HLA-A 血清型組中之人白血球抗原血清型。HLA-A2 蛋白質 (由相應的 HLA 基因編碼) 構成相應的 I 類 MHC (主要組織相容性複合物) 蛋白質之 α 鏈，其進一步包含 β2 微球蛋白次單元。特異性 HLA-A2 蛋白質是 HLA-A201 (亦稱為 HLA-A0201、HLA-A02.01 或 HLA-A*02:01)。在特定方面，本文所述的 HLA-A2 蛋白質是 HLA-A201。人 HLA-A2 之例示性序列於 SEQ ID NO: 59 中給出。

【0180】「HLA-A2/MAGE-A4」係指 HLA-A2 分子與 MAGE-A4 衍生肽 (在本文中亦稱為「MAGE-A4 肽」)，具體而言 p230-239 肽 (「HLA-A2/MAGE-A4 $_{p230-239}$」) 的複合物。

【0181】用於本發明的與 HLA-A2/MAGE-A4 結合的有用的 T 細胞雙特異性抗體被描述於例如 PCT 申請號 PCT/EP2020/086614（藉由引用整體併入本文）中。

【0182】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD3 的第一抗原結合部分，和結合 HLA-A2/MAGE-A4，特別是 HLA-A2/MAGE-A4$_{p230-239}$ 的第二抗原結合部分。

【0183】在一些方面，第一抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 37 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 40 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0184】在一些方面，第二抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0185】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 37 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 40 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 HLA-A2/MAGE-A4 且包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0186】 在一些方面，第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 43 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 44 之輕鏈可變區序列。

【0187】 在一些方面，第二抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 51 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 52 之輕鏈可變區序列。

【0188】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 HLA-A2/MAGE-A4 和/或由第一和第二次單元組成的 Fc 域的第三抗原結合部分，如本文所述。

【0189】 在較佳的方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 37 的重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 的 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 的 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 40 的輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 的 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 的 LCDR3 的輕鏈可變區，其中第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中 Fab 輕鏈與 Fab 重鏈的可變區或恆定區，特定而言可變區係經交換的；

(ii) 結合至 HLA-A2/MAGE-A4 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之

LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【0190】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 HLA-A2/MAGE-A4 和 CD3）的第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及（在存在時之）第三抗原結合部分是習用 Fab 分子，其中在該恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H)（根據 Kabat 編號）取代，且位置 123 的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H)（根據 Kabat 編號）取代，且在該恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸是獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)（根據 Kabat EU 索引編號）取代，且位置 213 的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)（根據 Kabat EU 索引編號）取代。

【0191】特定而言，在上述方面，在 (ii) 下之第二 Fab 分子及第三 Fab 分子的恆定域 CL 中，處於位置 124 處胺基酸可被離胺酸 (K) 取代（根據 Kabat 編號），且處於位置 123 之胺基酸可被離胺酸 (K) 或精胺酸 (R)（特定而言被精胺酸 (R)）取代（根據 Kabat 編號），並且在 (ii) 下之第二 Fab 分子及第三 Fab 分子的恆定域 CH1 中，處於位置 147 之胺基酸可被麩胺酸 (E) 取代（根據 Kabat EU 索引編號），且處於位置 213 處之胺基酸可被麩胺酸 (E) 取代（根據 Kabat EU 索引編號）。

【0192】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 HLA-A2/MAGE-A4 和 CD3）的第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 43 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 44 之輕鏈可變區序列。

【0193】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 HLA-A2/MAGE-A4 和 CD3）的第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 51 之重鏈可變區及 SEQ ID NO: 52 之輕鏈可變區。

【0194】根據上述方面的 Fc 域可以單獨或組合地併入上文關於 Fc 域描述的所有特徵。

【0195】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 HLA-A2/MAGE-A4 和 CD3）的 Fc 域包含促進 Fc 域的第一和第二次單元締合的修飾，和/或 Fc 域包含減少與 Fc 受體和/或效應子功能結合的一個或多個胺基酸取代。

【0196】在一些方面，抗原結合部分和 Fc 區藉由肽連接子彼此融合，特別是藉由 SEQ ID NO: 54 和 SEQ ID NO: 56 中的肽連接子。

【0197】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 HLA-A2/MAGE-A4 和 CD3）包含：含有與 SEQ ID NO: 53 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 54 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含

有與 SEQ ID NO: 55 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；以及含有與 SEQ ID NO: 56 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 HLA-A2/MAGE-A4 和 CD3）包含：含有 SEQ ID NO: 53 之序列的多肽（特定而言兩種多肽）；含有 SEQ ID NO: 54 之序列的多肽；含有 SEQ ID NO: 55 之序列的多肽；及含有 SEQ ID NO: 56 之序列的多肽。

【0198】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體的標靶細胞抗原是 CD19。

【0199】 除非另有說明，否則術語「CD19」代表分化簇 19 (亦稱為 B 淋巴細胞抗原 CD19 或 B 淋巴細胞表面抗原 B4)，且係指源自任何脊椎動物的任何天然 CD19，該脊椎動物包括哺乳動物，諸如靈長類動物 (例如人)、非人靈長類動物 (例如食蟹獼猴) 及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。術語涵蓋「全長」未經加工的 CD19 以及在細胞中加工所產生的任何形式之 CD19。該術語亦涵蓋天然生成之 CD19 變異體，例如，剪接變異體或對偶基因變異體。在一些方面，CD19 為人 CD19。另見人蛋白質 UniProt (www.uniprot.org) 登錄號 P15391 (版本 211)，或 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) RefSeq NP_001761.3。人 CD19 之例示性序列於 SEQ ID NO: 60 中給出。

【0200】 結合 CD19 的用於本發明的有用的 T 細胞雙特異性抗體被描述於例如 EP 申請號 20181056.1 和 20180968.8（藉由引用整體併入本文）中。

【0201】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD3 的第一抗原結合部分和結合 CD19 的第二抗原結合部分。

【0202】 在一些方面，第一抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 61 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0203】在其他方面，第一抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 64 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0204】在一些方面，第二抗原結合部分包含：含有 SEQ ID NO: 67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0205】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 61 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 之 HCDR3 的重鏈可變區，或含有 SEQ ID NO: 64 之 HCDR1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CD19 且包含：含有 SEQ ID NO: 67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【0206】在一些方面，第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；或重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些

方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 63 之重鏈可變區序列或 SEQ ID NO: 66 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 11 之輕鏈可變區序列。

【0207】在一些方面，第二抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 73 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 74 之輕鏈可變區序列。

【0208】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體包含結合 CD19 和/或由第一和第二次單元組成的 Fc 域的第三抗原結合部分，如本文所述。

【0209】在較佳的方面，T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 61 的重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 的 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 的 HCDR3 的重鏈可變區，或含有 SEQ ID NO: 64 的 HCDR1、SEQ ID NO: 5 的 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 的 HCDR3 的重鏈可變區；及含有 SEQ ID NO: 7 的輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 的 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 的 LCDR3 的輕鏈可變區，其中第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中 Fab 輕鏈及 Fab 重鏈的可變區或恆定區，特定而言可變區係經交換的；

(ii) 結合至 CD19 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【0210】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）的第一抗原結合部分是互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及（在存在時之）第三抗原結合部分是習用 Fab 分子，其中在該恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H)（根據 Kabat 編號）取代，且位置 123 的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H)（根據 Kabat 編號）取代，且在該恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸是獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)（根據 Kabat EU 索引編號）取代，且位置 213 的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)（根據 Kabat EU 索引編號）取代。

【0211】特定而言，在上述方面，在 (ii) 下之第二 Fab 分子及第三 Fab 分子的恆定域 CL 中，處於位置 124 處胺基酸可被離胺酸 (K) 取代（根據 Kabat 編號），且處於位置 123 之胺基酸可被離胺酸 (K) 或精胺酸 (R)（特定而言被精胺酸 (R)）取代（根據 Kabat 編號），並且在 (ii) 下之第二 Fab 分子及第三 Fab 分子的恆定域 CH1 中，處於位置 147 之胺基酸可被麩胺酸 (E) 取代（根據 Kabat EU 索引編號），且處於位置 213 處之胺基酸可被麩胺酸 (E) 取代（根據 Kabat EU 索引編號）。

【0212】在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）的第一抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；或重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相

同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第一抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 63 之重鏈可變區序列或 SEQ ID NO: 66 之重鏈可變區序列及 SEQ ID NO: 11 之輕鏈可變區序列。

【0213】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）的第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含：重鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同；及輕鏈可變區序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同。在一些方面，第二抗原結合部分和（在存在時之）第三抗原結合部分包含 SEQ ID NO: 73 之重鏈可變區及 SEQ ID NO: 74 之輕鏈可變區。

【0214】 根據上述方面的 Fc 域可以單獨或組合地併入上文關於 Fc 域描述的所有特徵。

【0215】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）的 Fc 域包含促進 Fc 域的第一和第二次單元締合的修飾，和/或 Fc 域包含減少與 Fc 受體和/或效應子功能結合的一個或多個胺基酸取代。

【0216】 在一些方面，抗原結合部分和 Fc 區藉由肽連接子彼此融合，特別是藉由 SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76 和 SEQ ID NO: 77 中的肽連接子。

【0217】 在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）包含：含有與 SEQ ID NO: 78 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 75 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 77 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；以及含有與 SEQ ID NO: 79 的序列至少 80%、85%、90%、95%、

96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）包含：含有 SEQ ID NO: 78 之序列的多肽（特定而言兩種多肽）；含有 SEQ ID NO: 75 之序列的多肽；含有 SEQ ID NO: 77 之序列的多肽；及含有 SEQ ID NO: 79 之序列的多肽。

【0218】 在其他方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）包含：含有與 SEQ ID NO: 78 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 76 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；含有與 SEQ ID NO: 77 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽；以及含有與 SEQ ID NO: 80 的序列至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 相同的序列的多肽。在一些方面，T 細胞雙特異性抗體（結合 CD19 和 CD3）包含：含有 SEQ ID NO: 78 之序列的多肽（特定而言兩種多肽）；含有 SEQ ID NO: 76 之序列的多肽；含有 SEQ ID NO: 77 之序列的多肽；及含有 SEQ ID NO: 80 之序列的多肽。

【0219】 在一些方面，疾病 (待由 T 細胞接合劑治療) 是癌症。

【0220】 如本文中所使用的「治療」(及其語法變異體，諸如「治療過程」或「治療中」)，係指試圖改變受治療個體之疾病自然病程的臨床干預，並且可進行預防或在臨床病理過程中執行。期望之治療效果包括但不限於預防疾病之發生或複發、減輕症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理後果、預防轉移、降低疾病進展之速度、改善或減輕疾病狀態、緩解或改善預後。

【0221】 術語「癌症」涉及哺乳動物中通常以不受調控的細胞生長為特徵的生理狀況。癌症的實例包括但不限於癌、淋巴瘤、胚細胞瘤、肉瘤和白血病。癌症的更多非限制性實例包括血液學癌症（諸如白血病）、膀胱癌、腦癌、頭頸癌、胰臟癌、膽管癌、甲狀腺癌、肺癌、乳癌、卵巢癌、子宮癌、子

宮頸癌、子宮內膜癌、食管癌、大腸癌、大腸直腸癌、直腸癌、胃癌、前列腺癌、皮膚癌、鱗狀細胞癌、肉瘤、骨癌和腎癌。其他細胞增殖性疾患包括但不限於位在以下部位中的腫瘤：腹部、骨骼、乳房、消化系統、肝、胰臟、腹膜、內分泌腺 (腎上腺、副甲狀腺、垂體、睾丸、卵巢、胸腺、甲狀腺)、眼、頭和頸、神經系統 (中樞和周邊)、淋巴系統、骨盆、皮膚、軟組織、脾臟、胸部和泌尿生殖系統。還包括癌前狀況或病變和癌症轉移。

【0222】 在一些方面，癌症為表現 T 細胞接合劑之標靶細胞抗原的癌症 (例如 T 細胞雙特異性抗體)。

【0223】 在一些方面，癌症為表現癌胚抗原 (CEA) 的癌症 (特別是在其中 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體) 的標靶細胞抗原是 CEA 的方面中)。「CEA 陽性癌症」或「表現 CEA 的癌症」是指特徵在於癌細胞上 CEA 表現或過表現的癌症。CEA 的表現可以藉由例如免疫組織化學 (IHC) 或流式細胞分析技術測定來確定。在一些方面，癌症表現 CEA。在一些方面，癌症在至少 20%、較佳至少 50% 或至少 80% 的腫瘤細胞中表現 CEA，如使用 CEA 特異性抗體藉由免疫組織化學 (IHC) 所確定。

【0224】 在一些方面，癌症是大腸癌、肺癌、卵巢癌、胃癌、膀胱癌、胰臟癌、子宮內膜癌、乳癌、腎癌、食道癌、前列腺癌或本文所述的其他癌症。

【0225】 在特定方面，癌症是選自由大腸直腸癌、肺癌、胰臟癌、乳癌和胃癌所組成之群組的癌症。在較佳的方面，癌症為大腸直腸癌 (CRC)。在一些方面，大腸直腸癌為轉移性大腸直腸癌 (mCRC)。在一些方面，大腸直腸癌是微衛星穩定 (MSS) 的大腸直腸癌。在一些方面，大腸直腸癌是微衛星穩定的轉移性大腸直腸癌 (MSS mCRC)。

【0226】在一些方面，癌症是表現 CD20 的癌症 (特別是在其中 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體)的標靶細胞抗原為 CD20 的方面)。「CD20 陽性癌症」或「表現 CD20 的癌症」是指特徵在於癌細胞中 CD20 表現或過表現的癌症。CD20 的表現可以藉由例如定量即時 PCR（測量 CD20 mRNA 含量）、流式細胞分析技術、免疫組織化學（IHC）或西方墨點測定法來確定。在一些方面，癌症表現 CD20。在一些方面，癌症在至少 20%、較佳至少 50% 或至少 80% 的腫瘤細胞中表現 CD20，如使用 CD20 特異性抗體藉由免疫組織化學 (IHC) 確定。

【0227】在一些方面，癌症是 B 細胞癌，特別是 CD20 陽性 B 細胞癌。在一些方面，癌症選自由以下所組成之群組：非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL)、慢性淋巴球性白血病 (CLL)、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤 (DLBCL)、濾泡性淋巴瘤 (FL)、被套細胞淋巴瘤 (MCL)、邊緣區淋巴瘤 (MZL)、多發性骨髓瘤 (MM) 或何杰金氏淋巴瘤 (HL)。在特定方面，癌症選自由以下所組成之群組：非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL)、慢性淋巴球性白血病 (CLL)、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤 (DLBCL)、濾泡性淋巴瘤 (FL)、被套細胞淋巴瘤 (MCL) 及邊緣區淋巴瘤 (MZL)。在更特定的方面，癌症是 NHL，特別是複發/難治性 (r/r) NHL。在一些方面，癌症為 DLBCL。在一些方面，癌症為 FL。在一些方面，癌症為 MCL。在一些方面，癌症為 MZL。

【0228】在一些方面，癌症為表現 MAGE-A4 的癌症 (特別是在其中 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體)的標靶細胞抗原為 HLA-A2/MAGE-A4 的方面)。「MAGE-A4 陽性癌症」或「表現 MAGE-A4 的癌症」是指特徵在於癌細胞中 MAGE-A4 表現或過表現的癌症。

【0229】在一些方面，癌症是選自由肺癌、頭頸癌、膀胱癌、食道癌、皮膚癌、胃癌和卵巢癌所組成之群組的癌症。

【0230】在一些方面，癌症是表現 CD19 的癌症 (特別是在其中 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體)的標靶細胞抗原為 CD19 的方面)。「CD19 陽性癌症」或「表現 CD19 的癌症」是指特徵在於癌細胞中 CD19 表現或過表現的癌症。CD19 的表現可以藉由例如定量即時 PCR（測量 CD19 mRNA 含量）、流式細胞分析技術、免疫組織化學（IHC）或西方墨點測定法來確定。在一些方面，癌症表現 CD19。在一些方面，癌症在至少 20%、較佳至少 50% 或至少 80% 的腫瘤細胞中表現 CD19，如使用 CD19 特異性抗體藉由免疫組織化學 (IHC) 確定。

【0231】在一些方面，癌症是 B 細胞癌，特別是 CD19 陽性 B 細胞癌。在一些方面，癌症是 B 細胞淋巴瘤或 B 細胞白血病。在一些方面，癌症為非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL) 或慢性淋巴球性白血病 (CLL)。

【0232】在一些方面，癌症可由 T 細胞接合劑治療。在一些方面，T 細胞接合劑適用於治療癌症。

【0233】在一些方面，癌症是實性瘤癌症。「實性瘤癌症」是指形成位於患者體內特定位置的離散腫瘤塊（也包括腫瘤轉移）的惡性腫瘤，諸如肉瘤或癌（與例如血癌諸如白血病相反，其通常不形成實性瘤）。實性瘤癌症的非限制性實例包括膀胱癌、腦癌、頭頸癌、胰臟癌、肺癌、乳癌、卵巢癌、子宮癌、子宮頸癌、子宮內膜癌、食管癌、大腸癌、大腸直腸癌、直腸癌、胃癌、前列腺癌、皮膚癌、鱗狀細胞癌、骨癌、肝癌和腎癌。在本發明的背景下考慮的其他實性瘤癌症包括但不限於位在以下部位中的腫瘤：腹部、骨骼、乳房、消化系統、肝、胰臟、腹膜、內分泌腺 (腎上腺、副甲狀腺、垂體、睾丸、卵

巢、胸腺、甲狀腺)、眼、頭和頸、神經系統 (中樞和周邊)、淋巴系統、骨盆、皮膚、軟組織、肌肉、脾臟、胸部和泌尿生殖系統。還包括癌前狀況或病變和癌症轉移。

【0234】在其中 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體) 的標靶細胞抗原是 CD19 的一些方面，該疾病 (待由 T 細胞雙特異性抗體治療) 為自體免疫疾病。在具體的方面，自體免疫疾病為狼瘡，特別而言為全身性紅斑狼瘡 (SLE) 或狼瘡性腎炎 (LN)。

【0235】本文「個體」或「受試者」為哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴養的動物 (例如牛、綿羊、貓、狗和馬)、靈長類動物 (例如人及非人類靈長類動物諸如猴)、兔以及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。在某些方面，個體或受試者為人類。在一些方面，個體患有疾病，特別是可由 T 細胞接合劑治療或待治療的疾病。在一些方面，個體患有癌症，特別是可由 T 細胞接合劑治療或待治療的癌症。特別地，本文中的個體是正在經歷或已經經歷癌症的一種或多種體徵、症狀或其他指標的有資格接受治療的任何單個人類受試者。在一些方面，個體患有癌症或已被診斷患有癌症，特別是上文所述的任何癌症。在一些方面，個體患有局部晚期或轉移性癌症或已被診斷患有局部晚期或轉移性癌症。個體先前可能已經以 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體) 或另一種藥物治療，或者沒有接受過這種治療。在特定方面，患者先前並未以 T 細胞接合劑 (例如 T 細胞雙特異性抗體) 治療。在開始 T 細胞接合劑療法之前，患者可能已經以包含 T 細胞接合劑以外 (例如 T 細胞雙特異性抗體以外) 的一種或多種藥物的療法治療。

【0236】在一些方面，個體的一種或多種細胞激素的血清中含量升高。在一些方面，該升高的血清中含量與對個體投予 T 細胞接合劑有關。該升高的血清中含量特別是與健康個體的血清中含量及/或未投予 T 細胞接合劑的個體

(包括同一個體) 中的血清中含量相比 (即與未投予 T 細胞接合劑的血清中含量相比，在這種情況下血清中含量升高)。在一些方面，該一種或多種細胞激素選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組。

【0237】 根據本發明之任一方面的細胞激素可為選自由介白素 (IL)-6、干擾素 (IFN)-γ、IL-10、腫瘤壞死因子 (TNF)-α、顆粒球-巨噬細胞群落刺激因子 (GM-CSF)、單核球趨化蛋白 (MCP)-1、IL-1β、IL-8、IL-4 和 IL-2 所組成之群組的一種或多種細胞激素。在一些方面，細胞激素為選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組的一種或多種細胞激素。在一些方面，細胞激素是選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α 及 GM-CSF 所組成之群組的一種或多種細胞激素。在一些方面，細胞激素為選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10 及 TNF-α 所組成之群組的一種或多種細胞激素。在一些方面，細胞激素為選自由 IL-6、IFN-γ 及 IL-10 所組成之群組的一種或多種細胞激素。在一些方面，細胞激素為 IL-6。在一些方面，細胞激素為 IFN-γ。在一些方面，細胞激素為 IL-10。在一些方面，細胞激素為 TNF-α。在一些方面，細胞激素為 GM-CSF。在一些方面，細胞激素為 MCP-1。在一些方面，細胞激素為 IL-1β。在一些方面，細胞激素為 IL-8。在一些方面，細胞激素為 IL-4。在一些方面，細胞激素為 IL-2。

【0238】 較佳地，根據本發明之任何方面的 T 細胞為細胞毒性 T 細胞。在一些方面，T 細胞為 $CD4^+$ T 細胞或 $CD8^+$ T 細胞。在一些方面，T 細胞為 $CD8^+$ T 細胞。在一些方面，T 細胞為 $CD4^+$ T 細胞。

【0239】 在一些方面，以 T 細胞接合劑治療或投予 T 細胞接合劑可導致個體中的反應。在一些方面，反應可以是完全反應。在一些方面，反應可以是治療停止後的持續反應。在一些方面，反應可以是治療停止後持續的完全反應。在其他方面，反應可以是部分反應。在一些方面，反應可以是治療停止後

持續的部分反應。在一些方面，與單獨以 T 細胞接合劑治療或投予 T 細胞接合劑 (即沒有 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑) 相比，以 T 細胞接合劑與 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的治療或投予可改善反應。在一些方面，與單獨以 T 細胞接合劑治療 (即沒有 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑) 的對應患者群體相比，T 細胞接合劑與 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的治療或投予可增加患者群體中的反應率。

【0240】 T 細胞接合劑可單獨或與其他藥劑一起使用於療法中。例如，T 細胞接合劑可與至少一種另外的治療劑共同投予。在某些方面，附加治療劑是抗癌劑，例如化療劑、腫瘤細胞增殖抑制劑或腫瘤細胞凋亡活化劑。

【0241】 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑可單獨或與一種或多種其他藥劑一起使用以預防減輕與投予 T 細胞接合劑相關的不良反應，特別是 CRS。JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑可以例如與IL-6R拮抗劑（例如托珠單抗）、類固醇（例如皮質類固醇，諸如甲基培尼皮質醇或地塞米松）或TNF-α拮抗劑（例如依那西普）一起使用。

【0242】 胺基酸序列

	序列	SEQ ID NO
人類 CD3	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVS ISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDH LSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENC MEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPV TRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGL NQRRI	1
食蟹獼猴 CD3	MQSGTRWRVLGLCLLSIGVWGQDGNEEMGSITQTPYQVSI SGTTVILTCSQHLGSEAQWQHNGKNKEDSGDRLFLPEFSE MEQSGYYVCYPRGSNPEDASHHLYLKARVCENCMEMDV MAVATIVIVDICITLGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAG AGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQQDLYSGLNQRRI	2
hIgG1 Fc 區	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR	3

	VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	
CD3 HCDR1	TYAMN	4
CD3 HCDR2	RIRSKYNNYATYYADSVKG	5
CD3 HCDR3	HGNFGNSYVSWFAY	6
CD3 LCDR1	GSSTGAVTTSNYAN	7
CD3 LCDR2	GTNKRAP	8
CD3 LCDR3	ALWYSNLWV	9
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQG TLVTVSS	10
CD3 VL	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQE KPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQ PEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL	11
CEA HCDR1	EFGMN	12
CEA HCDR2	WINTKTGEATYVEEFKG	13
CEA HCDR3	WDFAYYVEAMDY	14
CEA LCDR1	KASAAVGTYVA	15
CEA LCDR2	SASYRKR	16
CEA LCDR3	HQYYTYPLFT	17
CEA VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQ APGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTA YMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTV TVSS	18
CEA VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIK	19
CEA VL-CL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASAAVGTYVAWYQQKP GKAPKLLIYSASYRKRGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED FATYYCHQYYTYPLFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQES VTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLS SPVTKSFNRGEC	20

CEA VH-CH1-Fc (臼，PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	21
CD3 VL-CH1	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC	22
CEA VH-CH1-CD3 VH-CL-Fc (杵，PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTEFGMNWVRQAPGQGLEWMGWINTKTGEATYVEEFKGRVTFTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARWDFAYYVEAMDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	23
CD20 HCDR1	YSWIN	24
CD20 HCDR2	RIFPGDGDTDYNGKFKG	25
CD20 HCDR3	NVFDGYWLVY	26
CD20 LCDR1	RSSKSLLHSNGITYLY	27
CD20 LCDR2	QMSNLVS	28
CD20 LCDR3	AQNLELPYT	29
CD20 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTA	30

	YMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSS	
CD20 VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIK	31
CD20 VL-CL(RK)	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	32
CD20 VH-CH1(EE)–Fc（臼，PGLALA）	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	33
CD3 VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	34
CD20 VH-CH1(EE)-CD3 VL-CH1-Fc (杵，PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWINWVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGYWLVYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	35

人類 CD20	MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMQSGPKPLFRRMSSLVGPT QSFFMRESKTLGAVQIMNGLFHIALGGLLMIPAGIYAPICVT VWYPLWGGIMYIISGSLLAATEKNSRKCLVKGKMIMNSLS LFAAISGMILSIMDILNIKISHFLKMESLNFIRAHTPYINIYNC EPANPSEKNSPSTQYCYSIQSLFLGILSVMLIFAFFQELVIAGI VENEWKRTCSRPKSNIVLLSAEEKKEQTIEIKEEVVGLTETS SQPKNEEDIEIIPIQEEEEEETETNFPEPPQDQESSPIENDSSP	36
CD3 HCDR1	GYTMN	37
CD3 HCDR2	LINPYKGVSTYNQKFKD	38
CD3 HCDR3	SGYYGDSDWYFDV	39
CD3 LCDR1	RASQDIRNYLN	40
CD3 LCDR2	YTSRLES	41
CD3 LCDR3	QQGNTLPWT	42
CD3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQ APGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTL VTVSS	43
CD3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPG KAPKLLIYYTSRLESGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFA TYYCQQGNTLPWTFGQGTKVEIK	44
MAGE-A4 HCDR1	KAMS	45
MAGE-A4 HCDR2	SISPSGGSTYYNDNVLG	46
MAGE-A4 HCDR3	DVGFFDE	47
MAGE-A4 LCDR1	RASQSISSYLA	48
MAGE-A4 LCDR2	DASIRDI	49
MAGE-A4 LCDR3	QQYSSYPYT	50
MAGE-A4 VH	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFKAMSWVRQAP GKGLEWVGSISPSGGSTYYNDNVLGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDVGFFDEWGQGTLVTVSS	51

MAGE-A4 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKPG KAPKLLIYDASIRDIGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYSSYPYTFGQGTKLEIK	52
MAGE-A4 VL-CL(RK)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKPG KAPKLLIYDASIRDIGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQYSSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLK SGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC	53
MAGE-A4 VH-CH1(EE)–Fc（臼，PGLALA）	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFKAMSWVRQAP GKGLEWVGSISPSGGSTYYNDNVLGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDVGFFDEWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL VSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	54
CD3 VH-CL	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSFTGYTMNWVRQ APGKGLEWVALINPYKGVSTYNQKFKDRFTISVDKSKNTA YLQMNSLRAEDTAVYYCARSGYYGDSDWYFDVWGQGTL VTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	55
MAGE-A4 VH-CH1(EE)-CD3 VL-CH1-Fc (杵，PGLALA)	AQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASAYFSFKAMSWVRQAP GKGLEWVGSISPSGGSTYYNDNVLGRFTISRDNSKNTLYLQ MNSLRAEDTAVYYCAKDVGFFDEWGQGTLVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSAS VGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLE SGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCQQGNTLPW TFGQGTKVEIKSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSP	56
人類 MAGE-A4	MSSEQKSQHCKPEEGVEAQEEALGLVGAQAPTTEEQEAAV SSSSPLVPGTLEEVPAAESAGPPQSPQGASALPTTISFTCWR QPNEGSSSQEEEGPSTSPDAESLFREALSNKVDELAHFLLRK YRAKELVTKAEMLERVIKNYKRCFPVIFGKASESLKMIFGI	57

	DVKEVDPASNTYTLVTCLGLSYDGLLGNNQIFPKTGLLIIVL GTIAMEGDSASEEEIWEELGVMGVYDGREHTVYGEPRKLL TQDWVQENYLEYRQVPGSNPARYEFLWGPRALAETSYVK VLEHVVRVNARVRIAYPSLREAALLEEEEGV	
p230-239 肽	GVYDGREHTV	58
HLA-A2	GSHSMRYFFTSVSRPGRGEPRFIAVGYVDDTQFVRFDSDAA SQRMEPRAPWIEQEGPEYWDGETRKVKAHSQTHRVDLGT LRGYYNQSEAGSHTVQRMYGCDVGSDWRFLRGYHQYAY DGKDYIALKEDLRSWTAADMAAQTTKHKWEAAHVAEQL RAYLEGTCVEWLRRYLENGKETLQRTDAPKTHMTHHAVS DHEATLRCWALSFYPAEITLTWQRDGEDQTQDTELVETRP AGDGTFQKWAAVVVPSGQEQRYTCHVQHEGLPKPLTLRW E	59
人類 CD19	MPPPRLLFFLLFLTPMEVRPEEPLVVKVEEGDNAVLQCLKG TSDGPTQQLTWSRESPLKPFLKLSLGLPGLGIHMRPLAIWLF IFNVSQQMGGFYLCQPGPPSEKAWQPGWTVNVEGSGELFR WNVSDLGGLGCGLKNRSSEGPSSPSGKLMSPKLYVWAKD RPEIWEGEPPCLPPRDSLNQSLSQDLTMAPGSTLWLSCGVP PDSVSRGPLSWTHVHPKGPKSLLSLELKDDRPARDMWVM ETGLLLPRATAQDAGKYYCHRGNLTMSFHLEITARPVLWH WLLRTGGWKVSAVTLAYLIFCLCSLVGILHLQRALVLRRK RKRMTDPTRRFFKVTPPPGSGPQNQYGNVLSLPTPTSGLGR AQRWAAGLGGTAPSYGNPSSDVQADGALGSRSPPGVGPEE EEGEGYEEPDSEEDSEFYENDSNLGQDQLSQDGSGYENPED EPLGPEDEDSFSNAESYENEDEELTQPVARTMDFLSPHGSA WDPSREATSLGSQSYEDMRGILYAAPQLRSIRGQPGPNHEE DADSYENMDNPDGPDPAWGGGGRMGTWSTR	60
CD3 HCDR1	SYAMN	61
CD3 HCDR3	HTTFPSSYVSYYGY	62
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHTTFPSSYVSYYGYWGQGT LVTVSS	63
CD3 HCDR1	SYAMN	64
CD3 HCDR3	ASNFPASYVSYFAY	65
CD3 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQA PGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCVRASNFPASYVSYFAYWGQGT LVTVSS	66
CD19 HCDR1	DYIMH	67
CD19 HCDR2	YINPYNDGSKYTEKFQG	68

CD19 HCDR3	GTYYYGPQLFDY	69
CD19 LCDR1	KSSQSLETSTGTTYLN	70
CD19 LCDR2	RVSKRFS	71
CD19 LCDR3	LQLLEDPYT	72
CD19 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSS	73
CD19 VL	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPYTFGQGTKLEIK	74
CD19 VH-CH1(EE) – CD3 VL-CH1 – Fc (杵，PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	75
CD19 VH-CH1(EE) – CD3 VL-CH1 – Fc (杵，PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDGGGGSGGGGGQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	76

CD19 VH-CH1(EE) –Fc (臼，PGLALA)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYIMHWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGSKYTEKFQGRVTMTSDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARGTYYYGPQLFDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDEKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALGAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP	77
CD19 VL-CL(RK)	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLETSTGTTYLNWYLQKPGQSPQLLIYRVSKRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCLQLLEDPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	78
CD3 VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFQFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHTTFPSSYVSYYGYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	79
CD3 VH-CL	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRASNFPASYVSYFAYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	80

【圖式簡單說明】

【0243】

圖 1.測定設置。MKN45 NucLightRed (NLR) 標靶細胞與 10 nM CEA-TCB、mTOR 或 JAK 抑制劑及周邊血液單核細胞 (PBMC) 共同培養，E:T = 50000 PBMC：5000 標靶細胞。使用 Incucyte® 系統 (每 3 小時掃描 1 次，放大 10 倍，相位和紅色 400 ms 採集時間) 跟蹤標靶細胞毒殺動力學。

圖 2.在圖 1 描述的測定中，在濃度範圍為 0 nM 到 1000 nM 之西羅莫司 (A)、依維莫司 (B) 和坦羅莫司 (C) 存在下，以 10 nM CEA-TCB 之 MKN45 NLR 細胞的即時毒殺。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + mTOR 抑制劑對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量毒殺%。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 + SEM。

圖 3.在圖 1 描述的測定中，在 72 小時測量濃度遞增的西羅莫司 (A)、依維莫司 (B) 和替西羅莫司 (C) 對 TCB 介導的標靶細胞毒殺的影響。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + mTOR 抑制劑對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量 72 小時的毒殺%。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 +/- SD。

圖 4.在圖 1 描述的測定中，濃度遞增之依維莫司 (A)、西羅莫司 (B) 和替西羅莫司 (C) 於 72 小時的 PBMC 生存力的影響。合併技術重複，並使用 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell Stain，藉由流式細胞分析技術測量 PBMC 的生存力。1 名代表性供體。

圖 5.在圖 1 的測定中，以 10 nM CEA-TCB 處理後 72 小時，濃度遞增之依維莫司對 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上 CD69 的表現及對 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+T 細胞 (D) 上 CD25 的表現的影響。合併技術重複，並在 72 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。1 名代表性供體。

圖 6.在圖 1 的測定中，以 10 nM CEA-TCB 處理後 72 小時，濃度遞增之西羅莫司對 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上 CD69 的表現及對 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+T 細胞 (D) 上 CD25 的表現的影響。合併技術重複，並在 72 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。1 名代表性供體。

圖 7.在圖 1 的測定中，以 10 nM CEA-TCB 處理後 72 小時，濃度遞增之替西羅莫司對 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上 CD69 的表現及對 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+T 細胞 (D) 上 CD25 的表現的影響。合併技術重複，並在 72 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。1 名代表性供體。

圖 8.在圖 1 的測定中，以 10 nM CEA-TCB 處理後 72 小時所測量的濃度遞增之西羅莫司、依維莫司和替西羅莫司對細胞激素 (IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、IL-6 (D)、GM-CSF (E)、IL-8 (F)、IL-4 (G)、IL-10 (H)、MCP-1 (I)) 釋放的影響。合併來自技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。1 名代表性供體。

圖 9.(A) 在圖 1 的測定中，在 0 nM 至 100 nM 濃度範圍的魯索替尼存在下，藉由 10 nM CEA-TCB 之 MKN45 NLR 細胞的即時毒殺。(B) 在圖 1 的測定中，以 10 nM CEA-TCB 處理後 69 小時所測量的濃度遞增之魯索替尼對標靶細胞毒殺的影響。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + 魯索替尼對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量毒殺%。對於 1 名代表性供體 (A) 的技術重複平均值 + SEM。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 10.在圖 1 的測定中，濃度遞增之魯索替尼對在 69 小時 PBMC 生存力的影響。合併技術重複，並使用 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell Stain，藉由流式細胞分析技術測量 PBMC 的生存力。1 名代表性供體。

圖 11.在圖 1 的測定中，以 10 nM CEA-TCB 處理後於 69 小時，濃度遞增之魯索替尼對 CD8+ T 細胞 (A) 和 CD4+ T 細胞 (B) 上 CD25 的表現及對 CD8+ T 細胞 (C) 和 CD4+ T 細胞 (D) 上 CD69 的表現的影響。合併技術重複，並在 69 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 12.在圖 1 的測定中，濃度遞增之魯索替尼對於在 69 小時以 10 nM CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響 (IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、IL-6 (D)、GM-CSF (E)、IL-8 (F)、IL-4 (G)、IL-10 (H)、MCP-1 (I))。在 69 小時合併來自技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 13.*活體外*毒殺測定設置。將 Cell Trace™ Violet (CTV) 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞與 PBMC [E:T=200’000:20’000]、CD20-TCB，在範圍從 0 nM 到 1000 nM 之劑量遞增的魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司存在下共同培養。

圖 14.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的魯索替尼 (A)、替西羅莫司 (B)、西羅莫司 (C) 和依維莫司 (D) 對 CTV WSU DLCL2 腫瘤細胞毒殺的影響。在 24 小時，合併來自技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 死亡細胞染劑染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 15.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的魯索替尼對於 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞 (D) 上的 CD25 表現以及 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上的 CD69 表現的影響.在 24 小時，合併技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 16.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的替西羅莫司對於 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞 (D) 上的 CD25 表現以及 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上的 CD69 表現的影響.在 24 小時，合併技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 17.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的西羅莫司對於 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞 (D) 上的 CD25 表現以及 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上的 CD69 表現的影響.在 24 小時，合併技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 18.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的依維莫司對於 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞 (D) 上的 CD25 表現以及 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上的 CD69 表現的影響。在 24 小時，合併技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 19.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的魯索替尼對於 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D) 和 IL-6 (E) 釋放的影響。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 20.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的替西羅莫司對於 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D) 和 IL-6 (E) 釋放的影響。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 21.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的西羅莫司對於 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D) 和 IL-6 (E) 釋放的影響。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 22.在圖 13 對於 1 nM CD20-TCB 測定中，濃度遞增的依維莫司對於 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D) 和 IL-6 (E) 釋放的影響。在 24 小

時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 23.在圖 1 的測定中，在 5 μg/mL 抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α；Biolegend #502922 (抗體 Mab11))、5 μg/mL 抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R；Roche 內部)、1 μM 地塞米松 (dexa)、0.1 μM 地塞米松、50 nM 達沙替尼 (dasa)、50 nM 魯索替尼 (ruxo)、50 nM 替西羅莫司 (temsi)、40 nM 西羅莫司 (siro)，50 nM 依維莫司 (evero) 存在下，藉由 10 nM CEA-TCB 之 MKN45 NLR 細胞的即時毒殺。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + 對應化合物對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量毒殺%。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 + SD。

圖 24.在圖 1 的測定中，抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於在藉由 10 nM CEA-TCB 誘導的 CD4+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 表現的影響。合併技術重複，並在 66 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SD

圖 25.在圖 1 的測定中，抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於在藉由 10 nM CEA-TCB 誘導的 CD8+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 表現的影響。合併技術重複，並在 66 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 26.在圖 1 的測定中，抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於藉由 10 nM CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放

(IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、IL-4 (D)、IL-8 (E)、IL-10 (F)、GM-CSF (G)、MCP-1 (H)) 的影響。在 66 小時合併來自技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 27.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於 CD20-TCB 誘導的 B 細胞毒殺的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、增加的 CD20-TCB 濃度和對應的化合物共同培養。在 24 小時合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD19+ B 細胞。使用 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell Stain，從 CD19+ B 細胞中排除死亡的 B 細胞。1 名代表性供體。

圖 28.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於 CD20-TCB 誘導的 B 細胞毒殺的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、1 nM CD20-TCB 和對應的化合物共同培養。在 24 小時合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD19+ B 細胞。使用 Live/Dead™ Fixable Aqua Dead Cell Stain，從 CD19+ B 細胞中排除死亡的 B 細胞。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 29.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於 CD20-TCB 誘導的 T 細胞活化的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、增加的 CD20-TCB 濃度和對應的化合物共同培養。在 24 小時合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上 CD69 以及 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞 (D) 上 CD25 的表現。1 名代表性供體。

圖 30.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於在 CD4+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 表現的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、1 nM CD20-TCB 和對應的化合物共同培養。在 24 小時合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 31.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對於在 CD8+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 表現的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、1 nM CD20-TCB 和對應的化合物共同培養。在 24 小時合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 32.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放 (TNF-α (A)、IFN-γ (B)、IL-2 (C)、IL-1β (D)、IL-6 (E)、IL-4 (F)、IL-10 (G)、GM-CSF (H)) 的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、增加的 CD20-TCB 濃度和對應的化合物共同培養。在 24 小時合併來自技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。1 名代表性供體。

圖 33.抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α)、抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R)、地塞米松 (dexa)、達沙替尼 (dasa)、魯索替尼 (ruxo)、替西羅莫司 (temsi)、西羅莫司 (siro)、依維莫司 (evero) 對 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放 (TNF-α (A)、IFN-γ (B)、IL-2 (C)、IL-1β (D)、IL-6 (E)、IL-4 (F)、IL-10 (G)、GM-CSF (H)) 的影響。將 WSU 標靶細胞與 PBMC (E:T = 200000:20000)、1 nM CD20-TCB 和對應的化合

物共同培養。在 24 小時合併來自技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 34.*活體外*毒殺測定設置。Cell Trace™ Violet (CTV) 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞與 PBMC [E:T=200’000:20’000] 共同培養，並用 CD20-TCB 刺激 18 小時。在 18 小時，在系統中添加 100 nM 魯索替尼、100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司。

圖 35.在圖 34 的測定中，對於 3 個代表性供體 (D1-D3) 添加魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前，在 18 小時的 CTV 標記 WSU DLCL2 標靶細胞毒殺。在 18 小時，合併來自技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 死亡細胞染劑染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。

圖 36.在圖 34 的測定中，對於 3 個代表性供體 (D1-D3) 添加魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前，在 18 小時於 CD8+ T 細胞 (A) 和 CD4+ T 細胞 (B) 上的 CD25 表現。在 18 小時，合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 的表現。

圖 37.在圖 34 的測定中，在添加魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之後，在 44 小時 CTV 標記的 WSU DLCL2 標靶細胞毒殺。在 44 小時，合併來自技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 死亡細胞染劑染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。1 名代表性供體。

圖 38.在圖 34 的測定中，在添加魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之後，於 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞(D) 上的 CD25 表現和於 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上的 CD69 表現。在 44 小時，合併技術重複中的腫

瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現。1 名代表性供體。

圖 39.在圖 34 的測定中，在添加魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前 (18小時) 和之後 (44小時)，IL-2 (A)、IFN-γ (B)、TNF-α (C)、IL-6 (D)、IL-1β (E)、GM-CSF (F) 的含量。在 18 小時和 44 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。1 名代表性供體。

圖 40.對於圖 34 的測定中的 1 nM CD20-TCB，在添加魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前 (18小時) 和之後 (44小時)，CTV 標記的 WSU DLCL2 標靶細胞毒殺。在 18 小時和 44 小時，將技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC 合併，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 死亡細胞染劑染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 41.對於圖 34 的測定中的 1 nM CD20-TCB，在加入魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前 (18小時) 和之後 (44小時)，在 CD4+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 的表現。在 18 小時和 44 小時，合併技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 42.對於圖 34 的測定中的 1 nM CD20-TCB，在加入魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前 (18小時) 和之後 (44小時)，在 CD8+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 的表現。在 18 小時和 44 小時，合併技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並藉由流式細胞分析技術測量 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 43.對於圖 34 的測定中的 1 nM CD20-TCB，在加入魯索替尼、替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司之前 (18小時) 和之後 (44小時)，IFN-γ (A)、IL-2 (B)、

TNF-α (C)、IL-6 (D) 和 IL-1β (E) 的含量。在 18 小時和 44 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 44.在 0 nM 至 1000 nM 範圍之濃度遞增的魯索替尼存在下，藉由 8 nM MAGEA4-TCB 之 A375 NucLightRed (NLR) 細胞的即時毒殺。A375 NLR 標靶細胞與 MAGEA4-TCB (8 nM)、魯索替尼及 PBMC 共同培養，E:T = 50000 PBMC：5000 標靶細胞。使用 Incucyte ® 跟蹤毒殺 (每 3 小時掃描 1 次，放大 10x，相位和紅色 400 ms 採集時間)。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + 魯索替尼對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量毒殺%。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 + SD。

圖 45.濃度 (c) 遞增的魯索替尼對於藉由 8 nM MAGEA4-TCB 誘導的 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D)、IL-6 (E)、IL-1β (F)、IL-8 (G)、MCP-1 (H) 和 IL-10 (I) 含量的影響。在 72 小時，收集上清液並藉由細胞術微珠陣列 (cytometric bead array，CBA) 分析細胞激素。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 +/- SD。

圖 46.在 0 nM 至 1000 nM 範圍之濃度遞增的西羅莫司 (A)、替西羅莫司 (B) 及依維莫司 (C) 存在下，藉由 8 nM MAGEA4-TCB 之 A375 NucLightRed (NLR) 細胞的即時毒殺。A375 NLR 標靶細胞與 8 nM MAGEA4-TCB、mTOR 抑制劑和 PBMC 共同培養，E:T = 50000 PBMC：5000 標靶細胞。使用 Incucyte ® 跟蹤毒殺 (每 3 小時掃描 1 次，放大 10x，相位和紅色 400 ms 採集時間)。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + mTOR 抑制劑對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量毒殺 %。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 + SEM。

圖 47.濃度 (c) 遞增的西羅莫司、替西羅莫司及依維莫司對於藉由 8 nM MAGEA4-TCB 誘導的 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D)、IL-6

(E)、IL-1β (F)、IL-8 (G)、MCP-1 (H) 和 IL-10 (I) 含量的影響。在 72 小時，收集上清液並藉由 CBA 分析細胞激素。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 +/- SD。

圖 48.濃度遞增的巴瑞替尼對藉由 CD20-TCB 誘導的 CTV 標記的 WSU DLCL2 標靶細胞毒殺的影響。在 24 小時，合併來自技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 染料染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。1 名代表性供體。

圖 49.濃度遞增的巴瑞替尼對藉由 1 nM CD20-TCB 誘導的 CTV 標記的 WSU DLCL2 標靶細胞毒殺的影響。在 24 小時，合併來自技術重複中的腫瘤細胞和 PBMC，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 染料染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。n=2 名供體的平均值。

圖 50.濃度遞增的巴瑞替尼對於在藉由 CD20-TCB 誘導的 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (B) 上 CD69 表現及 CD4+ T 細胞 (C) 和 CD8+ T 細胞 (D) 上 CD25 表現的影響。在 24 小時，合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ 和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。1 名代表性供體。

圖 51.對於 1 nM CD20-TCB，濃度遞增的巴瑞替尼對 CD4+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 表現的影響。在 24 小時，合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=2 名供體的平均值。

圖 52.對於 1 nM CD20-TCB，濃度遞增的巴瑞替尼對 CD8+ T 細胞上 CD69 (A) 和 CD25 (B) 表現的影響。在 24 小時，合併技術重複，並藉由流式細胞分析技術測量 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現。n=2 名供體的平均值。

圖 53.在 CD20-TCB 劑量反應的毒殺測定中，濃度遞增的巴瑞替尼對 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D)、IL-6 (E)、IL-8 (F) 含量的影響。在

24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。1 名代表性供體。

圖 54.對於 1 nM CD20-TCB，濃度遞增的巴瑞替尼對於 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D)、IL-6 (E)、IL-8 (F) 含量的影響。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=2 名供體的平均值。

圖 55.在濃度範圍為 0 nM 至 1000 nM 的巴瑞替尼 (A) 和魯索替尼 (B) 存在下，藉由 1 nM CEA-TCB 之 MKN45 NLR 細胞的即時毒殺。將 MKN45 NLR 標靶細胞與 PBMC (E:T = 50000 PBMC：5000 標靶細胞) 在補充有 1 nM CEA-TCB 和 JAK 抑制劑的培養基中共同培養。使用 Incucyte ® 跟蹤毒殺 (每 3 小時掃描 1 次，放大 10x，相位和紅色 400 ms 採集時間)。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + 魯索替尼或巴瑞替尼對照孔的值藉由標準化總紅色面積來測量毒殺%。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 + SEM。

圖 56.以 10 nM CEA-TCB 處理後，在 72 小時，濃度遞增的巴瑞替尼與魯索替尼對於 CD4+ T 細胞 (A) 和 CD8+ T 細胞 (B) 上 CD25 表現的影響。合併技術重複，並在 69 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 +/- SD。

圖 57.在以 10 nM CEA-TCB 處理後，濃度遞增的巴瑞替尼與魯索替尼對於 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、GM-CSF (D)、IL-6 (E)、IL-8 (F) 釋放的影響。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。藉由將每種激酶抑制劑濃度的細胞激素含量標準化為未添加激酶抑制劑的條件來計算抑制 %。n=3 名供體的平均值 +/- SEM。

圖 58.在 0 nM 至 100 nM 範圍之濃度遞增的巴瑞替尼 (A) 和魯索替尼 (B) 存在下，藉由 25 nM MAGEA4-TCB 之 A375 NucLightRed (NLR) 細胞的即時毒殺。A375 NLR 標靶細胞與 PBMC (E:T = 50000 PBMC：5000 個標靶細胞) 在補充有

25 nM MAGEA4-TCB 和 JAK 抑制劑的培養基中共同培養。使用 Incucyte ® 跟蹤毒殺 (每 3 小時掃描 1 次，放大 10x，相位和紅色 400 ms 採集時間)。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + JAK 抑制劑對照孔的值，藉由標準化總紅色面積來測量毒殺 [%]。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 +/- SD。

圖 59.濃度遞增(0-100 nM) 的巴瑞替尼對於藉由 25 nM MAGEA4-TCB 誘導的 GM-CSF (A)、IL-2 (B)、IFN-γ (C)、TNF-α (D)、IL-1β (E) 和 IL-6 (F) 含量的影響。在 69 小時，收集上清液並藉由 CBA 分析細胞激素。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 +/- SD。

圖 60.濃度遞增(0-100 nM) 的魯索替尼對於藉由 25 nM MAGEA4-TCB 誘導的 GM-CSF (A)、IL-2 (B)、IFN-γ (C)、TNF-α (D)、IL-1β (E) 和 IL-6 (F) 含量的影響。在 69 小時，收集上清液並藉由 CBA 分析細胞激素。對於 1 名代表性供體的技術重複平均值 +/- SD。

圖 61.在 100 nM 魯索替尼或 100 nM 西羅莫司存在和不存在下，藉由 PGLALA CAR-T 細胞 (A) 和 CD16 CAR-T 細胞 (B) 的 CTV 標記的 WSU 腫瘤細胞毒殺。在存在及不存在 100 nM 魯索替尼 (ruxo) 或 100 nM 西羅莫司 (siro) 的情況下，用 PGLALA-Fc（對於 PGLALA CAR-T 細胞）或野生型 Fc（對於 CD16 CAR-T 細胞）將 PGLALA CAR-T 細胞和 CD16 CAR-T 細胞與 CTV 標記的 WSU 腫瘤細胞 (E:T=10:1) 及濃度遞增的 抗 CD20 IgG 一起共同培養。在 24 小時，合併技術重複，並以 LIVE/DEAD™ Near-IR 染料染色，以允許藉由流式細胞分析技術排除死亡的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞。1 名代表性供體。

圖 62.100 nM 魯索替尼和 100 nM 西羅莫司對於藉由 PGLALA CAR-T 細胞誘導的 GM-CSF (A)、IFN-γ (B)、IL-2 (C) 和 TNF-α (D) 的影響。分別在 100 nM 魯索替尼 (ruxo) 或 100 nM 西羅莫司 (siro) 存在及不存在下，將 PGLALA CAR-

T 細胞與 CTV 標記的 WSU 腫瘤細胞 (E:T=10:1) 及濃度遞增的 PGLALA-Fc 抗 CD20 IgG 一起共同培養。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=2 名供體的平均值。

圖 63.100 nM 魯索替尼和 100 nM 西羅莫司對於藉由 CD16 CAR-T 細胞誘導的 GM-CSF (A)、IFN-γ (B)、IL-2 (C) 和 TNF-α (D) 的影響。在 100 nM 魯索替尼 (ruxo) 或 100 nM 西羅莫司 (siro) 存在及不存在下，將 CD16 CAR-T 細胞與 CTV 標記的 WSU 腫瘤細胞 (E:T=10:1) 及濃度遞增的野生型抗 CD20 IgG 一起共同培養。在 24 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素。n=2 名供體的平均值。

圖 64.*活體外*毒殺測定設置。在補充有不同激酶抑制劑 (100 nM) 的培養基中，在濃度遞增的 CD19-TCB 存在下，將 PBMC 與 CellTrace™ Violet (CTV) 標記的 SUDLH-8 腫瘤細胞 (E:T=10:1) 共同培養 24 小時。

圖 65.在圖 64 的測定中 (24小時)，100 nM 達沙替尼 (Src 抑制劑)、西羅莫司 (mTOR 抑制劑) 和魯索替尼 (JAK1/2 抑制劑) 對於 CD19-TCB 誘導的 SUDLH-8 毒殺 (A) 和 T 細胞活化 (B、C、D、E) 的影響。使用存活/死亡染色從存活細胞中排除的死亡 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞 (A)、及在 CD4+ T 細胞 (B) 和 CD8+ T 細胞 (C) 上的 CD69 表現以及在 CD4+ T 細胞 (D) 和 CD8+ T 細胞 (E)上的 CD25 表現的代表性流式細胞分析技術圖。3 名代表性供體中的 1 名，10 nM CD19-TCB。

圖 66.在圖 64 的測定中，100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司 (evero) 和 100 nM 魯索替尼 (ruxo) 對於 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞之 CD19-TCB 依賴性毒殺。使用可排除死亡細胞的存活/死亡染色法，在 24 小時藉由流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞的毒殺。n=3 名供體的平均值 + 標準差 (SD)。

圖 67.在圖 64 的測定中，100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司 (evero) 和 100 nM 魯索替尼 (ruxo) 對於 CD19-TCB 依賴性 T 細胞活化的影響。在 24 小時，藉由流式細胞分析技術測量 在 CD4+ T 細胞 (A、B) 和 CD8+ T 細胞 (C、D) 上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 + SD。

