



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I719041 B

(45)公告日：中華民國 110 (2021) 年 02 月 21 日

(21)申請案號：105125042

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 08 月 05 日

(51)Int. Cl. : A61K39/00 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61K45/06 (2006.01)

C07K14/725 (2006.01)

C07K16/18 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

(30)優先權：2015/08/05 美國

62/201,461

(71)申請人：德商安美基研究（慕尼黑）公司（德國）AMGEN RESEARCH (MUNICH) GMBH
(DE)

德國

(72)發明人：費德勒 華特 FIEDLER, WALTER (DE)；威柏克 潔斯明 WELLBROCK, JASMIN
(DE)；史丹 霍克 STAMM, HAUKE (DE)；克林格樂 菲利斯 KLINGLER, FELIX
(DE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

EP 2067791A1

WO 2015/009856A2

2013 年 5，Journal of Virology Volume 87 Number 9 p. 4835-4845；

Galectin-9 Functionally Impairs Natural Killer Cells in Humans and Mice

2013 年 12 月 12 日，Cell Immunity. 2013 Dec 12;39(6):1070-81；TIM-4 糖蛋白引起自噬作用將被吞入腫瘤細胞過度降解造成抑制腫瘤抗原呈現而促使腫瘤的免疫逃避機制。

2015 年 4 月，Cytotherapy Volume 17, Issue 4, April 2015, Pages 487-495；Different cytokine and stimulation conditions influence the expansion and immune phenotype of third-generation chimeric antigen receptor T cells specific for tumor antigen GD2。

2015 年 5 月，J Clin Invest. 2015;125(5):2046-2058.；TIGIT and PD-1 impair tumor antigen-specific CD8+ T cells in melanoma patients。

2012 年 10 月 24 日，PLOS ONE Volume 7| Issue 10 e47648；Upregulation of the Tim-3/Galectin-9 Pathway of T Cell Exhaustion in Chronic Hepatitis B Virus Infection。

審查人員：張榮興

申請專利範圍項數：6 項 圖式數：21 共 165 頁

(54)名稱

用於治療血源癌症之免疫查核點抑制劑

(57)摘要

本發明提供抗 CD112(Nectin-2、PVRL2)、CD155(PVR)、Galectin-9、TIM-3 及/或 TIGIT 之抑制劑，其用於治療血源癌症，詳言之急性骨髓白血病(AML)之方法中。此外，本發明提供包含抗 CD112(Nectin-2、PVRL2)、CD155(PVR)、Galectin-9、TIM-3 及/或 TIGIT 之抑制劑及 CAR T 細胞

之醫藥組合物。本發明進一步提供包含抗 CD112(Nectin-2、PVRL2)、CD155(PVR)、Galectin-9、TIM-3 及/或 TIGIT 之抑制劑及能夠接合 T 細胞之抗體構築體之醫藥組合物。

The present invention provides an inhibitor against CD112 (Nectin-2, PVRL2), CD155 (PVR), Galectin-9, TIM-3 and/or TIGIT for use in a method of treatment of a blood-borne cancer, in particular acute myeloid leukemia (AML). Moreover, the present invention provides a pharmaceutical composition comprising an inhibitor against CD112 (Nectin-2, PVRL2), CD155 (PVR), Galectin-9, TIM-3 and/or TIGIT and a CAR T cell. The present invention further provides a pharmaceutical composition comprising an inhibitor against CD112 (Nectin-2, PVRL2), CD155 (PVR), Galectin-9, TIM-3 and/or TIGIT and an antibody construct that is capable of engaging T cells.

指定代表圖：