圖 68.在圖 64 的測定中，100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司 (evero) 和 100 nM 魯索替尼 (ruxo) 對於 CD19-TCB 依賴性細胞激素釋放的影響。藉由 Luminex (24 小時) 測量上清液中 IL-2 (A)、IFN-γ (B)、TNF-α (C)、IL-6 (D) 和 GM-CSF (E) 的含量。3 個代表性供體中的 1 個。

圖 69.*活體外*毒殺測定設置。在補充有不同 JAK 抑制劑 (100 nM) 的培養基中，在濃度遞增的 CD19-TCB 存在下，將 PBMC 與 CTV) 標記的 SUDLH-8 細胞 (E:T=10:1) 共同培養 24 小時。

圖 70.在圖 69 的測定中，100 nM 魯索替尼 (ruxo)、100 nM 巴瑞替尼 (bari) 和 100 nM 托法替尼 (tofa) 對於 CTV 標記之 SUDLH-8 細胞的 CD19-TCB 依賴性毒殺的影響。使用可排除死亡細胞的存活/死亡染色法，在 24 小時藉由流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞的毒殺。n=3 名供體的平均值 + SD。

圖 71.在圖 69 的測定中，100 nM 魯索替尼 (ruxo)、100 nM 巴瑞替尼 (bari) 和 100 nM 托法替尼 (tofa) 對 CD19-TCB 依賴性 T 細胞活化的影響。在 24 小時，藉由流式細胞分析技術測量 在 CD4+ T 細胞 (A、B) 和 CD8+ T 細胞 (C、D) 上 CD69 和 CD25 的表現。n=3 名供體的平均值 + SD。

圖 72.圖 69 的測定中，100 nM 魯索替尼 (ruxo)、100 nM 巴瑞替尼 (bari) 和 100 nM 托法替尼 (tofa) 對 CD19-TCB 依賴性細胞激素釋放的影響。藉由 Luminex

(24 小時) 測量上清液中 IL-2 (A)、IFN-γ (B)、TNF-α (C)、IL-6 (D) 和 GM-CSF (E) 的含量。3 個代表性供體中的 1 個。

圖 73.*活體外*毒殺測定設置。在補充有不同激酶抑制劑 (100 nM)、地塞米松 (100 nM)、5 μg/mL 抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α) 或 5 μg/mL 抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R) 的培養基中，在濃度遞增的 CD19-TCB 存在下，將 PBMC 與 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞 (E:T=10:1) 共同培養 24 小時。

圖 74.在圖 73 的測定中，100 nM 地塞米松 (dexa)、5 μg/mL 抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α) 或 5 μg/mL 抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R) (A) 或 100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司 (evero) 或 100 nM 魯索替尼 (ruxo) (B) 對於 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞之 CD19-TCB 依賴性毒殺的影響。使用可排除死亡細胞的存活/死亡染色法，在 24 小時藉由流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞的毒殺。藉由單因子 ANOVA (弗理曼 (Friedman) 檢定)，n= 3 名供體的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.0332$，** $p \leqslant 0.0021$。

圖 75.在圖 73 的測定中，100 nM 地塞米松 (dexa)、5 μg/mL 抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α) 或 5 μg/mL 抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R) (A、B) 或 100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司 (evero) 或 100 nM 魯索替尼 (ruxo) (C、D) 對於 CD19-TCB 依賴性 T 細胞活化的影響。在 24 小時藉由流式細胞分析技術的測量在 CD4+ T 細胞上 CD25 (A、C) 和 CD69 (B、D) 的表現。藉由單因子 ANOVA (弗理曼檢定)，n= 3 名供體的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.0332$，** $p \leqslant 0.0021$。

圖 76.在圖 73 的測定中，100 nM 地塞米松 (dexa)、5 μg/mL 抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α) 或 5 μg/mL 抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R) (A、B) 或 100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司

(evero) 或 100 nM 魯索替尼 (ruxo) (C、D) 對於 CD19-TCB 依賴性 T 細胞活化的影響。在 24 小時藉由流式細胞分析技術的測量在 CD8+ T 細胞上 CD25 (A、C) 和 CD69 (B、D) 的表現。藉由單因子 ANOVA (弗理曼檢定)，n= 3 名供體的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.0332$，** $p \leqslant 0.0021$。

圖 77.在圖 73 的測定中，100 nM 地塞米松 (dexa)、5 μg/mL 抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α) 或 5 μg/mL 抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R) (A-D) 或 100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 替西羅莫司 (temsi)、100 nM 依維莫司 (evero) 或 100 nM 魯索替尼 (ruxo) (E-H) 對於 CD19-TCB 依賴性細胞激素釋放的影響。藉由 Luminex (24 小時) 測量上清液中 IFN-γ (A、E)、IL-2 (B、F)、TNF-α (C、G) 和 GM-CSF (D、H) 的含量。n = 3 名供體的平均值 + 平均值的標準差 (SEM)。

圖 78.*活體外*毒殺測定設置。在濃度遞增的 CD19-TCB 存在下，將 PBMC 與 CTV 標記的 NALM-6 細胞 (E:T=10:1) 共同培養 24 小時。在 24 小時，將培養基補充 100 nM 達沙替尼、100 nM 西羅莫司或 100 nM 魯索替尼。

圖 79.在圖 78 的測定中，於活化 24 小時後，將 100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 魯索替尼 (ruxo) 加入系統時對 CD19-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺的影響。使用可排除死亡細胞的存活/死亡染色法，在 24 小時及 48 小時藉由流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 NALM-6 細胞的毒殺。2 個代表性供體中的 1 個。

圖 80.在圖 78 的測定中，於活化 24 小時後，將 100 nM 達沙替尼 (dasa)、100 nM 西羅莫司 (siro)、100 nM 魯索替尼 (ruxo) 加入系統時對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。藉由 Luminex (24 小時和 48 小時) 測量血清中 IFN-γ (A)、TNF-α (B)、IL-2 (C) 和 IL-6 (D) 的含量。2 個代表性供體中的 1 個。

圖 81.*活體內*實驗時間軸和給藥時間表。人源化 NSG 小鼠以 0.5 mg/kg CD19-TCB (iv) 和 (i) 6x 50 mg/kg 達沙替尼 (po)，(ii) 6 x 30 mg/kg 魯索替尼 (po)，(iii) 4 x 5 mg/kg 西羅莫司 (po)，(iv) 2 x 1 mg/kg，1 x 0.5 mg/kg 和 1x 0.25 mg/kg 地塞米松 (po)，或 (v) 2 x 10 mg/kg，1 x 5 mg/kg、1 x 2.5 mg/kg 甲基培尼皮質醇 (po) 共同處理，或以 30 mg/kg 奧比妥珠單抗 (Gazyva®) (GpT) (iv) 預處理，然後以 0.5 mg/kg CD19-TCB (iv) 處理。

圖 82.在圖 81 所述實驗中，奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT)、魯索替尼 (ruxo)、達沙替尼 (dasa)、西羅莫司 (siro)、地塞米松 (dexa) 和甲基培尼皮質醇 (MP) 對於 CD19-TCB 誘導的 B 細胞耗竭的影響。在以 CD19-TCB 處理後 48 小時 (A) 和 72 小時 (B) 收集的血液中，藉由流式細胞分析技術測量 CD20+ B 細胞計數。n= 4 隻小鼠或 n= 3 隻小鼠 (dexa、MP 和 GpT) 的平均值 +/- SEM，具有 * $p \leqslant 0.0332$，** $p \leqslant 0.0021$，藉由單因子 ANOVA (克拉斯卡－瓦立斯 (Kruskal wallis) 檢定)。

圖 83.在圖 81 所述實驗中，奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT)、魯索替尼 (ruxo)、達沙替尼 (dasa)、西羅莫司 (siro)、地塞米松 (dexa) 和甲基培尼皮質醇 (MP) 對於 CD19-TCB 誘導的 B 細胞耗竭的影響。在以 CD19-TCB 處理後 72 小時，終止時所收集的脾臟中，藉由流式細胞分析技術測量 CD20+B 細胞計數。n= 4 隻小鼠或 n= 3 隻小鼠 (載劑、dexa、MP 和 GpT) 的平均值 +/- SEM。

圖 84.在圖 81 所述實驗中，奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT)、魯索替尼 (ruxo)、達沙替尼 (dasa)、西羅莫司 (siro)、地塞米松 (dexa) 和甲基培尼皮質醇 (MP) 對於 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。在以 CD19-TCB 處理後 6 小時所收集的血清中，藉由 Luminex 測量人類 IFN-γ (hIFN-γ) (A)、人類 IL-2 (hIL-2) (B)、人類 TNF-α (hTNF-α) (C)、人類 IL-6 (hIL-6) (D) 的含量。n=4 隻小鼠或 n=3 隻小鼠 (dexa、MP 和 GpT) 的平均值 +/- SEM。

圖 85.在 0 nM 至 1000 nM 範圍之劑量遞增的費拉替尼存在下，藉由 10 nM CEA-TCB 之 MKN45 NucLightRed (NLR) 細胞的即時毒殺。MKN45 NLR 標靶細胞與 PBMC (E:T = 50000 PBMC：5000 個標靶細胞) 在補充有 10 nM CEA-TCB 和費拉替尼的培養基中。使用 Incucyte ® 跟蹤毒殺 (每 3 小時掃描 1 次，放大 10x，相位和紅色 400 ms 採集時間)。使用在 t = 0 小時和每個時間點的標靶細胞 + PBMC + 費拉替尼對照孔的值，藉由標準化總紅色面積來測量毒殺 [%]。1 位供體的技術重複平均值+/- SEM。

圖 86.以 10 nM CEA-TCB 處理後，在 72 小時，濃度遞增的費拉替尼 (0-1000 nM) 對於 CD4+ T 細胞 (A、B) 和 CD8+ T 細胞 (C、D) 上 CD25 (B、D) 和 CD69 (A、C) 表現的影響。合併技術重複，並在 72 小時藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 的表現。1 個供體。

圖 87.濃度遞增 (0-1000 nM) 的費拉替尼對於藉由 10 nM CEA-TCB 誘導的 IFN-γ (A)、IL-2 (B)、TNF-α (C)、IL-6 (D) 和 IL-8 (E) 含量的影響。在 72 小時，合併技術重複的上清液，並藉由 Luminex 分析細胞激素含量。1 個供體。

圖 88.CD19-TCB *活體外*毒殺淋巴瘤 PDX 細胞。淋巴瘤 PDX 細胞在測定當天解凍，以 CTV 染劑標記並與 PBMC (E:T=10:1) 在 CD19-TCB 存在下培養 24 小時。 (**A**) 在匯集的技術重複中藉由流式細胞分析技術測量CTV 標記的 PDX 細胞的毒殺，n=3 PBMC 供體的平均值 +/- SD。(**B-E**) 在 CD4+ T 細胞 (**B**、**C**) 和 CD8+ T 細胞(**D**、**E**) 上 CD69 (**B**、**D**) 和 CD25 (**C**、**E**) 的表現藉由流式細胞分析技術測量作為 T 細胞活化的讀數、合併技術重複、n=3 PBMC 供體的平均值 +/- SD。

圖 89.*活體內*實驗時間軸和給藥時間表。人源化 NSG 小鼠移植了淋巴瘤 PDX（500 萬個細胞，s.c.）。當腫瘤大小達到 200 mm^3時，根據腫瘤大小將小鼠隨機分為 8 組或 7 組，並每週以載劑 (iv)、單獨的 0.5 mg/kg CD19-TCB (iv)、0.5

mg/kg CD19-TCB (黑色實心箭頭，i.v.) 併用 20 mg/kg 達沙替尼 (「Srci」，虛線箭頭，p.o)、5 mg/kg 西羅莫司 (「mTORi」，虛線箭頭，p.o.)、30 mg /kg 魯索替尼 (「JAKi」，虛線箭頭，p.o.)、2 次 1 mg/kg、0.5 mg/kg 或 4 次 0.25 mg/kg 地塞米松 (「dexa」，虛線箭頭，p.o.)、激酶抑制劑和單獨的地塞米松，或以 30 mg/kg 奧比妥珠單抗預處理 (「GpT」，灰色實線箭頭，i.v.) 3 天後以 CD19-TCB 第一次處理。在第一次 CD19-TCB 投予的當天給予激酶抑制劑兩次 (D16，在 CD19-TCB 前 1 小時一次，且之後一次)，然後在接下來的兩天 (D17 和 D18) 給予一次 (西羅莫司) 或兩次 (達沙替尼、魯索替尼)，以及每次後續的 CD19-TCB 投予前 1 小時一次。

圖 90.與載劑、奧比妥珠單抗預處理 (GpT) 或 CD19-TCB 作為單一療法相比，西羅莫司單獨或與 CD19-TCB 組合的腫瘤生長曲線。每週兩次或三次使用卡尺測量腫瘤體積，n = 6-8 隻小鼠的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.05$，** $p \leqslant 0.01$，*** $p \leqslant 0.001$，藉由單因子 ANOVA (克拉斯卡－瓦立斯檢定)。

圖 91.與載劑、奧比妥珠單抗預處理 (GpT) 或 CD19-TCB 作為單一療法相比，魯索替尼單獨或與 CD19-TCB 組合的腫瘤生長曲線。每週兩次或三次使用卡尺測量腫瘤體積，n = 6-8 隻小鼠的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.05$，** $p \leqslant 0.01$，*** $p \leqslant 0.001$，藉由單因子 ANOVA (克拉斯卡－瓦立斯檢定)。

圖 92.與載劑、奧比妥珠單抗預處理 (GpT) 或 CD19-TCB 作為單一療法相比，達沙替尼單獨或與 CD19-TCB 組合的腫瘤生長曲線。每週兩次或三次使用卡尺測量腫瘤體積，n = 6-8 隻小鼠的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.05$，** $p \leqslant 0.01$，*** $p \leqslant 0.001$，藉由單因子 ANOVA (克拉斯卡－瓦立斯檢定)。

圖 93.與載劑、奧比妥珠單抗預處理 (GpT) 或 CD19-TCB 作為單一療法相比，地塞米松單獨或與 CD19-TCB 組合的腫瘤生長曲線。每週兩次或三次使用卡尺

測量腫瘤體積，n = 6-8 隻小鼠的平均值 + SD，具有 * $p \leqslant 0.05$，** $p \leqslant 0.01$，*** $p \leqslant 0.001$，藉由單因子 ANOVA (克拉斯卡－瓦立斯檢定)。

圖 94.西羅莫司 (mTOR 抑制劑)、魯索替尼 (JAK1/2 抑制劑)、達沙替尼 (Src 抑制劑) 和地塞米松對於 CD19-TCB 介導的 (A) IL-2、(B) IFN-γ、(C) TNF-α 和 (D) IL-6 釋放的影響。在第一次輸注 CD19-TCB 後 6 小時所收集的血清中，藉由 Luminex 測量細胞激素含量。n= 6-8 隻小鼠的平均值 +/- SD，其中 * $p \leqslant 0.05$，** $p \leqslant 0.01$，*** $p \leqslant 0.001$，藉由單因子 ANOVA (克拉斯卡－瓦立斯檢定)。

圖 95.*活體內*實驗時間軸和給藥時間表。以載劑或以 0.15 mg/kg CD20-TCB (i.v.) 單獨或組合不同劑量的 mTOR 抑制劑 (p.o.) (2、5 或 10 mg/kg 西羅莫司，10 mg/kg 替西羅莫司和 10 mg/kg 依維莫司)、JAK 抑制劑 (p.o.) (30 或 60 mg/kg 魯索替尼) 和 Src 抑制劑 (p.o.) (10 或 50 mg/kg 達沙替尼) 或以 30 mg/kg 奧比妥珠單抗 (Gazyva®) (GpT) (i.v.) 預處理來治療人源化 NSG 小鼠。每組 n = 4 隻小鼠。

圖 96.在圖 95 所描述的實驗中，奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT)、魯索替尼、達沙替尼、西羅莫司、依維莫司、替西羅莫司在 48 小時 (A) 和 72 小時 (B) 對 CD20-TCB 誘導的 B 細胞耗竭的影響。在以 CD20-TCB 處理後 48 小時和 72 小時收集的血液中，藉由流式細胞分析技術測量 CD19+ B 細胞在人類 CD45+ (huCD45) 細胞中的比例。n=4 隻小鼠或 n=3 隻小鼠 (依維莫司組) 的平均值 +/- SEM。與載劑組的統計比較匯總於表 (C) 中，其中 p 值藉由克拉斯卡－瓦立斯檢定計算。

圖 97.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描

述的實驗的小鼠血清中 IFN-γ 的含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 98.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 IL-2 的含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 99.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 TNF-α 的含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 100.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 IL-6 的含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 101.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 IP-10 (CXCL10) 含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 102.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗

(Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 MCP-1 (CCL2) 含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 103.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 IL-8 的含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

圖 104.在以單獨的 CD20-TCB 或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 或奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 組合治療後 4 小時 (A) 和 24 小時 (B)，來自圖 95 所描述的實驗的小鼠血清中 GM-CSF 的含量。在 24 小時，n=4 隻小鼠的平均值 +/- SEM 或 n=3 隻小鼠的平均值 +/- SEM (依維莫司組)。

【實施方式】

【0244】 實例

【0245】 以下為本發明之方法和組成物的實例。應當理解，鑒於上文給出的一般描述，可以實施各種其他方面。

【0246】 實施例 1. mTOR 抑制劑西羅莫司在對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小的情況下防止 TCB 介導的細胞激素釋放。

【0247】 為了評估西羅莫司對 TCB 介導的標靶細胞毒殺的抑制作用，我們在補充有西羅莫司濃度遞增的培養基中使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、MKN45 NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 10 nM CEA-TCB (SEQ ID NO 4-23)來

進行毒殺測定 (**圖 1**)。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於捕獲隨時間丟失的紅色螢光蛋白訊號，作為標靶細胞毒殺的示值讀數。範圍從 1 μM (~915 ng/mL) 至 12.5 nM (~11.4 ng/mL) 之劑量的西羅莫司僅部分降低了 10 nM CEA-TCB 對 MKN45 NLR 標靶細胞的毒殺 (**圖 2A** 和**圖 3A**)。

【0248】 在測定終點 (72 小時)，PBMC 以存活/死亡染色劑染色，以驗證西羅莫司對 PBMC 活力的影響。在 1 μM (~915 ng/mL) 至 12.5 nM (~11.4 ng/mL) 的濃度範圍內，西羅莫司對於以 10 nM CEA-TCB 處理之樣品中的 PBMC 生存力並沒有直接影響 (**圖 4B**)。CD25 和 CD69 在活的 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上的表現亦藉由流式細胞分析技術測量作為 T 細胞活化的讀數。西羅莫司不影響 CD8+ T 細胞上 CD69 的表現，而在 25 nM 以上的濃度下，其在 CD4+ T 細胞上的表現從 ~45% 減少至 ~25%。在高於 25 nM 的濃度下，西羅莫司將 CD4+ T 細胞上的 CD25 表現從 ~45% 降至 ~15%，及將 CD8+ T 細胞上的 CD25 表現從 ~75% 降至 ~40% (**圖 6**)。

【0249】 最後，藉由 Luminex 在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以確定西羅莫司對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。在任何濃度的西羅莫司存在下，與未接受任何西羅莫司處理的樣品相比，發現在以 10 nM CEA-TCB 處理的樣品中 IFN-γ、TNF-α、IL-2、IL-6、MCP-1、IL-8、IL-10、IL-4 和 GM-CSF 的含量非常低 (**圖 8**)。12.5 nM 至 1 μM 全範圍內的西羅莫司濃度對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放產生了相當的影響，表明西羅莫司強烈下調細胞激素釋放。

【0250】 標靶細胞毒殺儘管西羅莫司不能完全抑制由 TCB 觸發的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但即使在測試的最低劑量下，它也能強烈減少細胞激素的釋放。

【0251】 用另一個 TCB 進行了類似的實驗。WSU DLCL2 細胞與 PBMC 在 1 nM CD20-TCB (SEQ ID NO 4-11，24-35) 存在下共同培養，且西羅莫司劑量範

圍從 0 nM 遞增至 1000 nM (**圖 13**)。在 24 小時測量 CTV 標記的 WSU 標靶細胞的毒殺 (**圖 14C**) 及 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現 (**圖 17**) 分別作為西羅莫司對 TCB 功效和 T 細胞活化影響的讀數。最後，藉由 Luminex 測量 IFN-γ、IL-2、TNF-α、GM-CSF 和 IL-6 的含量 (**圖 21**)，以評估遞增的西羅莫司濃度對 CD20-TCB-誘導之細胞激素釋放的影響。與 CEA-TCB 的研究結果一致，西羅莫司並未完全抑制 CD20-TCB 介導的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但在濃度高於 12.5 nM 時，它強烈降低了 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放。

【0252】 **實施例 2. mTOR 抑制劑替西羅莫司在對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小的情況下防止 TCB 介導的細胞激素釋放。**

【0253】 為了評估替西羅莫司對 TCB 介導的標靶細胞毒殺的抑制作用，我們使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 10 nM CEA-TCB，在補充有遞增的替西羅莫司濃度的培養基中進行毒殺測定 (**圖 1**)。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於捕獲隨時間丟失的紅色螢光蛋白訊號，作為標靶細胞毒殺的示值讀數。劑量範圍從 1 μM (~1031 ng/mL) 至 12.5 nM (~12.9 ng/mL) 的替西羅莫司僅部分降低了 10 nM CEA-TCB 對 MKN45 NLR 標靶細胞的毒殺 (**圖 2C** 和**圖 3C**)。

【0254】 在測定終點 (72 小時)，將 PBMC 以存活/死亡染色劑染色，以驗證替西羅莫司對 PBMC 生存力的影響。在 1 μM (~1031 ng/mL) 至 12.5 nM (~12.9 ng/mL) 的濃度範圍內，替西羅莫司對於以 10 nM CEA-TCB 處理之樣品中的 PBMC 活力並無直接影響 (**圖 4C**)。CD25 和 CD69 在活的 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上的表現亦藉由流式細胞分析技術測量作為 T 細胞活化的讀數。替西羅莫司不影響 CD8+ T 細胞上 CD69 的表現，而在高於 25 nM 的濃度下，它在 CD4+ T 細胞上的表現從 ~45% 減少至 ~25%。在高於 25 nM 的濃度下，替西羅莫司將

CD25 在 CD4+ T 細胞上的表現從 ~45% 降低至 ~15%，並在 CD8+ T 細胞上的表現從 ~75% 降低至 40% (**圖 7**)。

【0255】 藉由 Luminex 在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以確定替西羅莫司對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。在任何濃度的替西羅莫司存在下，與未接受任何替西羅莫司處理的樣品相比，發現在以 10 nM CEA-TCB 處理的樣品中 IFN-γ、TNF-α、IL-2、IL-6、MCP-1、IL-8、IL-10、IL-4 和 GM-CSF 的含量非常低 (**圖 8**)。從 12.5 nM 至 1 μM 的整個範圍內的替西羅莫司濃度對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放產生了相當的影響，顯示替西羅莫司強烈地下調細胞激素釋放。

【0256】 儘管替西羅莫司不能完全抑制由 TCB 觸發的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但即使在測試的最低劑量下，它也能強烈地降低細胞激素的釋放。

【0257】 用 CD20-TCB 進行了類似的實驗。WSU DLCL2 細胞在 1 nM CD20-TCB 存在下與 PBMC 共同培養，並將替西羅莫司劑量範圍從 0 nM 遞增至 1000 nM (**圖 13**)。在 24 小時測量 CTV 標記的 WSU 標靶細胞的毒殺 (**圖 14B**) 及 CD4+ 和 CD8+ 上 CD25 和 CD69 的表現 (**圖 16**) 分別作為替西羅莫司對 TCB 功效和 T 細胞活化影響的讀數。最後，藉由 Luminex 測量 IFN-γ、IL-2、TNF-α、GM-CSF 和 IL-6 的含量 (**圖 20**)，以評估遞增的替西羅莫司濃度對 CD20-TCB-誘導之細胞激素釋放的影響。與 CEA-TCB 的研究結果一致，替西羅莫司並未完全抑制 CD20-TCB 介導的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但在濃度高於 12.5 nM 時，它強烈降低了 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放。

【0258】 實施例 3. mTOR 抑制劑依維莫司在對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小的情況下防止 TCB 介導的細胞激素釋放。

【0259】 為了評估依維莫司對 TCB 介導的標靶細胞毒殺的抑制作用，我們使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 10 nM CEA-

TCB，在補充有遞增的依維莫司濃度的培養基中進行毒殺測定 (**圖 1**)。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於捕獲隨時間丟失的紅色螢光蛋白訊號，作為標靶細胞毒殺的示值讀數。範圍從 1 μM (~959 ng/mL) 至 12.5 nM (~12.0 ng/mL) 之劑量的依維莫司僅部分降低了 10 nM CEA-TCB 對 MKN45 NLR 標靶細胞的毒殺 (**圖 2B** 和**圖 3B**)。

【0260】 在測定終點 (72 小時)，PBMC 以存活/死亡染色劑染色，以驗證依維莫司對 PBMC 生存力的影響。在 1 μM (~959 ng/mL) 至 12.5 nM (~12.0 ng/mL) 的濃度範圍內，依維莫司對於以 10 nM CEA-TCB 處理之樣品中的 PBMC 生存力並沒有直接影響 (**圖 4A**)。CD25 和 CD69 在活的 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上的表現亦藉由流式細胞分析技術測量作為 T 細胞活化的讀數。依維莫司不影響 CD8+ T 細胞上 CD69 的表現，而在 25 nM 以上的濃度下，其在 CD4+ T 細胞上的表現從 ~45% 降低至 ~25%。在高於 25 nM 的濃度下，依維莫司將 CD4+ T 細胞上的 CD25 表現從 ~45% 降至 ~15%，及將 CD8+ T 細胞上的 CD25 表現從 ~70% 降至 ~40% (**圖 5**)。

【0261】 藉由 Luminex 在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以確定依維莫司對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。在任何濃度的依維莫司存在下，與未接受任何依維莫司處理的樣品相比，發現在以 10 nM CEA-TCB 處理的樣品中 IFN-γ、TNF-α、IL-2、IL-6、MCP-1、IL-8、IL-10、IL-4 和 GM-CSF 的含量非常低 (**圖 8**)。從 12.5 nM 至 1 μM 的整個範圍內的依維莫司濃度對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放產生了相當的影響，顯示依維莫司強烈地下調細胞激素釋放。

【0262】 儘管依維莫司不能完全抑制由 TCB 觸發的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但即使在測試的最低劑量下，它也能強烈地降低細胞激素的釋放。

【0263】 用 CD20-TCB 進行了類似的實驗。WSU DLCL2 細胞在 1 nM CD20-TCB 存在下與 PBMC 共同培養，並將依維莫司劑量範圍從 0 nM 遞增至

1000 nM (**圖 13**)。在 24 小時測量 CTV 標記的 WSU 標靶細胞的毒殺 (**圖 14D**) 及 CD4+ 和 CD8+ 上 CD25 和 CD69 的表現 (**圖 18**) 分別作為依維莫司對 TCB 功效和 T 細胞活化影響的讀數。最後，藉由 Luminex 測量 IFN-γ、IL-2、TNF-α、GM-CSF 和 IL-6 的含量 (**圖 22**)，以評估遞增的依維莫司濃度對 CD20-TCB-誘導之細胞激素釋放的影響。與 CEA-TCB 的研究結果一致，依維莫司並未完全抑制 CD20-TCB 介導的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但在濃度高於 12.5 nM 時，它強烈降低了 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放。

【0264】 實例 4.JAK1/2 抑制劑魯索替尼在對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小的情況下防止 TCB 介導的細胞激素釋放。

【0265】 為了評估魯索替尼對 TCB 介導的標靶細胞毒殺的抑制作用，我們使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、MKN45 NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 10 nM CEA-TCB，在補充有濃度遞增之魯索替尼的培養基中進行毒殺測定 (**圖 1**)。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於捕獲隨時間丟失的紅色螢光蛋白訊號，作為標靶細胞毒殺的示值讀數。範圍從 100 nM (~30.7 ng/mL) 至 6.25 nM (~1.9 ng/mL) 之劑量的魯索替尼僅部分降低了 10 nM CEA-TCB 對 MKN45 NLR 標靶細胞的毒殺 (**圖 9A** 和 **B**)。

【0266】 在測定終點 (69 小時)，將 PBMC 以存活/死亡染色劑染色，以驗證魯索替尼對 PBMC 生存力的影響。在 100 nM (~30.7 ng/mL) 至 6.25 nM (~1.9 ng/mL) 的濃度範圍內，魯索替尼對於以 10 nM CEA-TCB 處理之樣品中的 PBMC 生存力並無直接影響 (**圖 10**)。CD25 和 CD69 在活的 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上的表現亦藉由流式細胞分析技術測量作為 T 細胞活化的讀數。魯索替尼劑量依賴性地影響在 CD4+ T 細胞及 CD8+ T 細胞二者上 CD25 和 CD69 的表現 (**圖 11**)。劑量遞增的魯索替尼對 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 表現的影響不如對 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 表現的影響顯著。

【0267】 藉由 Luminex 在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以確定魯索替尼對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。在劑量遞增的魯索替尼存在下，與未接受任何魯索替尼處理的樣品相比，發現在以 10 nM CEA-TCB 處理的樣品中 IFN-γ、TNF-α、IL-2、IL-6、MCP-1、IL-8、IL-10、IL-4 和 GM-CSF 的含量非常低 (**圖 12**)。魯索替尼強烈下調整體 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放。

【0268】 儘管魯索替尼不能完全抑制由 TCB 觸發的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但即使在測試的最低劑量下，它也能強烈地降低細胞激素的釋放。

【0269】 用 CD20-TCB 進行了類似的實驗。WSU DLCL2 細胞在 1 nM CD20-TCB 存在下與 PBMC 共同培養，並將魯索替尼劑量範圍從 0 nM 遞增至 1000 nM (**圖 13**)。在 24 小時測量 CTV 標記的 WSU 標靶細胞的毒殺 (**圖 14A**) 及 CD4+ 和 CD8+ 上 CD25 和 CD69 的表現 (**圖 15**) 分別作為魯索替尼對 TCB 功效和 T 細胞活化影響的讀數。最後，藉由 Luminex 測量 IFN-γ、IL-2、TNF-α、GM-CSF 和 IL-6 的含量 (**圖 19**)，以評估遞增的西羅莫司濃度對 CD20-TCB-誘導之細胞激素釋放的影響。魯索替尼並未完全抑制 CD20-TCB 介導的標靶細胞毒殺和 T 細胞活化，但在濃度高於 25 nM 時，它強烈降低了 CD20-TCB 誘導的 IL-6 及 IFN-γ 釋放。與 mTOR 抑制劑不同，魯索替尼對 TNF-α、IL-2 和 GM-CSF 的釋放沒有強烈影響。

【0270】 實例 5.mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 及 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 與抗 TNF-α 抗體、抗 IL-6R 抗體、地塞米松和達沙替尼相比之下，在 TCB 介導的標靶毒殺、T 細胞活化和細胞激素釋放的影響。

【0271】 為了評估 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 與抗 TNF-α 抗體、抗 IL-6R 抗體、地塞米松和達沙替尼相比之下在 TCB 介導的標靶細胞毒殺的影響，我們使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、MKN45 NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 10 nM CEA-TCB 在補充有不

同化合物的培養基中進行毒殺測定 (**圖 1**)。Incucyte® system（Essen Bioscience）用於捕獲紅色螢光蛋白訊號隨時間的丟失，作為標靶細胞毒殺的讀數。與單獨的 TCB 相比，中和抗 TNF-α 抗體及抗 IL-6R 抗體 (5 μg/ml) 不會影響標靶細胞毒殺動力學，也不會影響最大標靶細胞毒殺。50 nM JAK 抑制劑 (魯索替尼)、50 nM mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 對標靶細胞毒殺與 1 μM 和 0.1 μM 地塞米松類似，且添加 50 nM 達沙替尼完全關閉了 TCB 誘導的標靶細胞毒殺。(**圖 23**)。

【0272】 在測定終點 (66 小時)，藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現，以評估不同化合物對 T 細胞活化的影響。雖然 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 對 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上的 CD25 和 CD69 表現的影響比地塞米松或達沙替尼更溫和，但抗 TNF-α 和抗 IL-6R 抗體不影響 T 細胞活化 (**圖 24** 和**圖 25**)。

【0273】 藉由 Luminex 在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以確定不同的化合物對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。與針對例如 TNF-α 和 IL-6 之特定細胞激素的中和抗體相比，使用激酶抑制劑和地塞米松導致 TCB 誘導的細胞激素釋放總體減少 (**圖 26**)。達沙替尼完全防止 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放以及 T 細胞活化和標靶細胞毒殺，而 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 獨立地抑制具有對 T 細胞活化較溫和影響的細胞激素釋放及標靶細胞毒殺。JAK1/2 抑制劑魯索替尼降低 IL-2 含量的強度低於 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) (**圖 26B**)。

【0274】 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響與地塞米松和達沙替尼

相當，並且比抗 TNF-α 和抗 IL- 6R 抗體強。另一方面，與達沙替尼相比，mTOR 和 JAK 抑制劑對毒殺效力和 T 細胞活化的影響較小。

【0275】 用另一個 TCB 進行了類似的實驗。在劑量遞增的 CD20-TCB、mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司、依維莫司) 、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、達沙替尼、地塞米松、抗 TNF-α 抗體或抗 IL-6R 抗體的存在下，WSU 細胞與 PBMC 共同培養。B 細胞的毒殺被測量為 24 小時時各種化合物對 TCB 功效的影響的讀數 (**圖 27** 和 **28**)。CD25 和 CD69 在 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上的表現藉由流式細胞分析技術測量作為於 24 小時 T 細胞活化的讀數 (**圖 29**、**圖 30** 及圖 **31**)。最後，在測定終點藉由 Luminex 分析細胞激素 (TNF-α、IFN-γ、IL-2、IL-6、IL-4、IL-10、GM-CSF 和 IL-1β) 的含量以評估不同處理對 TCB 誘導細胞激素釋放的影響 (**圖 32** 和 **33**)。如 CEA-TCB 所見，mTOR (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK (魯索替尼) 抑制劑對 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響與地塞米松和達沙替尼相當，並且在降低整體細胞激素釋放方面，影響強於抗 TNF-α 抗體和抗 IL-6R 抗體。與達沙替尼不同，mTOR (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK (魯索替尼) 抑制劑既不能防止 B 細胞的毒殺，亦不能關閉由 CD20-TCB 誘導的 T 細胞活化，這表明它們不會強烈影響 TCB 的功效.

【0276】 總之，與達沙替尼 (一種 Src 抑制劑) 或地塞米松相比，mTOR 和 JAK 抑制劑對毒殺效力和 T 細胞活化的影響較低。相反，它們對毒殺效力和 T 細胞活化的影響與抗 TNF-α 抗體或抗 IL-6R 抗體的影響相當。另一方面，mTOR 和 JAK 抑制劑，如地塞米松和達沙替尼，比抗 TNF-α 抗體或抗 IL-6R 抗體更有效地減少細胞激素釋放。mTOR 和 JAK 抑制劑的不同活性顯示出 TCB 誘導的細胞激素釋放和細胞毒性的解偶聯，表明這些化合物可能是類固醇或 IL-6/IL-6R 阻斷劑的有吸引力的替代品或補充品，用於緩解 CRS。

【0277】 **實例 6.西羅莫司、替西羅莫司、依維莫司和魯索替尼對於自預活化效應細胞的 CD20-TCB 誘導之細胞激素釋放的影響**

【0278】 為了評估 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 和 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 是否可以防止由 CD20-TCB 處理誘導之細胞激素的進一步釋放，在活化 18 小時後，將它們添加至*活體外*毒殺測定中。在此測定中，在劑量遞增的 CD20-TCB 存在下將 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞與 PBMC 共同培養 18 小時。在 18 小時，將 100 nM 魯索替尼、100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司添加至系統中 (**圖 34**)。為了驗證在添加 100 nM 魯索替尼、100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司之前 T 細胞是否被活化，在 18 小時測量腫瘤細胞毒殺、T 細胞活化和細胞激素釋放。為了評估添加 100 nM 魯索替尼、100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司對 TCB 誘導之細胞激素釋放的影響，以及關於它們對 TCB 功效的影響；在 44 小時測量細胞激素釋放、T 細胞活化和腫瘤細胞毒殺。

【0279】 在 18 小時時，以 CD20-TCB 處理導致 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞被毒殺 (**圖 35**) 以及 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞二者上 CD25 的上調 (**圖 36**)，此表明 T 細胞在測定系統中加入不同抑制劑之前被活化。添加 100 nM 魯索替尼、100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司並不影響在 44 小時測量的 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞毒殺 (**圖 37**) 及 T 細胞活化 (**圖 38**)。然而，添加 mTOR 抑制劑 (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 在 18 小時至 44 小時之間阻止了 IL-2、IFN-γ、IL-6 和 GM-CSF 的釋放，且在較低程度上阻止了 TNF-α 及 IL-1β (**圖 39**)。添加 JAK 抑制劑 (魯索替尼) 在 18 小時至 44 小時之間可防止 IFN-γ、IL-6 的進一步產生，並在較低程度上防止 GM-CSF 和 TNF-α 的產生，但並未防止 IL-2 的進一步產生 (**圖 39**)。

【0280】 此外，在 1 nM 的固定 CD20-TCB 濃度下，三個供體證實了這些結果。添加 100 nM 魯索替尼、100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司在 18 小時至 44 小時之間不會進一步影響 CTV 標記的 WSU DLCL2 腫瘤細胞毒殺 (**圖 40**) 和 T 細胞活化 (**圖 41** 和 **42**)。然而，添加 100 nM 替西羅莫司、100 nM 西羅莫司或 100 nM 依維莫司在 18 小時至 44 小時之間防止了 IFN-γ、IL-2、IL-6 的進一步釋放，並且在較低程度上阻止了 TNF-α 和 IL-1β 釋放 (**圖 43**)。添加 100 nM 魯索替尼防止了 IFN-γ 和 IL-6 的進一步釋放，並在較低程度上防止了 TNF-α 和 IL-1β 釋放，但不防止 IL-2 釋放 (**圖 43**)。

【0281】 總體而言，這些資料表明 mTOR (替西羅莫司、西羅莫司和依維莫司) 以及 JAK (魯索替尼) 抑制劑可快速關閉 CD20-TCB 誘導的細胞激素從預活化的效應細胞中釋放，同時不會強烈影響 CD20-TCB 的功效。

【0282】 實例 7.JAK1/2 抑制劑魯索替尼在對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小的情況下防止 TCB 介導的細胞激素釋放。

【0283】 使用額外的 TCB，即 MAGEA4-TCB（SEQ ID NOs 37-56）評估魯索替尼對 TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺和細胞激素釋放的影響。與實例 4 類似，使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、A375 NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 8 nM MAGEA4-TCB，在補充有 0 nM 至 100 nM 範圍內濃度遞增的魯索替尼的培養基中進行毒殺測定。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於隨時間丟失的捕獲紅色螢光蛋白訊號，作為毒殺的讀數，以允許評估魯索替尼對 MAGEA4-TCB 誘導的靶細胞毒殺的影響。最後，在測定終點 (72 小時) 收集上清液，並經由 Luminex 測量細胞激素，以評估濃度遞增的魯索替尼對 MAGEA4-TCB 誘導之細胞激素釋放的影響。

【0284】 雖然魯索替尼不能防止 MAGEA4-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺 (**圖 44**)，但 IFN-γ (**圖 45A**)、TNF-α (**圖 45C**)、IL-8 (**圖 45G**)、IL-6 (**圖 45E**)、MCP-

1 (**圖 45H**)、IL-10 (**圖 45I**) 和 IL-1β (**圖 45F**) 的含量隨著魯索替尼濃度的增加而減少。GM-CSF (**圖 45D**) 和 IL-2 (**圖 45B**) 的含量不受魯索替尼的影響，與 CEA-TCB 和 CD20-TCB 生成的資料一致。因此，JAK1/2 抑制劑魯索替尼可代表一種有吸引力的方法來減輕 MAGEA4-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不影響其功效，也不影響 IL-2 和 GM-CSF 含量。

【0285】 **實例 8. mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司防止 TCB 介導的細胞激素釋放，而對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小。**

【0286】 使用額外的 TCB，即 MAGEA4-TCB，評估西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司對 TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺和細胞激素釋放的影響。與實例 1-3 類似，使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、A375 NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 8 nM MAGEA4-TCB，在補充有 0 nM 至 100 nM 之濃度遞增的西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司的培養基中進行毒殺測定。Incucyte® system（Essen Bioscience）用於捕獲紅色螢光蛋白訊號隨時間的丟失，作為標靶細胞毒殺的讀數。最後，在測定終點 (72 小時) 收集上清液，並經由 Luminex 測量細胞激素，以評估濃度遞增的西羅莫司、替西羅莫司及依維莫司對 MAGEA4-TCB 誘導之細胞激素釋放的影響。

【0287】 雖然西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司不能防止 MAGEA4-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺 (**圖 46A、B、C**)，但大多數測試細胞激素的含量，包括 IFN-γ (**圖 47A**)、IL-2 (**圖 47B**)、TNF-α (**圖 47C**)、IL-8 (**圖 47G**)、IL-6 (**圖 47E**)、MCP-1 (**圖 47H**) 和 IL-10 (**圖 47I**) 隨著西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司遞增的濃度而減少。與 CEA-TCB 和 CD20-TCB 產生的資料一致，mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司可代表一種有吸引力的方法來減輕 MAGEA4-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不影響其功效。

【0288】 **實例 9.JAK 抑制劑巴瑞替尼可有效防止 TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不影響其療效。**

【0289】 為了評估 JAK1/2 抑制劑巴瑞替尼對 CD20-TCB 介導的標靶細胞毒殺和細胞激素釋放的抑制作用，將周邊血液單核細胞 (PBMC) 與 CTV 標記的 WSU 標靶細胞和 CD20-TCB 共同培養於補充有濃度遞增之巴瑞替尼的培養基中。在 24 小時時，藉由流式細胞分析技術經由排除死亡的 CTV 細胞測量腫瘤細胞毒殺。收集上清液並藉由 Luminex 測量細胞激素。此外，藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD69 和 CD25 的表現，以評估巴瑞替尼對 T 細胞活化的影響。

【0290】 因此，0 nM 至 100 nM 範圍內的巴瑞替尼濃度不會損害 CD20-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺 (**圖 48** 和 **49**) 和 T 細胞活化，如圖所示 CD25 和 CD69 在 CD4+ T 細胞上的表現 (**圖 50A**、**C** 和 **51**) 即在 CD8+ T 細胞上的表現 (**圖 50B**、**D** 和 **52**)。在 1 μM 的較高濃度下，巴瑞替尼略微降低 CD20-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺，(**圖 48** 和 **49**) 和 T 細胞活化 (**圖 50A-D**、**51** 和 **52**)。與其他 JAK 抑制劑魯索替尼相似，巴瑞替尼的劑量遞增降低了 IFN-γ、TNF-α、GM-CSF、IL-6 和 IL-8 的含量 (**圖 53A**、**C**、**D**、**E** 和 **F**、**圖 54A**、**C**、**D**、**E** 和 **F**) 但不是 IL-2 (**圖 53B**、**圖 54B**)。

【0291】 雖然巴瑞替尼不能防止 CD20-TCB 觸發的 CTV WSU 腫瘤細胞毒殺和 T 細胞活化，但它在 12.5 nM 至 100 nM 的劑量範圍內強烈降低了 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放。因此，繼魯索替尼之後，JAK 抑制劑巴瑞替尼可用於減輕 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不影響其功效。

【0292】 **實例 10.JAK 抑制劑巴瑞替尼對 TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺、T 細胞活化和細胞激素釋放的影響與 JAK 抑制劑魯索替尼相當。**

【0293】 為了驗證巴瑞替尼對 TCB 誘導的細胞激素釋放、T 細胞活化和腫瘤細胞毒殺的影響是否與魯索替尼的影響相當，我們使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、MKN45 NucLight Red (NLR) 標靶細胞及 10 nM 及 1 nM CEA-TCB，在補充有濃度遞增的魯索替尼和巴瑞替尼的培養基中進行毒殺測定。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於捕獲隨時間丟失的紅色螢光蛋白訊號，作為標靶細胞毒殺的示值讀數。在 72 小時時，藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 的表現，以評估巴瑞替尼和魯索替尼對 CEA-TCB 誘導的 T 細胞活化的影響。最後，在測定終點 (72 小時) 收集上清液，並經由 Luminex 測量細胞激素，以評估巴瑞替尼與魯索替尼對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。細胞激素抑制的百分比計算為在不存在激酶抑制劑的情況下所發現的細胞激素百分比，並允許比較巴瑞替尼和魯索替尼對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。

【0294】 對於 0 nM 和 100 nM 之間的濃度遞增，巴瑞替尼和魯索替尼都不能阻止由 1 nM CEA-TCB 誘導的 MKN45 NLR 腫瘤細胞的毒殺 (**圖 55A** 和 **B**)。在 1 μM 的較高濃度下，巴瑞替尼和魯索替尼都部分防止了對 MKN45 NLR 腫瘤細胞的毒殺 (**圖 55A** 和 **B**)。與魯索替尼相比，濃度遞增的巴瑞替尼降低了 CD25 在 CD4+ T 細胞 (**圖 56A**) 和 CD8+T 細胞 (**圖 56B**) 上的表現，表明巴瑞替尼對 CEA-TCB 的影響誘導的 T 細胞活化與魯索替尼相當。對於濃度遞增的魯索替尼和巴瑞替尼，IFN-γ、TNF-α、GM-CSF、IL-6 和 IL-8 含量的抑制程度相似 (**圖 57A**、**C**、**D**、**E** 和 **F**)。與使用魯索替尼觀察到的結果一致，濃度遞增的巴瑞替尼並未降低 IL-2 (**圖 57B**)。

【0295】 巴瑞替尼與魯索替尼的比較是使用另一種 TCB 進行的，即 MAGEA4-TCB。與 CEA-TCB 類似，使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、A375 NucLight Red (NLR) 標靶細胞和 25 nM MAGEA4-TCB，在補充有 0 nM 至 100

nM 範圍內濃度遞增的魯索替尼和巴瑞替尼的培養基中進行毒殺測定。Incucyte® system（Essen Bioscience）用於捕獲紅色螢光蛋白訊號隨時間的丟失，作為標靶細胞毒殺的讀數。藉由 Luminex 測量在測定終點 (72 小時) 收集之上清液中的細胞激素，以評估巴瑞替尼與魯索替尼對 MAGEA4-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。

【0296】 與用 CEA-TCB 生成的資料一致，對於濃度範圍從 0 nM 遞增至 100 nM，巴瑞替尼 (**圖 58A**) 對 MAGEA4-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺的影響與魯索替尼 (**圖 58B**) 相當。此外，對於濃度範圍從 0 nM 遞增至 100 nM，巴瑞替尼 (**圖 59A-F**) 對 MAGEA4-TCB 誘導的 GM-CSF、IL-2、IFN-γ、IL-2、TNF-α、IL-1β 和 IL-6 釋放的影響也與魯索替尼 (**圖 60A-F**) 相當。

【0297】 總之，巴瑞替尼對 CEA-TCB 和 MAGEA4-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺、T 細胞活化和細胞激素釋放的影響與魯索替尼的影響相當。因此，除了魯索替尼，巴瑞替尼代表了一種對於減輕 TCB 誘導的細胞激素釋放的有吸引力的方法。

【0298】 **實例 11.JAK 抑制劑魯索替尼和 mTOR 抑制劑西羅莫司可防止 CAR-T 細胞誘導的細胞激素釋放。**

【0299】 為了評估 JAK 抑制劑魯索替尼和 mTOR 抑制劑西羅莫司對 CAR-T 細胞誘導的細胞激素釋放的影響，我們進行了一項毒殺測定，其中 PGLALA 和 CD16 通用 CAR-T 細胞 (CAR-T 細胞具有包含抗 P329G-Fc scFv 的 CAR (與 PGLALA Fc 結合) 或 CD16 (與野生型 Fc 結合)) 與 CTV WSU 腫瘤細胞在濃度遞增的 PGLALA Fc 和野生型 Fc 抗 CD20 IgG 的存在下，在補充有 100 nM 魯索替尼或 100 nM 西羅莫司的培養基中共同培養。為了驗證魯索替尼和西羅莫司是否干擾 CAR-T 細胞對腫瘤細胞的毒殺，我們在 24 小時時藉由流式細胞分析技術測量 CTV WSU 腫瘤細胞的毒殺情況。為了驗證魯索替尼和西羅莫

司是否降低由 CAR-T 細胞誘導的細胞激素釋放，在 72 小時時藉由 Luminex 測量的上清液中的細胞激素。

【0300】 結果，西羅莫司和魯索替尼都不能防止 PGLALA CAR-T 細胞 (**圖 61A**) 和 CD16 CAR-T 細胞(**圖 61B**) 的腫瘤細胞毒殺。對於 PGLALA CAR-T 細胞 (**圖 62**) 和 CD16 CAR-T 細胞 (**圖 63**)，魯索替尼降低了 IFN-γ (**圖 62B** 和 **63B**)、TNF-α (**圖 62D** 和 **63D**) 和 GM-CSF (**圖 62A** 和 **63A**) 的釋放，但不降低 IL-2 (**圖 62C** 和 **63C**) 的釋放，此與 TCB 的發現一致。最後，西羅莫司強烈地減少所有測試細胞激素的釋放，即 IFN-γ (**圖 62B** 和 **63B**)、TNF-α (**圖 62D** 和 **63D**)、GM-CSF (**圖 62A** 和 **63A**) 和 IL-2 (**圖 62C** 和 **63C**)。

【0301】 總體而言，這些資料表明 JAK1/2 抑制劑魯索替尼和 mTOR 抑制劑西羅莫司可能是一種有吸引力的方法，來防止 CAR-T 細胞誘導的細胞激素釋放，同時不影響 CAR-T 細胞的功效。

【0302】 **實例 12. mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司以及 JAK 抑制劑魯索替尼不防止 CD19-TCB 依賴性毒殺和 T 細胞活化，同時強烈地減少細胞激素釋放。**

【0303】 使用另一種 TCB CD19-TCB (SEQ ID NO 5、7-9、11、64-74、76-78、80) 進行評估 mTOR 抑制劑西羅莫司、依維莫司和替西羅莫司以及 JAK1/2 抑制劑魯索替尼對 TCB 誘導的 T 細胞細胞毒性、T 細胞活化和細胞激素釋放的影響。在存在不同激酶抑制劑，亦包括 Src 抑制劑達沙替尼的情況下，將 PBMC 與 CellTrace™ Violet (CTV) 標記的 SUDLH-8 腫瘤細胞和濃度遞增的 CD19-TCB 共同培養 (**圖 64**)。在測定終點 (24 小時)，藉由以存活/死亡染色排除死亡的 SUDLH-8 細胞，以流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞的毒殺。在 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現亦藉由流式細胞分析技

術測量作為 T 細胞活化的讀數。最後，在測定的上清液中測量細胞激素的含量以評估 mTOR、JAK 和 Src 抑制劑對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。

【0304】 結果，與 Src 抑制劑達沙替尼不同，mTOR 和 JAK 抑制劑不能防止 CD19-TCB 依賴性 SUDLH-8 毒殺 (**圖 65A**、**圖 66**)。與毒殺作用一致，與 Src 抑制劑達沙替尼相反，mTOR 和 JAK 抑制劑不阻斷 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現 (**圖 65B-E**、**圖 67**)。最後，JAK1/2 抑制劑魯索替尼防止了 CD19-TCB 誘導的 IFN-γ、TNF-α、IL-6 和 GM-CSF 的釋放，並在較低程度上防止了 IL-2 的釋放，而 mTOR 抑制劑則強烈降低所有四種細胞激素 (**圖 68**)。

【0305】 總體而言，mTOR、JAK 和 Src 抑制劑的不同活性揭示了 CD19-TCB 誘導的 T 細胞細胞毒性和細胞激素釋放的解偶聯。此外，這些資料表明 mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司以及 JAK1/2 抑制劑魯索替尼可減輕 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時並不防止腫瘤細胞毒殺和 T 細胞活化。Src 抑制劑達沙替尼更可承擔作為腫瘤外毒性或高級別 CRS 的解毒劑，其中需要關閉 T 細胞功能以阻止細胞激素的釋放和毒殺。

【0306】 實例 13.對於 CD19-TCB 誘導的腫瘤細胞毒殺、T 細胞活化和細胞激素釋放，JAK 抑制劑巴瑞替尼和托法替尼具有與魯索替尼相當的影響。

【0307】 為了比較 JAK 抑制劑巴瑞替尼及托法替尼與魯索替尼對 CD19-TCB 誘導的 T 細胞毒性、T 細胞活化和細胞激素釋放的影響，在 100 nM 魯索替尼、100 nM 巴瑞替尼和 100 nM 托法替尼存在下，將 PBMC 與 CTV 標記的 SUDLH-8 腫瘤細胞和濃度遞增的 CD19- TCB 共同培養 (**圖 69**)。在測定終點 (24 小時)，藉由以存活/死亡染色排除死亡的 SUDLH-8 細胞，以流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞的毒殺。在 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現亦藉由流式細胞分析技術測量作為 T 細胞活化的讀數。最後，

在測定的上清液中測量細胞激素的含量以評估 JAK 抑制劑對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。

【0308】 與魯索替尼類似，巴瑞替尼和托法替尼並不能防止 CTV 標記的 SUDLH-8 腫瘤細胞 之 CD19-TCB 依賴性毒殺 (**圖 70**)，也不能防止 CD25 和 CD69 在 CD4+ T 細胞 (**圖 71A** 和 **B**) 和 CD8+ T 細胞 (**圖 71C** 和 **D**) 上的表現。此外，JAK 抑制劑巴瑞替尼和托法替尼可防止 CD19-TCB 誘導的 IFN-γ、TNF-α、IL-6 和 GM-CSF 釋放，並在較低程度上防止 IL-2 釋放 (**圖 72**)，此與魯索替尼相當。巴瑞替尼和托法替尼似乎與魯索替尼一樣有效，可防止 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不阻斷*活體外* T 細胞活化和 T 細胞毒性。

【0309】 最後，此實驗表明，巴瑞替尼和托法替尼可代表兩種另外的 JAK 抑制劑，用於減輕 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放，作為魯索替尼的替代品。

【0310】 實例 14.JAK 抑制劑魯索替尼、mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司以及 Src 抑制劑達沙替尼對於當前 CRS 緩解方法的比較。

【0311】 為了驗證 JAK 和 mTOR 抑制劑的使用是否與目前用於減輕 TCB 誘導的細胞激素釋放的方法相當，我們比較了激酶抑制劑對於皮質類固醇地塞米松及對於*活體外*使用抗 TNF-α 抗體和抗 IL-6R 抗體的影響。因此，在 mTOR、JAK 和 Src 抑制劑以及地塞米松、抗 TNF-α 抗體 (aTNF-α；Biolegend #502922 (抗體 Mab11)) 和抗 IL-6R 抗體 (aIL-6R；Roche 內部) 存在下，將 PBMC 與 CTV 標記的 SUDLH-8 腫瘤細胞及濃度遞增的 CD19-TCB 共同培養 (**圖 73**)。在測定終點 (24 小時)，藉由以存活/死亡染色排除死亡的 SUDLH-8 細胞，以流式細胞分析技術測量 CTV 標記的 SUDLH-8 細胞的毒殺，以評估不同減輕方法對 CD19-TCB 依賴性毒殺的影響。然後，亦藉由流式細胞分析技術測量 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現，作為對 T 細胞活化影響的讀數。最後，

在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以解決 JAK 抑制劑對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。

【0312】 與地塞米松、抗 TNF-α 抗體和抗 IL-6R 抗體相比，mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司，以及 JAK1/2 抑制劑魯索替尼，不能阻止 CTV SUDLH-8 細胞的 CD19-TCB 依賴性毒殺，此與 Src 抑制劑達沙替尼並不同 (**圖 74**)。此外，mTOR 和 JAK 抑制劑以及地塞米松、抗 TNF-α 和抗 IL-6R 並不防止 CD25 的表現 (**圖 75A** 和 **C**、**圖 76A** 和 **C**) 和 CD69 (**圖 75B** 和 **D**、**圖 76B** 和 **D**) 在 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上，與完全阻斷 T 細胞活化的 Src 抑制劑達沙替尼相反。最後，mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司以及 JAK1/2 抑制劑魯索替尼對 CD19-TCB 誘導的 IFN-γ 和 TNF-α 的影響與地塞米松的影響相當 (**圖 77**)。mTOR 抑制劑對 CD19-TCB 誘導的 IL-2 和 GM-CSF 的影響與地塞米松的影響相當，但 JAK1/2 抑制劑魯索替尼對這兩種細胞激素的影響較弱 (**圖 77**)。JAK 和 mTOR 抑制劑降低 CD19-TCB 誘導的 IFN-γ、IL-2、TNF-α 和 GM-CSF 的影響強於抗 IL-6R 抗體的影響，該抗 IL-6R 抗體僅略微降低 IFN-γ、IL-2、TNF-α 和 GM-CSF 含量，或抗 TNF-α 抗體的影響，該抗體特異性降低 TNF-α，並在較低程度上降低 IFN-γ、IL-2 和 GM-CSF。最後，Src 抑制劑達沙替尼顯示完全抑制 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放 (**圖 77**)，與毒殺和 T 細胞活化的抑制相關。

【0313】 總之，此實驗表明，mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司以及 JAK1/2 抑制劑魯索替尼的影響與皮質類固醇地塞米松在減少 CD19-TCB 依賴性細胞激素釋放的影響上相當，但並不防止 T 細胞的細胞毒性和 T 細胞活化。此外，mTOR 抑制劑西羅莫司、替西羅莫司和依維莫司以及 JAK1/2 抑制劑魯索替尼對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響被證明強於阻斷 IL-6R 和 TNF-α。綜上所述，該資料強調 JAK 和 mTOR 抑制劑可以代表對於使用抗 IL-

6R 或抗 TNF-α 抗體甚至皮質類固醇的替代方法，用以減輕 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放。

【0314】 實例 15.西羅莫司 (作為例示性 mTOR 抑制劑)、魯索替尼 (作為例示性 JAK 抑制劑) 和達沙替尼 (作為例示性 Src 抑制劑) 對於從預活化的效應細胞的 CD19-TCB 誘導之細胞激素釋放的影響。

【0315】 為了評估 mTOR 抑制劑西羅莫司、JAK1/2 抑制劑魯索替尼和 Src 抑制劑達沙替尼是否可防止由 CD19-TCB 處理所誘導之細胞激素的進一步釋放，在活化 24 小時後將它們添加至*活體外*毒殺測定中 (**圖 78**)。在此測定中，在劑量遞增的 CD19-TCB 存在下將 CTV 標記的 NALM-6 腫瘤細胞與 PBMC 共同培養 24 小時。在 24 小時，於系統中加入 100 nM 魯索替尼、100 nM 西羅莫司或 100 nM 達沙替尼。為了驗證在添加不同激酶抑制劑之前 T 細胞是否被活化，在 24 小時時測量了腫瘤細胞毒殺和細胞激素釋放 (**圖 79** 和 **80**)。最後，在 48 小時測量細胞激素釋放和腫瘤細胞毒殺，以評估添加 100 nM 魯索替尼、100 nM 西羅莫司或 100 nM 達沙替尼對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響，作為與對毒殺的影響的比較。

【0316】 在 24 小時時，以 CD19-TCB 處理導致 CTV 標記的 NALM-6 腫瘤細胞毒殺 (**圖 79**) 和 IFN-γ (**圖 80A**)， TNF-α (**圖 80B**)、IL-2 (**圖 80C**) 和 IL-6 (**圖 80D**) 的釋放，表明 T 細胞在加入激酶抑制劑之前被活化。在 48 小時測量時，添加 100 nM 魯索替尼或 100 nM 西羅莫司並不能防止 CTV 標記的 NALM-6 腫瘤細胞毒殺 (**圖 79**)，而添加 100 nM 達沙替尼適度降低對 NALM-6 腫瘤細胞的毒殺。然而，添加 100 nM 西羅莫司或 100 nM 達沙替尼防止在 24 小時和 48 小時之間 IFN-γ、TNF-α、IL-2 和 IL-6 的進一步釋放 (**圖 80**)，而添加 100 nM 魯索替尼僅防止 IFN-γ、TNF-α 和 IL-6 的進一步釋放，並在較低程度上防止 IL-2 釋放 (**圖 80**)。

【0317】 總體而言，該實驗表明 mTOR 抑制劑西羅莫司和 JAK1/2 抑制劑魯索替尼可快速阻止 CD19-TCB 誘導的細胞激素從預活化的效應細胞中釋放，同時不影響 CD19-TCB 的功效。另一方面，Src 抑制劑達沙替尼可快速關閉 CD19-TCB 誘導的細胞激素從預活化的效應細胞中釋放，同時亦降低 CD19-TCB 誘導的 T 細胞毒性。

【0318】 實例 16.JAK 抑制劑魯索替尼、Src 抑制劑達沙替尼和 mTOR 抑制劑西羅莫司在人源化 NSG 小鼠中減少 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響與對於皮質類固醇地塞米松和甲基培尼皮質醇 (methylprednisolone) 的影響以及對於以奧比妥珠單抗 (obinutuzumab) 預處理的影響相當。

【0319】 JAK1/2 抑制劑魯索替尼、mTOR 抑制劑西羅莫司、Src 抑制劑達沙替尼、以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理以及皮質類固醇地塞米松和甲基培尼皮質醇對於 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放與 B 細胞耗竭的影響在*活體內*進行評估。因此，人源化 NSG 小鼠以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理，然後以 0.5 mg/kg CD19-TCB 處理，或是以 0.5 mg/kg CD19-TCB 與 (i) 4 x 5 mg/kg 西羅莫司、(ii) 6 x 30 mg/kg 魯索替尼、(iii) 6 x 50 mg/kg 達沙替尼、(iv) 2 x 1 mg/kg、1 x 0.5 mg/kg 及 1 x 0.25 mg/kg 地塞米松、或 (v) 2 x 10 mg/kg、1 x 5 mg/kg 及 1 x 2.5 mg/kg 甲基培尼皮質醇共同處理 (**圖 81**)。為了在臨床中最好地重現魯索替尼、達沙替尼和西羅莫司的藥效學概貌並驗證由產生的暴露是否足以防止 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放，給予達沙替尼和魯索替尼每天口服兩次，並給予西羅莫司第一天每天兩次，然後每天一次。

【0320】 在 48 小時和 72 小時，藉由尾靜脈抽血收集血液，並藉由流式細胞分析技術測量 CD20+ B 細胞計數 (**圖 82A** 和 **B**)，以評估不同處理對於 CD19-TCB 誘導的 B 細胞耗竭的影響。在 48 小時和 72 小時，以阿托珠單抗 (Gazyva®) 預處理 (GpT) 然後以 CD19-TCB 處理的作用導致 B 細胞完全耗竭，類似於單獨

使用 CD19-TCB 處理。另一方面，魯索替尼 (ruxo) 和西羅莫司 (siro)，類似於地塞米松 (dexa) 和甲基培尼皮質醇 (MP)，略微防止 B 細胞耗竭，抑制作用比 Src 抑制劑達沙替尼 (dasa) 更輕微，不能完全防止 CD19-TCB 功效 (**圖 82A**)。在 72 小時時，魯索替尼和西羅莫司的影響與地塞米松的影響相當，但在防止 B 細胞耗竭方面似乎強於甲基培尼皮質醇 (**圖 82B**)，表明對於 CD19-TCB 活性抑制作用很小。在 72 小時後，達沙替尼不再完全阻斷 B 細胞耗竭。它的半衰期約為 6-7 小時，而達沙替尼每天僅給予兩次，缺乏暴露可能可解釋 CD19-TCB 部分活化，導致 B 細胞耗竭。在實驗結束時 (72 小時)，收集脾臟並藉由流式細胞分析技術測量 B 細胞計數 (**圖 83**)。與血液中的觀察結果一致，魯索替尼和西羅莫司僅部分防止 CD19-TCB 誘導的 CD20+ B 細胞耗竭，與地塞米松相當。然而，它們的抑制作用強於甲基培尼皮質醇 (**圖 83**)。在 72 小時時，達沙替尼不能防止脾臟中的 CD20+ B 細胞耗竭，可能是由於缺乏暴露 (**圖 83**)。正如預期，由於兩種消耗抗體的雙重活性，以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理導致 CD20+ B 細胞的完全消耗 (**圖 83**)。

【0321】 最後，在以 CD19-TCB 處理後 6 小時從血液中收集血清，並藉由 Luminex 測量細胞激素含量以評估不同處理對 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響 (**圖 84**)。西羅莫司、魯索替尼、地塞米松和甲基培尼皮質醇對 CD19-TCB 誘導的 IFN-γ (**圖 84A**) 和 IL-6 釋放 (**圖 84D**) 的影響與以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理相當。西羅莫司、地塞米松和甲基培尼皮質醇對 CD19-TCB 誘導的 IL-2 (**圖 84B**) 和 TNF-α (**圖 84C**) 的影響與以 Gazyva 預處理相當。然而，魯索替尼在降低 IL-2 和 TNF-α 方面的影響似乎稍弱。總體而言，發現 mTOR 和 JAK 抑制劑對於減少 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放方面的影響與皮質類固醇地塞米松和甲基培尼皮質醇的影響以及以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理的影響相當，而魯索替尼對 IL-2 和 TNF-α 釋放的影響較溫和。

【0322】 與*活體外*研究結果一致，魯索替尼或西羅莫司與 CD19-TCB 的共同處理允許在 NSG 人源化小鼠中控制 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不能完全防止 B 細胞耗竭，類似於地塞米松甲基培尼皮質醇。此外，魯索替尼、西羅莫司、地塞米松和甲基培尼皮質醇在防止 CD19-TCB 誘導的細胞激素釋放方面的作用與以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理相當，儘管後者誘導了更強的 B 細胞耗竭。

【0323】 實例 17.JAK 抑制劑費拉替尼防止 CEA-TCB 介導的細胞激素釋放，同時對 TCB 介導的標靶細胞毒殺影響最小。

【0324】 為了評估另一種 JAK 抑制劑費拉替尼對 TCB 介導的標靶細胞毒殺、T 細胞活化和細胞激素釋放的影響，我們在補充有濃度遞增的費拉替尼的培養基中使用周邊血液單核細胞 (PBMC)、NucLight Red (NLR) MKN45 腫瘤細胞和 10 nM CEA-TCB 進行毒殺測定。Incucyte® system (Essen Bioscience) 用於捕獲隨時間丟失的紅色螢光蛋白訊號，作為標靶細胞毒殺的示值讀數。範圍從 12.5 nM 至 1 μM 的費拉替尼劑量僅部分降低 10 nM CEA-TCB 對 MKN45 NLR 標靶細胞的毒殺，低於 1 μM 的劑量僅有很小的影響 (**圖 85**)。

【0325】 在測定終點 (72 小時)，藉由流式細胞分析技術測量活的 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現，作為 T 細胞活化的讀數。費拉替尼在低於 1 μM 的濃度下不影響 CD4+ T 細胞 (**圖 86A、B**) 和 CD8+ T 細胞 (**圖 86C、D**) 上 CD69 和 CD25 的表現。

【0326】 藉由 Luminex 在測定的上清液中測量細胞激素的含量，以確定費拉替尼對 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放的影響。在存在 50 nM 至 1 μM 濃度的費拉替尼時，IFN-γ、IL-2、TNF-α、IL-6 和 IL-8 的含量降低 (**圖 87**)。

【0327】 總體而言，此資料表明，費拉替尼減少了 CEA-TCB 誘導的細胞激素釋放，同時不防止 T 細胞的細胞毒性和 T 細胞活化。

【0328】 實例 18. mTOR 及 JAK 抑制劑並不抑制攜帶淋巴瘤 PDX 小鼠中的 CD19-TCB 抗腫瘤活性。

【0329】 為了評估 mTOR 和 JAK 抑制相較於 Src 抑制、地塞米松或奧比妥珠單抗 (GpT) 預處理對 CD19-TCB 抗腫瘤活性的影響，我們在人源化 NSG 小鼠中使用淋巴瘤患者來源的異種移植 (PDX) 模型。首先，我們使用毒殺測定驗證了 PDX 細胞在*活體外*以 CD19-TCB 處理時是否被毒殺。在 CD19-TCB 存在下，將淋巴瘤 PDX 細胞與 PBMC (E:T=10:1) 共同培養。CD19-TCB 在*活體外*(**圖 88A**) 有效去除淋巴瘤 PDX 細胞，導致 T 細胞活化，如 CD4+ T 細胞和 CD8+ T 細胞上 CD25 和 CD69 的表現所示 (**圖 88 B-E**)。然後，將攜帶 PDX 的小鼠單獨以載劑、西羅莫司 (5 mg/kg)、魯索替尼 (30 mg/kg)、達沙替尼 (20 mg/kg)、地塞米松 (2 次 1 mg/kg、0.5 mg/kg、4 次 0.25 mg/kg) 或與 CD19-TCB (0.5 mg/kg)、CD19-TCB (0.5 mg/kg) 組合作為單一療法或與奧比妥珠單抗預處理 (GpT) (30 mg/kg) 組合。在第一次以 CD19-TCB 處理前一小時給予不同的激酶抑制劑和地塞米松，然後每天一次或兩次，持續三天以抑制細胞激素釋放，主要發生在第一次輸注時 (**圖 89**)。此外，還在每次隨後的處理前一小時投予，以防止殘留的細胞激素分泌 (**圖 89**)。地塞米松和西羅莫司二者作為單一藥劑給予，均誘導腫瘤生長減少，但不顯著 (**圖 90** 和 **93**)。當與 CD19-TCB 組合時，產生的抗腫瘤活性與單獨的 CD19-TCB 相當，但西羅莫司和地塞米松在第一次輸注時抑制了 IL-2、IFN-γ、TNF-α 和 IL-6 的釋放 (**圖 90**、**93** 和 **94**)。類似地，與魯索替尼共同處理對 CD19-TCB 抗腫瘤活性的干擾最小，並降低了 IL-6，並在較低程度上降低了 IFN-γ、TNF-α 和 IL-2 的釋放 (**圖 91** 和 **94**)。魯索替尼、西羅莫司和地塞米松對細胞激素含量的影響似乎強於奧比妥珠單抗預處理的影響，而它們對抗腫瘤效果的影響相似 (**圖 90**、**91**、**93** 和 **94**)。此外，達沙替尼在第一次輸注時並未顯著抑制 CD19-TCB 抗腫瘤功效，同時強烈降低 T 細胞衍生的細胞激素 (IFN-γ、TNF-

α、IL-2 和 IL-6)。這表明在本實驗中短暫使用達沙替尼並沒有持續阻斷 CD19-TCB 誘導的 T 細胞毒性，因為達沙替尼的抑制作用是可逆的 (**圖 92** 和 **94**)。

【0330】 綜上所述，此資料顯示，短暫使用 JAK 抑制劑魯索替尼和 mTOR 抑制劑西羅莫司不會損害抗腫瘤功效，同時在第一次輸注 CD19-TCB 時抑制 T 細胞介導的細胞激素釋放，支持將這些化合物用於減少與 TCB 相關的 CRS。

【0331】 實例 19.魯索替尼 (JAK1/2 抑制劑)、mTOR 抑制劑 (西羅莫司、依維莫司、替西羅莫司) 和達沙替尼 (Src 抑制劑) 在非腫瘤人源化 NSG 小鼠中對 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放和 B 細胞耗竭的影響。

【0332】 在此實驗中，我們驗證了*活體內*小分子激酶抑制劑的短 PK/PD 特性與 CD20-TCB 的長 PK/PD 特性的組合是否有在人源化 NSG 小鼠中效地關閉細胞激素的釋放。此外，我們亦藉由測量周邊血液中的 CD19+ B 細胞，評估 JAK 和 mTOR 抑制劑相較於 Src 抑制劑達沙替尼在 CD20-TCB 介導的 B 細胞耗竭上的影響。

【0333】 將人源化 NSG 小鼠單獨以 0.15 mg/kg CD20-TCB 處理，或與 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、替西羅莫司、依維莫司)、JAK 抑制劑 (魯索替尼)、Src 抑制劑 (達沙替尼) 組合處理，或以奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理，如**圖 95** 所述。測試不同劑量的 mTOR、JAK 和 Src 激酶抑制劑，以確定減少 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放同時最小程度地干擾 B 細胞耗竭的最佳劑量。測試了西羅莫司 2、5 和 10 mg/kg 的劑量，其他 mTOR 抑制劑替西羅莫司和依維莫司僅使用最高劑量 10 mg/kg。對魯索替尼測試了 30 和 60 mg/kg 的劑量，對達沙替尼測試了 10 和 50 mg/kg 的劑量。為了重現臨床投予途徑，每天口服 (p.o.) 給予一次或兩次不同的激酶抑制劑，如**圖 95** 中所示。在以 CD20-TCB 處理後 4 小時和 24 小時，對小鼠進行抽血 (**圖 95**)，以收集血清用於藉由 Luminex 的細胞激素含量

測量。此外，在以 CD20-TCB 處理後 48 小時和 72 小時 (終止) 收集血液，以藉由流式細胞分析技術測量 CD19+ B 細胞在人類 CD45+ 細胞中的百分比 (**圖 95**)。

【0334】 因此，與 2、5、10 mg/kg 的西羅莫司、10 mg/kg 的依維莫司或 10 mg/kg 的替西羅莫司 (mTOR 抑制劑) 共同處理不會干擾 CD20-TCB 誘導的 B 細胞耗竭，如周邊血液中人類 CD45+ 細胞中 CD19+ B 細胞的百分比所示 (**圖 96A-C**)。然而，mTOR 抑制劑可持久減少 CD20-TCB 誘導的細胞激素釋放，如 IFN-γ (**圖 97 A、B**)、IL-2 (**圖 98 A、B**)、TNF-α (**圖 99 A、B**)、IL-6 (**圖 100 A、B**)、IP-10 (**圖 101 A、B**)、MCP-1 (**圖 102A、B**)、IL-8 (**圖 103A、B**) 和 GM-CSF (**圖 104A、B**) 的含量所示。此外，在此模型中，藉由 mTOR 抑制劑對細胞激素釋放的減少與達沙替尼和奧比妥珠單抗 (Gazyva®) 預處理相當 (**圖 97-104**)。總體而言，mTOR 抑制劑強烈降低 CD20-TCB 介導的細胞激素釋放，同時在 2 至 10 mg/kg 的劑量範圍內保持 B 細胞耗竭，這與關閉 TCB 活性長達 48 小時的 Src 抑制劑達沙替尼不同。

【0335】 與 30 和 50 mg/kg 的魯索替尼 (JAK1/2 抑制劑) 共同處理輕微干擾了 CD20-TCB 誘導的 B 細胞耗竭，如周邊血液中人類 CD45+ 細胞中 CD19+ B 細胞的百分比所示 (**圖 96A-C**)。對 B 細胞耗竭的抑制作用似乎取決於魯索替尼的劑量。此外，魯索替尼持久地減少了 CD20-TCB 介導的細胞激素釋放，除了 IL-2 和 GM-CSF 釋放，如 IFN-γ (**圖 97 A、B**)、IL-2 (**圖 98 A、B**)、TNF-α (**圖 99 A、B**)、IL-6 (**圖 100 A、B**), IP- 10 (**圖 101 A, B**)、MCP-1 (**圖 102 A、B**)、IL-8 (**圖 103 A、B**) 和 GM -CSF (**圖 104 A、B**) 的含量所示。總體而言，與 JAK1/2 抑制劑魯索替尼共同處理減少了 CD20-TCB 介導的細胞激素釋放，但 IL-2 和 GM-CSF 除外，同時在 30 至 60 mg/kg 的劑量範圍內最低限度地防止 B 細胞耗竭，不像 Src 抑制劑達沙替尼完全關閉 TCB 活性長達 48 小時。

【0336】總之，此資料顯示 mTOR 和 JAK 抑制劑與 CD20-TCB 的組合減少了人源化 NSG 中細胞激素的釋放，與*活體外*觀察結果一致。與 Src 抑制劑達沙替尼相比，JAK 抑制劑 (魯索替尼) 和 mTOR 抑制劑 (西羅莫司、依維莫司和替西羅莫司) 對 CD20-TCB 介導的 B 細胞耗竭的干擾最小。此表明它們可代表一種可行的方法，可在第一次輸注 CD20-TCB 時防止細胞激素釋放，同時保持抗腫瘤功效。

* * *

【0337】儘管為了清楚理解起見，藉由圖示和實例的方式對上述發明進行了詳細描述，但是這些描述和實例不應被解釋為限製本發明的範圍。本文引用的所有專利和科學文獻的公開內容均以引用的方式明確納入其全部內容。

【序列表】

<110> 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (F. HOFFMANN-LA ROCHE AG)

<120> T 細胞接合劑相關之不良反應之預防或減輕

<130> P36507

<150> EP20206567.8
<151> 2020-11-10

<150> EP21155823.4
<151> 2021-02-08

<150> EP21172623.7
<151> 2021-05-07

<150> EP21187472.2
<151> 2021-07-23

<160> 80

<170> PatentIn 版 3.5

<210> 1
<211> 207
<212> PRT
<213> 智人

<400> 1

```
Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1               5                  10                  15


Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
            20                  25                  30


Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
        35                  40                  45


Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
    50                  55                  60


Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65                  70                  75                  80
```

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
85 90 95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
100 105 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
115 120 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
130 135 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145 150 155 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
165 170 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
180 185 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195 200 205

<210> 2
<211> 198
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 2

Met Gln Ser Gly Thr Arg Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1 5 10 15

Ile Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Ser Ile Thr
20 25 30

Gln Thr Pro Tyr Gln Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr

35 40 45

Cys Ser Gln His Leu Gly Ser Glu Ala Gln Trp Gln His Asn Gly Lys
50 55 60

Asn Lys Glu Asp Ser Gly Asp Arg Leu Phe Leu Pro Glu Phe Ser Glu
65 70 75 80

Met Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Asn Pro
85 90 95

Glu Asp Ala Ser His His Leu Tyr Leu Lys Ala Arg Val Cys Glu Asn
100 105 110

Cys Met Glu Met Asp Val Met Ala Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp
115 120 125

Ile Cys Ile Thr Leu Gly Leu Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys
130 135 140

Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly
145 150 155 160

Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn
165 170 175

Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg Lys Gly Gln Gln Asp Leu Tyr Ser Gly
180 185 190

Leu Asn Gln Arg Arg Ile
195

<210> 3
<211> 225
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

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

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        195                 200                 205
```

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro
225

<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 4

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 5
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 5

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 6
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 6

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 7

Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 8
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 8

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 9

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 10
<211> 125

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 10

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 11
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 11

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

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

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 12
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 12

Glu Phe Gly Met Asn
1 5

<210> 13
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 13

Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 14

Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 15

Lys Ala Ser Ala Ala Val Gly Thr Tyr Val Ala
1 5 10

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 16

Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg
1 5

<210> 17
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 17

His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu Phe Thr
1 5 10

<210> 18
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 18

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 19

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

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

<210> 20
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 20

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Lys Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Tyr Thr Tyr Pro Leu
85 90 95

Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu 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> 21
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 21

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

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

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

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

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

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

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

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

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

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

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 22
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 22

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

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

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala
100 105 110

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

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

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
145 150 155 160

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

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

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys
195 200 205

Val Glu Pro Lys Ser Cys
210

<210> 23
<211> 694
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 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 Glu Phe
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asn Thr Lys Thr Gly Glu Ala Thr Tyr Val Glu Glu Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Phe Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Trp Asp Phe Ala Tyr Tyr Val Glu Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

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

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

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

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu
225                 230                 235                 240

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                245                 250                 255

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val
            260                 265                 270

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Arg Ser
        275                 280                 285

Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
    290                 295                 300

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
305                 310                 315                 320

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His
                325                 330                 335

Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
            340                 345                 350
```

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val
355 360 365

Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser
370 375 380

Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln
385 390 395 400

Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val
405 410 415

Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu
420 425 430

Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu
435 440 445

Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg
450 455 460

Gly Glu Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
465 470 475 480

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
485 490 495

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
500 505 510

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
515 520 525

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
530 535 540

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
545 550 555 560

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly
565 570 575

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
580 585 590

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
595 600 605

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
610 615 620

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
625 630 635 640

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
645 650 655

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
660 665 670

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
675 680 685

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
690

<210> 24
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 24

Tyr Ser Trp Ile Asn
1 5

<210> 25
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 25

Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 26

Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr
1 5 10

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 27

Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 28
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 28

Gln Met Ser Asn Leu Val Ser
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 29

Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr
1 5

<210> 30
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 30

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 31
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 31

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 32
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 32

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg
115 120 125

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

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

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

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

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

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

<210> 33
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 33

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

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

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

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

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 34
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 34

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 35
<211> 672
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 35

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr Gln Glu
225 230 235 240

Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly
245 250 255

Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln
260 265 270

Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys
275 280 285

Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly
290 295 300

Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu
305 310 315 320

Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly
325 330 335

Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
340 345 350

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
355 360 365

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
370 375 380

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
385 390 395 400

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
405 410 415

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
420 425 430

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
435 440 445

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
450 455 460

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
465 470 475 480

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
485 490 495

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
500 505 510

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
515 520 525

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
530 535 540

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu
545 550 555 560

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
565 570 575

Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
580 585 590

Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
595 600 605

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
610 615 620

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
625 630 635 640

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
645 650 655

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
660 665 670

<210> 36
<211> 297
<212> PRT
<213> 智人

<400> 36

```
Met Thr Thr Pro Arg Asn Ser Val Asn Gly Thr Phe Pro Ala Glu Pro
1               5                  10                  15

Met Lys Gly Pro Ile Ala Met Gln Ser Gly Pro Lys Pro Leu Phe Arg
            20                  25                  30

Arg Met Ser Ser Leu Val Gly Pro Thr Gln Ser Phe Phe Met Arg Glu
        35                  40                  45

Ser Lys Thr Leu Gly Ala Val Gln Ile Met Asn Gly Leu Phe His Ile
    50                  55                  60

Ala Leu Gly Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Gly Ile Tyr Ala Pro Ile
65                  70                  75                  80

Cys Val Thr Val Trp Tyr Pro Leu Trp Gly Gly Ile Met Tyr Ile Ile
                85                  90                  95

Ser Gly Ser Leu Leu Ala Ala Thr Glu Lys Asn Ser Arg Lys Cys Leu
            100                 105                 110

Val Lys Gly Lys Met Ile Met Asn Ser Leu Ser Leu Phe Ala Ala Ile
        115                 120                 125

Ser Gly Met Ile Leu Ser Ile Met Asp Ile Leu Asn Ile Lys Ile Ser
    130                 135                 140

His Phe Leu Lys Met Glu Ser Leu Asn Phe Ile Arg Ala His Thr Pro
145                 150                 155                 160

Tyr Ile Asn Ile Tyr Asn Cys Glu Pro Ala Asn Pro Ser Glu Lys Asn
                165                 170                 175

Ser Pro Ser Thr Gln Tyr Cys Tyr Ser Ile Gln Ser Leu Phe Leu Gly
            180                 185                 190

Ile Leu Ser Val Met Leu Ile Phe Ala Phe Phe Gln Glu Leu Val Ile
```

195 200 205

Ala Gly Ile Val Glu Asn Glu Trp Lys Arg Thr Cys Ser Arg Pro Lys
210 215 220

Ser Asn Ile Val Leu Leu Ser Ala Glu Glu Lys Lys Glu Gln Thr Ile
225 230 235 240

Glu Ile Lys Glu Glu Val Val Gly Leu Thr Glu Thr Ser Ser Gln Pro
245 250 255

Lys Asn Glu Glu Asp Ile Glu Ile Ile Pro Ile Gln Glu Glu Glu Glu
260 265 270

Glu Glu Thr Glu Thr Asn Phe Pro Glu Pro Pro Gln Asp Gln Glu Ser
275 280 285

Ser Pro Ile Glu Asn Asp Ser Ser Pro
290 295

<210> 37
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 37

Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 38
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 38

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 39
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 39

Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 40

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 41
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 41

Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser
1 5

<210> 42
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 42

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 43
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 43

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 44

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

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

<210> 45
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 45

Lys Ala Met Ser
1

<210> 46
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 46

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

Gly

<210> 47
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 47

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu
1 5

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 48

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 49
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 49

Asp Ala Ser Ile Arg Asp Ile
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 50

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 51
<211> 114
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 51

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Tyr Phe Ser Phe Lys Ala Met
20 25 30

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

Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Asp Asn Val Leu Gly
50 55 60

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

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

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

Ser Ser

<210> 52
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 52

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 53
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 53

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys Ser Gly
115 120 125

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 54
<211> 442
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 54

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Tyr Phe Ser Phe Lys Ala Met
20 25 30

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

```
Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Asp Asn Val Leu Gly
    50                  55                  60

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

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

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
            100                 105                 110

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

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
    130                 135                 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145                 150                 155                 160

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

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

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
        195                 200                 205

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
    210                 215                 220

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

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
```

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

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

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

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

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

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

Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly
355 360 365

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

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

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

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 55
<211> 229
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 55

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro
115 120 125

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
130 135 140

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
145 150 155 160

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
165 170 175

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
180 185 190

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
195 200 205

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
210 215 220

Asn Arg Gly Glu Cys
225

<210> 56
<211> 665
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 56

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

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Tyr Phe Ser Phe Lys Ala Met
20 25 30

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

Ile Ser Pro Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Asp Asn Val Leu Gly
50 55 60

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

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

Asp Val Gly Phe Phe Asp Glu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
100 105 110

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

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
145 150 155 160

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

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

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
195 200 205

Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly
210 215 220

Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
225 230 235 240

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp
245 250 255

Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
260 265 270

Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser

275 280 285

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser
290 295 300

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn
305 310 315 320

Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
325 330 335

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
340 345 350

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
355 360 365

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
370 375 380

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
385 390 395 400

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
405 410 415

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
420 425 430

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
435 440 445

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
450 455 460

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
465 470 475 480

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
485 490 495

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
500 505 510

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
515 520 525

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
530 535 540

Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
545 550 555 560

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
565 570 575

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
580 585 590

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
595 600 605

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
610 615 620

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
625 630 635 640

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
645 650 655

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
660 665

<210> 57

<211> 317
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

```
Met Ser Ser Glu Gln Lys Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Val
1               5                  10                  15

Glu Ala Gln Glu Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Thr
            20                  25                  30

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Val Ser Ser Ser Ser Pro Leu Val Pro
        35                  40                  45

Gly Thr Leu Glu Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Ala Gly Pro Pro Gln
    50                  55                  60

Ser Pro Gln Gly Ala Ser Ala Leu Pro Thr Thr Ile Ser Phe Thr Cys
65                  70                  75                  80

Trp Arg Gln Pro Asn Glu Gly Ser Ser Ser Gln Glu Glu Glu Gly Pro
                85                  90                  95

Ser Thr Ser Pro Asp Ala Glu Ser Leu Phe Arg Glu Ala Leu Ser Asn
            100                 105                 110

Lys Val Asp Glu Leu Ala His Phe Leu Leu Arg Lys Tyr Arg Ala Lys
        115                 120                 125

Glu Leu Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Glu Arg Val Ile Lys Asn Tyr
    130                 135                 140

Lys Arg Cys Phe Pro Val Ile Phe Gly Lys Ala Ser Glu Ser Leu Lys
145                 150                 155                 160

Met Ile Phe Gly Ile Asp Val Lys Glu Val Asp Pro Ala Ser Asn Thr
                165                 170                 175
```

Tyr Thr Leu Val Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly
180 185 190

Asn Asn Gln Ile Phe Pro Lys Thr Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Gly
195 200 205

Thr Ile Ala Met Glu Gly Asp Ser Ala Ser Glu Glu Glu Ile Trp Glu
210 215 220

Glu Leu Gly Val Met Gly Val Tyr Asp Gly Arg Glu His Thr Val Tyr
225 230 235 240

Gly Glu Pro Arg Lys Leu Leu Thr Gln Asp Trp Val Gln Glu Asn Tyr
245 250 255

Leu Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asn Pro Ala Arg Tyr Glu Phe
260 265 270

Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Ala Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu
275 280 285

Glu His Val Val Arg Val Asn Ala Arg Val Arg Ile Ala Tyr Pro Ser
290 295 300

Leu Arg Glu Ala Ala Leu Leu Glu Glu Glu Glu Gly Val
305 310 315

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

Gly Val Tyr Asp Gly Arg Glu His Thr Val
1 5 10

<210> 59
<211> 275
<212> PRT

<213> 智人

<400> 59

Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe Phe Thr Ser Val Ser Arg Pro Gly
1 5 10 15

Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala Val Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln
20 25 30

Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ala Ala Ser Gln Arg Met Glu Pro Arg
35 40 45

Ala Pro Trp Ile Glu Gln Glu Gly Pro Glu Tyr Trp Asp Gly Glu Thr
50 55 60

Arg Lys Val Lys Ala His Ser Gln Thr His Arg Val Asp Leu Gly Thr
65 70 75 80

Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser Glu Ala Gly Ser His Thr Val Gln
85 90 95

Arg Met Tyr Gly Cys Asp Val Gly Ser Asp Trp Arg Phe Leu Arg Gly
100 105 110

Tyr His Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly Lys Asp Tyr Ile Ala Leu Lys Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala Asp Met Ala Ala Gln Thr Thr Lys
130 135 140

His Lys Trp Glu Ala Ala His Val Ala Glu Gln Leu Arg Ala Tyr Leu
145 150 155 160

Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu Arg Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys
165 170 175

Glu Thr Leu Gln Arg Thr Asp Ala Pro Lys Thr His Met Thr His His
180 185 190

Ala Val Ser Asp His Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Ser Phe
195 200 205

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

Thr Gln Asp Thr Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr
225 230 235 240

Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Gln Glu Gln Arg
245 250 255

Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu Gly Leu Pro Lys Pro Leu Thr Leu
260 265 270

Arg Trp Glu
275

<210> 60
<211> 556
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60

Met Pro Pro Pro Arg Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Leu Thr Pro Met
1 5 10 15

Glu Val Arg Pro Glu Glu Pro Leu Val Val Lys Val Glu Glu Gly Asp
20 25 30

Asn Ala Val Leu Gln Cys Leu Lys Gly Thr Ser Asp Gly Pro Thr Gln
35 40 45

Gln Leu Thr Trp Ser Arg Glu Ser Pro Leu Lys Pro Phe Leu Lys Leu
50 55 60

Ser Leu Gly Leu Pro Gly Leu Gly Ile His Met Arg Pro Leu Ala Ile

65 70 75 80

Trp Leu Phe Ile Phe Asn Val Ser Gln Gln Met Gly Gly Phe Tyr Leu
85 90 95

Cys Gln Pro Gly Pro Pro Ser Glu Lys Ala Trp Gln Pro Gly Trp Thr
100 105 110

Val Asn Val Glu Gly Ser Gly Glu Leu Phe Arg Trp Asn Val Ser Asp
115 120 125

Leu Gly Gly Leu Gly Cys Gly Leu Lys Asn Arg Ser Ser Glu Gly Pro
130 135 140

Ser Ser Pro Ser Gly Lys Leu Met Ser Pro Lys Leu Tyr Val Trp Ala
145 150 155 160

Lys Asp Arg Pro Glu Ile Trp Glu Gly Glu Pro Pro Cys Leu Pro Pro
165 170 175

Arg Asp Ser Leu Asn Gln Ser Leu Ser Gln Asp Leu Thr Met Ala Pro
180 185 190

Gly Ser Thr Leu Trp Leu Ser Cys Gly Val Pro Pro Asp Ser Val Ser
195 200 205

Arg Gly Pro Leu Ser Trp Thr His Val His Pro Lys Gly Pro Lys Ser
210 215 220

Leu Leu Ser Leu Glu Leu Lys Asp Asp Arg Pro Ala Arg Asp Met Trp
225 230 235 240

Val Met Glu Thr Gly Leu Leu Leu Pro Arg Ala Thr Ala Gln Asp Ala
245 250 255

Gly Lys Tyr Tyr Cys His Arg Gly Asn Leu Thr Met Ser Phe His Leu
260 265 270

Glu Ile Thr Ala Arg Pro Val Leu Trp His Trp Leu Leu Arg Thr Gly
275 280 285

Gly Trp Lys Val Ser Ala Val Thr Leu Ala Tyr Leu Ile Phe Cys Leu
290 295 300

Cys Ser Leu Val Gly Ile Leu His Leu Gln Arg Ala Leu Val Leu Arg
305 310 315 320

Arg Lys Arg Lys Arg Met Thr Asp Pro Thr Arg Arg Phe Phe Lys Val
325 330 335

Thr Pro Pro Pro Gly Ser Gly Pro Gln Asn Gln Tyr Gly Asn Val Leu
340 345 350

Ser Leu Pro Thr Pro Thr Ser Gly Leu Gly Arg Ala Gln Arg Trp Ala
355 360 365

Ala Gly Leu Gly Gly Thr Ala Pro Ser Tyr Gly Asn Pro Ser Ser Asp
370 375 380

Val Gln Ala Asp Gly Ala Leu Gly Ser Arg Ser Pro Pro Gly Val Gly
385 390 395 400

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Glu Gly Tyr Glu Glu Pro Asp Ser Glu Glu
405 410 415

Asp Ser Glu Phe Tyr Glu Asn Asp Ser Asn Leu Gly Gln Asp Gln Leu
420 425 430

Ser Gln Asp Gly Ser Gly Tyr Glu Asn Pro Glu Asp Glu Pro Leu Gly
435 440 445

Pro Glu Asp Glu Asp Ser Phe Ser Asn Ala Glu Ser Tyr Glu Asn Glu
450 455 460

Asp Glu Glu Leu Thr Gln Pro Val Ala Arg Thr Met Asp Phe Leu Ser

465 470 475 480

Pro His Gly Ser Ala Trp Asp Pro Ser Arg Glu Ala Thr Ser Leu Gly
485 490 495

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Met Arg Gly Ile Leu Tyr Ala Ala Pro Gln
500 505 510

Leu Arg Ser Ile Arg Gly Gln Pro Gly Pro Asn His Glu Glu Asp Ala
515 520 525

Asp Ser Tyr Glu Asn Met Asp Asn Pro Asp Gly Pro Asp Pro Ala Trp
530 535 540

Gly Gly Gly Gly Arg Met Gly Thr Trp Ser Thr Arg
545 550 555

<210> 61
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 61

Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 62
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 62

His Thr Thr Phe Pro Ser Ser Tyr Val Ser Tyr Tyr Gly Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 63

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50                  55                  60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Thr Thr Phe Pro Ser Ser Tyr Val Ser Tyr Tyr
            100                 105                 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120                 125
```

<210> 64
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 64

Ser Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 65
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 65

Ala Ser Asn Phe Pro Ala Ser Tyr Val Ser Tyr Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 66
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 66

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg Ala Ser Asn Phe Pro Ala Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 67

Asp Tyr Ile Met His
1 5

<210> 68
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 68

Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn Asp Gly Ser Lys Tyr Thr Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 69
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 69

Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 70
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 70

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser Thr Gly Thr Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 71
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 71

Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser
1 5

<210> 72
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 72

Leu Gln Leu Leu Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 73
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 73

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 74
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 74

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 75
<211> 674
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 75

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

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

Ile Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

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

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

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

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

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

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

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ala Val Val Thr
225 230 235 240

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
245 250 255

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp
260 265 270

Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
275 280 285

Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
290 295 300

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu
305 310 315 320

Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly
325 330 335

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
340 345 350

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
355 360 365

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
370 375 380

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
385 390 395 400

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
405 410 415

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
420 425 430

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

435 440 445

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
450 455 460

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
465 470 475 480

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
485 490 495

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
500 505 510

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
515 520 525

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
530 535 540

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro
545 550 555 560

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
610 615 620

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670

Ser Pro

<210> 76
<211> 674
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 76

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

```
Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
        115                 120                 125

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

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

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

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

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
        195                 200                 205

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

Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gln Ala Val Val Thr
225                 230                 235                 240

Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr
                245                 250                 255

Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp
            260                 265                 270

Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr
        275                 280                 285

Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu
    290                 295                 300

Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala Gln Pro Glu Asp Glu
```

305 310 315 320

Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly
325 330 335

Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
340 345 350

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
355 360 365

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
370 375 380

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
385 390 395 400

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
405 410 415

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
420 425 430

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
435 440 445

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
450 455 460

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
465 470 475 480

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
485 490 495

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
500 505 510

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
515 520 525

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
530 535 540

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro
545 550 555 560

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
565 570 575

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
580 585 590

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
595 600 605

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
610 615 620

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
625 630 635 640

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
645 650 655

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
660 665 670

Ser Pro

<210> 77
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 77

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Gly Thr Tyr Tyr Tyr Gly Pro Gln Leu Phe Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
        115                 120                 125

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

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

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

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
```

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

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

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Gly Ala Pro Ile
325 330 335

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

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro

<210> 78
<211> 219
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 78

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Glu Thr Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Arg Val Ser Lys Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Leu Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg
115 120 125

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

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

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

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

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

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

<210> 79
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 79

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Thr Thr Phe Pro Ser Ser Tyr Val Ser Tyr Tyr
100 105 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr

210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 80
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構建體

<400> 80

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg Ala Ser Asn Phe Pro Ala Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val
115 120 125

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys

130 135 140

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
145 150 155 160

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
165 170 175

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
195 200 205

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
210 215 220

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種用於治療個體中疾病之 T 細胞接合劑，其中該治療包含

(a) 對該個體投予該 T 細胞接合劑，及

(b) 對該個體投予 Janus 激酶 (JAK) 及/或哺乳動物雷帕黴素標靶蛋白 (mTOR) 傳訊抑制劑。

【請求項2】

一種 T 細胞接合劑在製造用於治療個體中疾病之藥物中的用途，其中該治療包含

(a) 對該個體投予該 T 細胞接合劑，及

(b) 對該個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【請求項3】

一種治療個體中疾病之方法，其中該方法包含

(a) 對該個體投予 T 細胞接合劑，及

(b) 對該個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【請求項4】

如請求項 1 至 3 中任一項之 T 細胞接合劑、用途或方法，其中投予該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑用於預防或減輕與投予該 T 細胞接合劑相關之不良反應。

【請求項5】

一種 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑，其用於預防或減輕與對個體投予 T 細胞接合劑相關之不良反應。

【請求項6】

一種 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑在製造用於預防或減輕與投予 T 細胞接合劑相關之不良反應之藥物中的用途。

【請求項7】

一種預防或減輕與對個體投予 T 細胞接合劑相關之不良反應的方法，該方法包含對該個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【請求項8】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 mTOR 抑制劑，視情況地選自由西羅莫司 (sirolimus)、替西羅莫司 (temsirolimus) 及依維莫司 (everolimus) 所組成之群組。

【請求項9】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 JAK 抑制劑，視情況地為 JAK1 及/或 JAK2 抑制劑，視情況地為魯索替尼 (ruxolitinib)、巴瑞替尼 (baricitinib)、托法替尼 (tofacitinib) 或費拉替尼 (fedratinib)。

【請求項10】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中 (投予) 該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑導致抑制與投予該 T 細胞接合劑相關之不良反應。

【請求項11】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中 (投予) 該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑不導致抑制與投予該 T 細胞接合劑相關之所期望的效果。

【請求項12】

如請求項 10 或 11 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該抑制為完全抑制，或臨床上有意義及/或統計學上顯著的抑制。

【請求項13】

如請求項 4 至 12 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該不良反應為

(i) 細胞激素釋放症候群 (CRS)；

(ii) 發燒、低血壓及/或缺氧；及/或

(iii) 一種或多種細胞激素的血清中含量升高，特定而言為選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組的一種或多種細胞激素。

【請求項14】

如請求項 4 至 13 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中投予該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑係在 (該個體中) 該不良反應 (臨床上) 顯現時。

【請求項15】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予係

(i) 在投予該 T 細胞接合劑之前、同時或之後；

(ii) 間歇性或連續性地；及/或

(iii) 口服或腸胃外投予，特定而言為靜脈內投予。

【請求項16】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中投予該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑與該 T 細胞接

合劑的第一次投予相關，並且視情況地在該 T 細胞接合劑的該第一次投予之前、同時或之後投予。

【請求項17】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞接合劑的投予係

(i) 以有效劑量投予；

(ii) 腸胃外投予，特定而言為靜脈內投予；及/或

(iii) 對該個體第一次投予該 T 細胞接合劑。

【請求項18】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞接合劑為 T 細胞雙特異性抗體或 CAR-T 細胞。

【請求項19】

如請求項 18 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體結合至 CD3 及標靶細胞抗原。

【請求項20】

如請求項 18 或 19 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含結合至 CD3 之抗原結合部分以及結合至標靶細胞抗原之抗原結合部分。

【請求項21】

如請求項 19 或 20 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該標靶細胞抗原為癌胚抗原 (CEA)。

【請求項22】

如請求項 21 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途

或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CEA 且包含：含有 SEQ ID NO: 12 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 15 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項23】

如請求項 21 或 22 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 CEA 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項24】

如請求項 21 至 23 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該

Fab 輕鏈與該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CEA 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 12 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 15 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項25】

如請求項 21 至 24 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列，及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 19 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈

可變區序列。

【請求項26】

如請求項 23 至 25 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項27】

如請求項 18 至 26 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體為賽畢妥單抗(cibisatamab)。

【請求項28】

如請求項 19 或 20 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該標靶細胞抗原為 CD20。

【請求項29】

如請求項 28 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CD20 且包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈

CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項30】

如請求項 28 或 29 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 CD20 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項31】

如請求項 28 至 30 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈與該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CD20 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項32】

如請求項 28 至 31 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列，及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 31 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項33】

如請求項 28 至 32 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分為習用 Fab 分子，其中在恆定域 CL 中，位置 124 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或

組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且在恆定域 CH1 中，位置 147 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【請求項34】

如請求項 30 至 33 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項35】

如請求項 18 至 20 及請求項 28 至 34 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體為格菲妥單抗 (glofitamab)。

【請求項36】

如請求項 19 或 20 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該標靶細胞抗原為 HLA-A2/MAGE-A4。

【請求項37】

如請求項 36 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 37 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 40 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 HLA-A2/MAGE-A4 且包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項38】

如請求項 36 或 37 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 HLA-A2/MAGE-A4 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項39】

如請求項 36 至 38 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 37 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 40 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈與該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 HLA-A2/MAGE-A4 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其

中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項40】

如請求項 36 至 39 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 43 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 44 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列，及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 51 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 52 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項41】

如請求項 36 至 40 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在

時之) 該第三抗原結合部分為習用 Fab 分子，其中在恆定域 CL 中，位置 124 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且在恆定域 CH1 中，位置 147 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【請求項42】

如請求項 38 至 41 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項43】

如請求項 19 或 20 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該標靶細胞抗原為 CD19。

【請求項44】

如請求項 43 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 61 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 之 HCDR3 的重鏈可變區，或含有 SEQ ID NO: 64 之 HCDR1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變

區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CD19 且包含：含有 SEQ ID NO: 67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項45】

如請求項 43 或 44 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 CD19 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項46】

如請求項 43 至 45 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 61 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 之 HCDR3 的重鏈可變區，或含有 SEQ ID NO: 64 之 HCDR1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CD19 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68

之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項47】

如請求項 43 至 46 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列或與 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列；及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 73 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 74 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項48】

如請求項 43 至 47 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分為習用 Fab 分子，其中在恆定域 CL 中，位置 124 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且在恆定域 CH1 中，位置 147 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【請求項49】

如請求項 45 至 48 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項50】

如前述請求項中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中 (待由該 T 細胞接合劑治療的) 該疾病為癌症，特定而言為表現該 T 細胞接合劑的該標靶細胞抗原的癌症。

【請求項51】

如請求項 50 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該癌症為

(i) 癌胚抗原 (CEA) 表現型癌症，及/或

(ii) 選自由以下所組成之群組：大腸直腸癌、肺癌、胰臟癌、乳癌及胃癌。

【請求項52】

如請求項 50 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該癌症為

(i) CD20 表現型癌症，

(ii) B 細胞癌症，及/或

(ii) 選自由以下所組成之群組：非何杰金氏淋巴瘤 (Non-Hodgkin lymphoma，NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL)、慢性淋巴球性白血病 (CLL)、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤 (DLBCL)、濾泡性淋巴瘤 (FL)、被套細胞淋巴瘤 (MCL) 及邊緣區淋巴瘤 (MZL)。

【請求項53】

如請求項 50 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該癌症為 MAGE-A4 表現型癌症。

【請求項54】

如請求項 50 之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中該癌症為

(i) CD19 表現型癌症，

(ii) B 細胞癌症，及/或

(ii) 選自由以下所組成之群組：非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL) 及慢性淋巴球性白血病 (CLL)。

【請求項55】

如請求項 43 至 49 中任一項之 T 細胞接合劑、JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑、用途或方法，其中 (待由該 T 細胞接合劑治療的) 該疾病為自體

免疫疾病，特定而言為狼瘡，更特定而言為全身性紅斑狼瘡 (SLE) 或狼瘡性腎炎 (LN)。

【請求項56】

如前文所述之本發明。

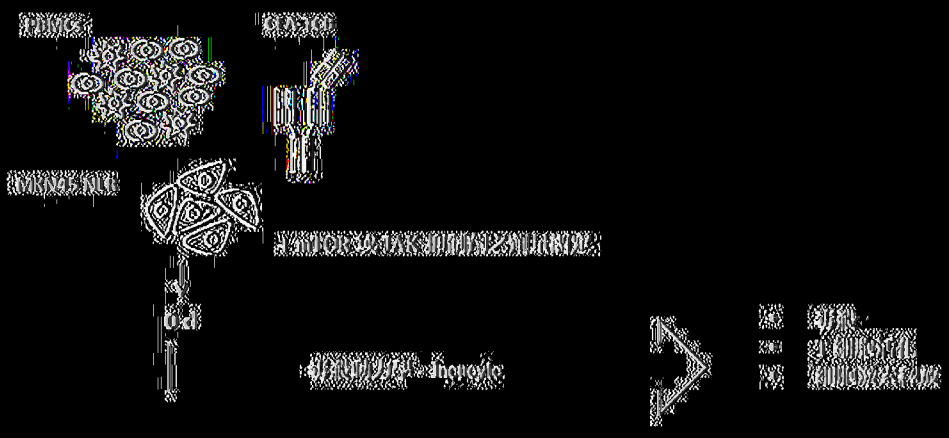

PBMCs
CD3/CD28
IMMUNE SUPPRESSIVE MICROENVIRONMENT
Ox1
Phenotype
Function

圖1

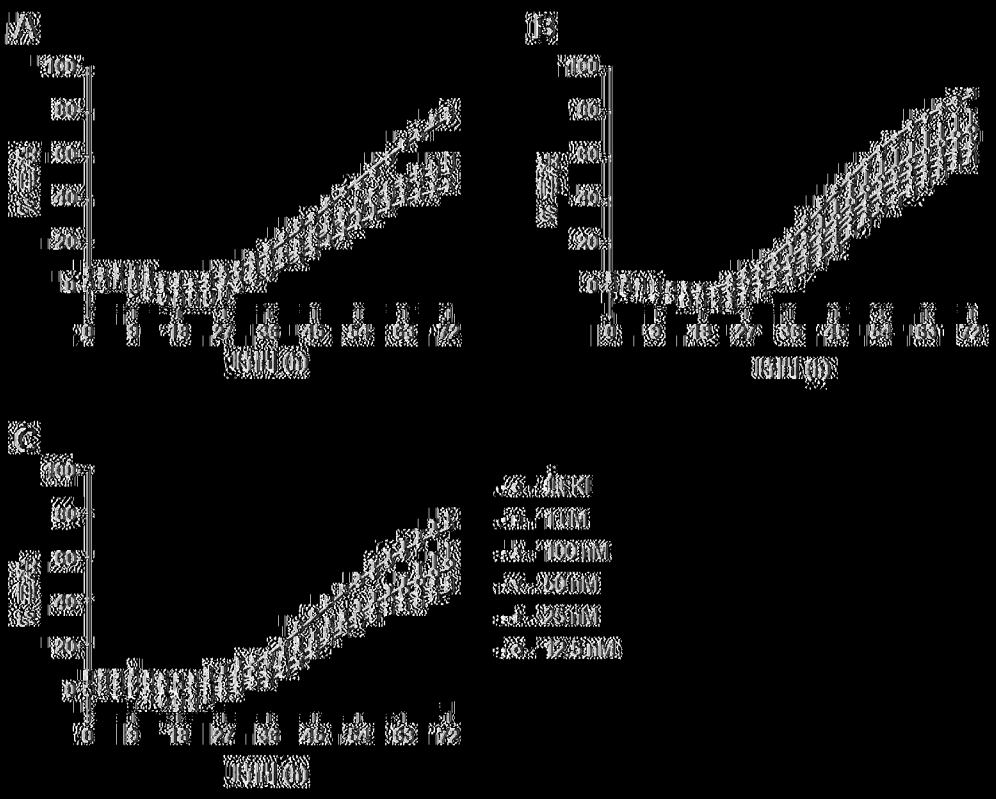

A
B
C
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
70
75
80
85
90
95
100
105
110
115
120
125
130
135
140
145
150
155
160
165
170
175
180
185
190
195
200
205
210
215
220
225
230
235
240
245
250
255
260
265
270
275
280
285
290
295
300
305
310
315
320
325
330
335
340
345
350
355
360
365
370
375
380
385
390
395
400
405
410
415
420
425
430
435
440
445
450
455
460
465
470
475
480
485
490
495
500
505
510
515
520
525
530
535
540
545
550
555
560
565
570
575
580
585
590
595
600
605
610
615
620
625
630
635
640
645
650
655
660
665
670
675
680
685
690
695
700
705
710
715
720
725
730
735
740
745
750
755
760
765
770
775
780
785
790
795
800
805
810
815
820
825
830
835
840
845
850
855
860
865
870
875
880
885
890
895
900
905
910
915
920
925
930
935
940
945
950
955
960
965
970
975
980
985
990
995
1000
1005
1010
1015
1020
1025
1030
1035
1040
1045
1050
1055
1060
1065
1070
1075
1080
1085
1090
1095
1100
1105
1110
1115
1120
1125
1130
1135
1140
1145
1150
1155
1160
1165
1170
1175
1180
1185
1190
1195
1200
1205
1210
1215
1220
1225
1230
1235
1240
1245
1250
1255
1260
1265
1270
1275
1280
1285
1290
1295
1300
1305
1310
1315
1320
1325
1330
1335
1340
1345
1350
1355
1360
1365
1370
1375
1380
1385
1390
1395
1400
1405
1410
1415
1420
1425
1430
1435
1440
1445
1450
1455
1460
1465
1470
1475
1480
1485
1490
1495
1500
1505
1510
1515
1520
1525
1530
1535
1540
1545
1550
1555
1560
1565
1570
1575
1580
1585
1590
1595
1600
1605
1610
1615
1620
1625
1630
1635
1640
1645
1650
1655
1660
1665
1670
1675
1680
1685
1690
1695
1700
1705
1710
1715
1720
1725
1730
1735
1740
1745
1750
1755
1760
1765
1770
1775
1780
1785
1790
1795
1800
1805
1810
1815
1820
1825
1830
1835
1840
1845
1850
1855
1860
1865
1870
1875
1880
1885
1890
1895
1900
1905
1910
1915
1920
1925
1930
1935
1940
1945
1950
1955
1960
1965
1970
1975
1980
1985
1990
1995
2000
2005
2010
2015
2020
2025
2030
2035
2040
2045
2050
2055
2060
2065
2070
2075
2080
2085
2090
2095
2100
2105
2110
2115
2120
2125
2130
2135
2140
2145
2150
2155
2160
2165
2170
2175
2180
2185
2190
2195
2200
2205
2210
2215
2220
2225
2230
2235
2240
2245
2250
2255
2260
2265
2270
2275
2280
2285
2290
2295
2300
2305
2310
2315
2320
2325
2330
2335
2340
2345
2350
2355
2360
2365
2370
2375
2380
2385
2390
2395
2400
2405
2410
2415
2420
2425
2430
2435
2440
2445
2450
2455
2460
2465
2470
2475
2480
2485
2490
2495
2500
2505
2510
2515
2520
2525
2530
2535
2540
2545
2550
2555
2560
2565
2570
2575
2580
2585
2590
2595
2600
2605
2610
2615
2620
2625
2630
2635
2640
2645
2650
2655
2660
2665
2670
2675
2680
2685
2690
2695
2700
2705
2710
2715
2720
2725
2730
2735
2740
2745
2750
2755
2760
2765
2770
2775
2780
2785
2790
2795
2800
2805
2810
2815
2820
2825
2830
2835
2840
2845
2850
2855
2860
2865
2870
2875
2880
2885
2890
2895
2900
2905
2910
2915
2920
2925
2930
2935
2940
2945
2950
2955
2960
2965
2970
2975
2980
2985
2990
2995
3000
3005
3010
3015
3020
3025
3030
3035
3040
3045
3050
3055
3060
3065
3070
3075
3080
3085
3090
3095
3100
3105
3110
3115
3120
3125
3130
3135
3140
3145
3150
3155
3160
3165
3170
3175
3180
3185
3190
3195
3200
3205
3210
3215
3220
3225
3230
3235
3240
3245
3250
3255
3260
3265
3270
3275
3280
3285
3290
3295
3300
3305
3310
3315
3320
3325
3330
3335
3340
3345
3350
3355
3360
3365
3370
3375
3380
3385
3390
3395
3400
3405
3410
3415
3420
3425
3430
3435
3440
3445
3450
3455
3460
3465
3470
3475
3480
3485
3490
3495
3500
3505
3510
3515
3520
3525
3530
3535
3540
3545
3550
3555
3560
3565
3570
3575
3580
3585
3590
3595
3600
3605
3610
3615
3620
3625
3630
3635
3640
3645
3650
3655
3660
3665
3670
3675
3680
3685
3690
3695
3700
3705
3710
3715
3720
3725
3730
3735
3740
3745
3750
3755
3760
3765
3770
3775
3780
3785
3790
3795
3800
3805
3810
3815
3820
3825
3830
3835
3840
3845
3850
3855
3860
3865
3870
3875
3880
3885
3890
3895
3900
3905
3910
3915
3920
3925
3930
3935
3940
3945
3950
3955
3960
3965
3970
3975
3980
3985
3990
3995
4000
4005
4010
4015
4020
4025
4030
4035
4040
4045
4050
4055
4060
4065
4070
4075
4080
4085
4090
4095
4100
4105
4110
4115
4120
4125
4130
4135
4140
4145
4150
4155
4160
4165
4170
4175
4180
4185
4190
4195
4200
4205
4210
4215
4220
4225
4230
4235
4240
4245
4250
4255
4260
4265
4270
4275
4280
4285
4290
4295
4300
4305
4310
4315
4320
4325
4330
4335
4340
4345
4350
4355
4360
4365
4370
4375
4380
4385
4390
4395
4400
4405
4410
4415
4420
4425
4430
4435
4440
4445
4450
4455
4460
4465
4470
4475
4480
4485
4490
4495
4500
4505
4510
4515
4520
4525
4530
4535
4540
4545
4550
4555
4560
4565
4570
4575
4580
4585
4590
4595
4600
4605
4610
4615
4620
4625
4630
4635
4640
4645
4650
4655
4660
4665
4670
4675
4680
4685
4690
4695
4700
4705
4710
4715
4720
4725
4730
4735
4740
4745
4750
4755
4760
4765
4770
4775
4780
4785
4790
4795
4800
4805
4810
4815
4820
4825
4830
4835
4840
4845
4850
4855
4860
4865
4870
4875
4880
4885
4890
4895
4900
4905
4910
4915
4920
4925
4930
4935
4940
4945
4950
4955
4960
4965
4970
4975
4980
4985
4990
4995
5000
5005
5010
5015
5020
5025
5030
5035
5040
5045
5050
5055
5060
5065
5070
5075
5080
5085
5090
5095
5100
5105
5110
5115
5120
5125
5130
5135
5140
5145
5150
5155
5160
5165
5170
5175
5180
5185
5190
5195
5200
5205
5210
5215
5220
5225
5230
5235
5240
5245
5250
5255
5260
5265
5270
5275
5280
5285
5290
5295
5300
5305
5310
5315
5320
5325
5330
5335
5340
5345
5350
5355
5360
5365
5370
5375
5380
5385
5390
5395
5400
5405
5410
5415
5420
5425
5430
5435
5440
5445
5450
5455
5460
5465
5470
5475
5480
5485
5490
5495
5500
5505
5510
5515
5520
5525
5530
5535
5540
5545
5550
5555
5560
5565
5570
5575
5580
5585
5590
5595
5600
5605
5610
5615
5620
5625
5630
5635
5640
5645
5650
5655
5660
5665
5670
5675
5680
5685
5690
5695
5700
5705
5710
5715
5720
5725
5730
5735
5740
5745
5750
5755
5760
5765
5770
5775
5780
5785
5790
5795
5800
5805
5810
5815
5820
5825
5830
5835
5840
5845
5850
5855
5860
5865
5870
5875
5880
5885
5890
5895
5900
5905
5910
5915
5920
5925
5930
5935
5940
5945
5950
5955
5960
5965
5970
5975
5980
5985
5990
5995
6000
6005
6010
6015
6020
6025
6030
6035
6040
6045
6050
6055
6060
6065
6070
6075
6080
6085
6090
6095
6100
6105
6110
6115
6120
6125
6130
6135
6140
6145
6150
6155
6160
6165
6170
6175
6180
6185
6190
6195
6200
6205
6210
6215
6220
6225
6230
6235
6240
6245
6250
6255
6260
6265
6270
6275
6280
6285
6290
6295
6300
6305
6310
6315
6320
6325
6330
6335
6340
6345
6350
6355
6360
6365
6370
6375
6380
6385
6390
6395
6400
6405
6410
6415
6420
6425
6430
6435
6440
6445
6450
6455
6460
6465
6470
6475
6480
6485
6490
6495
6500
6505
6510
6515
6520
6525
6530
6535
6540
6545
6550
6555
6560
6565
6570
6575
6580
6585
6590
6595
6600
6605
6610
6615
6620
6625
6630
6635
6640
6645
6650
6655
6660
6665
6670
6675
6680
6685
6690
6695
6700
6705
6710
6715
6720
6725
6730
6735
6740
6745
6750
6755
6760
6765
6770
6775
6780
6785
6790
6795
6800
6805
6810
6815
6820
6825
6830
6835
6840
6845
6850
6855
6860
6865
6870
6875
6880
6885
6890
6895
6900
6905
6910
6915
6920
6925
6930
6935
6940
6945
6950
6955
6960
6965
6970
6975
6980
6985
6990
6995
7000
7005
7010
7015
7020
7025
7030
7035
7040
7045
7050
7055
7060
7065
7070
7075
7080
7085
7090
7095
7100
7105
7110
7115
7120
7125
7130
7135
7140
7145
7150
7155
7160
7165
7170
7175
7180
7185
7190
7195
7200
7205
7210
7215
7220
7225
7230
7235
7240
7245
7250
7255
7260
7265
7270
7275
7280
7285
7290
7295
7300
7305
7310
7315
7320
7325
7330
7335
7340
7345
7350
7355
7360
7365
7370
7375
7380
7385
7390
7395
7400
7405
7410
7415
7420
7425
7430
7435
7440
7445
7450
7455
7460
7465
7470
7475
7480
7485
7490
7495
7500
7505
7510
7515
7520
7525
7530
7535
7540
7545
7550
7555
7560
7565
7570
7575
7580
7585
7590
7595
7600
7605
7610
7615
7620
7625
7630
7635
7640
7645
7650
7655
7660
7665
7670
7675
7680
7685
7690
7695
7700
7705
7710
7715
7720
7725
7730
7735
7740
7745
7750
7755
7760
7765
7770
7775
7780
7785
7790
7795
7800
7805
7810
7815
7820
7825
7830
7835
7840
7845
7850
7855
7860
7865
7870
7875
7880
7885
7890
7895
7900
7905
7910
7915
7920
7925
7930
7935
7940
7945
7950
7955
7960
7965
7970
7975
7980
7985
7990
7995
8000
8005
8010
8015
8020
8025
8030
8035
8040
8045
8050
8055
8060
8065
8070
8075
8080
8085
8090
8095
8100
8105
8110
8115
8120
8125
8130
8135
8140
8145
8150
8155
8160
8165
8170
8175
8180
8185
8190
8195
8200
8205
8210
8215
8220
8225
8230
8235
8240
8245
8250
8255
8260
8265
8270
8275
8280
8285
8290
8295
8300
8305
8310
8315
8320
8325
8330
8335
8340
8345
8350
8355
8360
8365
8370
8375
8380
8385
8390
8395
8400
8405
8410
8415
8420
8425
8430
8435
8440
8445
8450
8455
8460
8465
8470
8475
8480
8485
8490
8495
8500
8505
8510
8515
8520
8525
8530
8535
8540
8545
8550
8555
8560
8565
8570
8575
8580
8585
8590
8595
8600
8605
8610
8615
8620
8625
8630
8635
8640
8645
8650
8655
8660
8665
8670
8675
8680
8685
8690
8695
8700
8705
8710
8715
8720
8725
8730
8735
8740
8745
8750
8755
8760
8765
8770
8775
8780
8785
8790
8795
8800
8805
8810
8815
8820
8825
8830
8835
8840
8845
8850
8855
8860
8865
8870
8875
8880
8885
8890
8895
8900
8905
8910
8915
8920
8925
8930
8935
8940
8945
8950
8955
8960
8965
8970
8975
8980
8985
8990
8995
9000
9005
9010
9015
9020
9025
9030
9035
9040
9045
9050
9055
9060
9065
9070
9075
9080
9085
9090
9095
9100
9105
9110
9115
9120
9125
9130
9135
9140
9145
9150
9155
9160
9165
9170
9175
9180
9185
9190
9195
9200
9205
9210
9215
9220
9225
9230
9235
9240
9245
9250
9255
9260
9265
9270
9275
9280
9285
9290
9295
9300
9305
9310
9315
9320
9325
9330
9335
9340
9345
9350
9355
9360
9365
9370
9375
9380
9385
9390
9395
9400
9405
9410
9415
9420
9425
9430
9435
9440
9445
9450
9455
9460
9465
9470
9475
9480
9485
9490
9495
9500
9505
9510
9515
9520
9525
9530
9535
9540
9545
9550
9555
9560
9565
9570
9575
9580
9585
9590
9595
9600
9605
9610
9615
9620
9625
9630
9635
9640
9645
9650
9655
9660
9665
9670
9675
9680
9685
9690
9695
9700
9705
9710
9715
9720
9725
9730
9735
9740
9745
9750
9755
9760
9765
9770
9775
9780
9785
9790
9795
9800
9805
9810
9815
9820
9825
9830
9835
9840
9845
9850
9855
9860
9865
9870
9875
9880
9885
9890
9895
9900
9905
9910
9915
9920
9925
9930
9935
9940
9945
9950
9955
9960
9965
9970
9975
9980
9985
9990
9995
10000

圖2

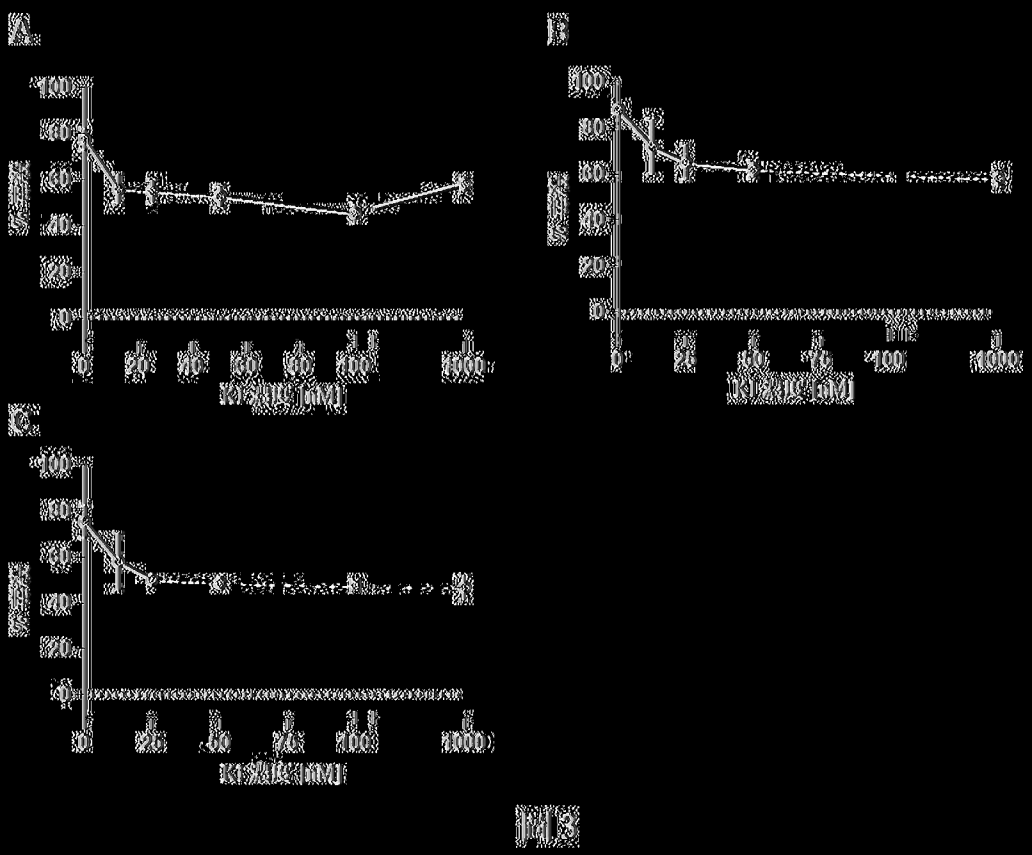


圖3

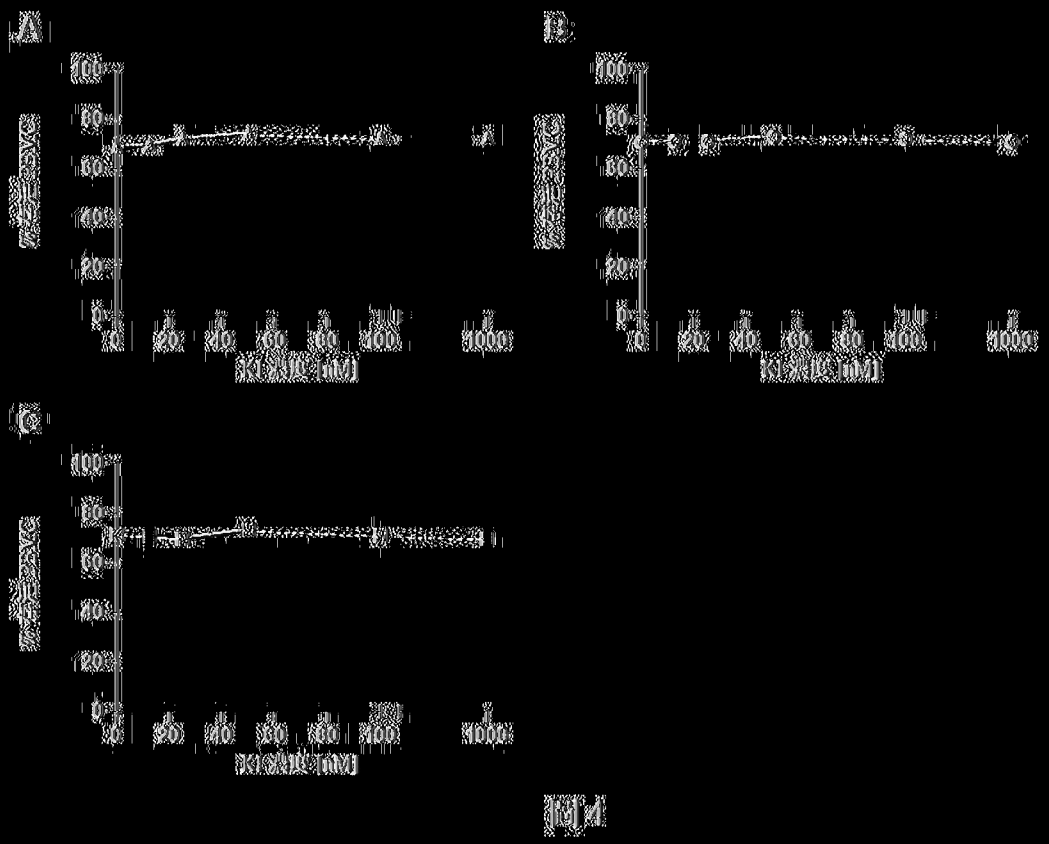


圖 4

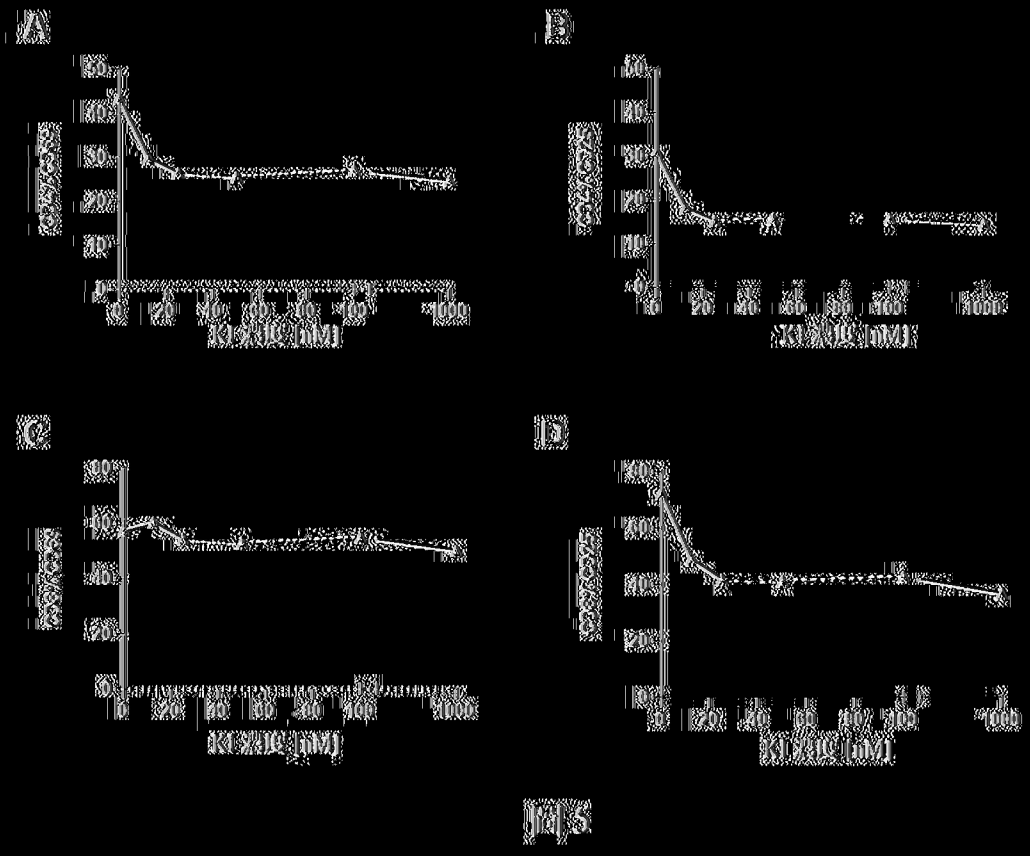


圖 5

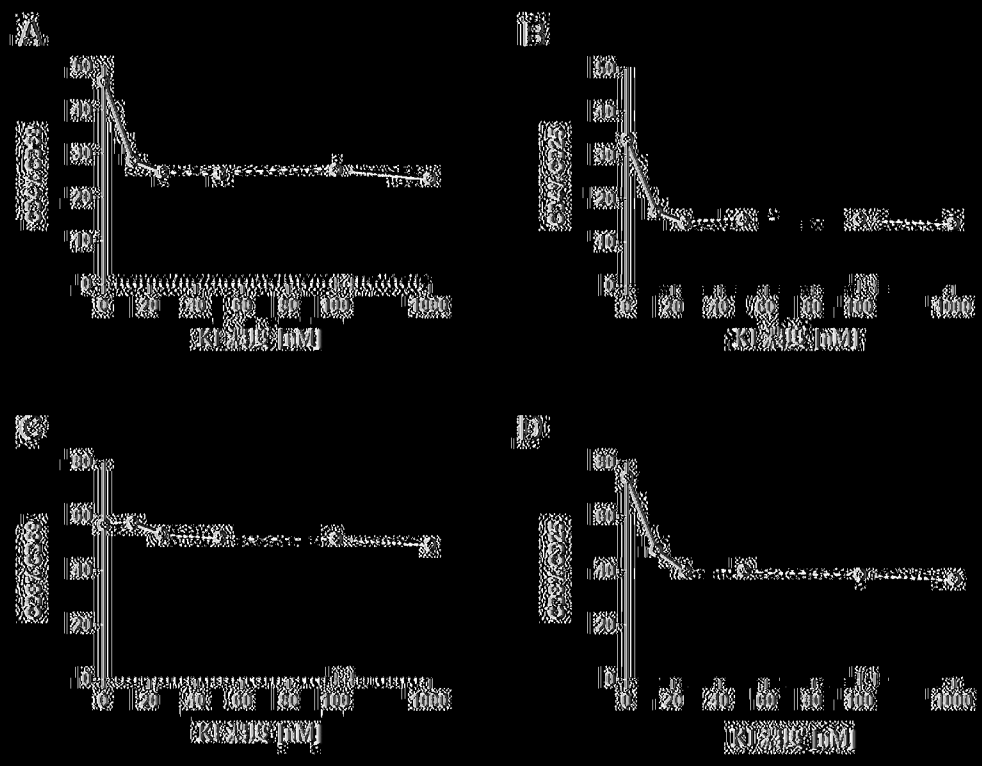
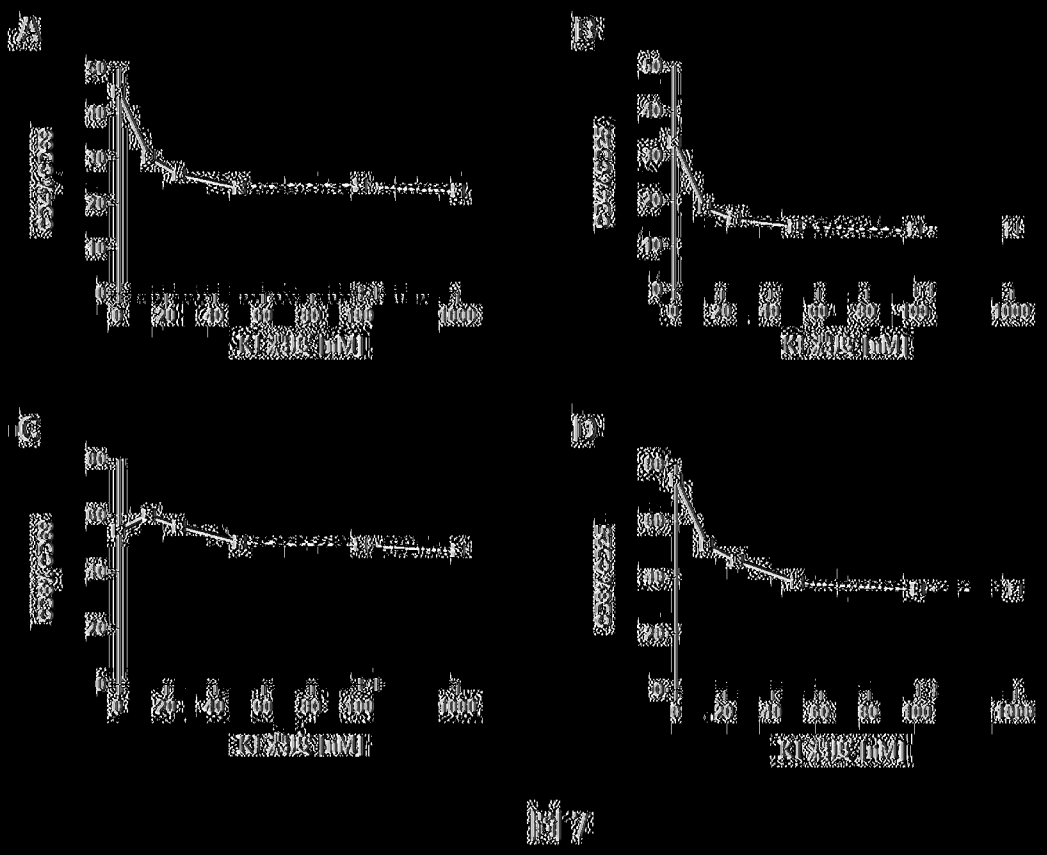


圖 6


A
B
C
D
抑制率 [%]
抑制率 [%]
抑制率 [%]
抑制率 [%]
0
20
40
60
80
100
0
10
20
30
40
50
60
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0
20
40
60
80
100
120
0
20
40
60
80
100
0
20
40
60
80
100
0
20
40
60
80
100

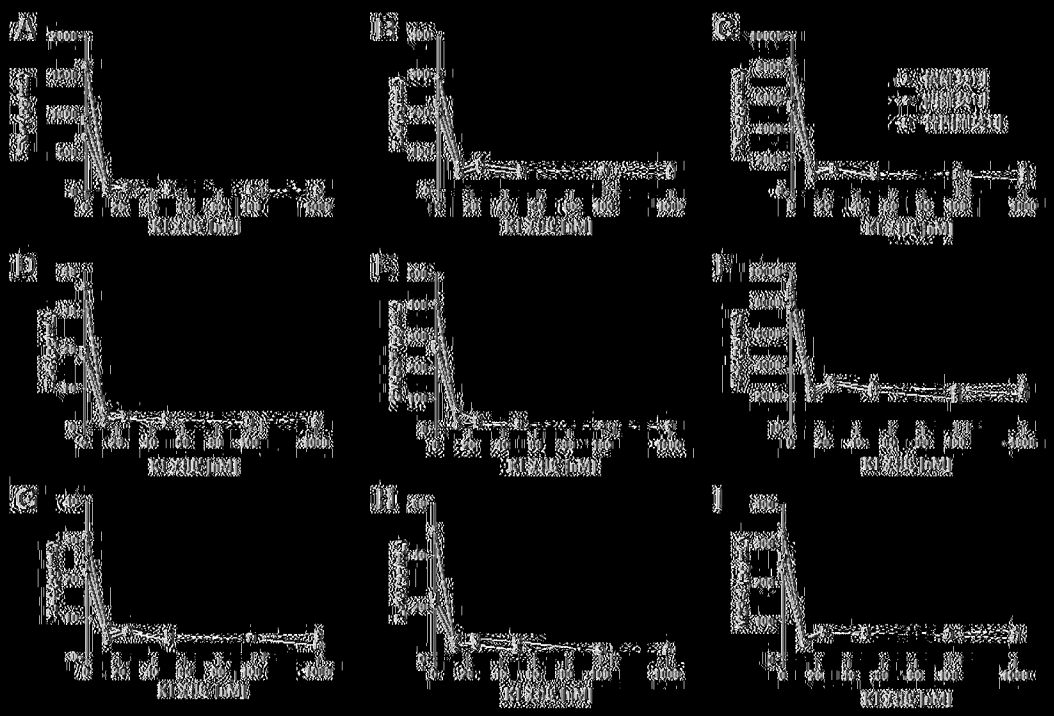


圖18

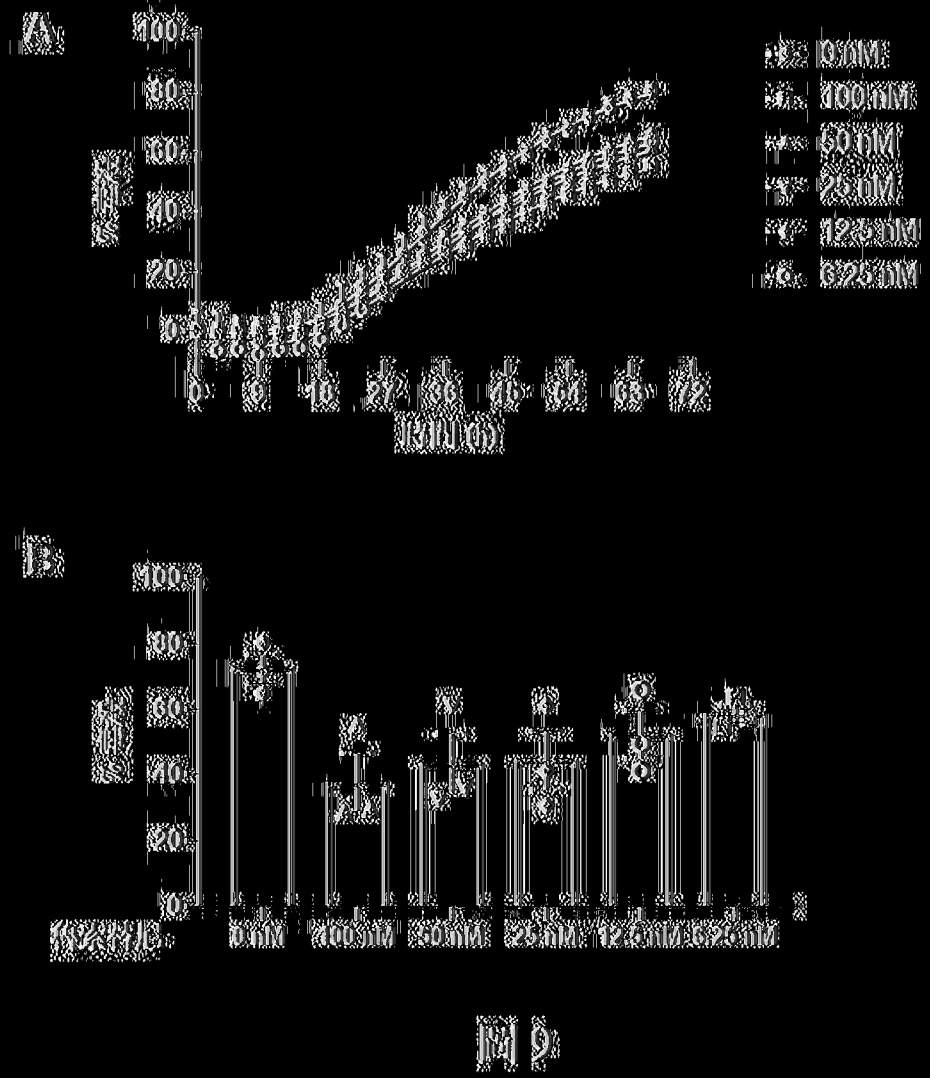

A
100
80
60
40
20
0
0
6
16
27
36
46
54
65
72
0 nM
400 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM
B
0 nM
400 nM
50 nM
25 nM
12.5 nM
6.25 nM

圖 9

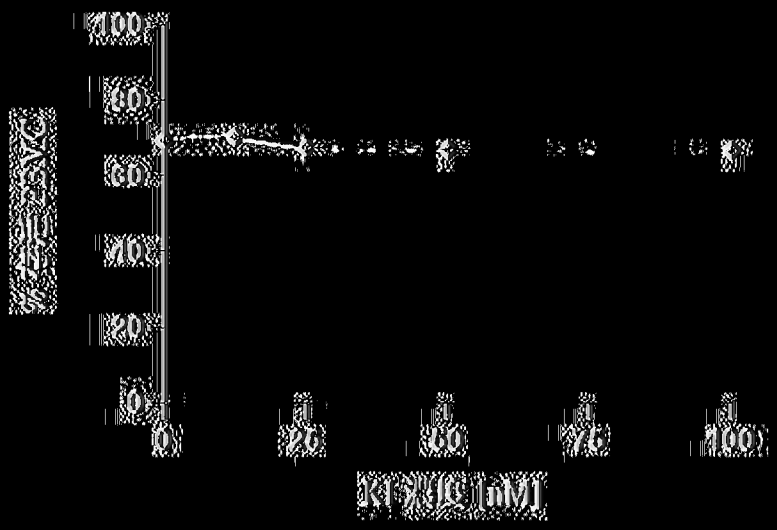
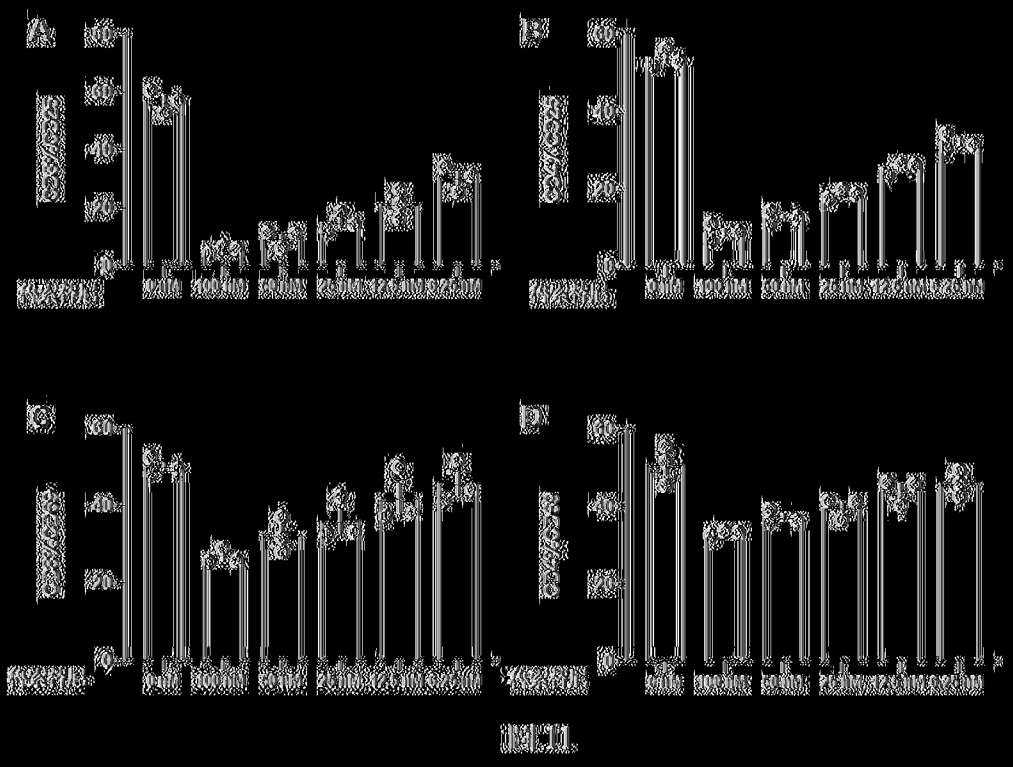


圖 10


A.
B.
C.
D.

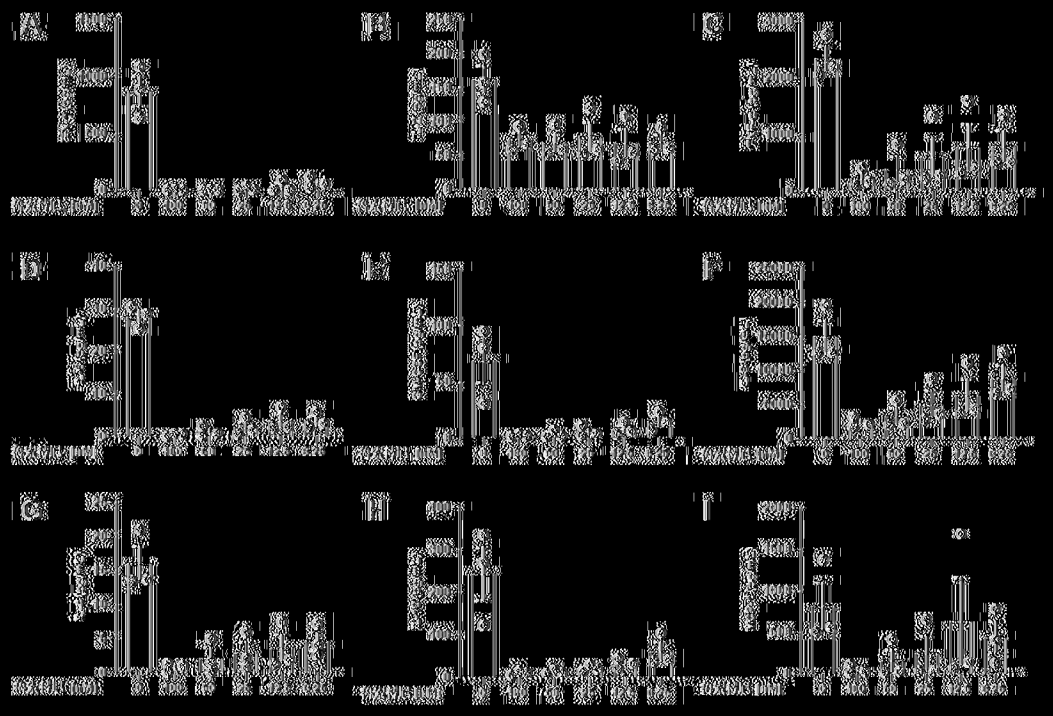


圖 12

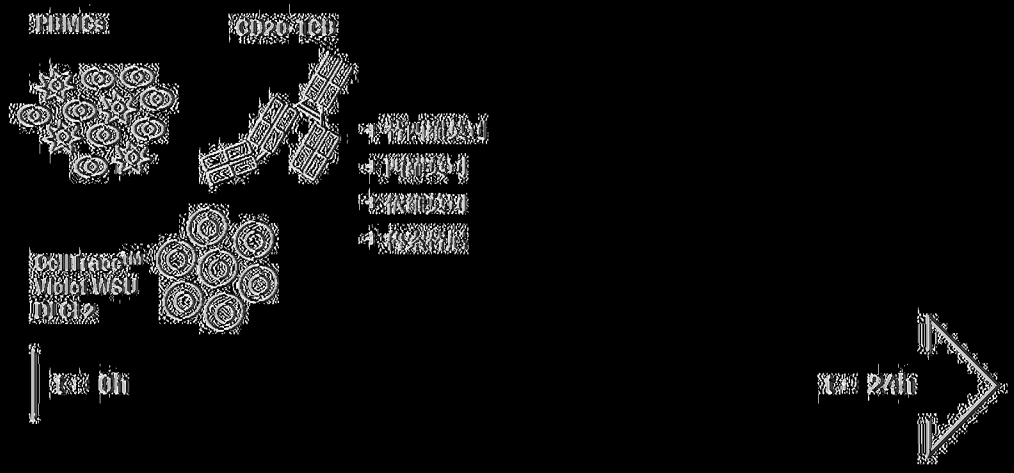

PBMCs
CD20+ Cells
Cells Transferred Into NSG Mice
Day 0
Day 21

圖 1B

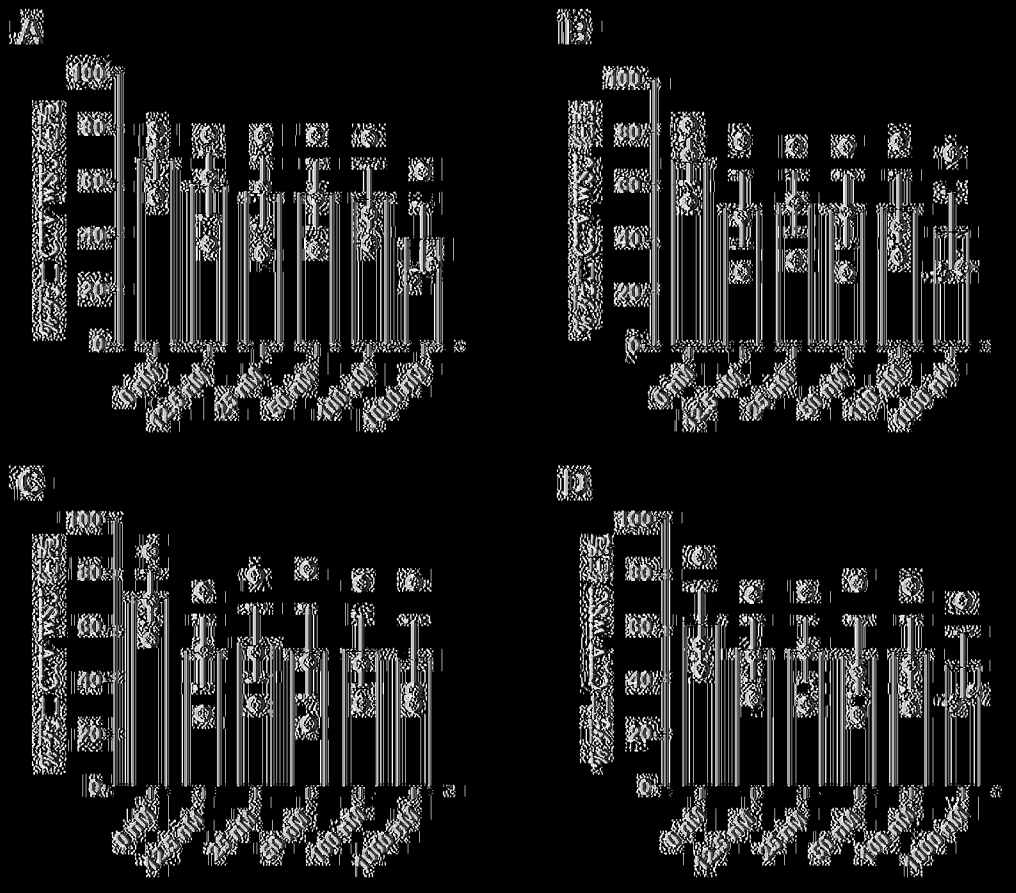


圖14

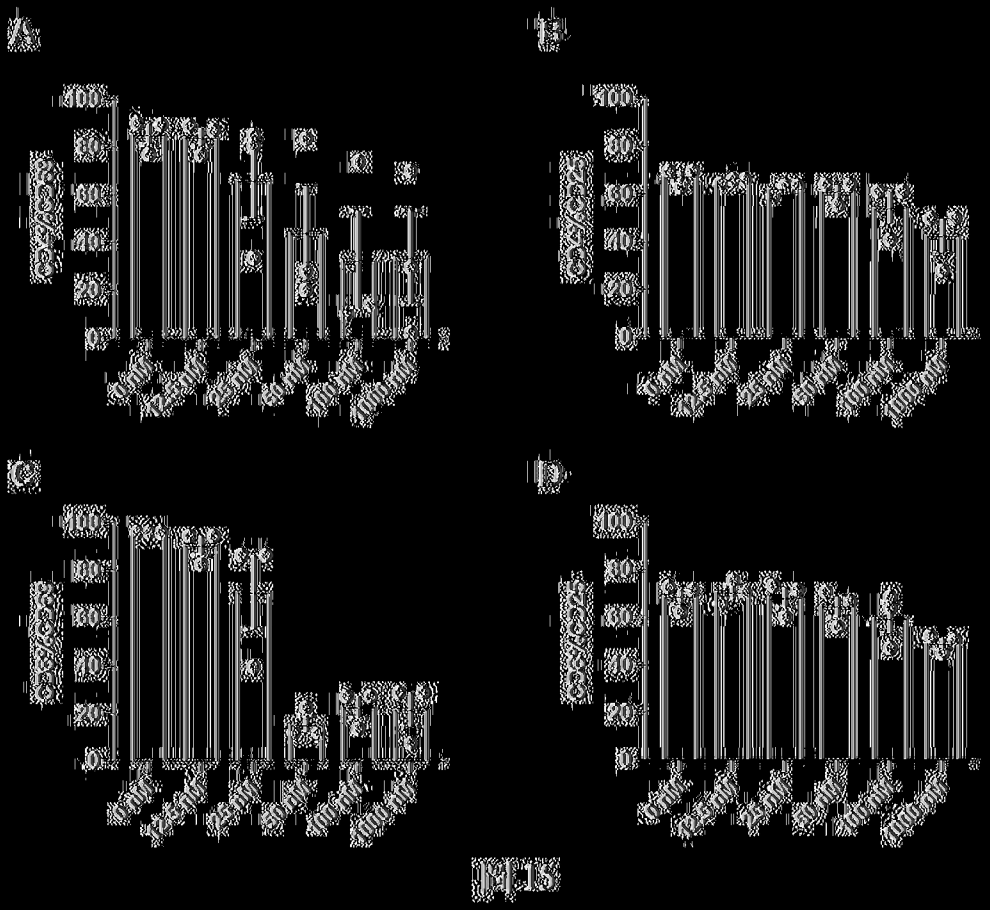


圖 15

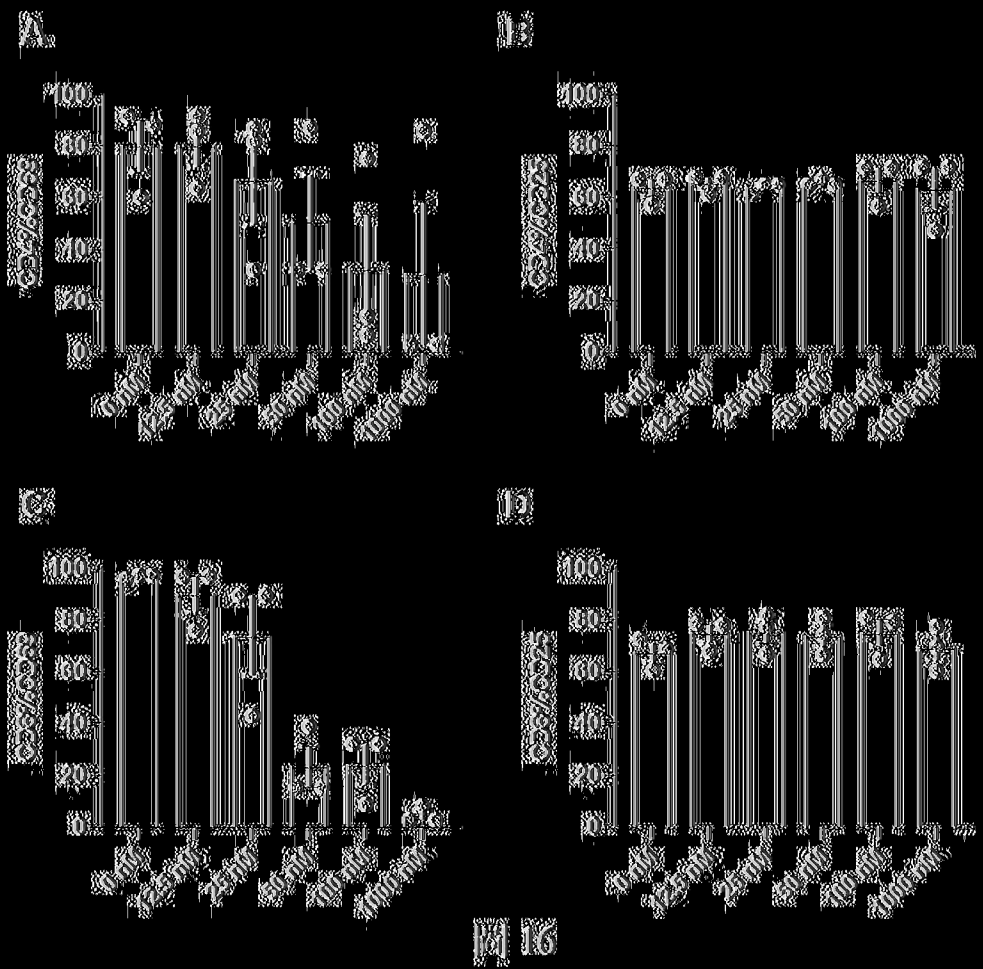


圖 16

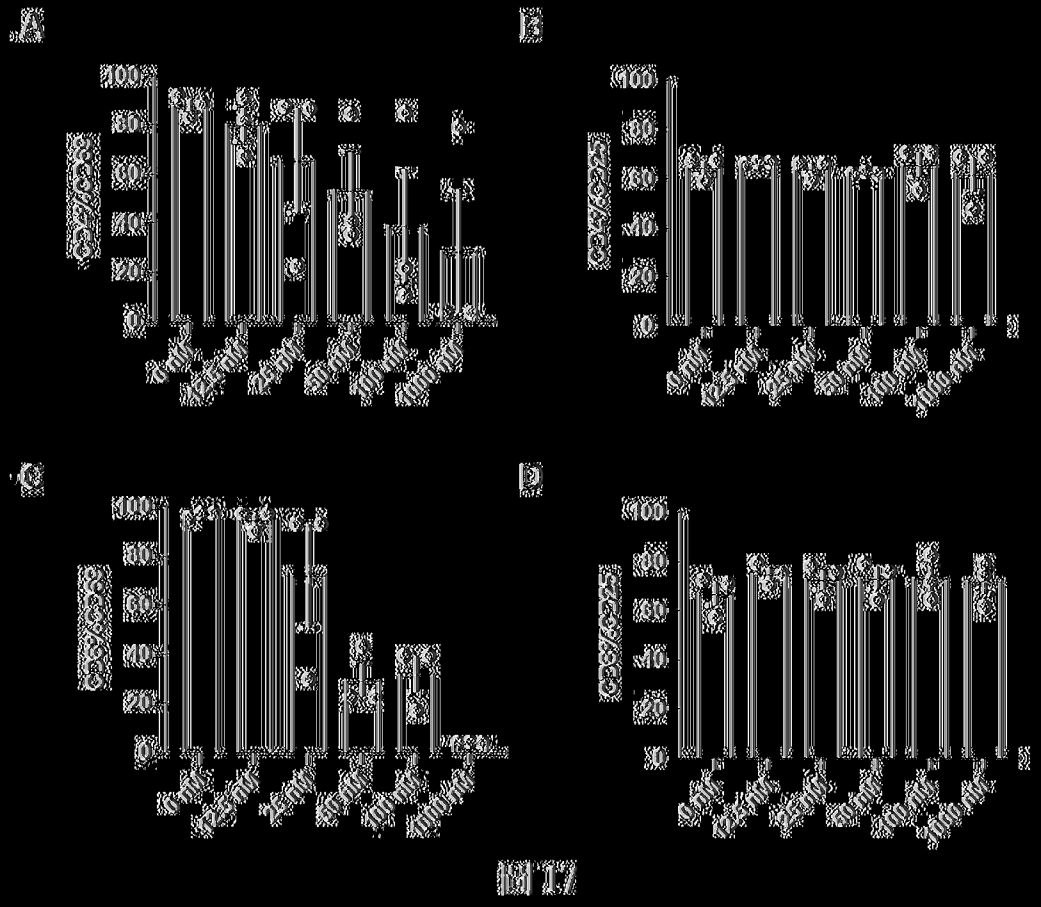


圖 17

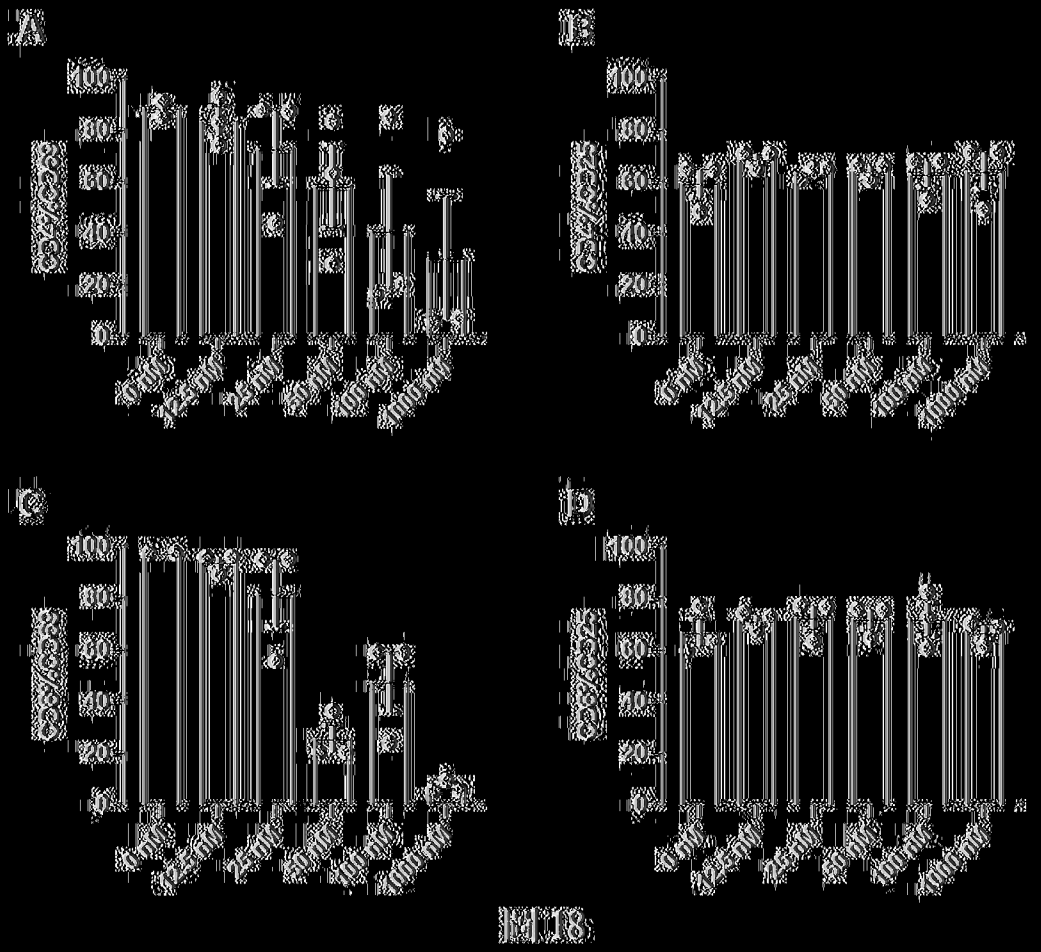
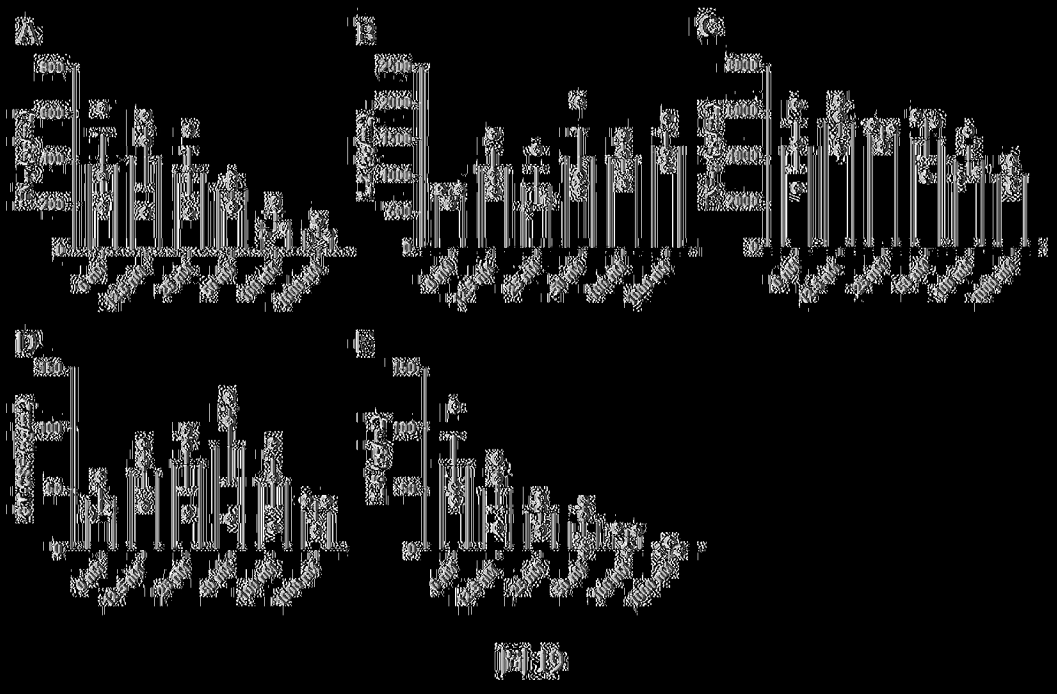


圖 18


A
B
C
D
E
同步

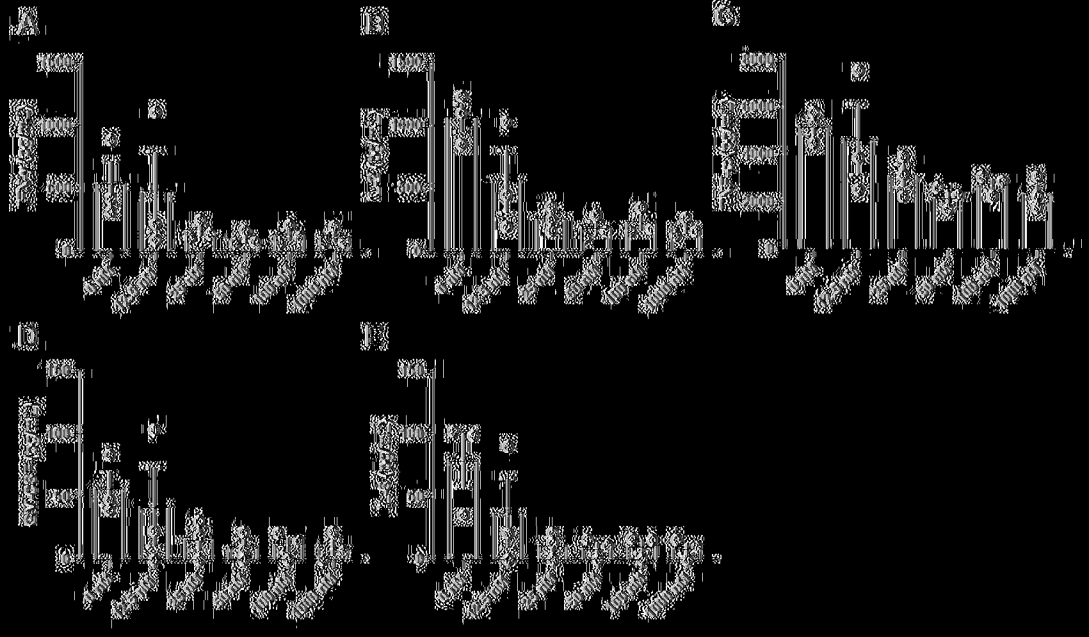


圖 20

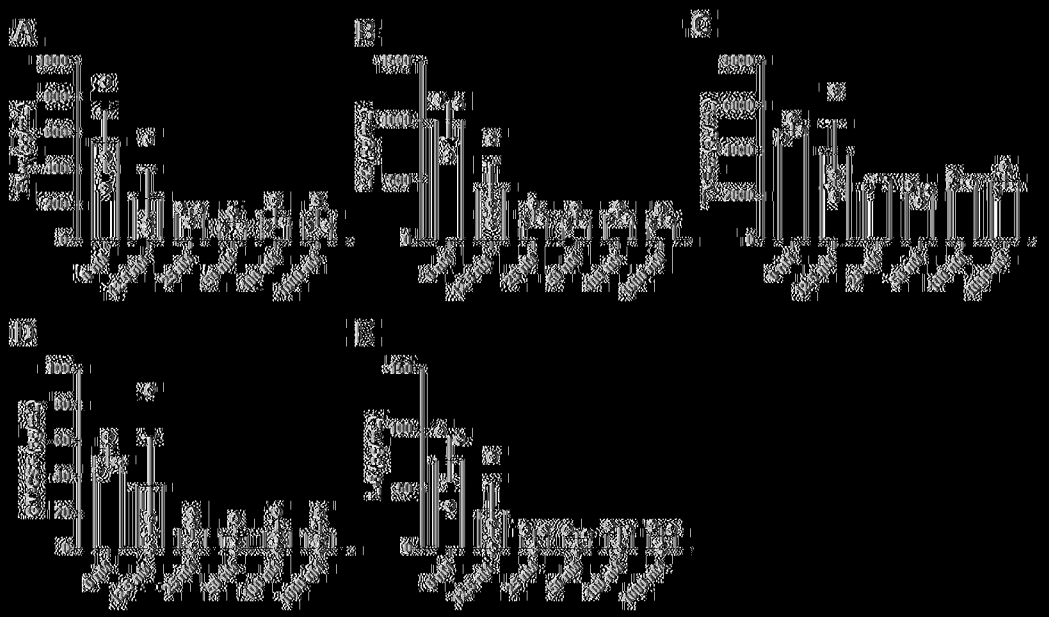


圖21

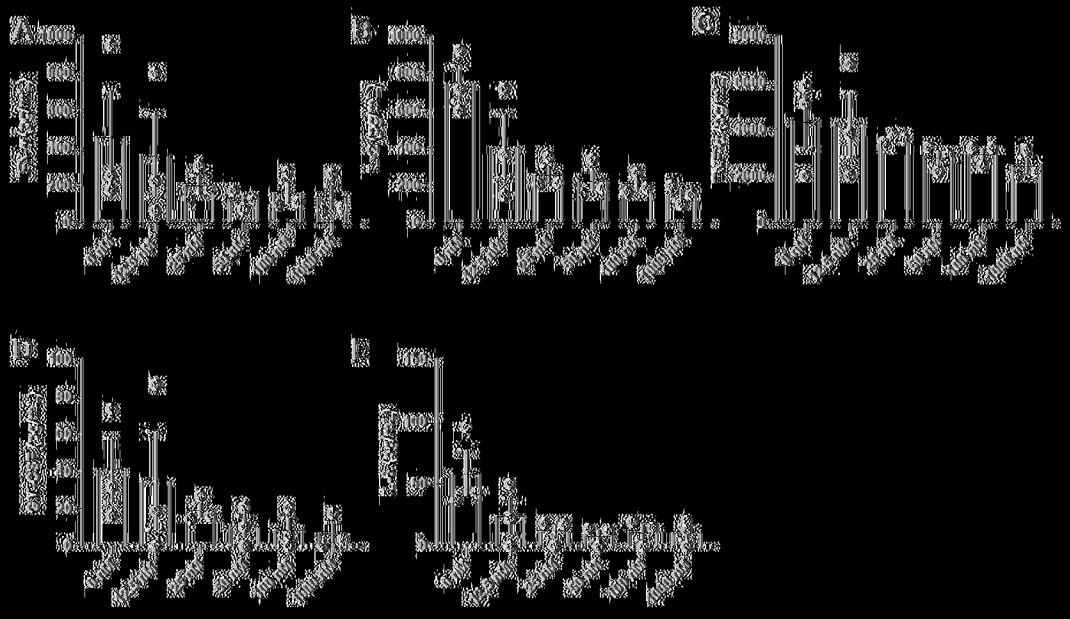


圖22.

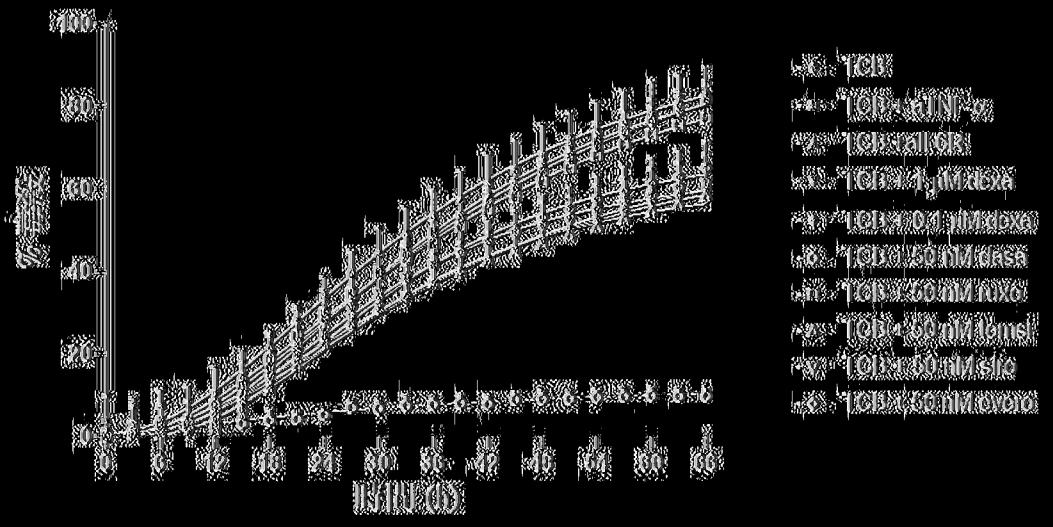

100
80
60
40
20
0
0 6 12 18 24 30 36 42 48 54 60 66
TCB1
TCB1+aUNF-w
TCB1+all-trK0R
TCB1+1 μM dexa
TCB1+0.01 μM dexa
TCB1+50 nM dasa
TCB1+50 nM nilo
TCB1+50 nM lapmsl
TCB1+50 nM sirio
TCB1+50 nM ovalo

圖 23

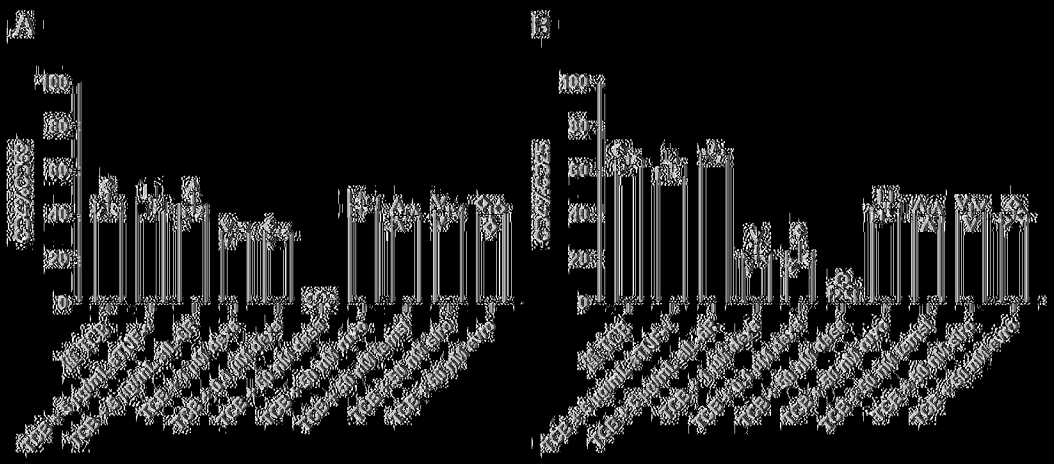
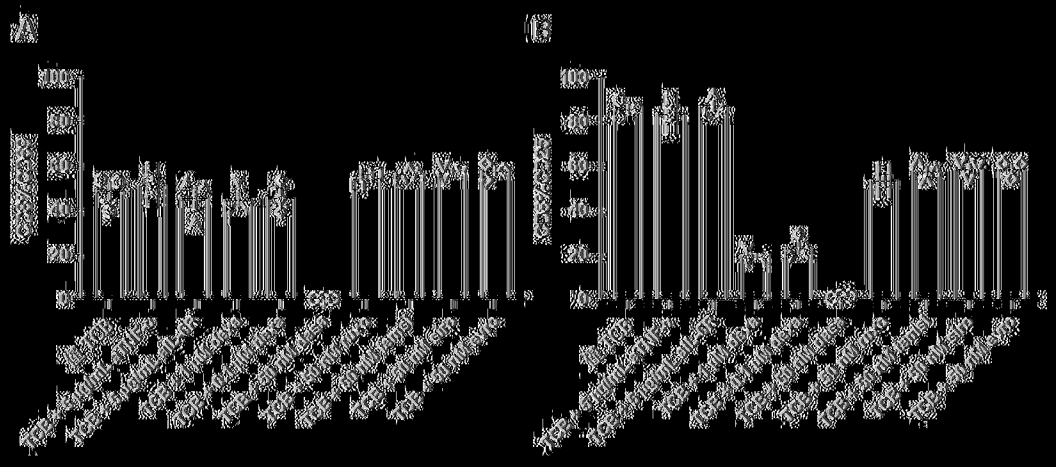


圖24



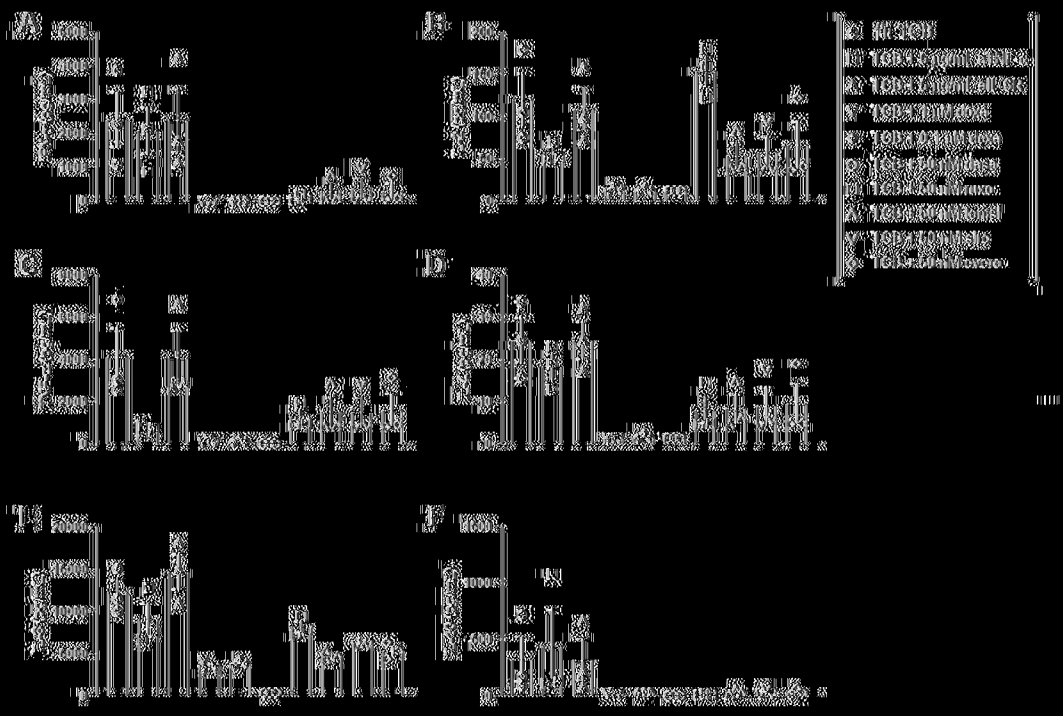


圖26

圖 26

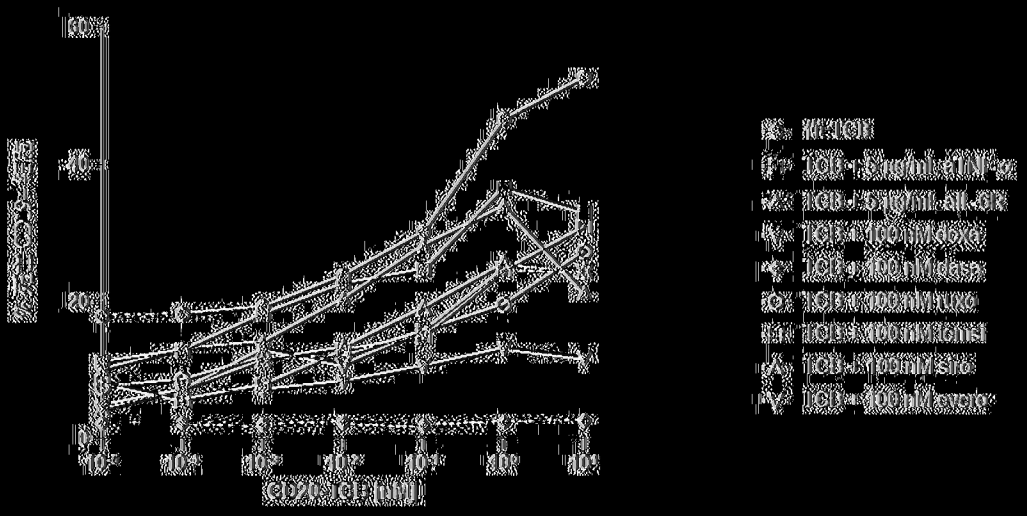

60
40
20
0
10⁻⁷
10⁻⁶
10⁻⁵
10⁻⁴
10⁻³
10⁻²
10⁻¹
c(D20-TG1) [nM]
1:1:0:0
TG1 + 5 ng/mL aTNF
TG1 + 5 ng/mL aIL-6R
TG1 + 100 nM dexa
TG1 + 100 nM dasa
TG1 + 100 nM uste
TG1 + 100 nM ghrel
TG1 + 5 μM sira
TG1 + 100 nM evero

圖 2Z

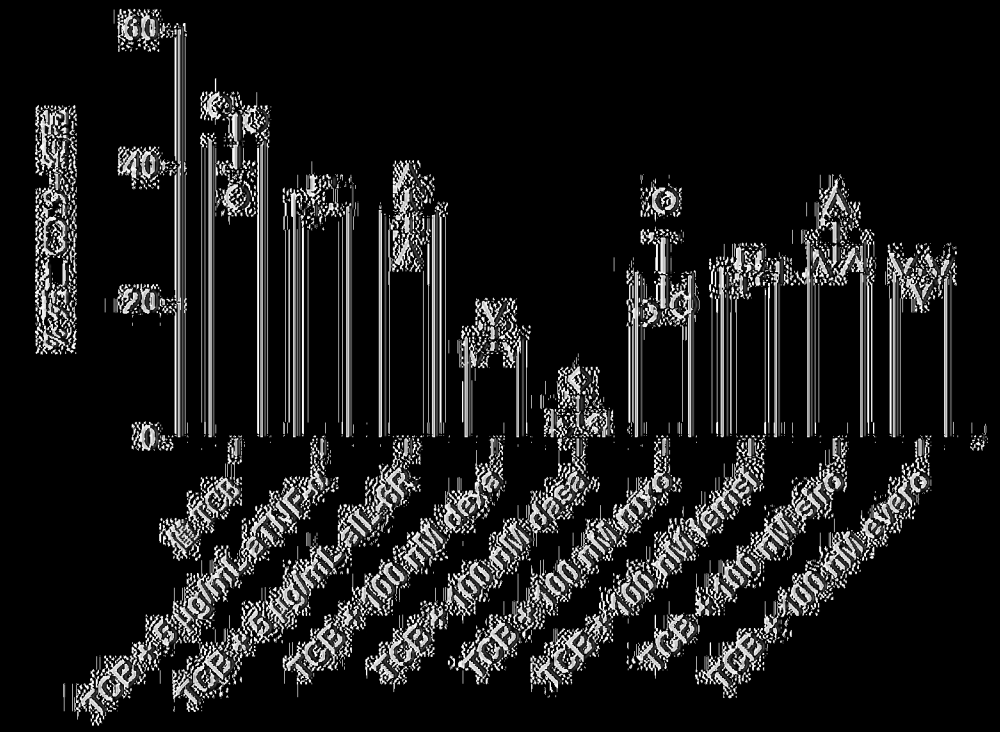

60
40
20
0
TCE
TCE + Sulforaphane
TCE + Curcumin
TCE + 100 nM dexa
TCE + 100 nM dasa
TCE + 100 nM nilo
TCE + 100 nM vemu
TCE + 100 nM ibru
TCE + 100 nM evero

圖 28

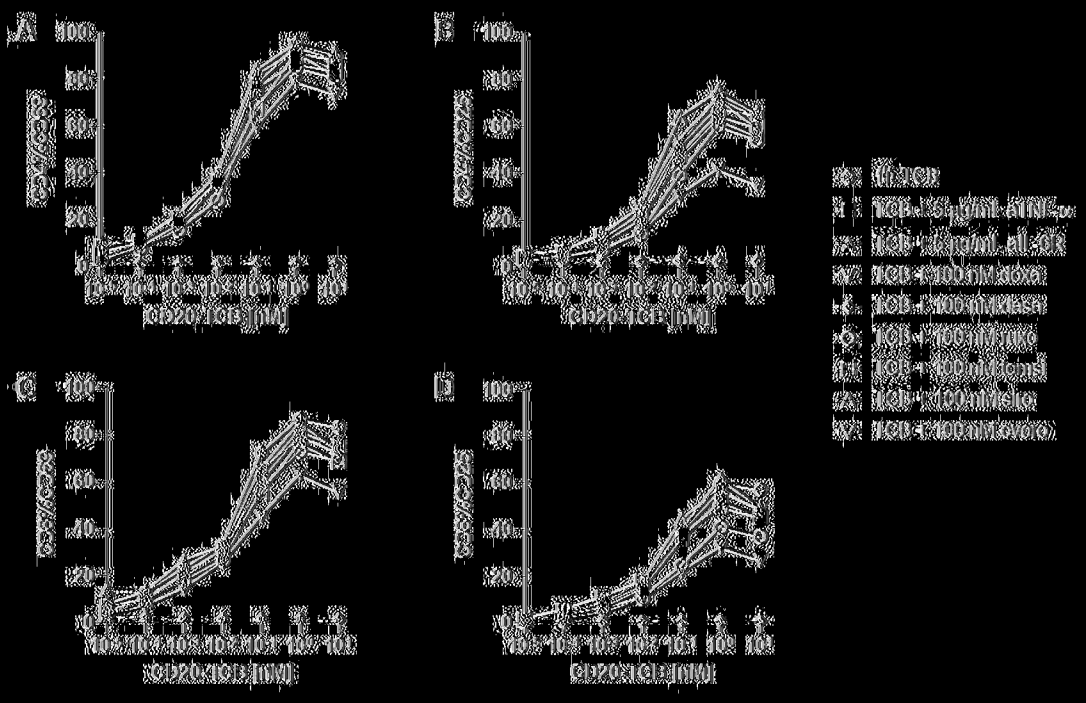
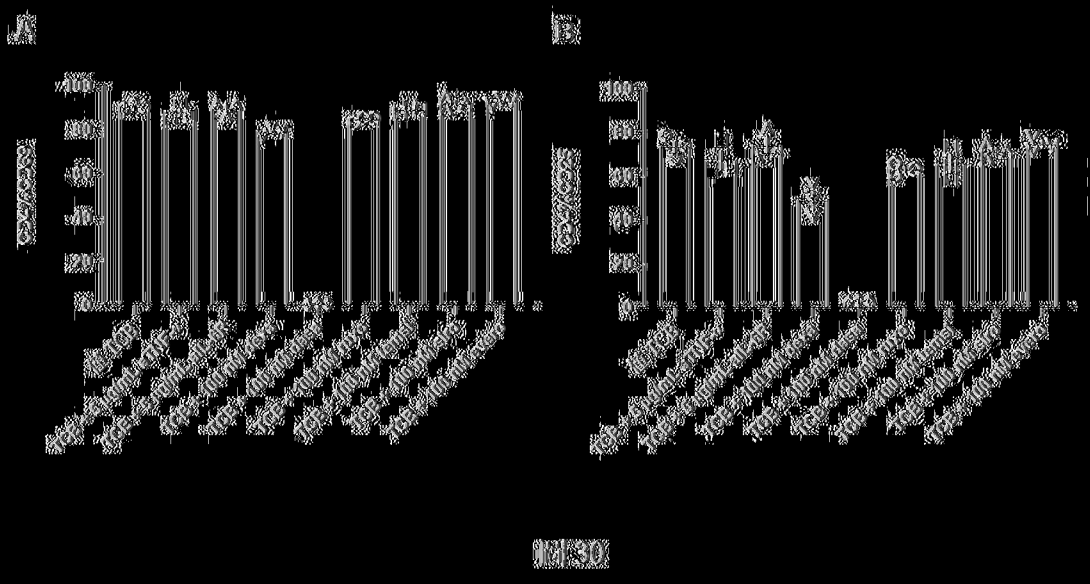

A
B
C
D
100
80
60
40
20
0
IC50 = 1.5 μg/mL ethyl acetate
IC50 = 1.8 μg/mL ethanol
IC50 = 100 nM dioxane
IC50 = 100 nM hexane
IC50 = 100 nM water
IC50 = 100 nM methanol
IC50 = 100 nM ether
IC50 = 100 nM xylene

圖129


A
B
100
80
60
40
20
0
圖30

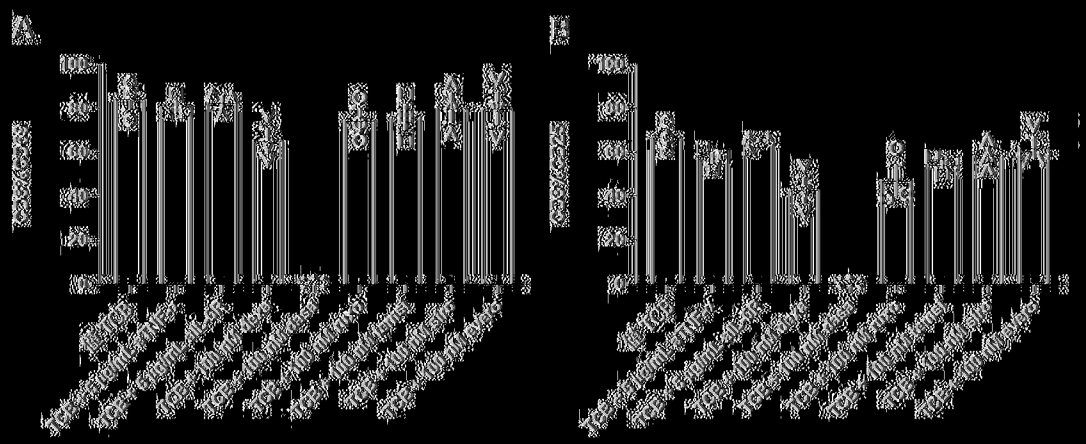


圖31

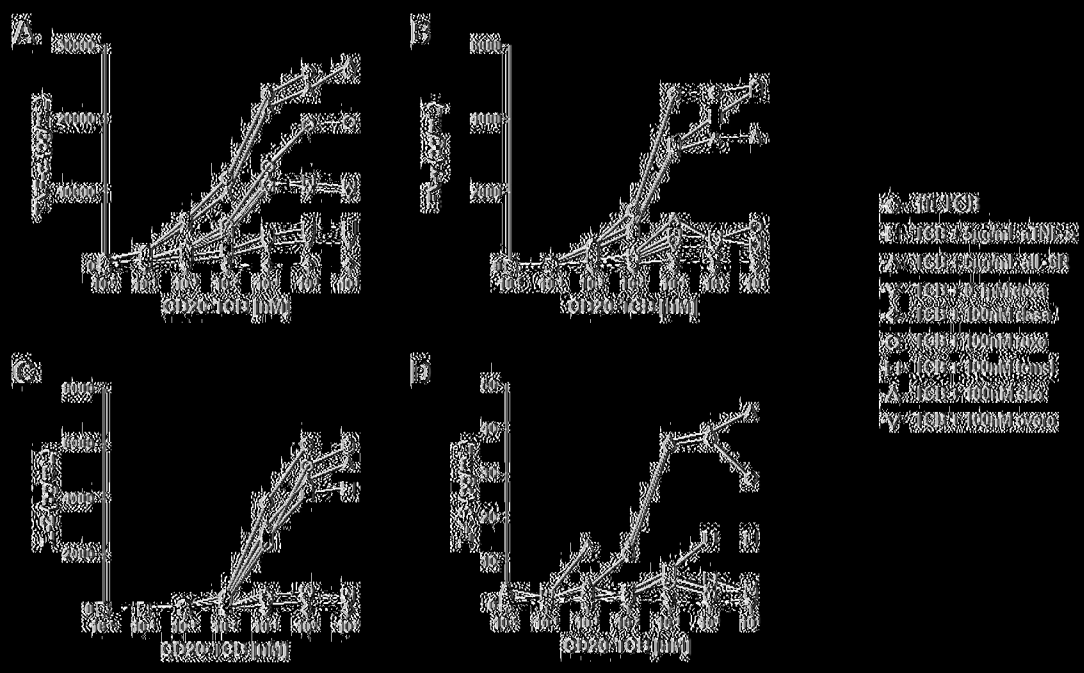


圖 32

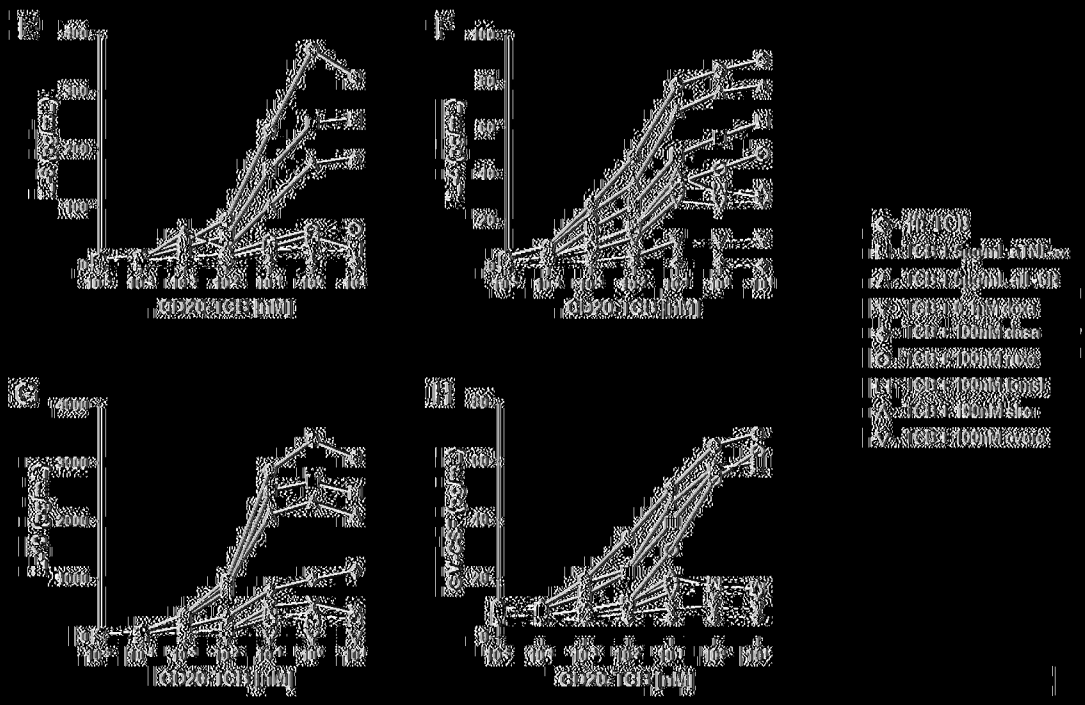


圖 32

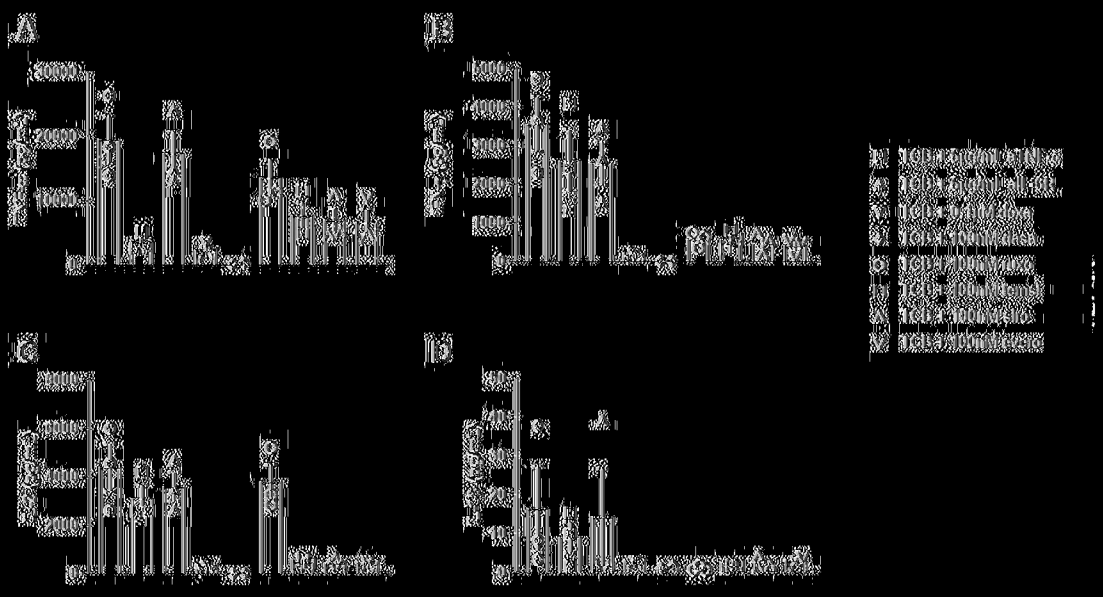


圖 33

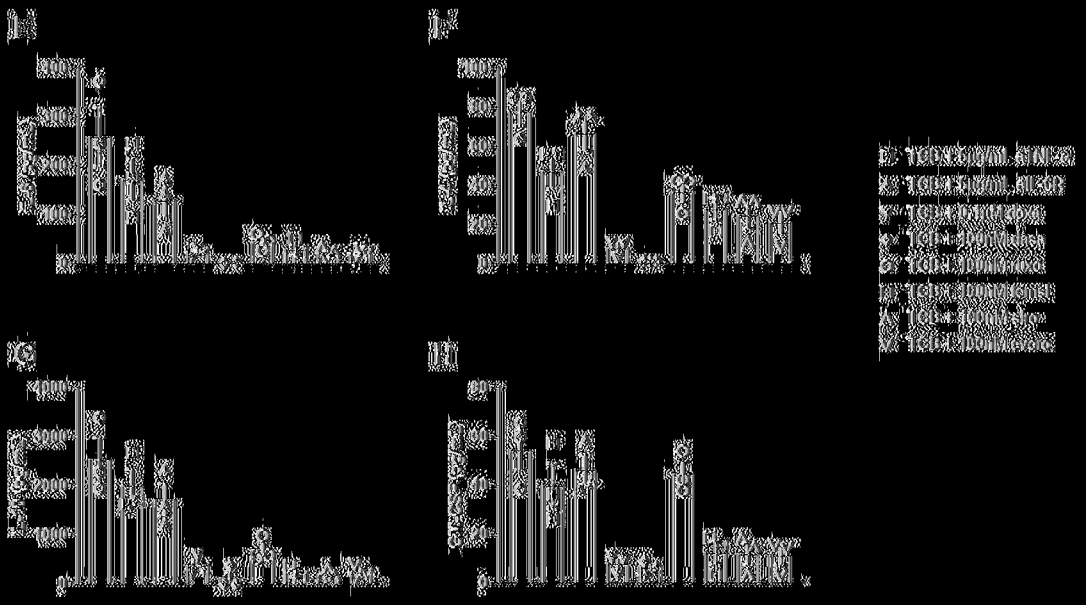


圖 33

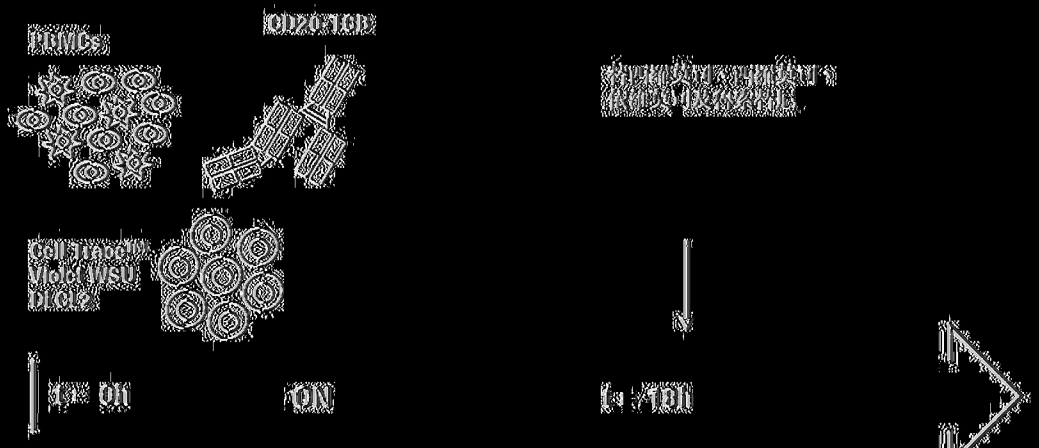


圖3I.

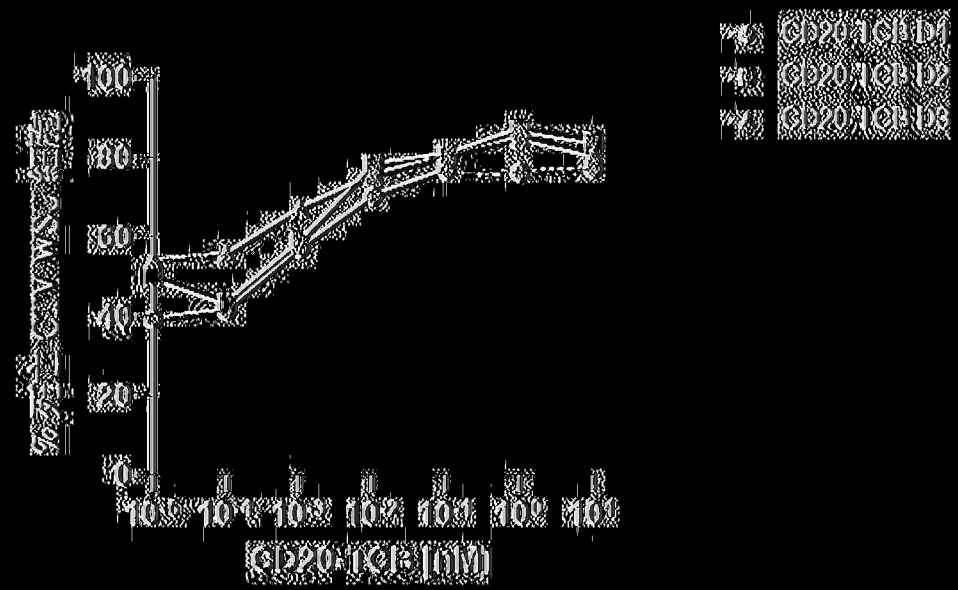


圖 35

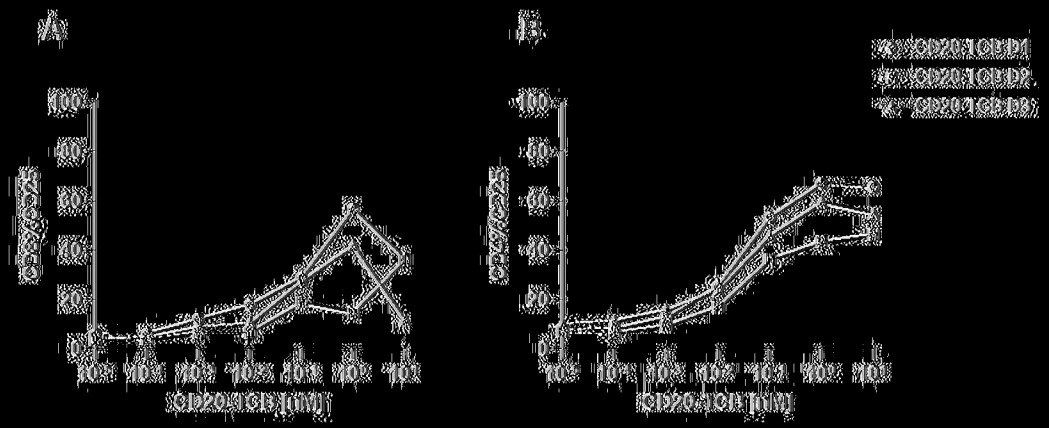

A
B
100
80
60
40
20
0
10^2
10^1
10^0
10^-1
10^-2
10^-3
10^-4
C1D20:1G1 [nM]
C1D20:1G1 [nM]
C1D20:1G1:D1
C1D20:1G1:D2
C1D20:1G1:D3

圖 86

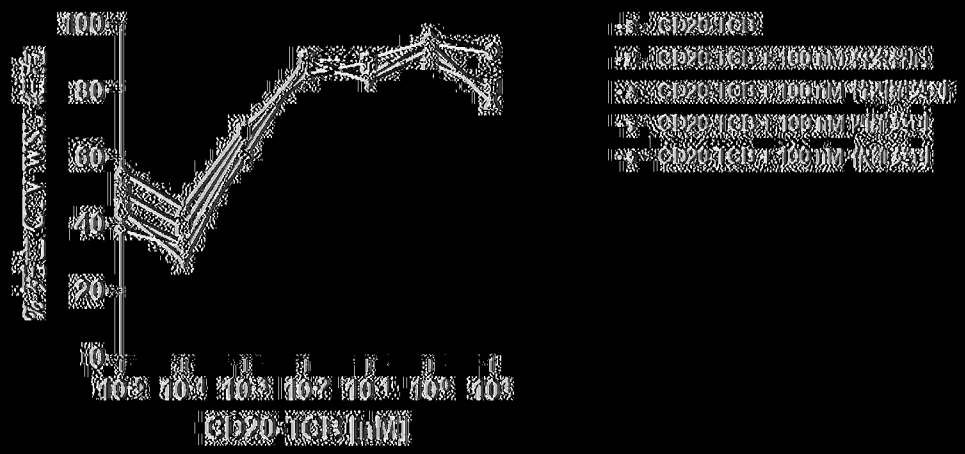


圖3F

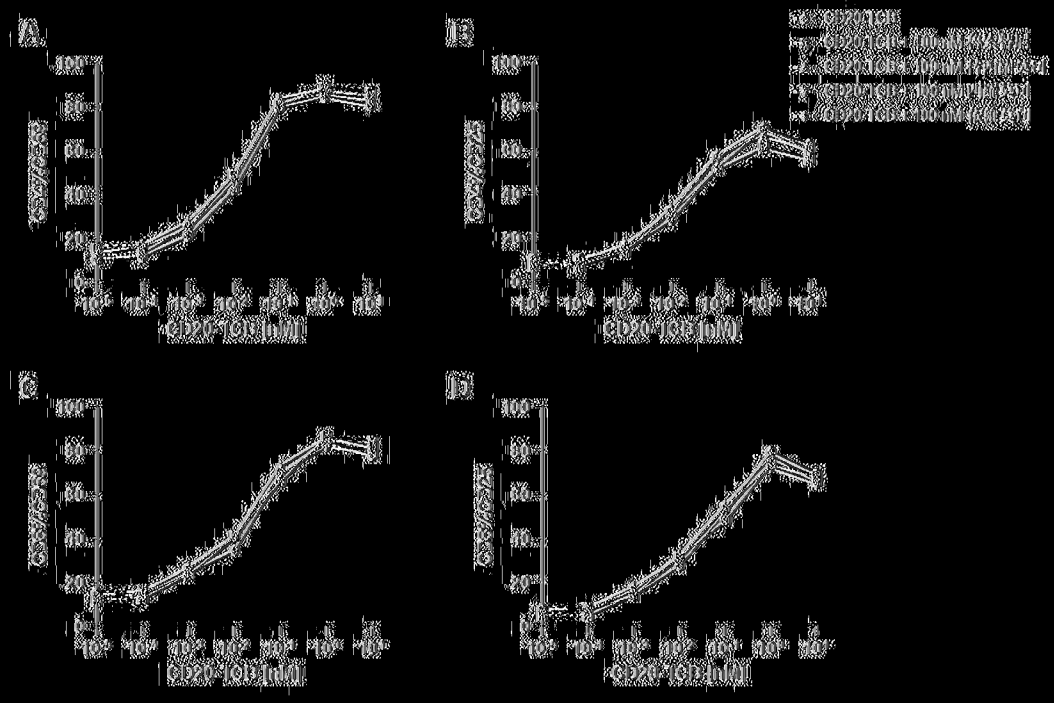

A.
B.
C.
D.
Response (%)
CD20-TCB (nM)
CD20-TCB (pM)
CD20-TCB (fM)
CD20-TCB (nM)
1 CD20-TCB
2 CD20-TCB + 100 nM
3 CD20-TCB + 300 nM
4 CD20-TCB + 900 nM

圖 38

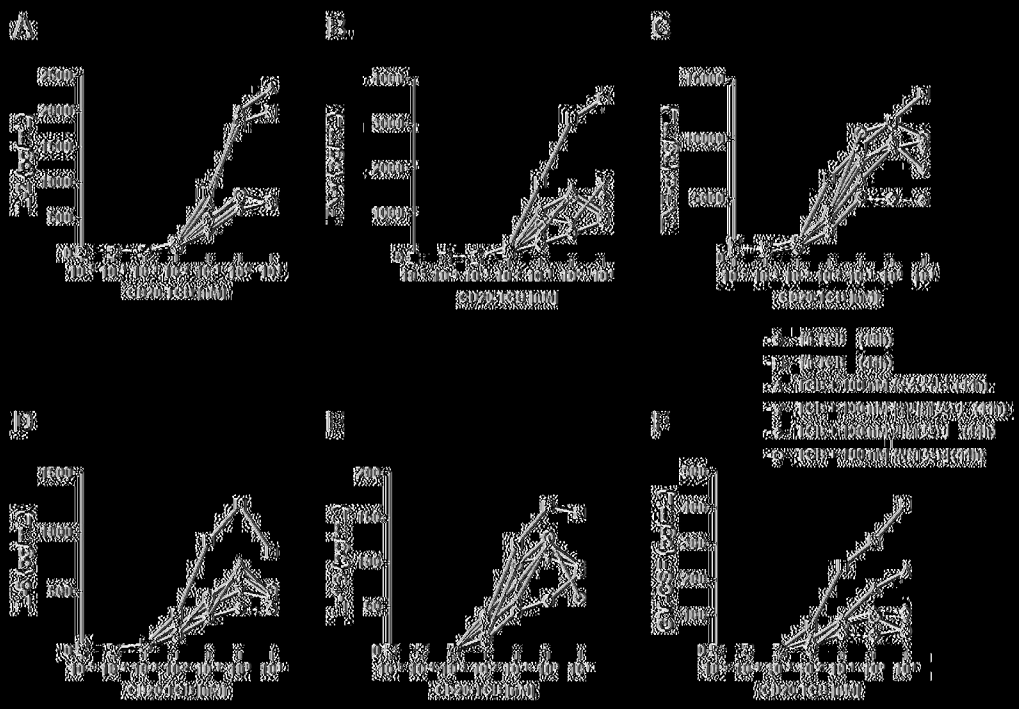


圖39

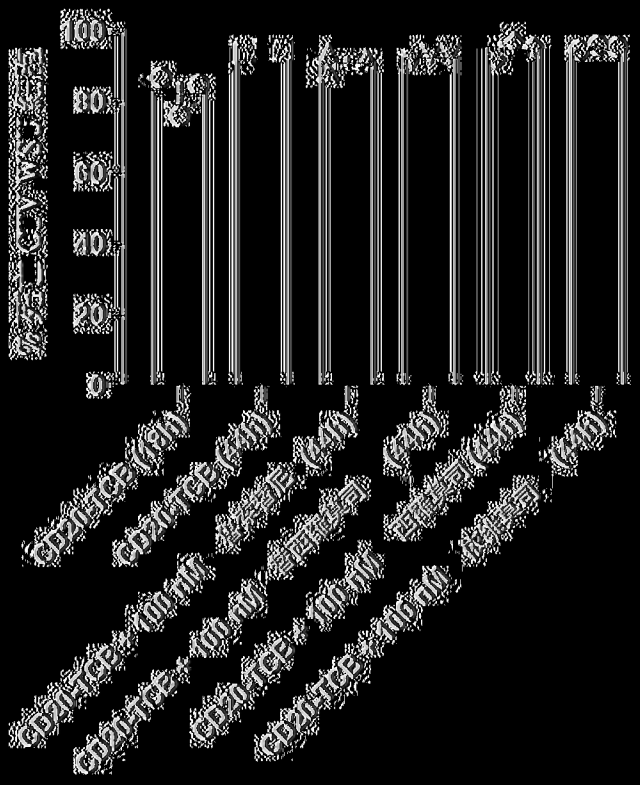

100
80
60
40
20
0
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)
CD20-TCE (4d)

圖 40

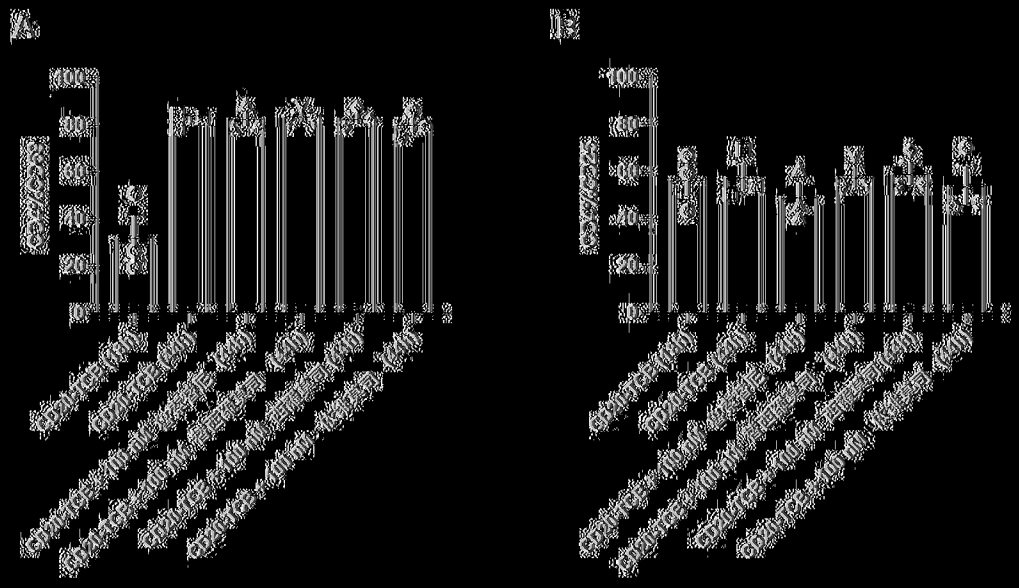

(A)
(B)
Control
CD44+CD24-/CD44+
CD44+CD24-/CD44+ CD133+
CD44+CD24-/CD44+ CD133-
CD44+CD24-/CD44+ CD133+ CD49f+
CD44+CD24-/CD44+ CD133+ CD49f-
CD44+CD24-/CD44+ CD133- CD49f+
CD44+CD24-/CD44+ CD133- CD49f-

圖4J.

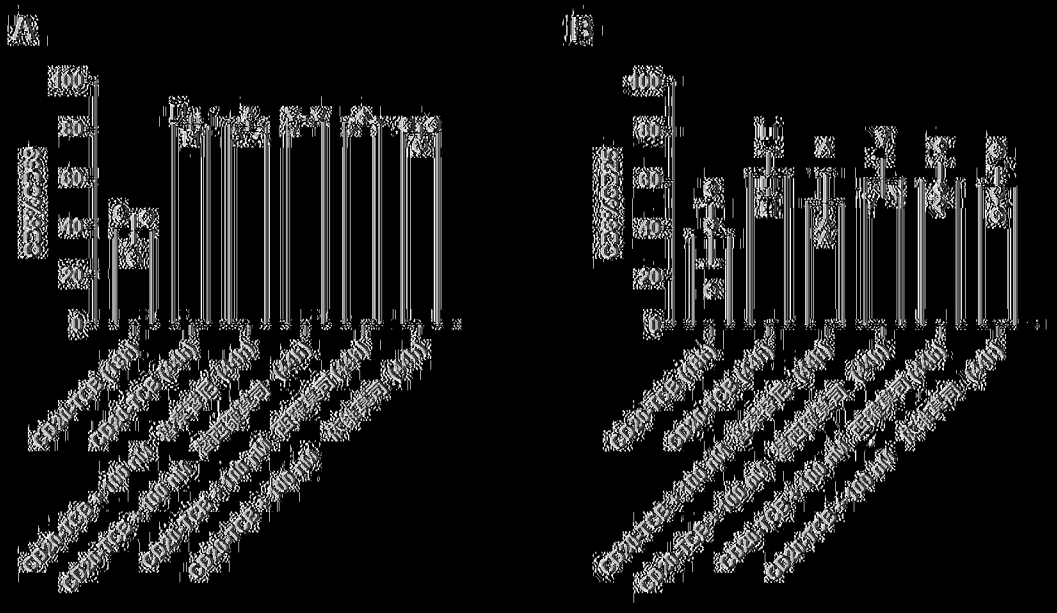


圖 42

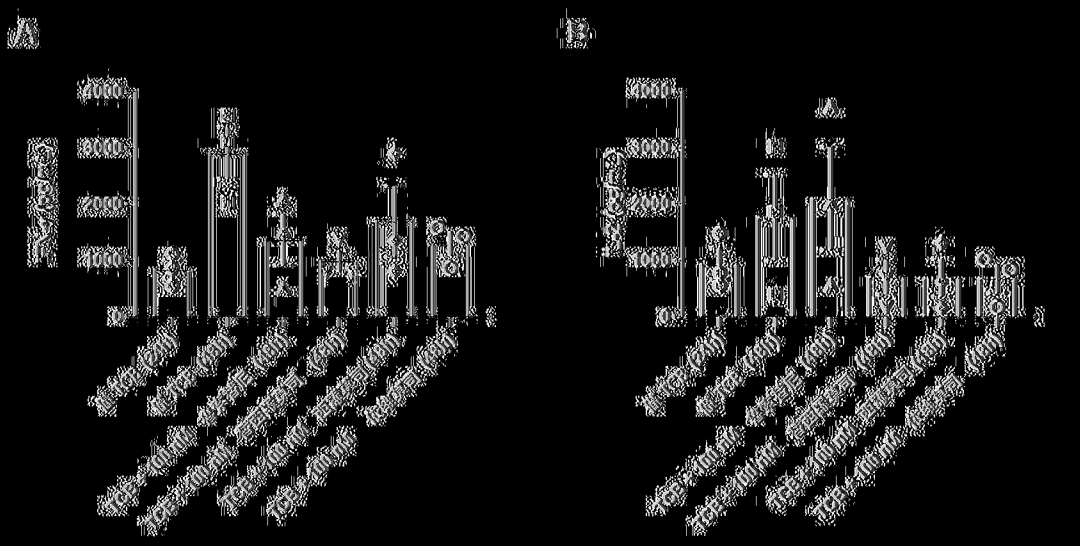


圖43

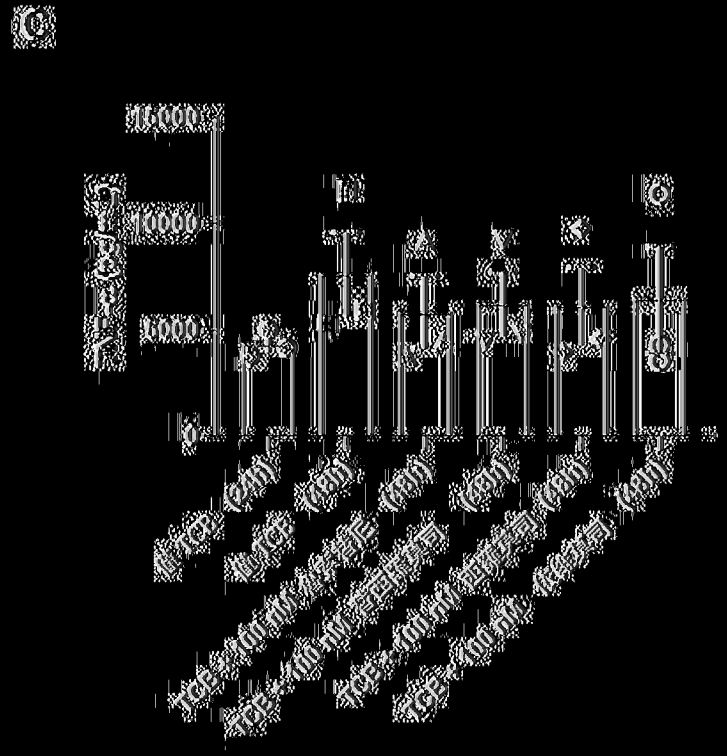


圖 43

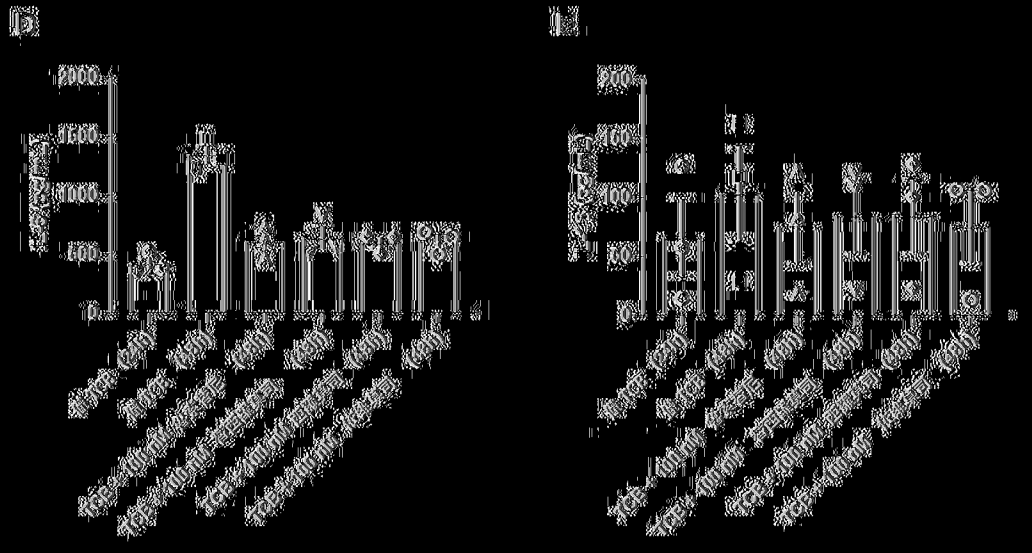


圖 43

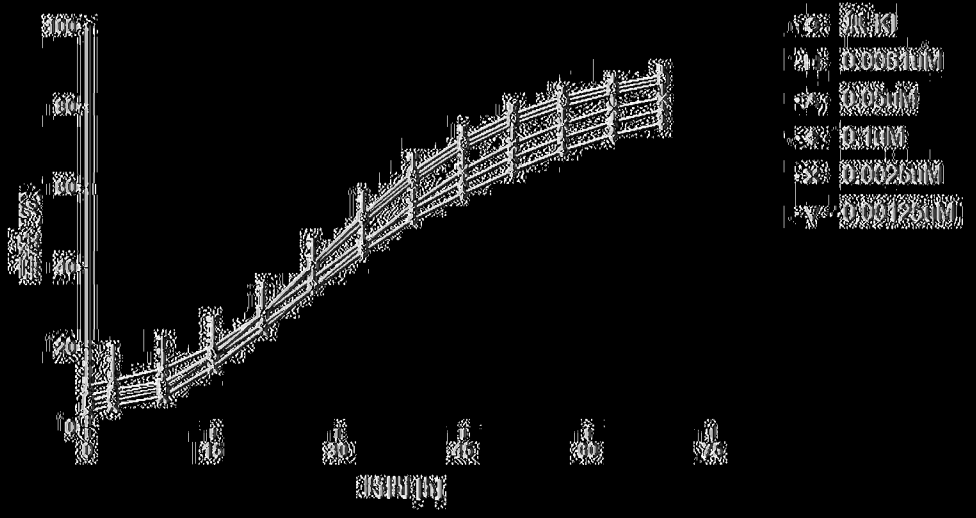


圖4A

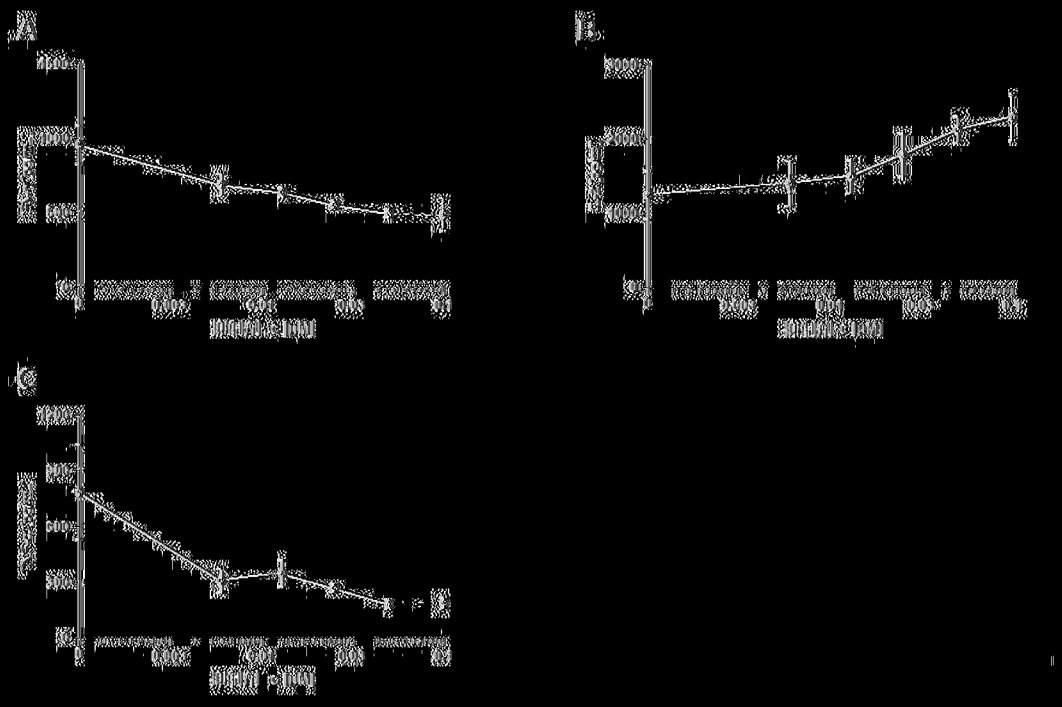


圖 4B

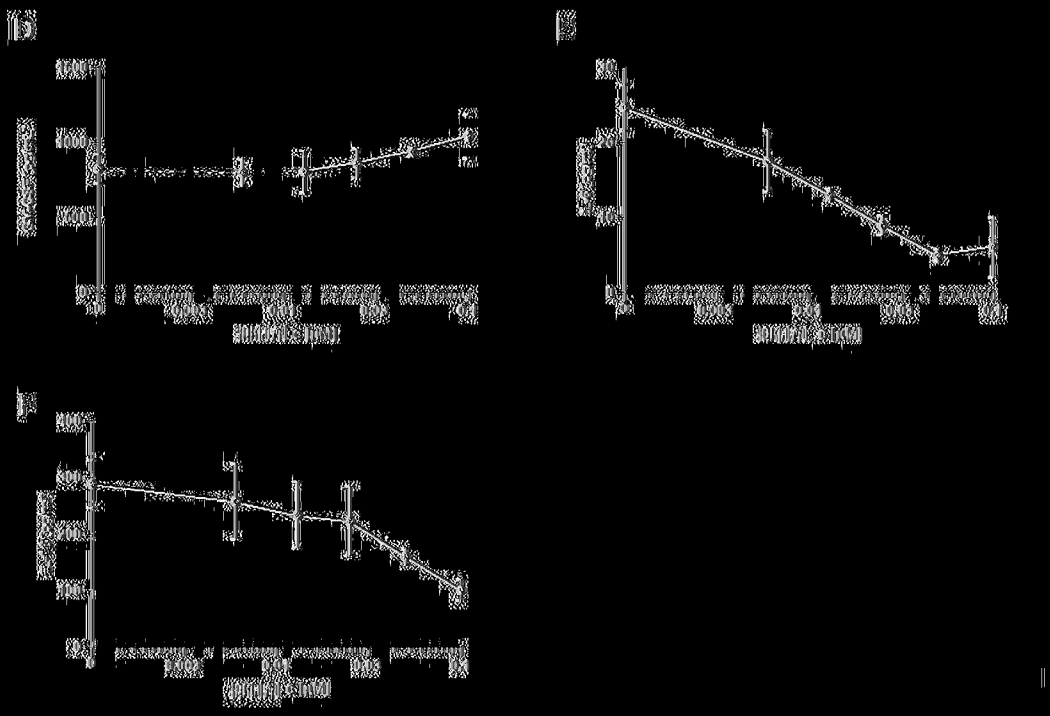


圖4-45

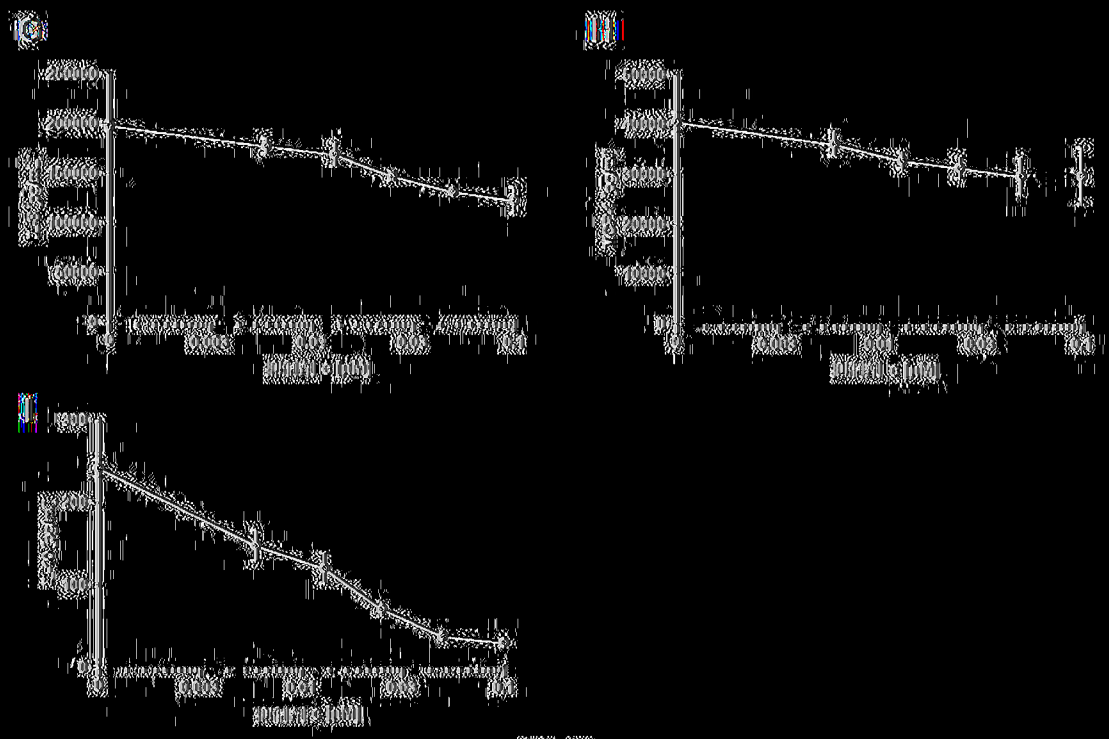


圖 43

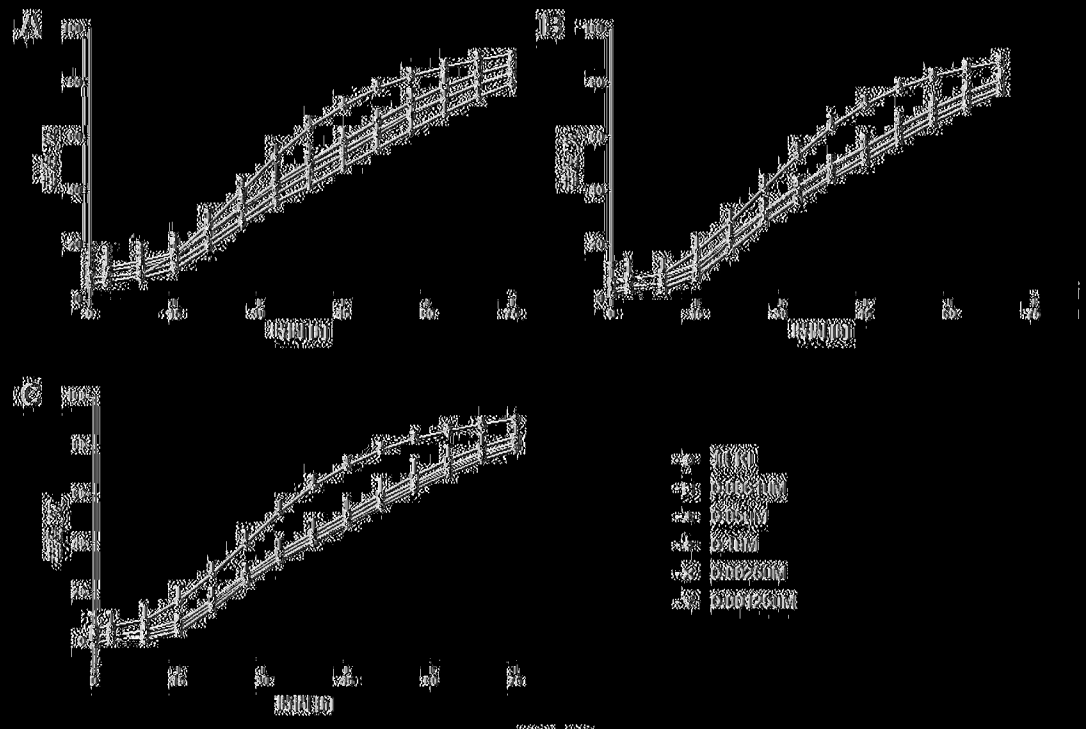
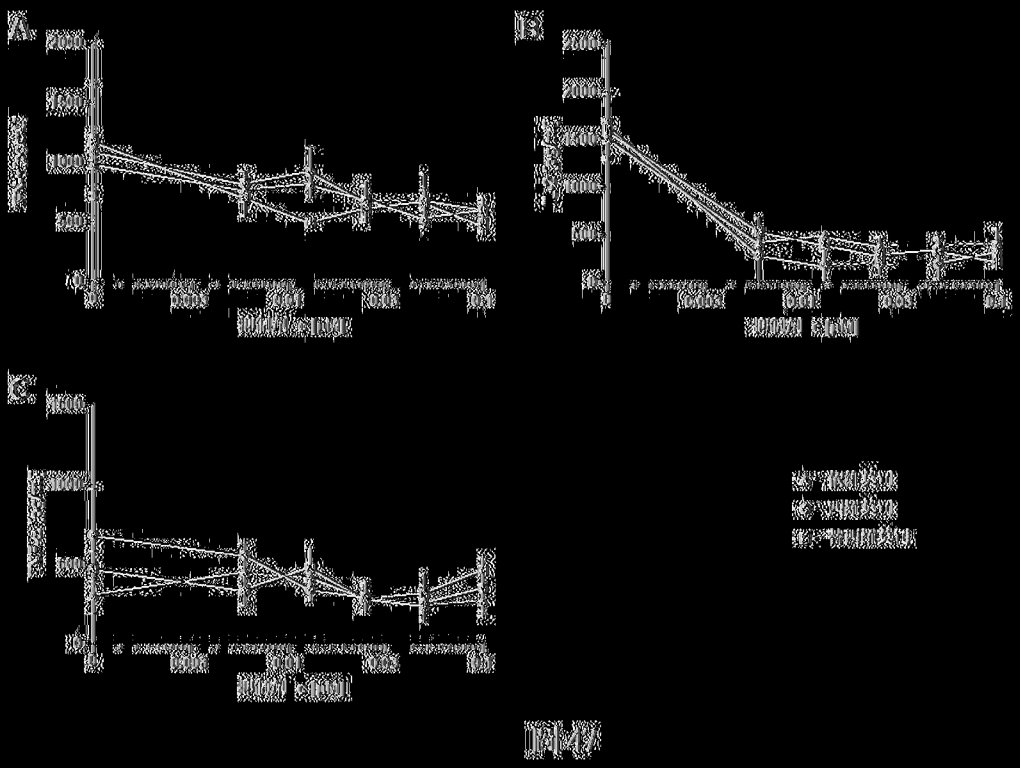


圖46



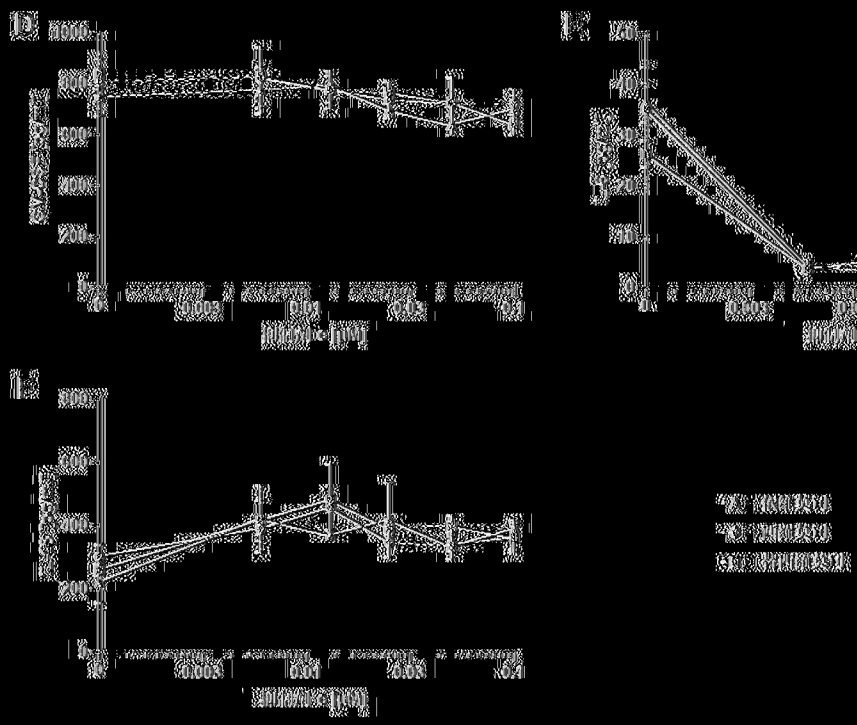


圖 2(2)

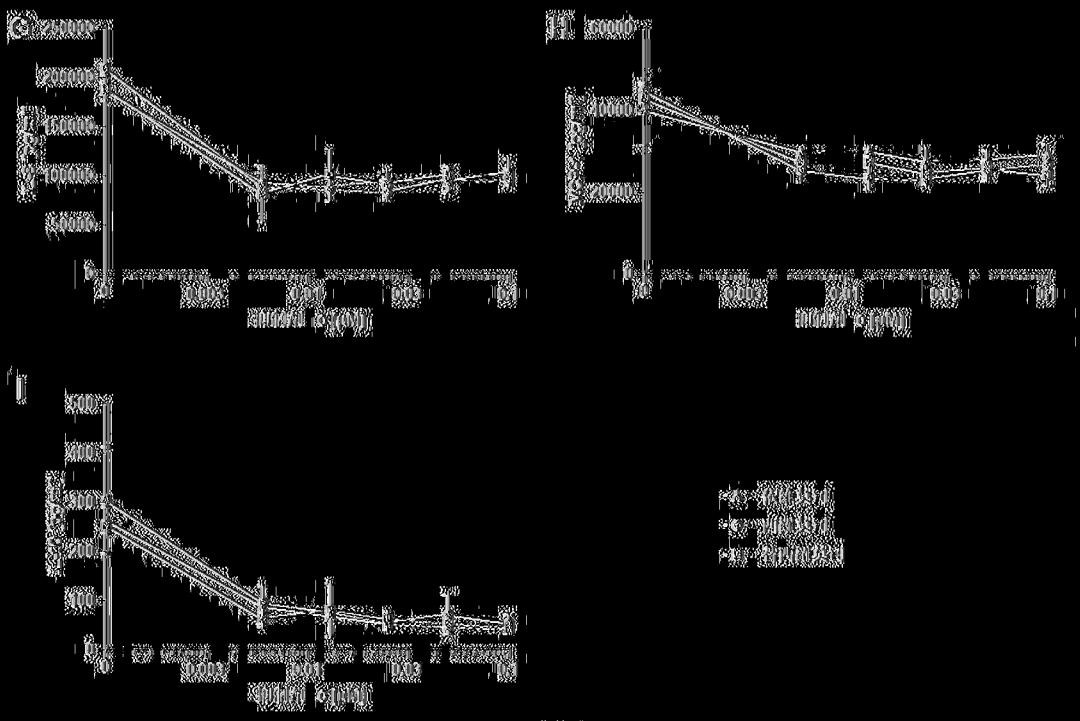


圖4C

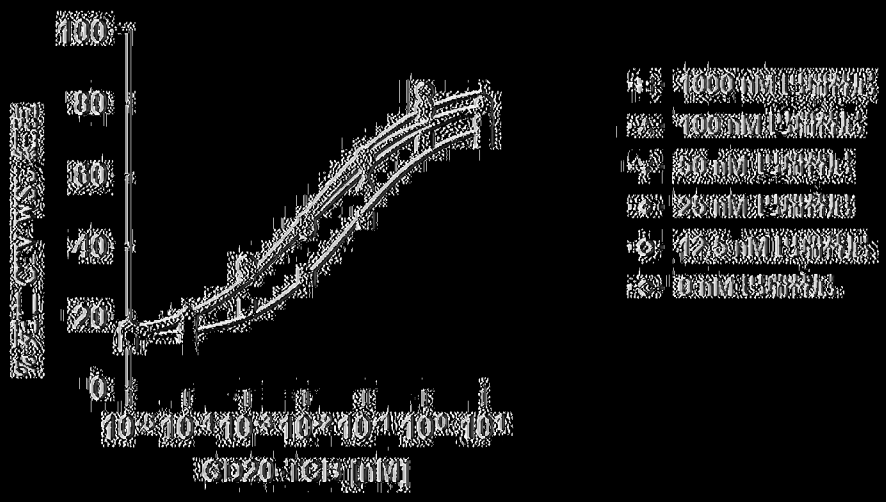

100
80
60
40
20
0
CD20 MCF [nM]
1000 nM 抗體濃度
100 nM 抗體濃度
50 nM 抗體濃度
25 nM 抗體濃度
12.5 nM 抗體濃度
0 nM 抗體濃度

圖 18.

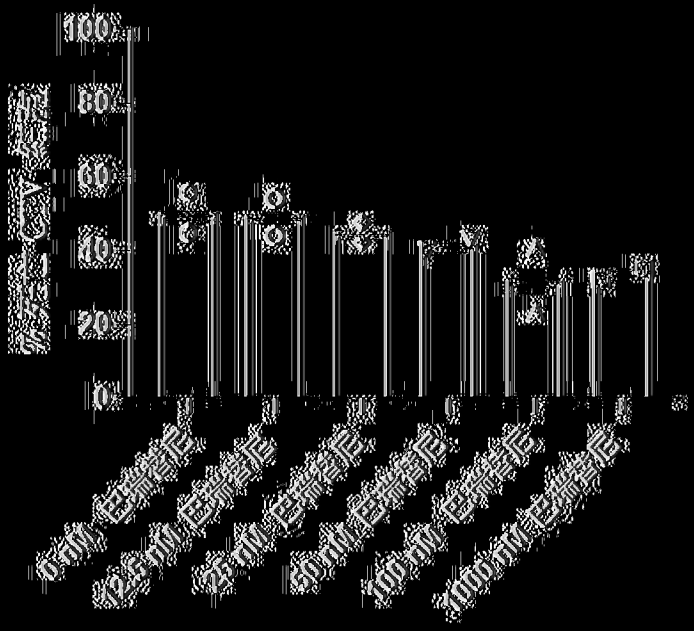
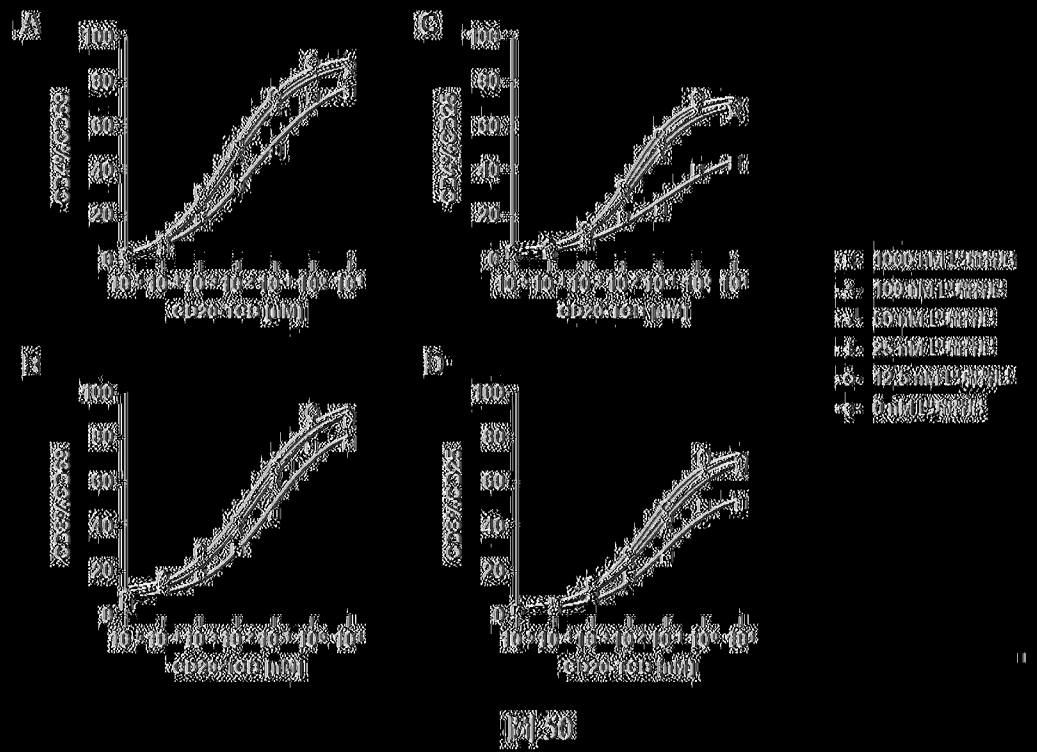

100
80
60
40
20
0
0.01 mm 已減薄
0.05 mm 已減薄
0.10 mm 已減薄
0.50 mm 已減薄
1.00 mm 已減薄
3.00 mm 已減薄

圖 19



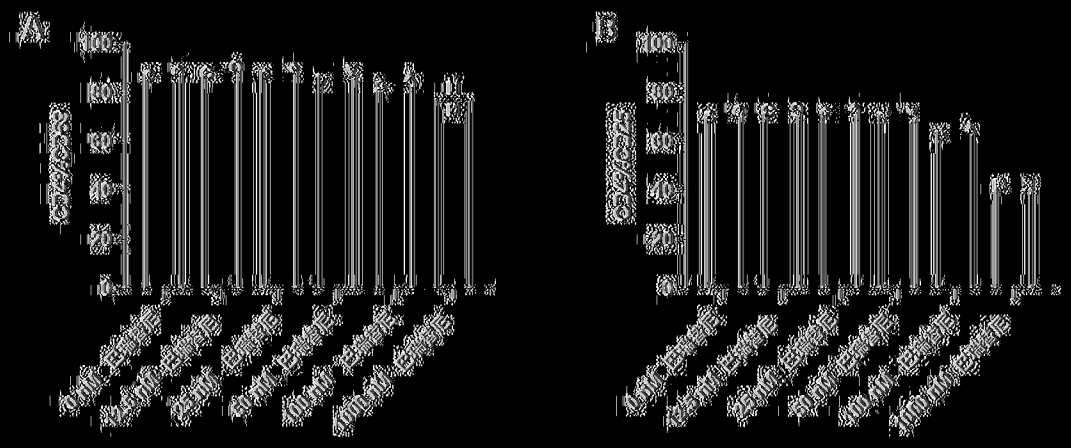


圖 5A

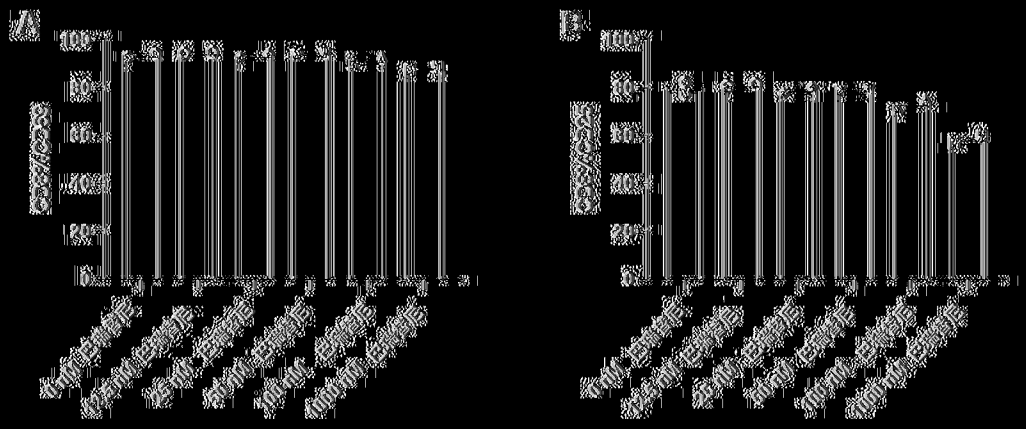


圖 52

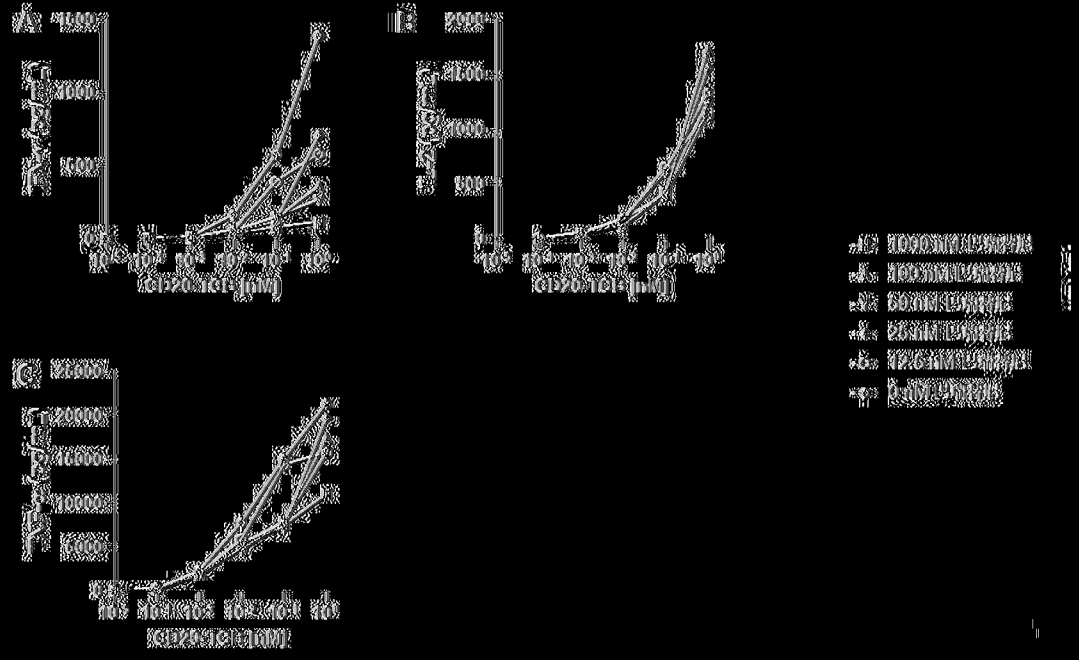

A
B
C
cd20.1el-[nM]
cd20.1el-[nM]
cd20.1el-[nM]
100000nM cd20.1el
50000nM cd20.1el
25000nM cd20.1el
12500nM cd20.1el
6250nM cd20.1el
0 cd20.1el

圖53

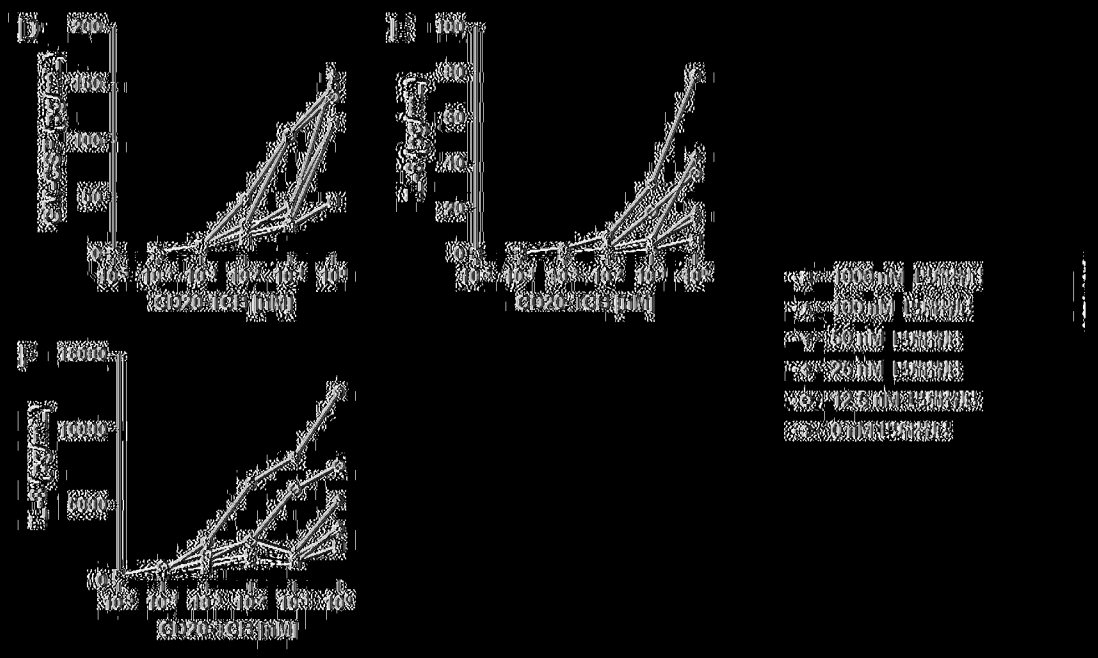


圖5B

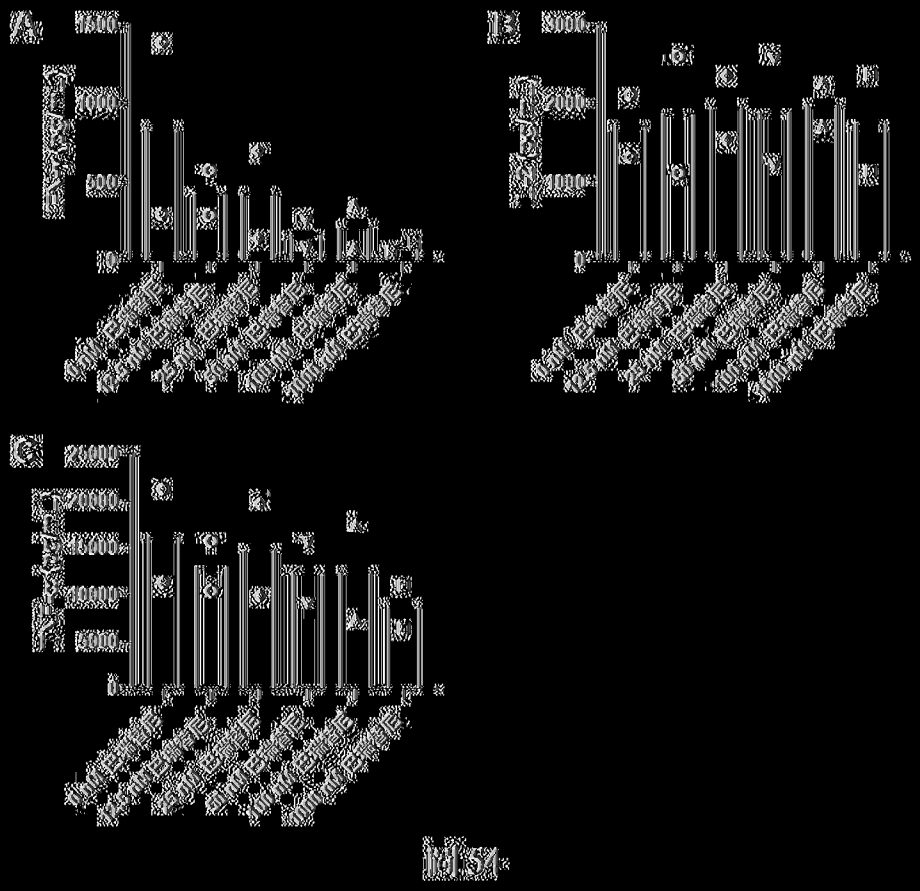
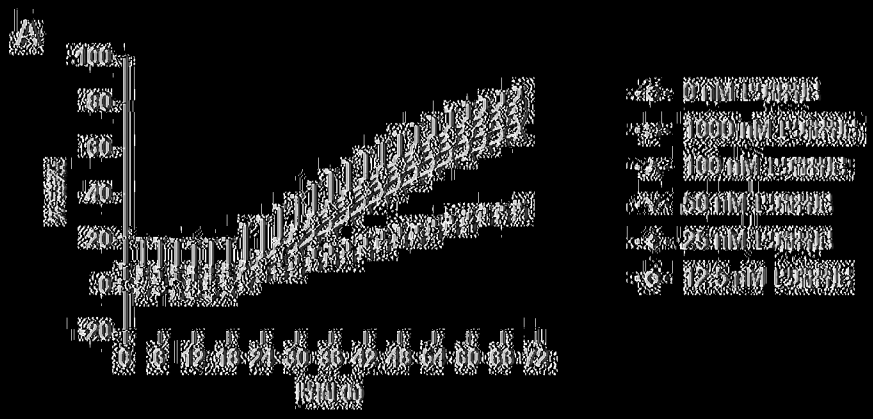


圖 5A

圖 54



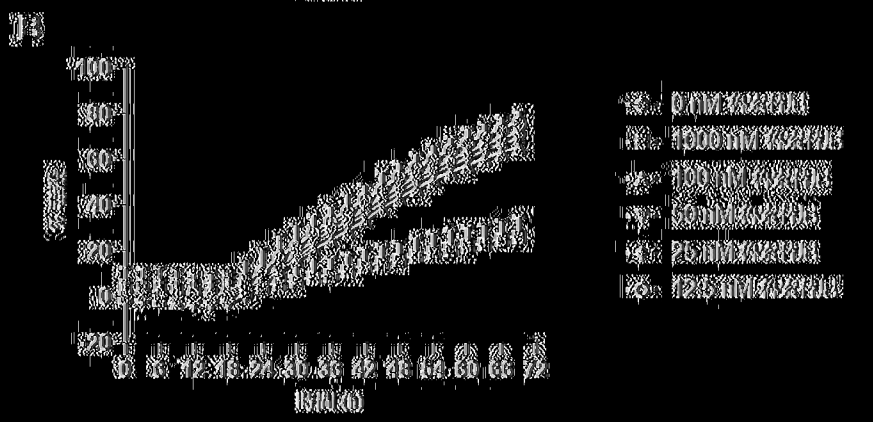


圖 55

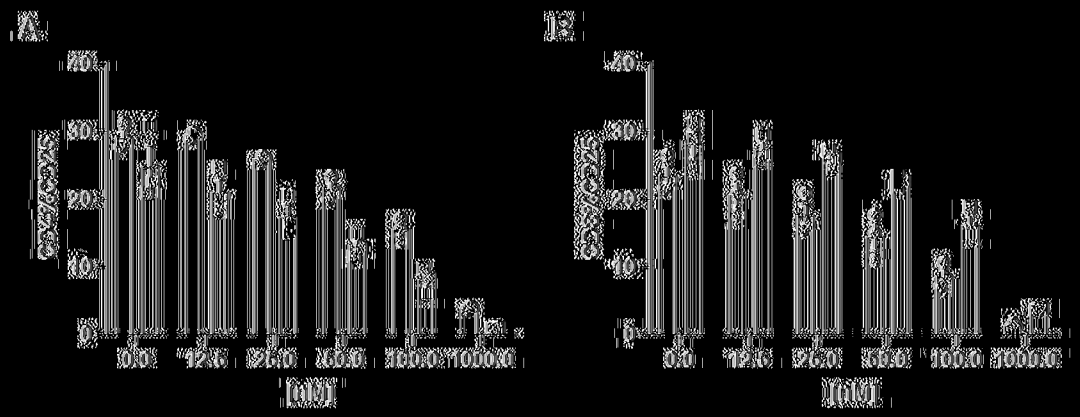


圖 56

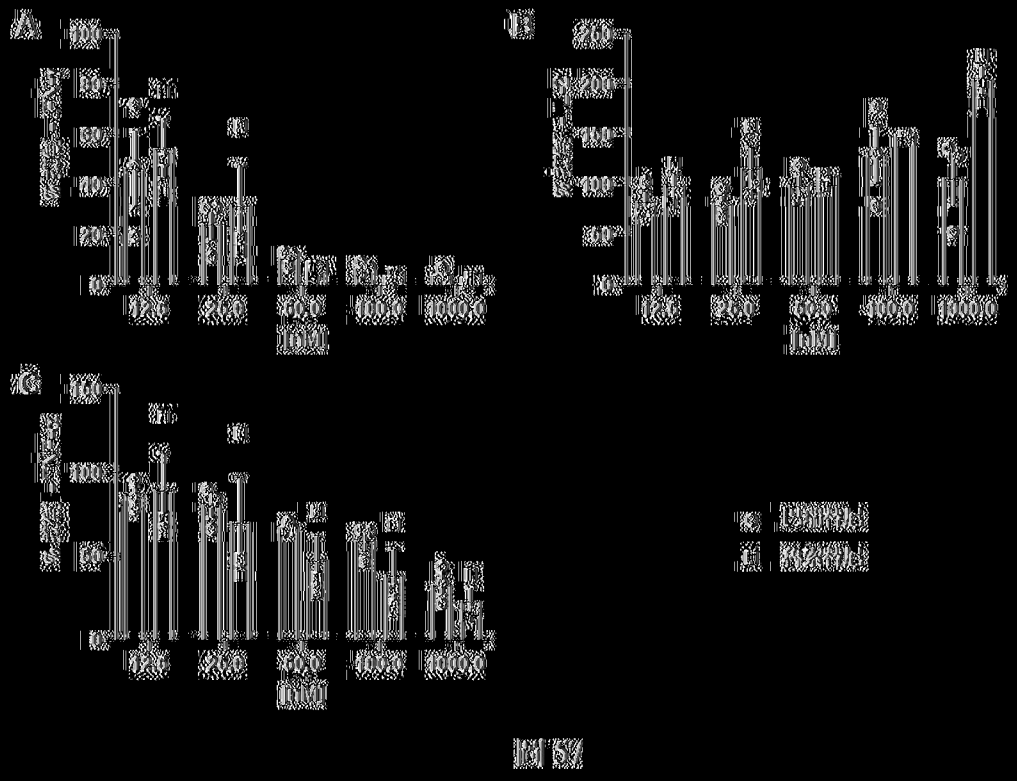


圖 5A

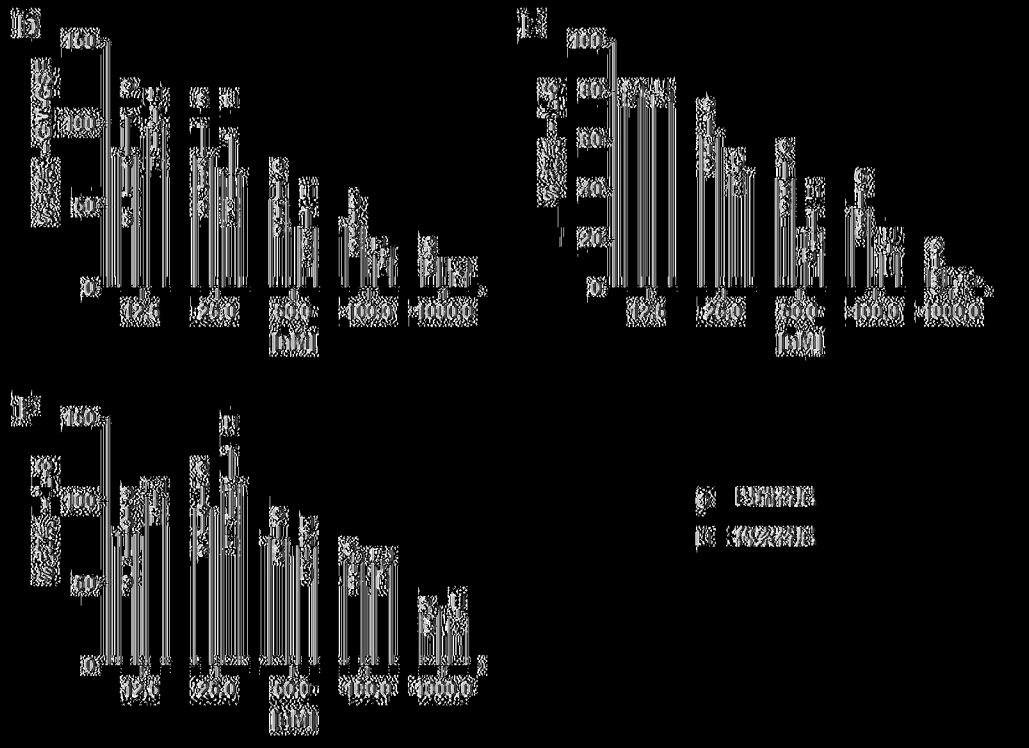


圖 57

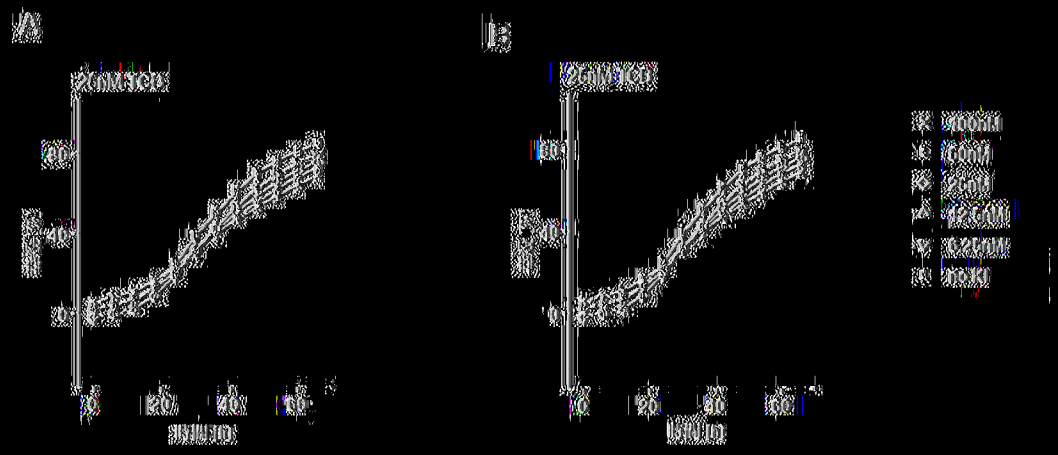


圖 5B

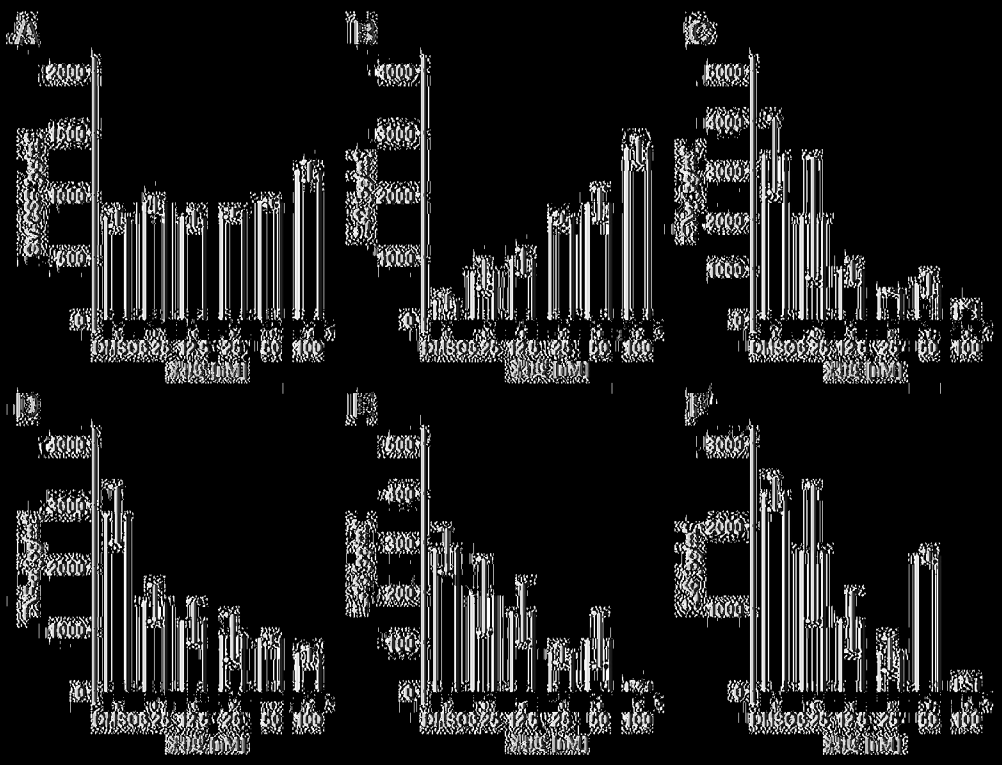


圖 59

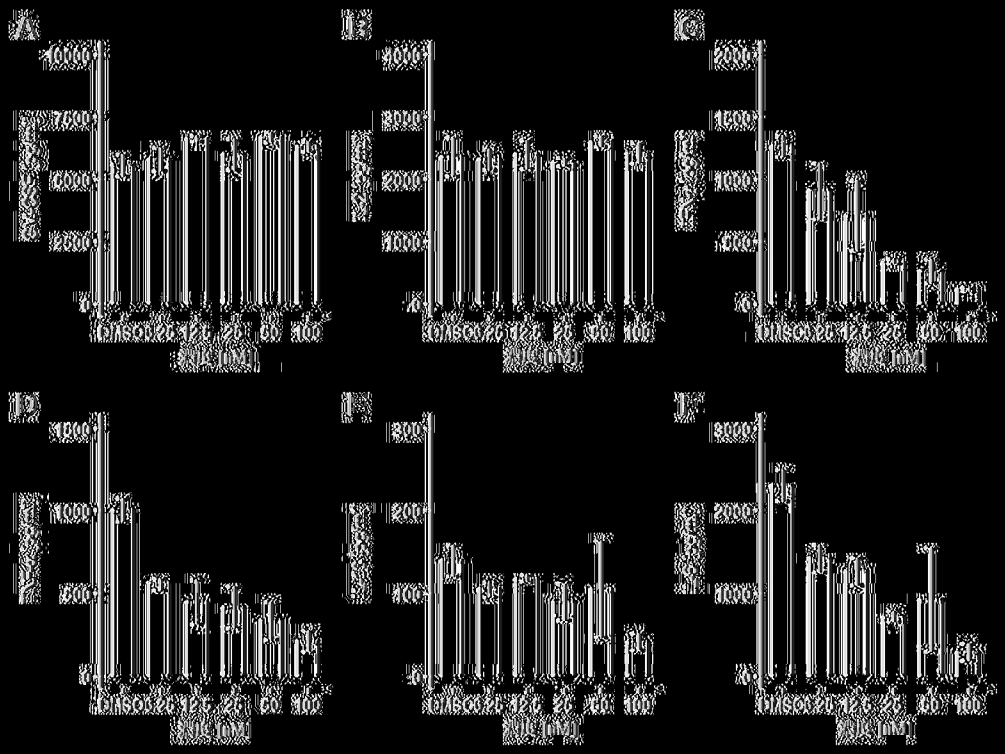


圖 60

A
100
80
60
40
20
0
10-2 10-1 100 101 102
ug/ml
1: PGLALA-Jdc + 100 nM nuxo
2: PGLALA-Jdc + 100 nM sto
3: PGLALA-Jdc
B
100
80
60
40
20
0
10-2 10-1 100 101 102
ug/ml
1: PGLALA-Jdc
2: PGLALA-Jdc + 100 nM nuxo
3: PGLALA-Jdc + 100 nM sto

圖 61

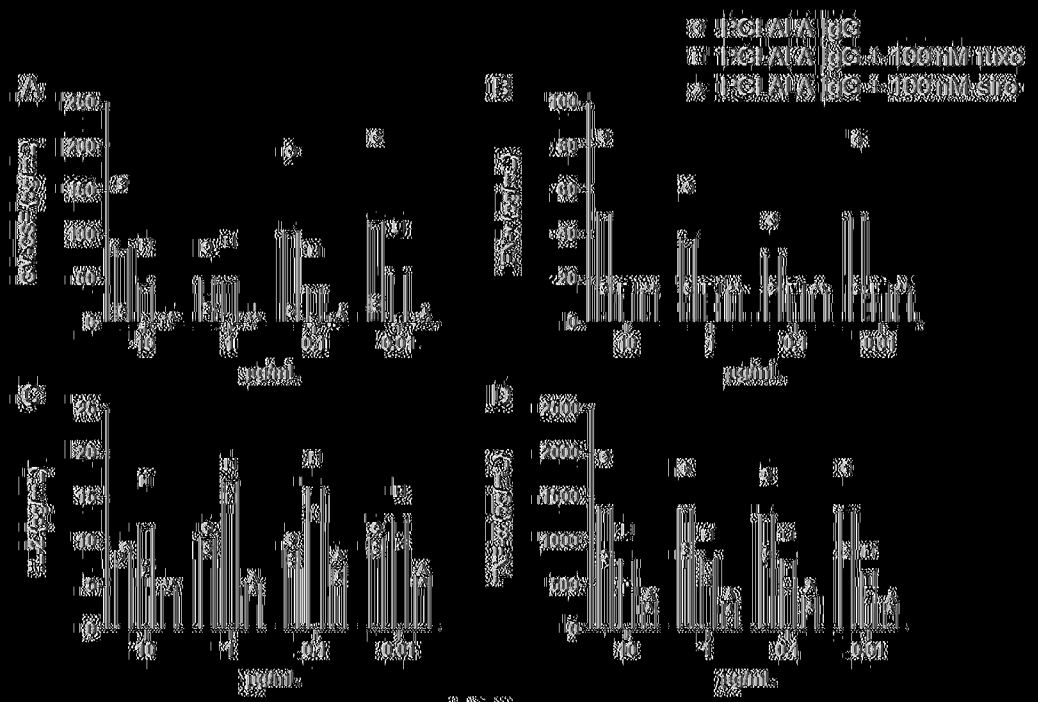
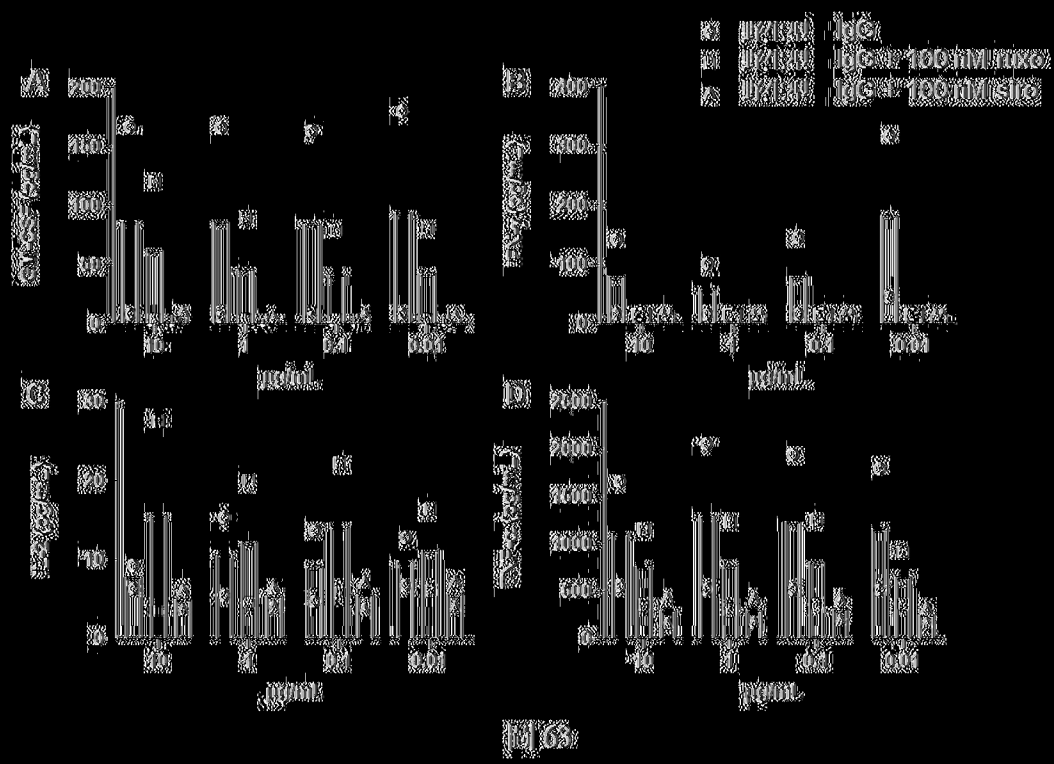


圖 62


A
B
C
D
E
0
400
800
1200
1600
2000
2400
2800
3200
10
5
2.5
1.25
0.63
0.31
0.16
0.08
0.04
0.02
0.01
μg/mL
ng/mL
對照組
實施例1
實施例2

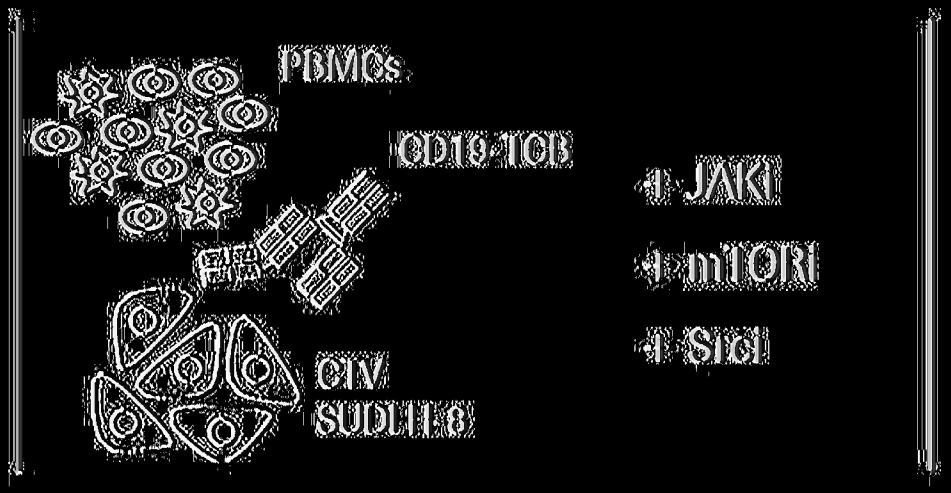


圖 6H

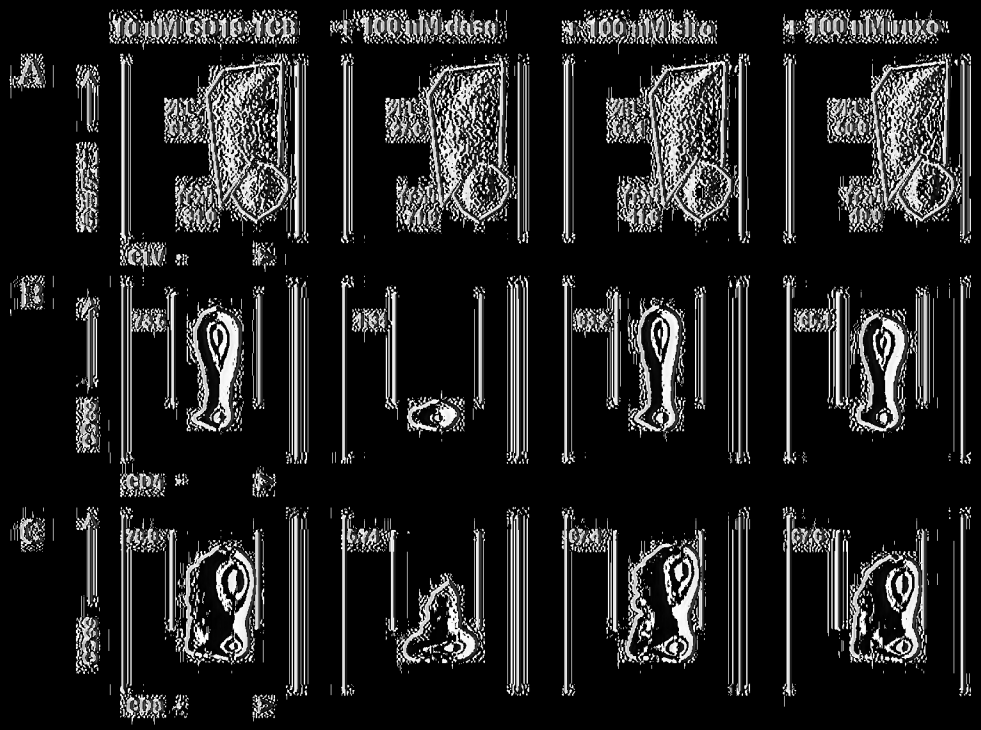

10 nM GD16-1CB
+ 100 nM chso
+ 100 nM sto
+ 100 nM mxo
A
B
C
CD1
CD2
CD3
CD4

圖 6B

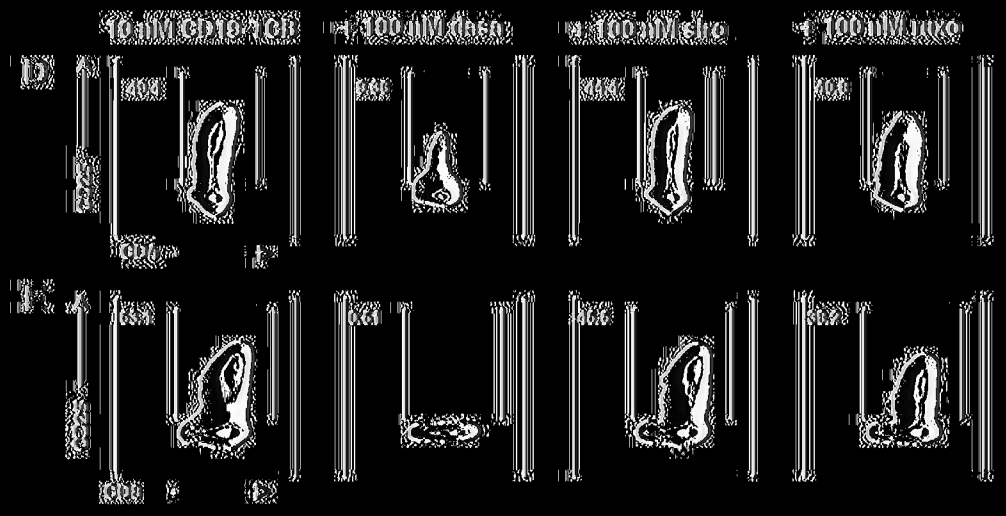


圖 65

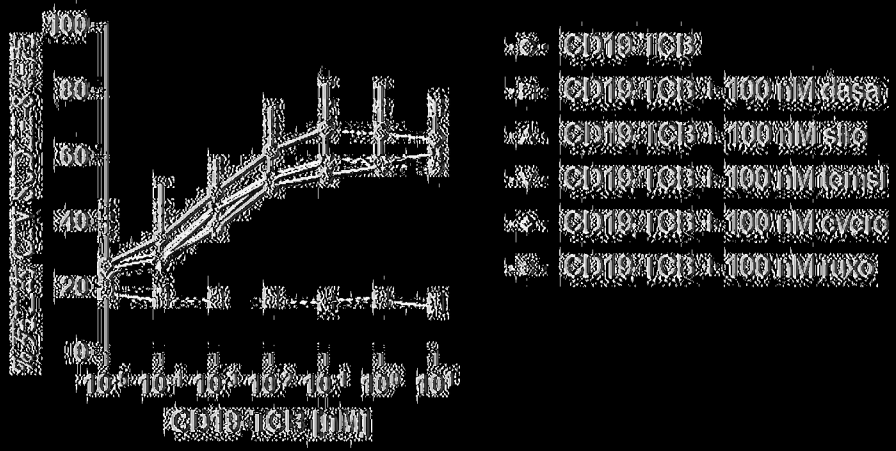

100
80
60
40
20
0
10⁶ 10⁵ 10⁴ 10³ 10² 10¹ 10⁰ 10⁻¹
CD19-TCE [nM]
CD19-TCE
CD19-TCE + 100 nM desa
CD19-TCE + 100 nM sito
CD19-TCE + 100 nM tors
CD19-TCE + 100 nM cvcro
CD19-TCE + 100 nM ruxo

圖 66

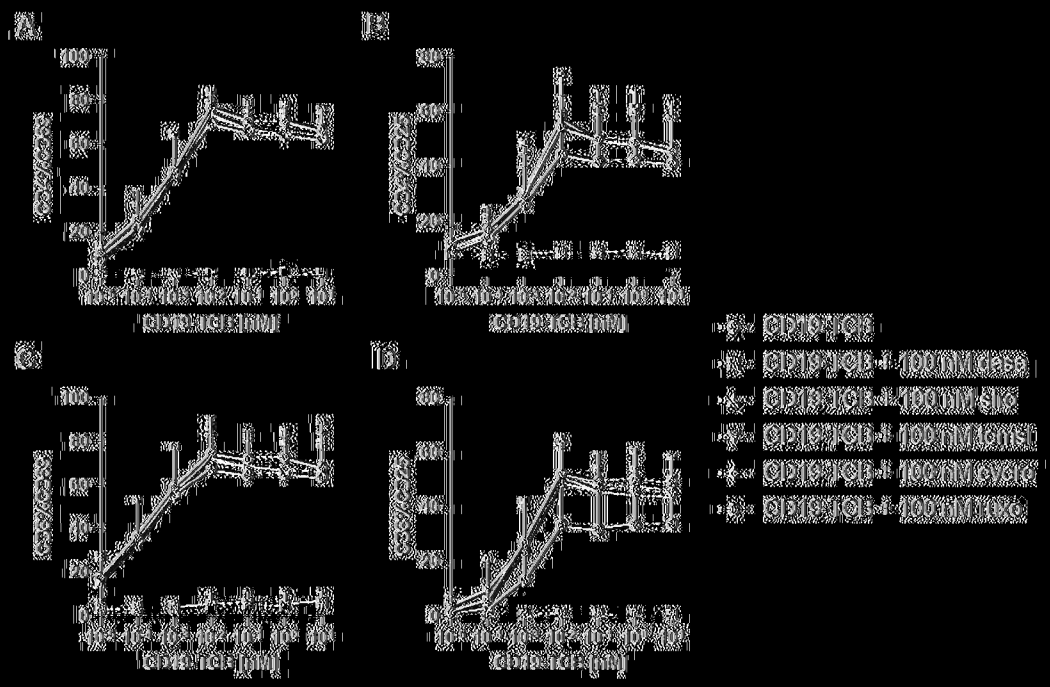

A
B
C
D
CD19+ICB
CD19+ICB+100nM Gefa
CD19+ICB+100nM SN
CD19+ICB+100nM Ibrut
CD19+ICB+100nM Cyst
CD19+ICB+100nM Ixo

圖6

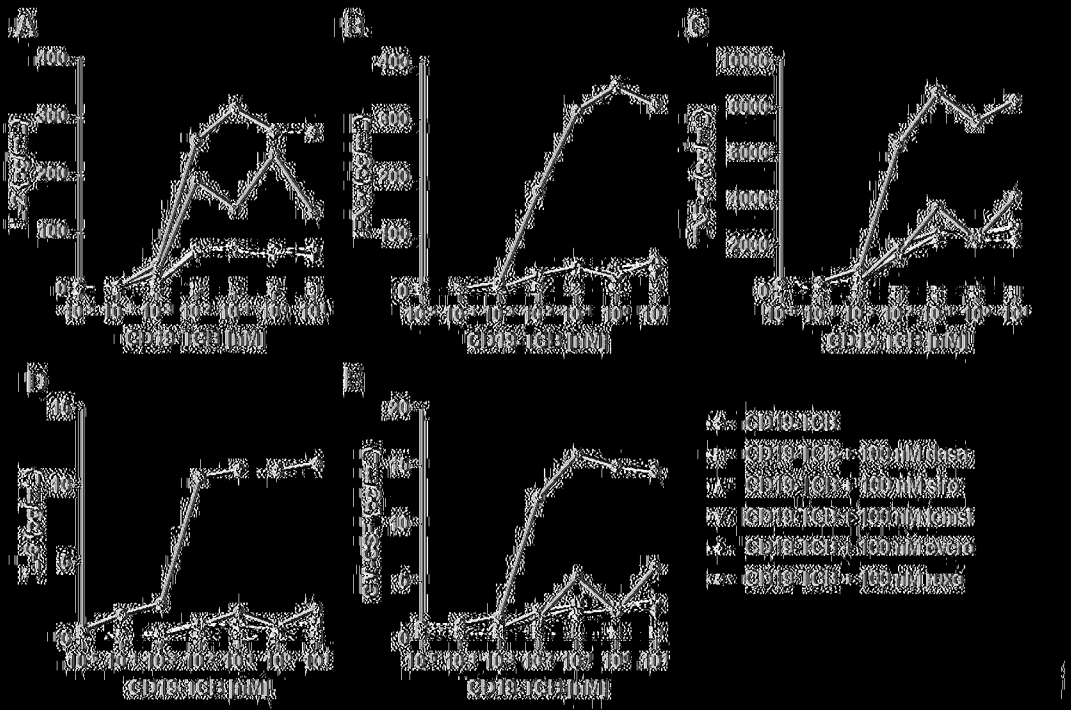

A
B
C
D
E
CD19-TCE (nM)
CD19-TCE: 100nM/dose
BAFF-CAR: 100nM/dose
target-TCE: 100nM/dose
CD19-TCE: 100nM/dose

圖68

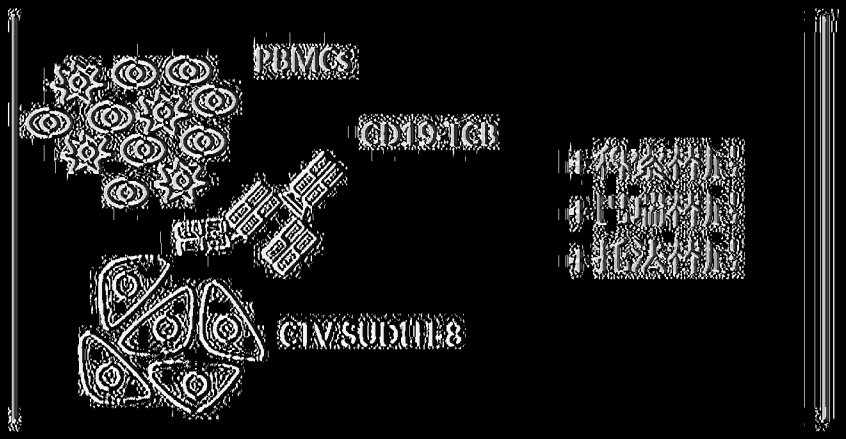


圖 69

% 特異的細胞溶解
100
80
60
40
20
0
10⁻¹⁰ 10⁻⁹ 10⁻⁸ 10⁻⁷ 10⁻⁶ 10⁻⁵ 10⁻⁴
CD19-1CE [M]
CD19-1CE
CD19-1CE + 100 nM Toledo
CD19-1CE + 100 nM Jeko
CD19-1CE + 100 nM Daudi

圖 70

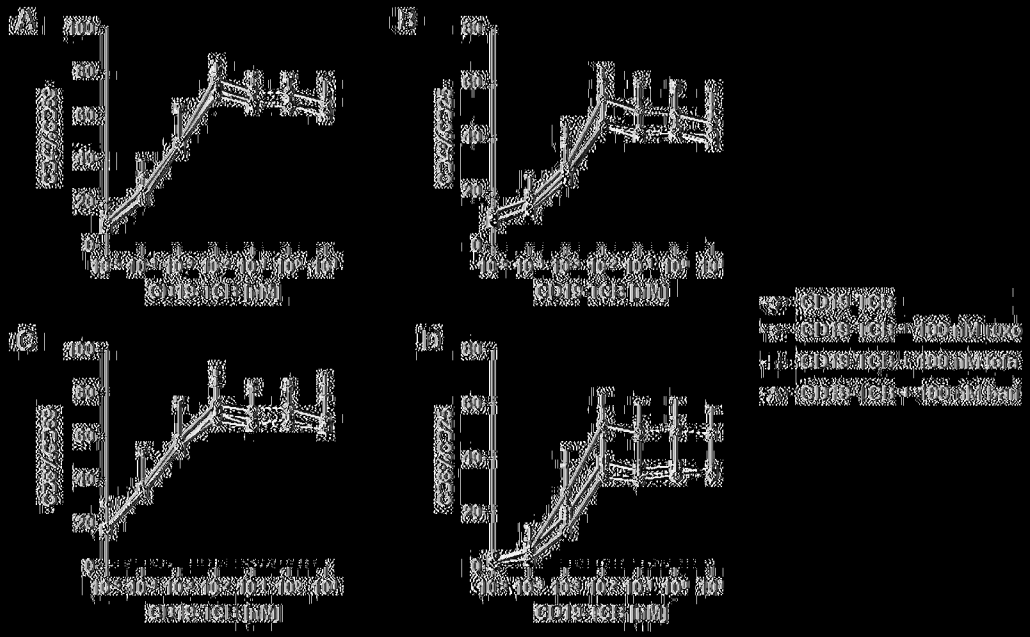
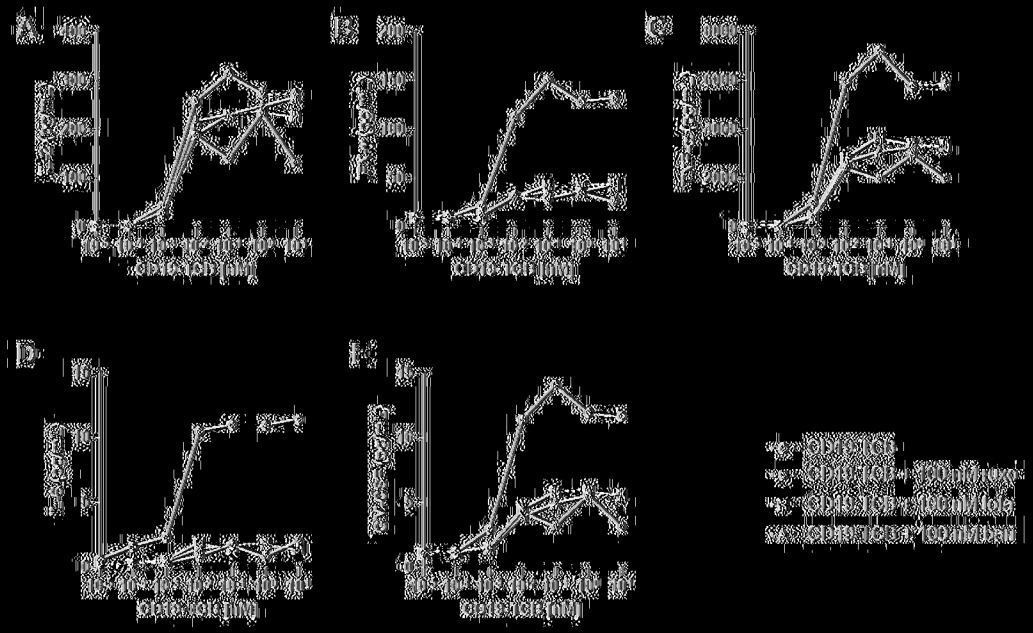

(A)
(B)
(C)
(D)
CD19-1GL (nM)
CD19-1GL (nM)
CD19-1GL (nM)
CD19-1GL (nM)
CD19-1GL
CD19-1GL + 100 nM Duvo
CD19-1GL + 100 nM Blina
CD19-1GL + 100 nM Blina

圖 71



圖(V2.

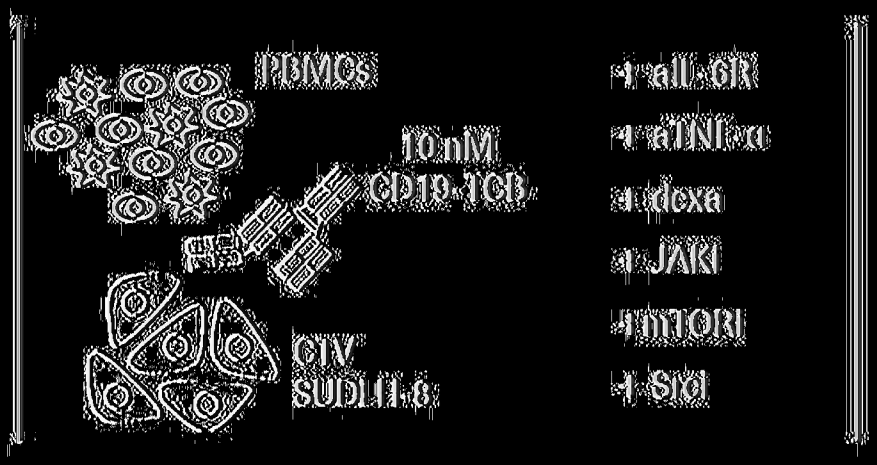

PBMCs
10 nM
CD19-TCB
CIV
SUDI11-8
IL-6R
aTNF-α
dexa
JAKi
mTORi
Src

圖 7A

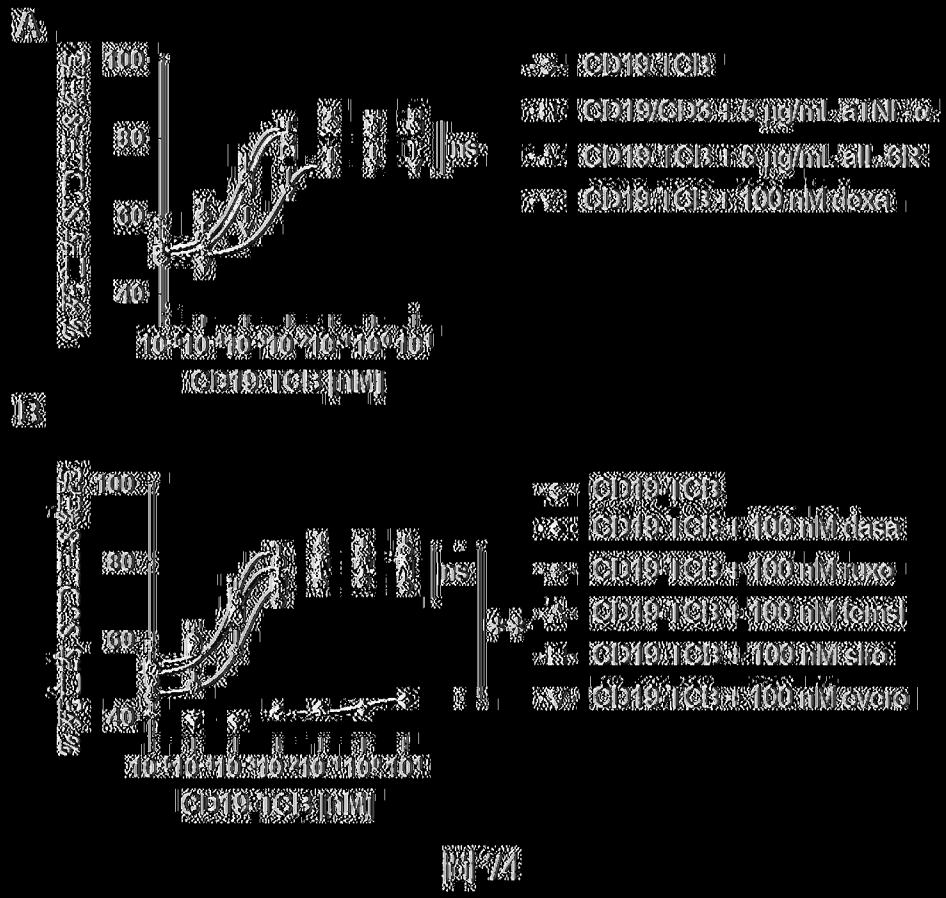
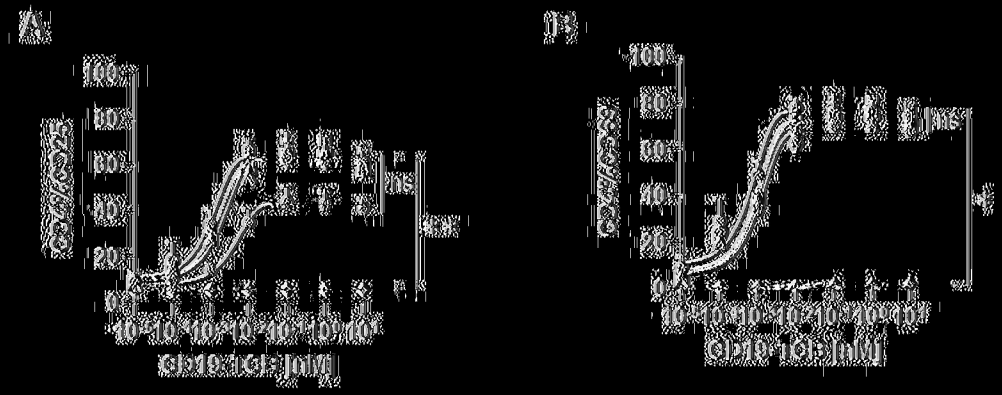

A
100
80
60
40
10^-10 10^-9 10^-8 10^-7 10^-6 10^-5 10^-4
CD19*TCB [nM]
CD19*TCB
CD19/CD3 1.5 μg/mL anti-CD
CD19*TCB 1.6 μg/mL anti-CD
CD19*TCB + 100 nM dexa
B
100
80
60
40
10^-10 10^-9 10^-8 10^-7 10^-6 10^-5 10^-4
CD19*TCB [nM]
CD19*TCB
CD19*TCB + 100 nM dexa
CD19*TCB + 100 nM oxo
CD19*TCB + 100 nM chlo
CD19*TCB + 100 nM clo
CD19*TCB + 100 nM evero

圖4A


A
B
100
80
60
40
20
0
ns
10⁻¹⁰ 10⁻⁹ 10⁻⁸ 10⁻⁷ 10⁻⁶ 10⁻⁵ 10⁻⁴
c(b19/Gb3) [mM]

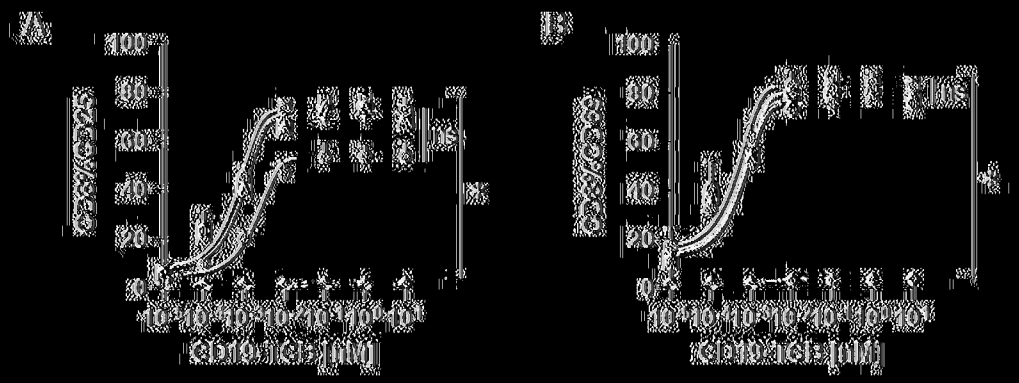
c(b19/Gb3)
c(b19/Gb3) = 0 nM/mL aNI
c(b19/Gb3) = 0 nM/mL all-6R
c(b19/Gb3) = 100 nM/dexa

圖 75

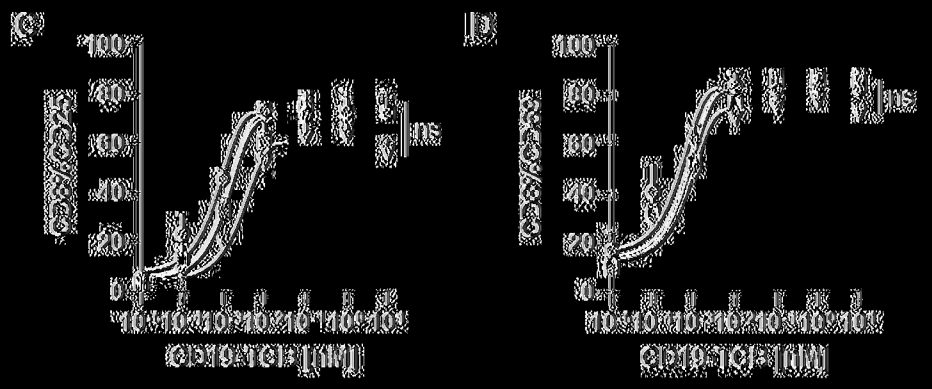
(C)
(D)
100
80
60
40
20
0
CD19-TCE [nM]
CD16-TCE [pM]

CD19-TCE
CD19/CD16-TCE 100nM/65pM
CD19-TCE 100 nM+uxo
CD19/CD16-TCE 100nM/10ms
CD19-TCE 100 nM+lo
CD19/CD16-TCE 100 nM/0vo/o

圖 7B



«c «cp19;1cp
"v" «cp19/cp33»«.0 1q/ml «a1NF»..
"^" «cp19;1cp» «.0 1q/ml «all «9f
"v" «cp19;1cp» «.1qq nM dexe


(a)
(b)
ns
ns
100
80
60
40
20
0

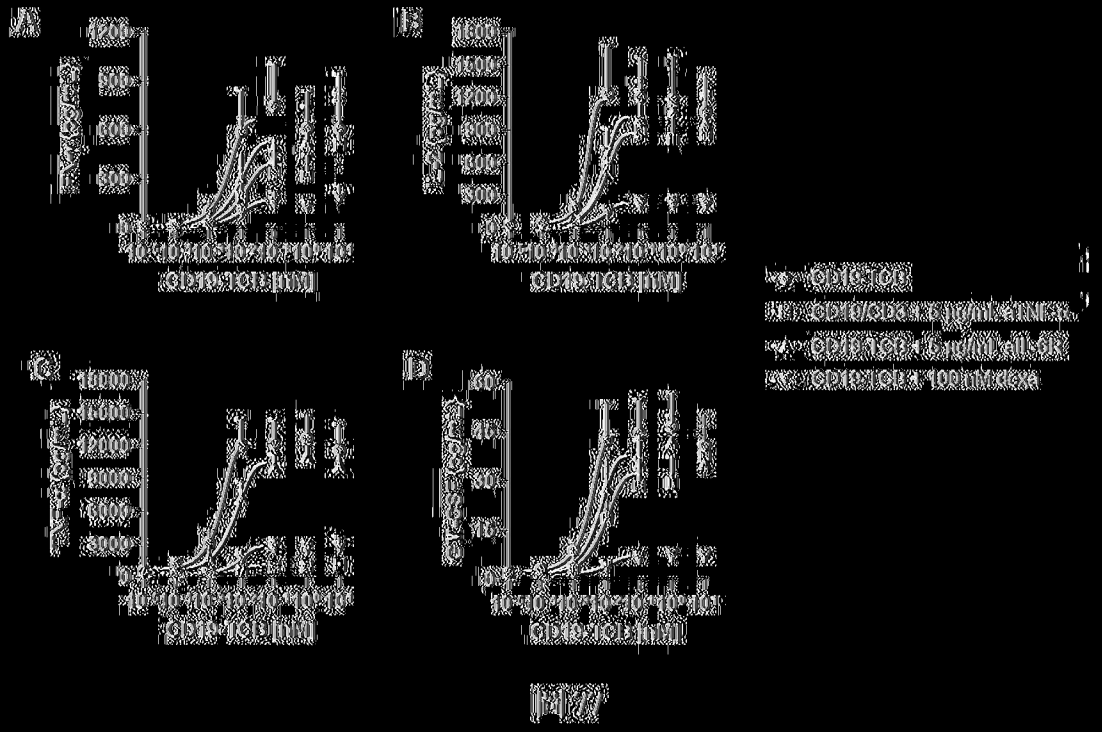

A
B
C
D
Cell Number
Cell Number
Cell Number
Cell Number
Cell Density [cell/ml]
Cell Density [cell/ml]
Cell Density [cell/ml]
Cell Density [cell/ml]
Cell Line
Culture Medium
Seeding Density
Culture Time

圖27

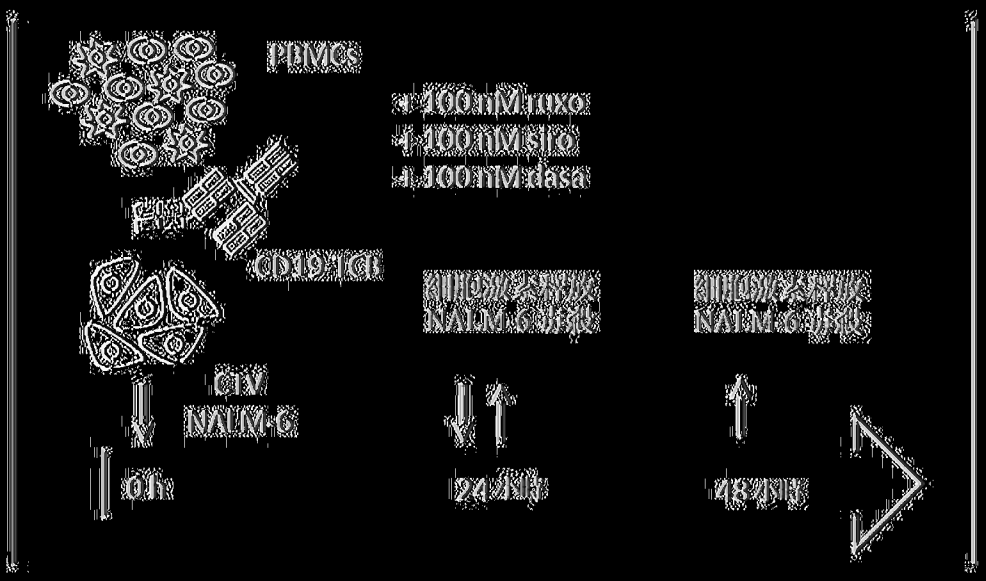

PBMCs
+100nM ruxo
+100nM sfo
+100nM dasa
CD19-ICE
細胞激素釋放
NALM-6併養
細胞激素釋放
NALM-6併養
CTV
NALM-6
0hr
24小時
48小時

圖 78

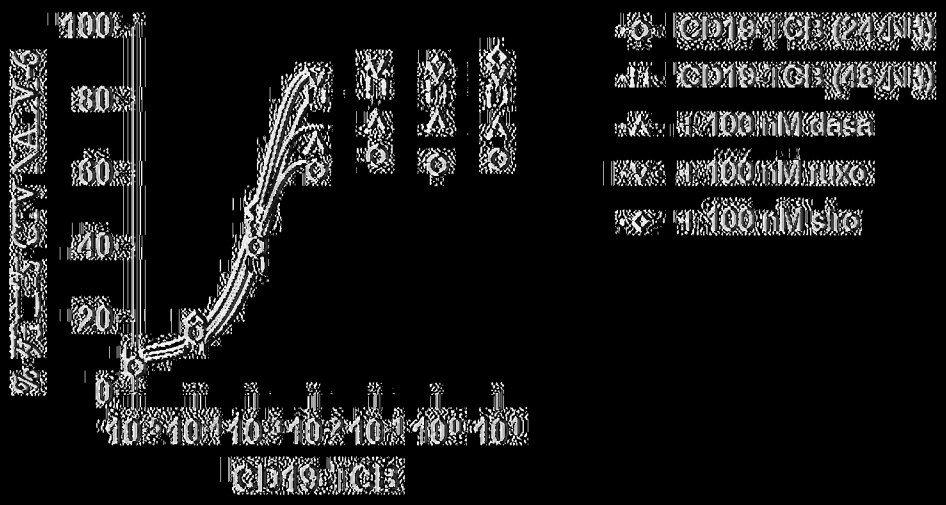
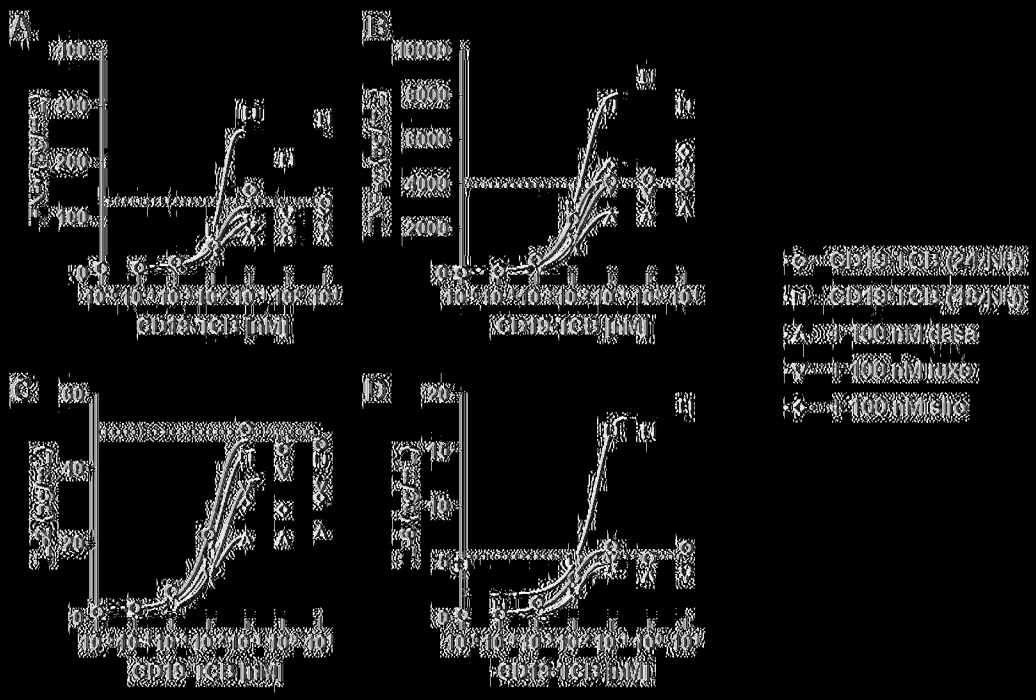

100
80
60
40
20
0
10-2
10-1
10
10
10
10
CD19 / CE
CD19 / CE (24 nM)
CD19 / CE (8 nM)
E 100 nM dasa
E 100 nM ruxo
E 100 nM silo

圖 79


A
B
C
D
圖 80

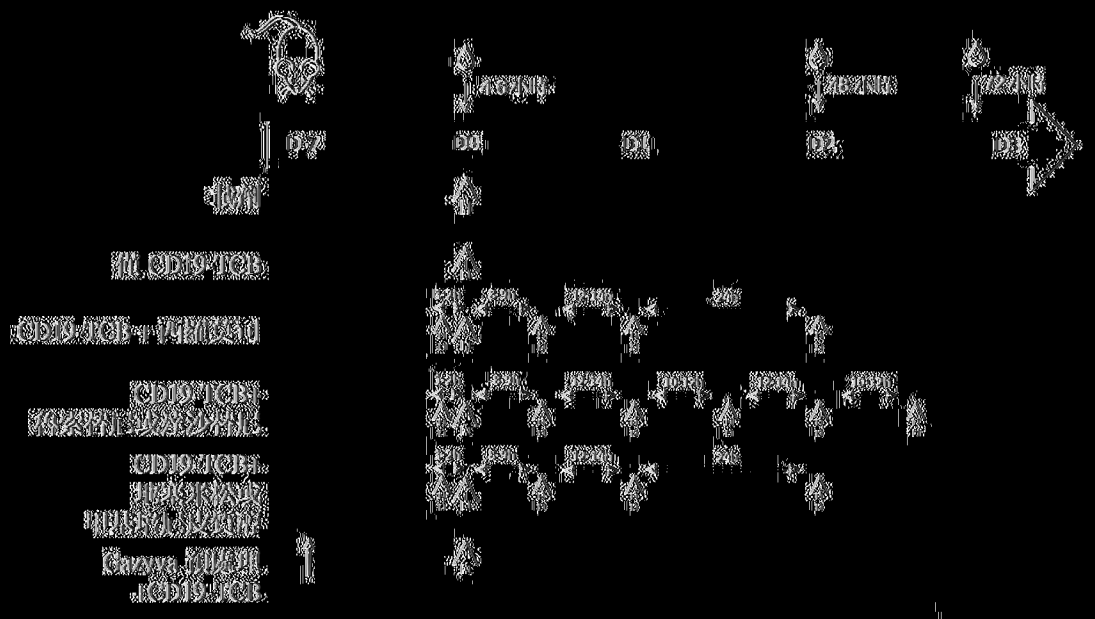
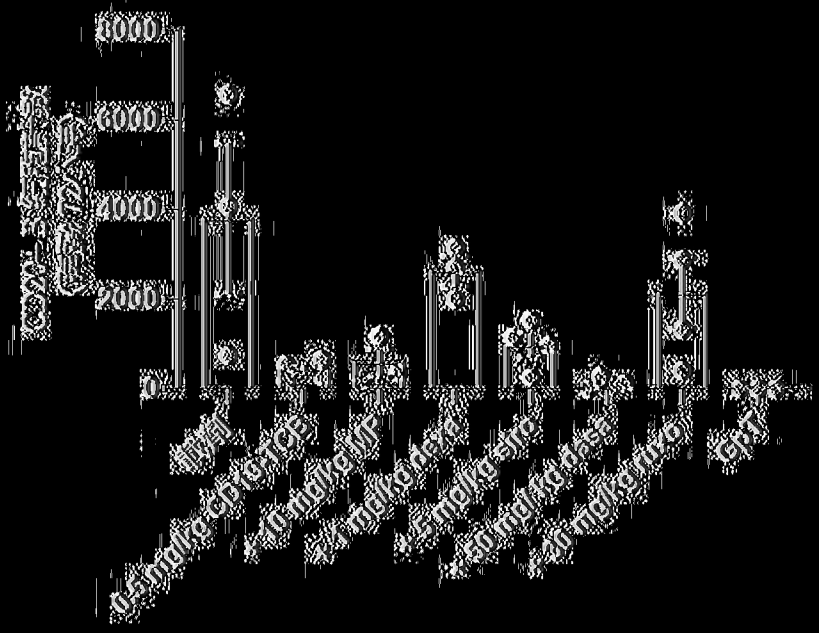


圖 8I

圖82。


8000
6000
4000
2000
0
Google Chrome
Google Chrome
Google Chrome

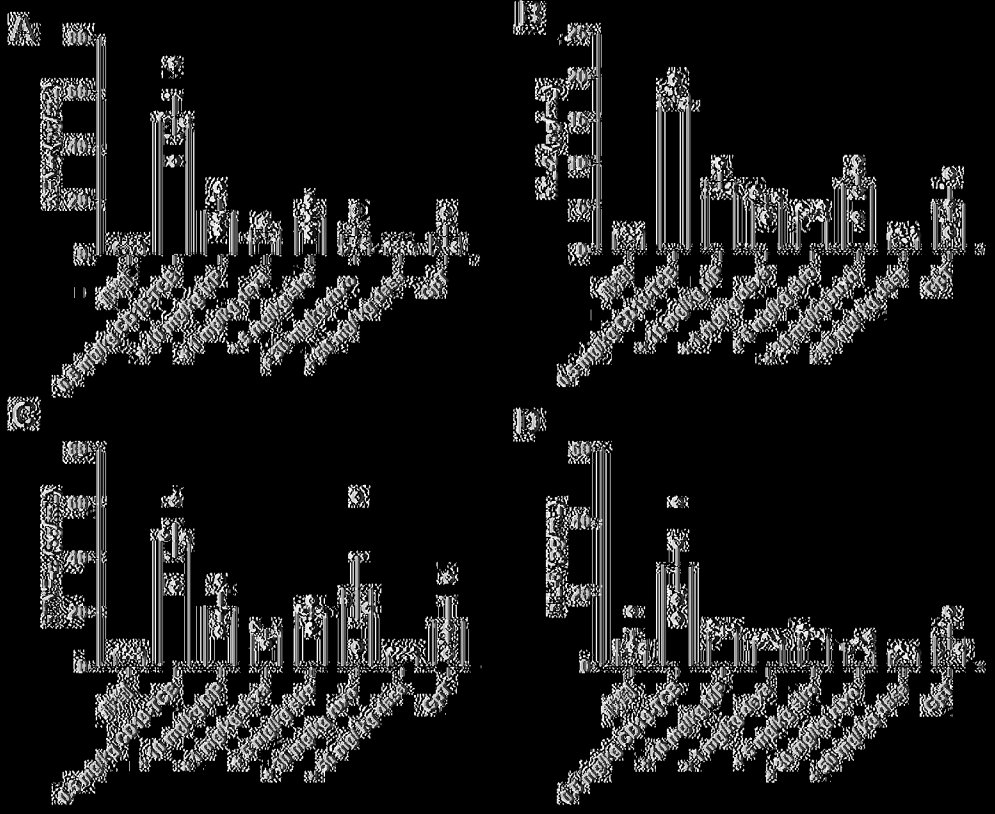


圖 8A

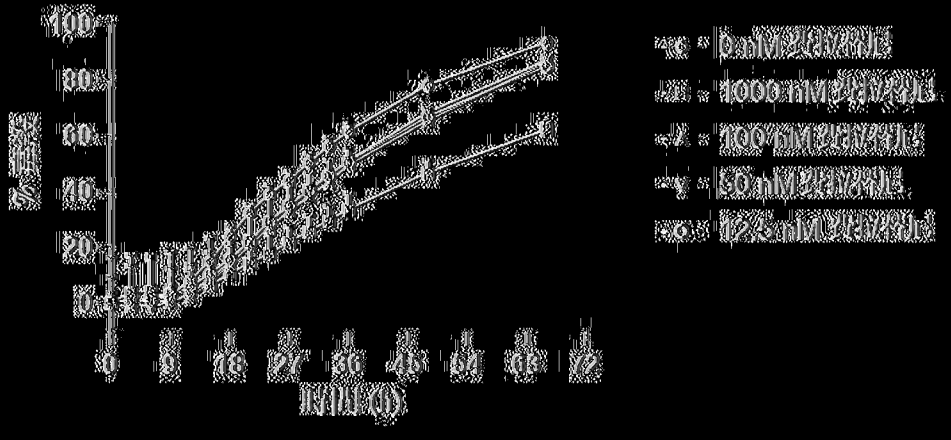

100
80
60
40
20
0
0
9
18
27
36
45
54
63
72
時間(H)
c：0 nM之化合物
b：1000 nM之化合物
a：100 nM之化合物
y：50 nM之化合物
x：12.5 nM之化合物

圖 8S

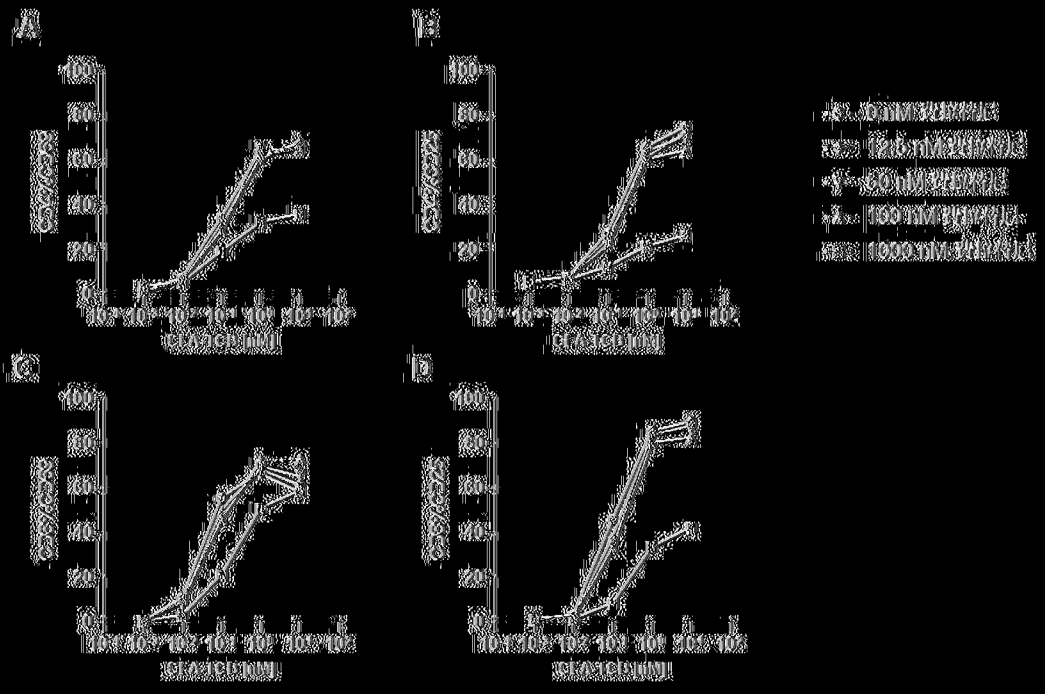

A
B
C
D
100
80
60
40
20
0
10-10 10-9 10-8 10-7 10-6 10-5 10-4
c(A3ch)(M)
c(A1ch)(M)
c(A2ch)(M)
c(A4ch)(M)
0.3nM
1.0nM
3.0nM
10nM
30nM
100nM
300nM
1000nM

圖86

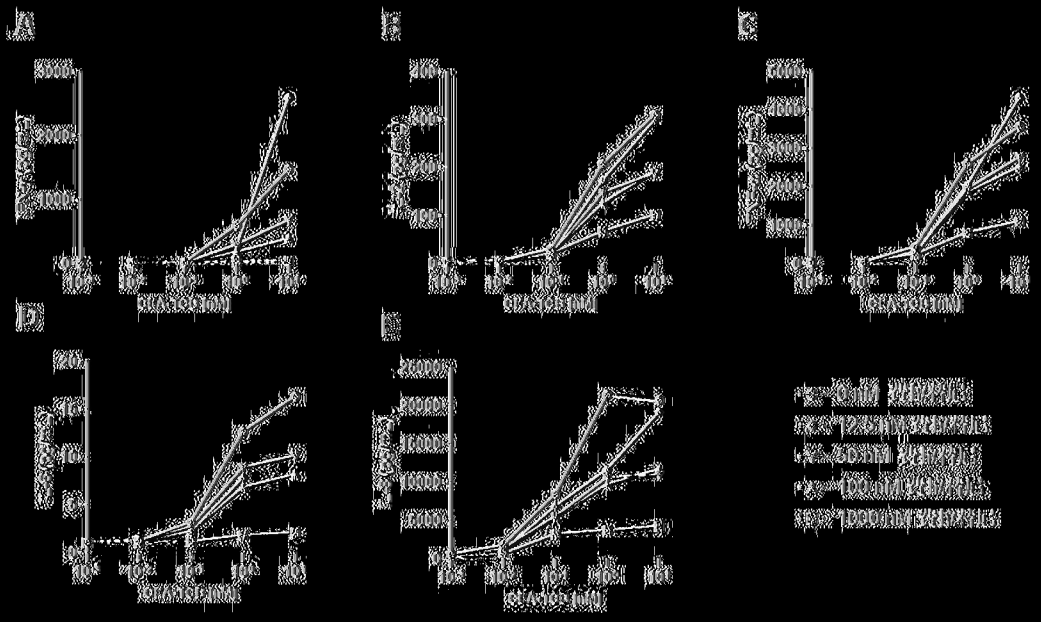

A
B
C
D
E
F
Cell Viability (%)
Cell Viability (%)
Cell Viability (%)
Cell Viability (%)
Cell Viability (%)
Cell Viability (%)
Log [Compound] (nM)
Log [Compound] (nM)
Log [Compound] (nM)
Log [Compound] (nM)
Log [Compound] (nM)
Log [Compound] (nM)

圖 87

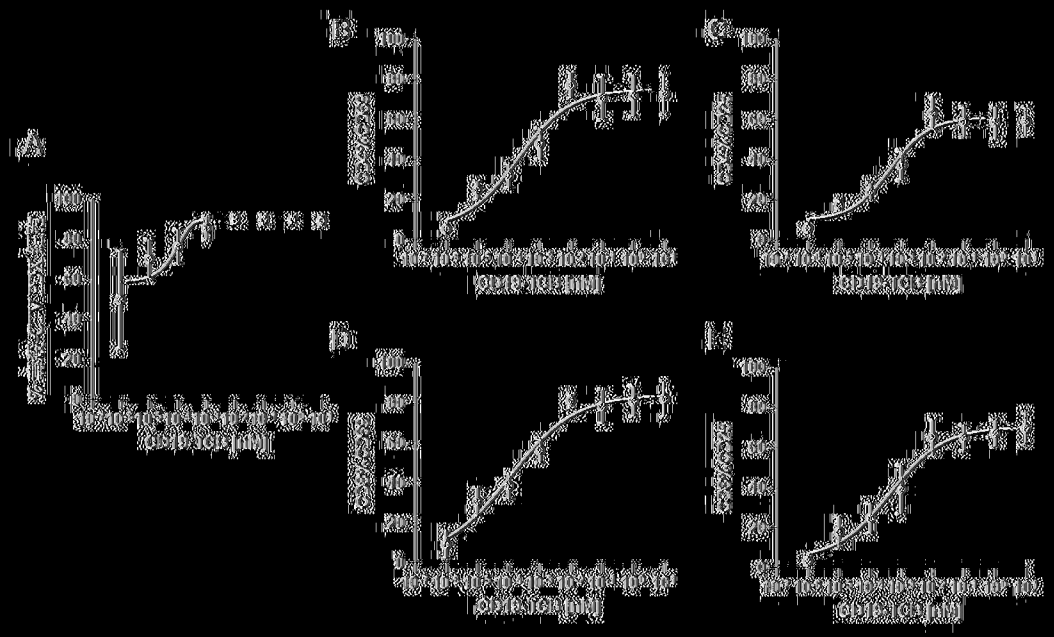


圖 8B

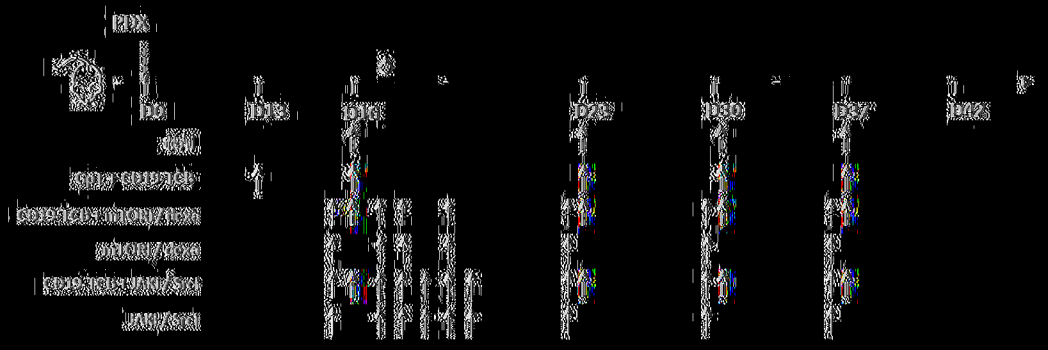
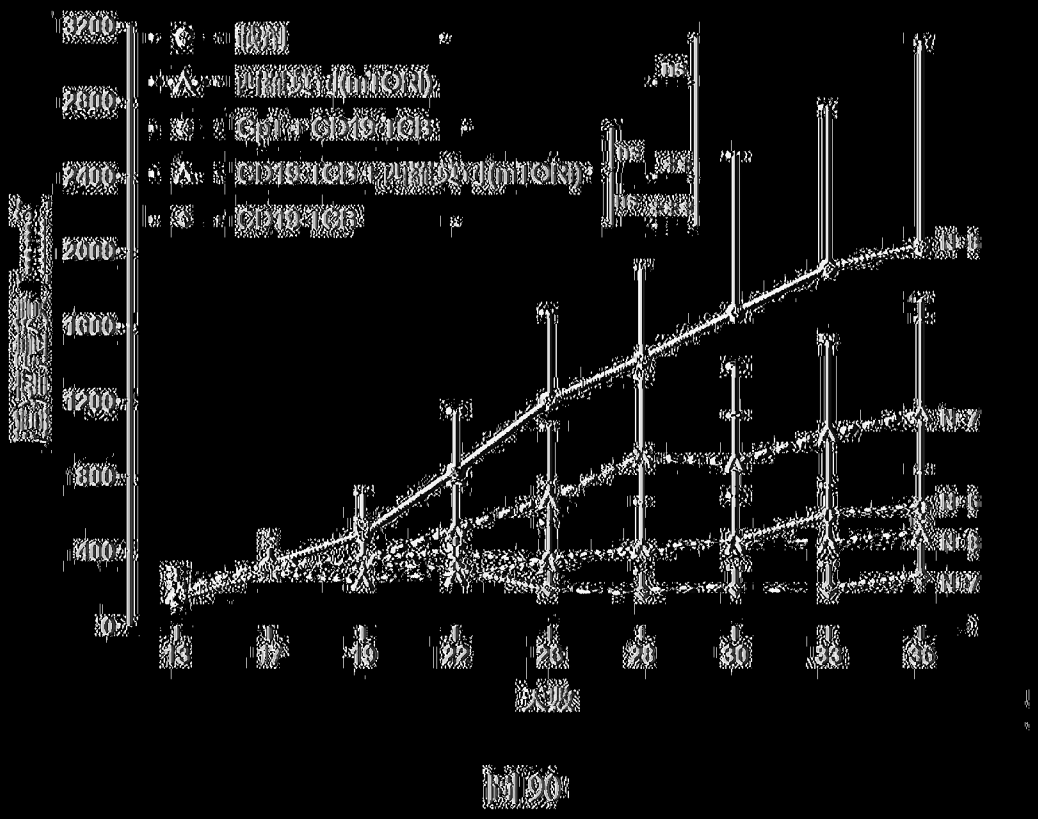


圖 89


3200
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
13
17
16
22
26
30
34
36
N=1
N=2
N=3
N=4
N=5
N=6
N=7
時間 90

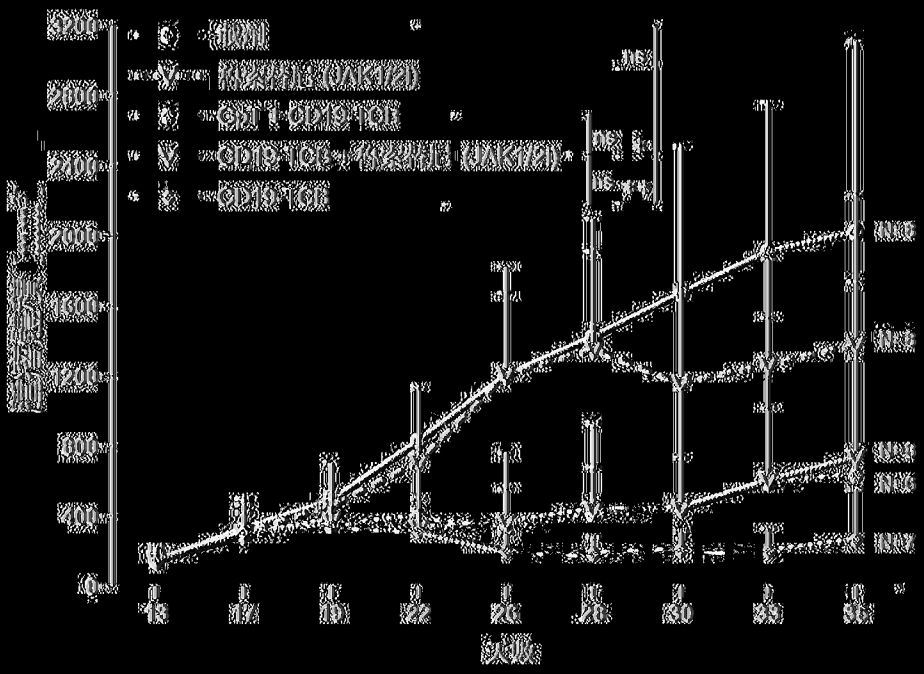
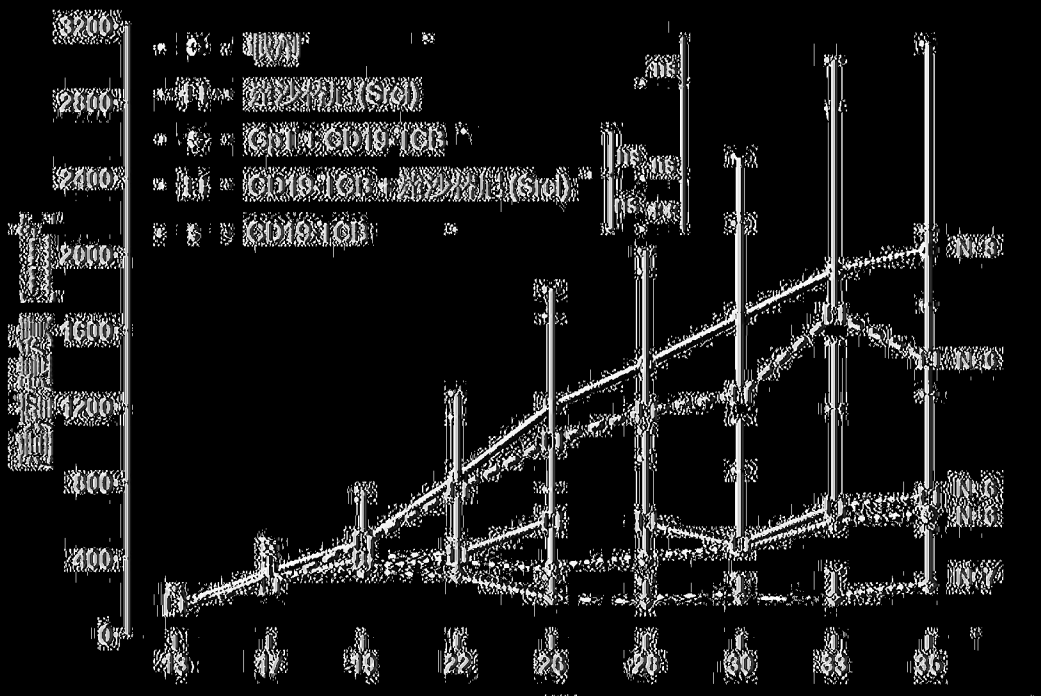


圖91


3200
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
NE
NE
NE

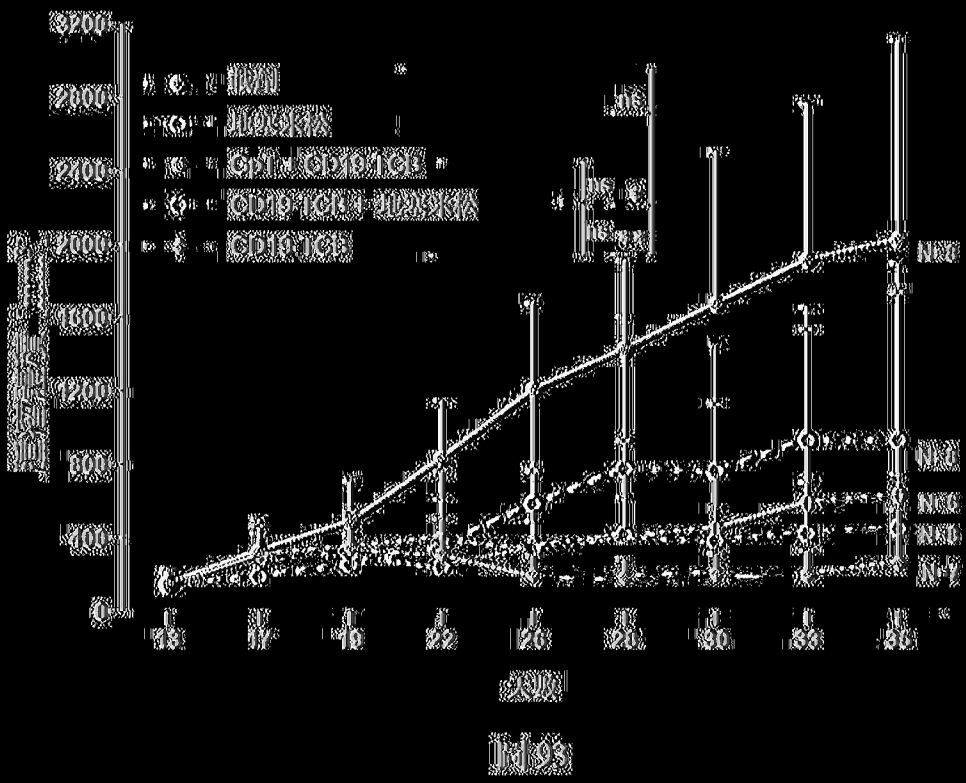

3200
2800
2400
2000
1600
1200
800
400
0
NK0
NK1
NK2
NK3
NK4
26
20
22
16
17
18
CD19 TCE
CD19 TCE + 抗PD-1抗體
CD19 TCE + 抗PD-L1抗體
CD19 TCE + 抗PD-1抗體 + 抗PD-L1抗體
CD19 TCE
NK0
NK1
NK2
NK3
NK4

圖 93

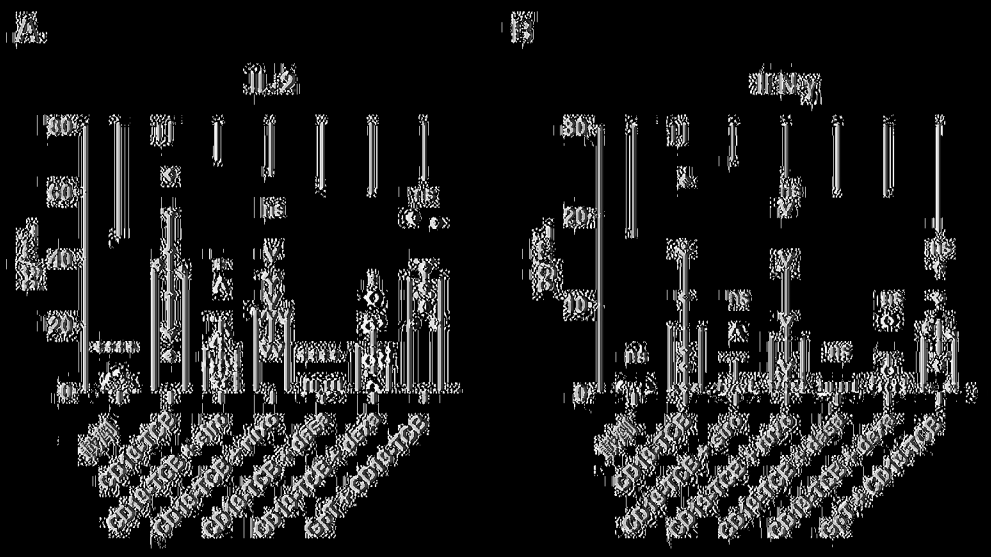


圖 9A

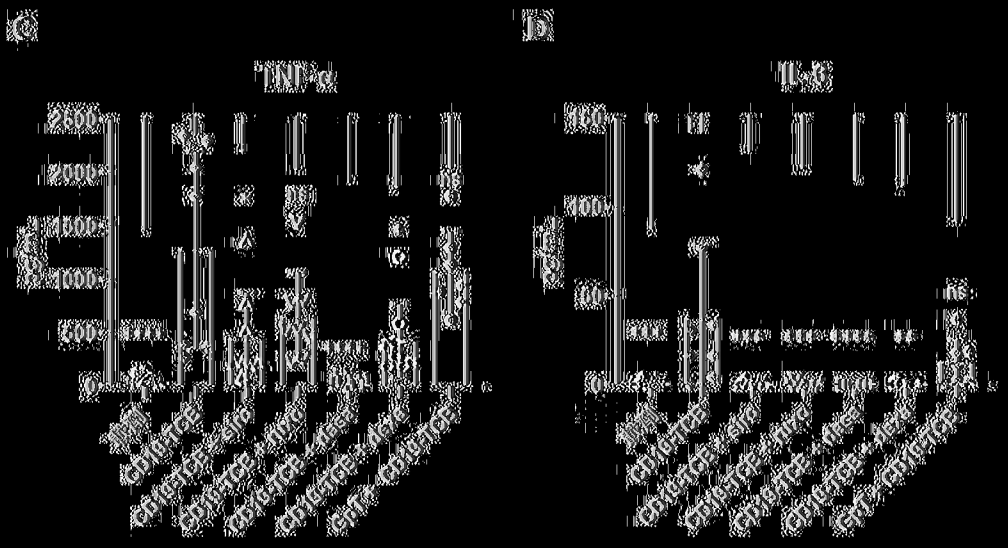

C
TNF-α
2500
2000
1500
1000
500
0
control
CD16/CD56+ Treg
CD16/CD56+ Treg
CD16/CD56+ Treg
CD16/CD56+ Treg
CD4+ CD16/CD56+
D
IL-6
150
100
50
0
control
CD16/CD56+ Treg
CD16/CD56+ Treg
CD16/CD56+ Treg
CD16/CD56+ Treg
CD4+ CD16/CD56+

圖 24

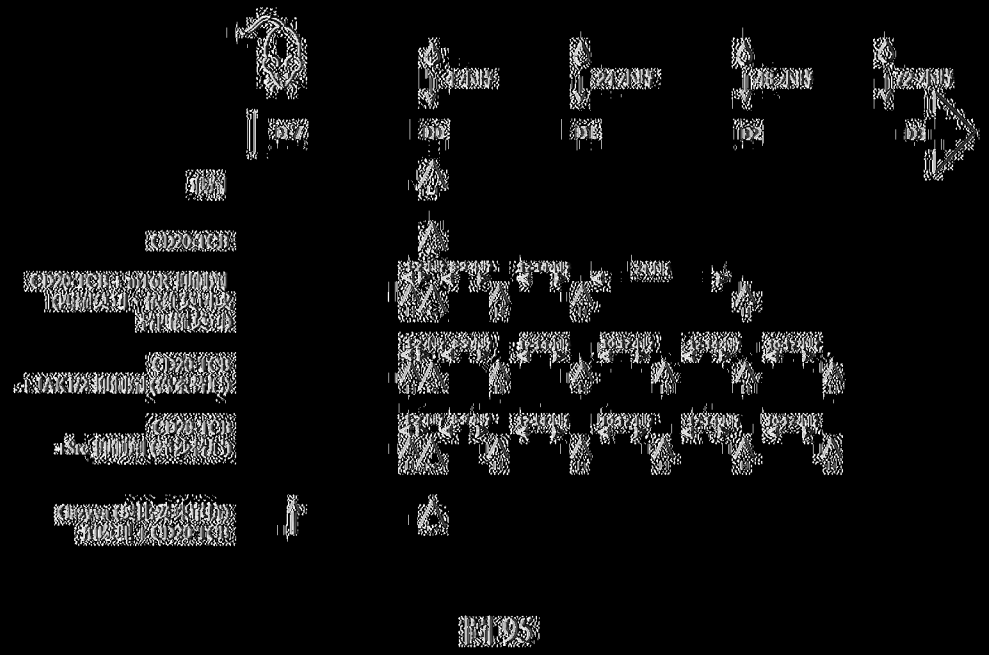


圖 95

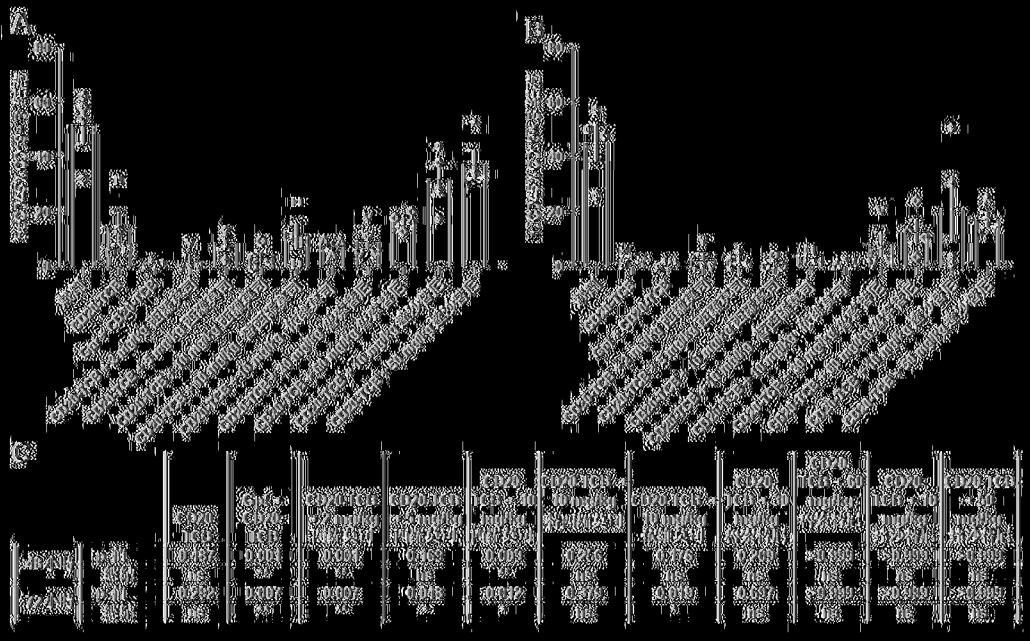


FIG. 96

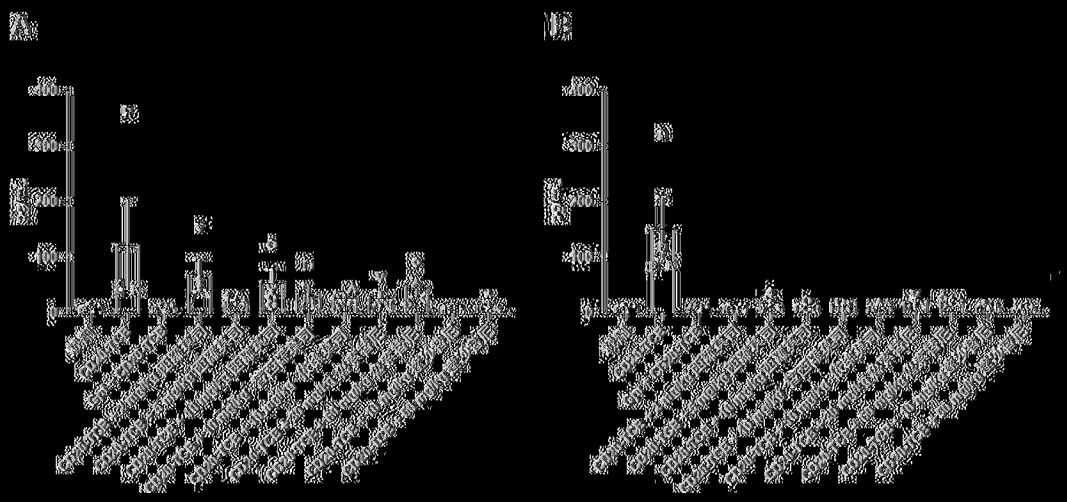
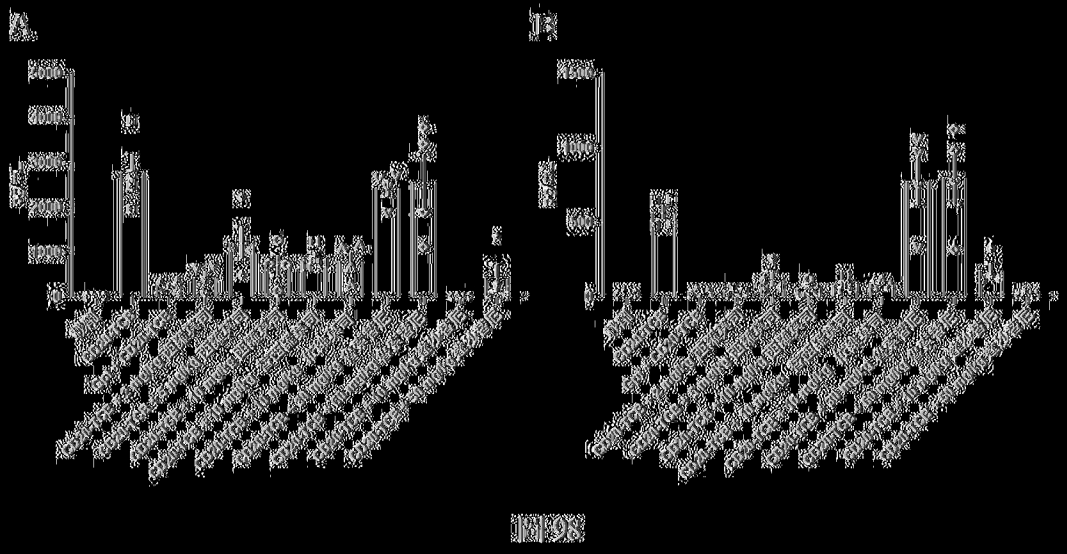
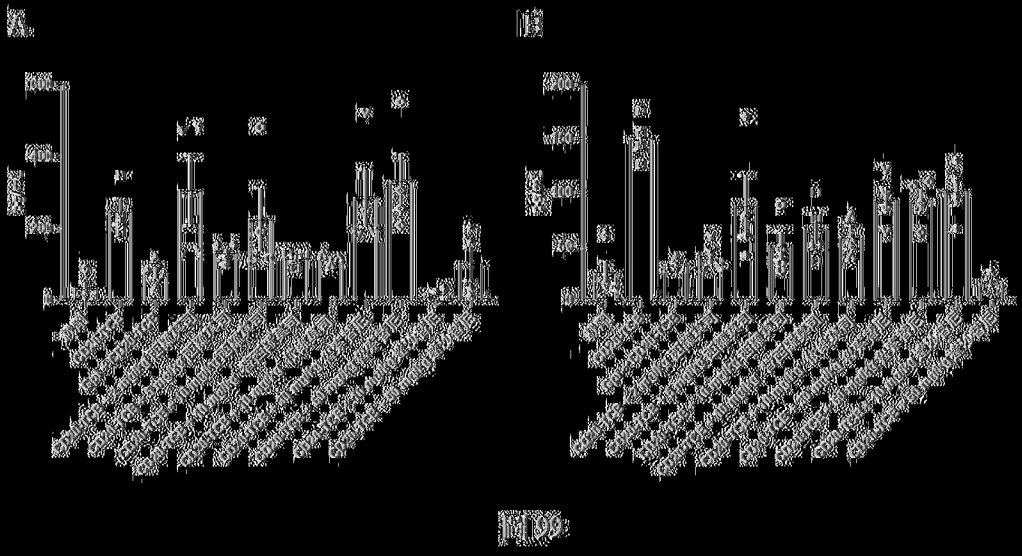
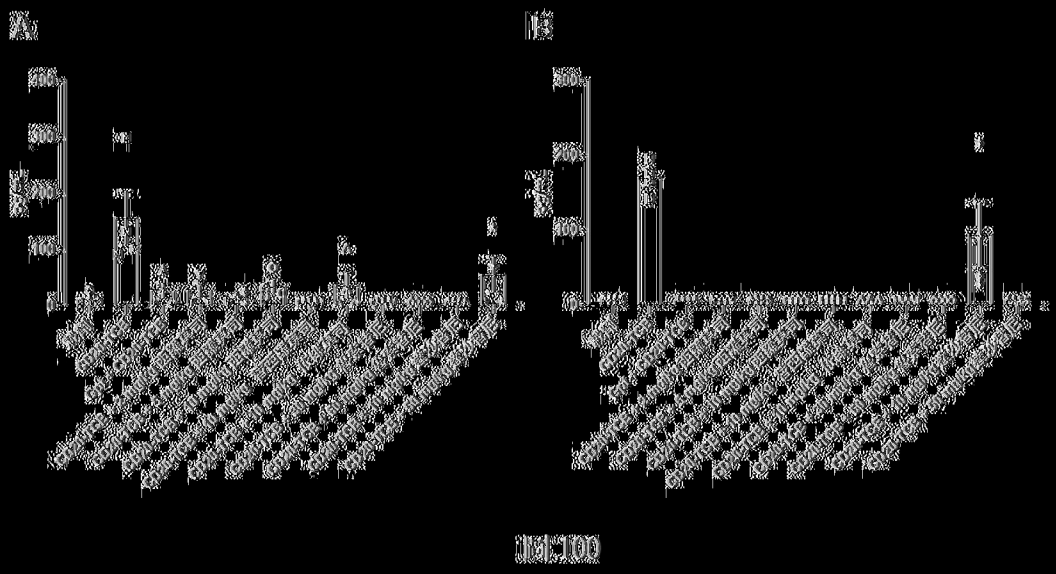


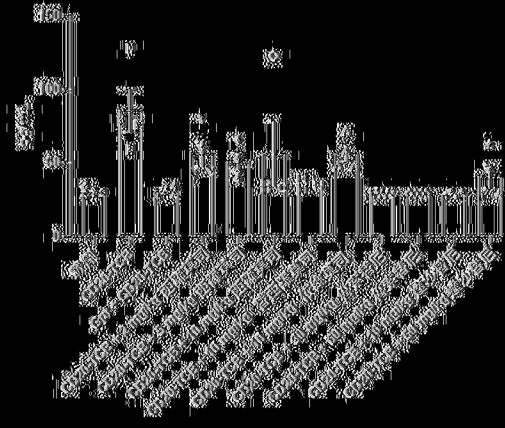
圖 9A






A
B
500
300
200
100
H
W
L
W=100

A.



B.

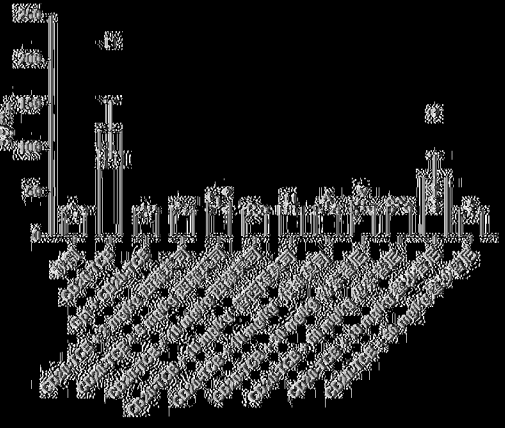


圖 10.

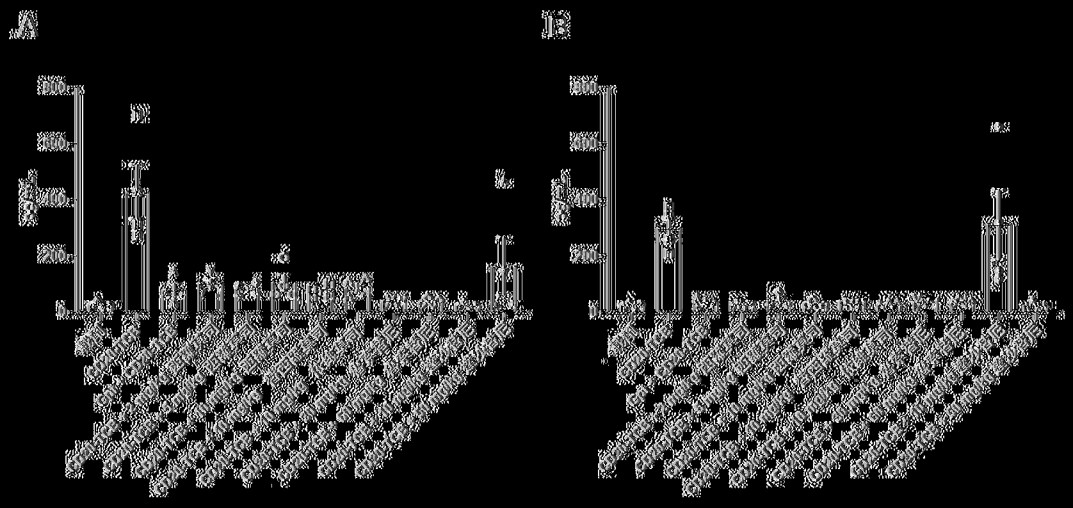


圖102

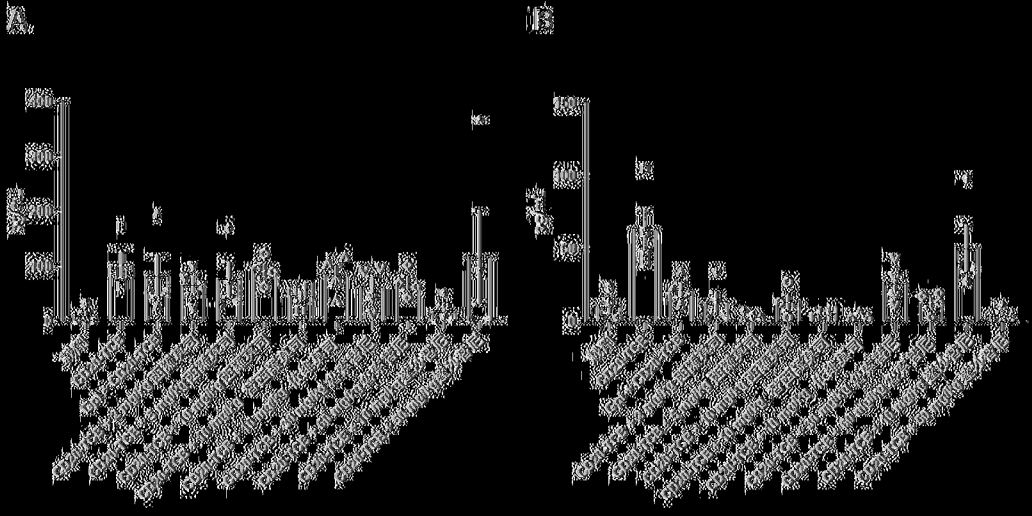


圖3-103

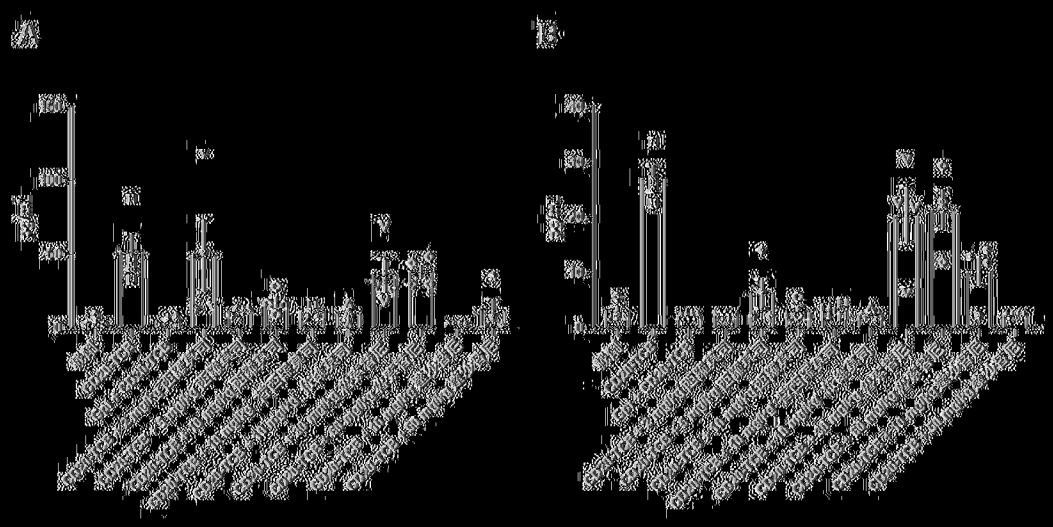


圖 10A

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種 T 細胞接合劑在製造用於治療個體中疾病之藥物中的用途，其中該治療包含

(a) 對該個體投予該 T 細胞接合劑，及

(b) 對該個體投予 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑。

【請求項2】

如請求項1之用途，其中投予該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑用於預防或減輕與投予該 T 細胞接合劑相關之不良反應。

【請求項3】

一種 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑在製造用於預防或減輕與投予 T 細胞接合劑相關之不良反應之藥物中的用途。

【請求項4】

如請求項1至3中任一項之用途，其中該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 mTOR 抑制劑，視情況地選自由西羅莫司 (sirolimus)、替西羅莫司 (temsirolimus) 及依維莫司 (everolimus) 所組成之群組。

【請求項5】

如請求項1至3中任一項之用途，其中該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑為 JAK 抑制劑，視情況地為 JAK1 及/或 JAK2 抑制劑，視情況地為魯索替尼 (ruxolitinib)、巴瑞替尼 (baricitinib)、托法替尼 (tofacitinib) 或費拉替尼 (fedratinib)。

【請求項6】

如請求項1至3中任一項之用途，其中 (投予) 該 JAK 及/或 mTOR 傳

訊抑制劑導致抑制與投予該 T 細胞接合劑相關之不良反應。

【請求項7】

如請求項1至3中任一項之用途，其中 (投予) 該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑不導致抑制與投予該 T 細胞接合劑相關之所期望的效果。

【請求項8】

如請求項6之用途，其中該抑制為完全抑制，或臨床上有意義及/或統計學上顯著的抑制。

【請求項9】

如請求項2或3之用途，其中該不良反應為

(i) 細胞激素釋放症候群 (CRS)；

(ii) 發燒、低血壓及/或缺氧；及/或

(iii) 一種或多種細胞激素的血清中含量升高，特定而言為選自由 IL-6、IFN-γ、IL-10、TNF-α、GM-CSF、MCP-1 及 IL-1β 所組成之群組的一種或多種細胞激素。

【請求項10】

如請求項2或3之用途，其中投予該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑係在 (該個體中) 該不良反應 (臨床上) 顯現時。

【請求項11】

如請求項1至3中任一項之用途，其中該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑的投予係

(i) 在投予該 T 細胞接合劑之前、同時或之後；

(ii) 間歇性或連續性地；及/或

(iii) 口服或腸胃外投予，特定而言為靜脈內投予。

【請求項12】

如請求項1至3中任一項之用途，其中投予該 JAK 及/或 mTOR 傳訊抑制劑與該 T 細胞接合劑的第一次投予相關，並且視情況地在該 T 細胞接合劑的該第一次投予之前、同時或之後投予。

【請求項13】

如請求項1至3中任一項之用途，其中該 T 細胞接合劑的投予係

(i) 以有效劑量投予；

(ii) 腸胃外投予，特定而言為靜脈內投予；及/或

(iii) 對該個體第一次投予該 T 細胞接合劑。

【請求項14】

如請求項1至3中任一項之用途，其中該 T 細胞接合劑為 T 細胞雙特異性抗體或 CAR-T 細胞。

【請求項15】

如請求項14之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體結合至 CD3 及標靶細胞抗原。

【請求項16】

如請求項14之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含結合至 CD3 之抗原結合部分以及結合至標靶細胞抗原之抗原結合部分。

【請求項17】

如請求項15之用途，其中該標靶細胞抗原為癌胚抗原 (CEA)。

【請求項18】

如請求項17之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR

(LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CEA 且包含：含有 SEQ ID NO: 12 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 15 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項19】

如請求項17之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 CEA 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項20】

如請求項17之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈與該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CEA 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 12 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 13 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 14 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 15 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 16 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 17 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合

部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項21】

如請求項17之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列，及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 18 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 19 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項22】

如請求項19之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項23】

如請求項14之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體為賽畢妥單抗

(cibisatamab)。

【請求項24】

如請求項15之用途，其中該標靶細胞抗原為 CD20。

【請求項25】

如請求項24之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CD20 且包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項26】

如請求項24之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 CD20 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項27】

如請求項24之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 4 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 6 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR

(LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈與該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CD20 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 24 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 25 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 26 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 27 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 28 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 29 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項28】

如請求項24之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 10 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列，及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 30 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 31

的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項29】

如請求項24之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分為習用 Fab 分子，其中在恆定域 CL 中，位置 124 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且在恆定域 CH1 中，位置 147 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【請求項30】

如請求項26之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項31】

如請求項14之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體為格菲妥單抗 (glofitamab)。

【請求項32】

如請求項15之用途，其中該標靶細胞抗原為 HLA-A2/MAGE-A4。

【請求項33】

如請求項32之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 37 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 40 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 HLA-A2/MAGE-A4 且包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項34】

如請求項32之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 HLA-A2/MAGE-A4 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項35】

如請求項32之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 37 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 38 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 39 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 40 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 41 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 42 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈與該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 HLA-A2/MAGE-A4 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 45 之重鏈 CDR (HCDR) 1、

SEQ ID NO: 46 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 47 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 48 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 49 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 50 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項36】

如請求項32之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 43 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 44 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列，及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 51 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 52 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項37】

如請求項32之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經

交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分為習用 Fab 分子，其中在恆定域 CL 中，位置 124 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且在恆定域 CH1 中，位置 147 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【請求項38】

如請求項34之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項39】

如請求項15之用途，其中該標靶細胞抗原為 CD19。

【請求項40】

如請求項39之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 第一抗原結合部分，其結合至 CD3 且包含：含有 SEQ ID NO: 61 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 之 HCDR3 的重鏈可變區，或含有 SEQ ID NO: 64 之 HCDR1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區；及

(ii) 第二抗原結合部分，其結合至 CD19 且包含：含有 SEQ ID NO:

67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區。

【請求項41】

如請求項39之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含第三抗原結合部分，該第三抗原結合部分結合至 CD19 及/或由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。

【請求項42】

如請求項39之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體包含

(i) 結合至 CD3 的第一抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 61 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 62 之 HCDR3 的重鏈可變區，或含有 SEQ ID NO: 64 之 HCDR1、SEQ ID NO: 5 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 65 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 7 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 8 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 9 之 LCDR3 的輕鏈可變區，其中該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區或恆定區係經交換的；

(ii) 結合至 CD19 的第二抗原結合部分及第三抗原結合部分，其包含：含有 SEQ ID NO: 67 之重鏈 CDR (HCDR) 1、SEQ ID NO: 68 之 HCDR2 及 SEQ ID NO: 69 之 HCDR3 的重鏈可變區；以及含有 SEQ ID NO: 70 之輕鏈 CDR (LCDR) 1、SEQ ID NO: 71 之 LCDR2 及 SEQ ID NO: 72 之 LCDR3 的輕鏈可變區；其中該第二抗原結合部分及該第三抗原結合部分各為 Fab 分子，特定而言為習用 Fab 分

子；

(iii) 由第一次單元及第二次單元所構成的 Fc 域，

其中該第二抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該第一抗原結合部分的該 Fab 重鏈的 N 端，且該第一抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第一次單元的 N 端，且其中該第三抗原結合部分係在該 Fab 重鏈的 C 端融合至該 Fc 域的該第二次單元的 N 端。

【請求項43】

如請求項39之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 63 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列或與 SEQ ID NO: 66 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 11 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列；及/或該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分包含與 SEQ ID NO: 73 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的重鏈可變區序列，及與 SEQ ID NO: 74 的胺基酸序列至少約 95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 相同的輕鏈可變區序列。

【請求項44】

如請求項39之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第一抗原結合部分為互換型 Fab 分子，其中該 Fab 輕鏈及該 Fab 重鏈的該等可變區係經交換的，且其中該 T 細胞雙特異性抗體的該第二抗原結合部分及 (在存在時之) 該第三抗原結合部分為習用 Fab 分子，其中在恆定域 CL 中，位置 124 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat

編號) 取代，且位置 123 處的胺基酸獨立地經離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 取代，且在恆定域 CH1 中，位置 147 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代，且位置 213 處的胺基酸獨立地經麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 索引編號) 取代。

【請求項45】

如請求項41之用途，其中該 T 細胞雙特異性抗體的該 Fc 域包含促進該 Fc 域的該第一次單元與該第二次單元之締合的修飾，及/或該 Fc 域包含降低與 Fc 受體之結合及/或效應子功能的一種或多種胺基酸取代。

【請求項46】

如請求項1至3中任一項之用途，其中 (待由該 T 細胞接合劑治療的) 該疾病為癌症，特定而言為表現該 T 細胞接合劑的該標靶細胞抗原的癌症。

【請求項47】

如請求項46之用途，其中該癌症為

(i) 癌胚抗原 (CEA) 表現型癌症，及/或

(ii) 選自由以下所組成之群組：大腸直腸癌、肺癌、胰臟癌、乳癌及胃癌。

【請求項48】

如請求項46之用途，其中該癌症為

(i) CD20 表現型癌症，

(ii) B 細胞癌症，及/或

(ii) 選自由以下所組成之群組：非何杰金氏淋巴瘤 (Non-Hodgkin lymphoma，NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL)、慢性淋巴球性白血病 (CLL)、瀰漫性大 B 細胞淋巴瘤 (DLBCL)、濾泡性淋巴瘤 (FL)、

被套細胞淋巴瘤 (MCL) 及邊緣區淋巴瘤 (MZL)。

【請求項49】

如請求項46之用途，其中該癌症為 MAGE-A4 表現型癌症。

【請求項50】

如請求項46之用途，其中該癌症為

(i) CD19 表現型癌症，

(ii) B 細胞癌症，及/或

(ii) 選自由以下所組成之群組：非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、急性淋巴球性白血病 (ALL) 及慢性淋巴球性白血病 (CLL)。

【請求項51】

如請求項39之用途，其中 (待由該 T 細胞接合劑治療的) 該疾病為自體免疫疾病，特定而言為狼瘡，更特定而言為全身性紅斑狼瘡 (SLE) 或狼瘡性腎炎 (LN)。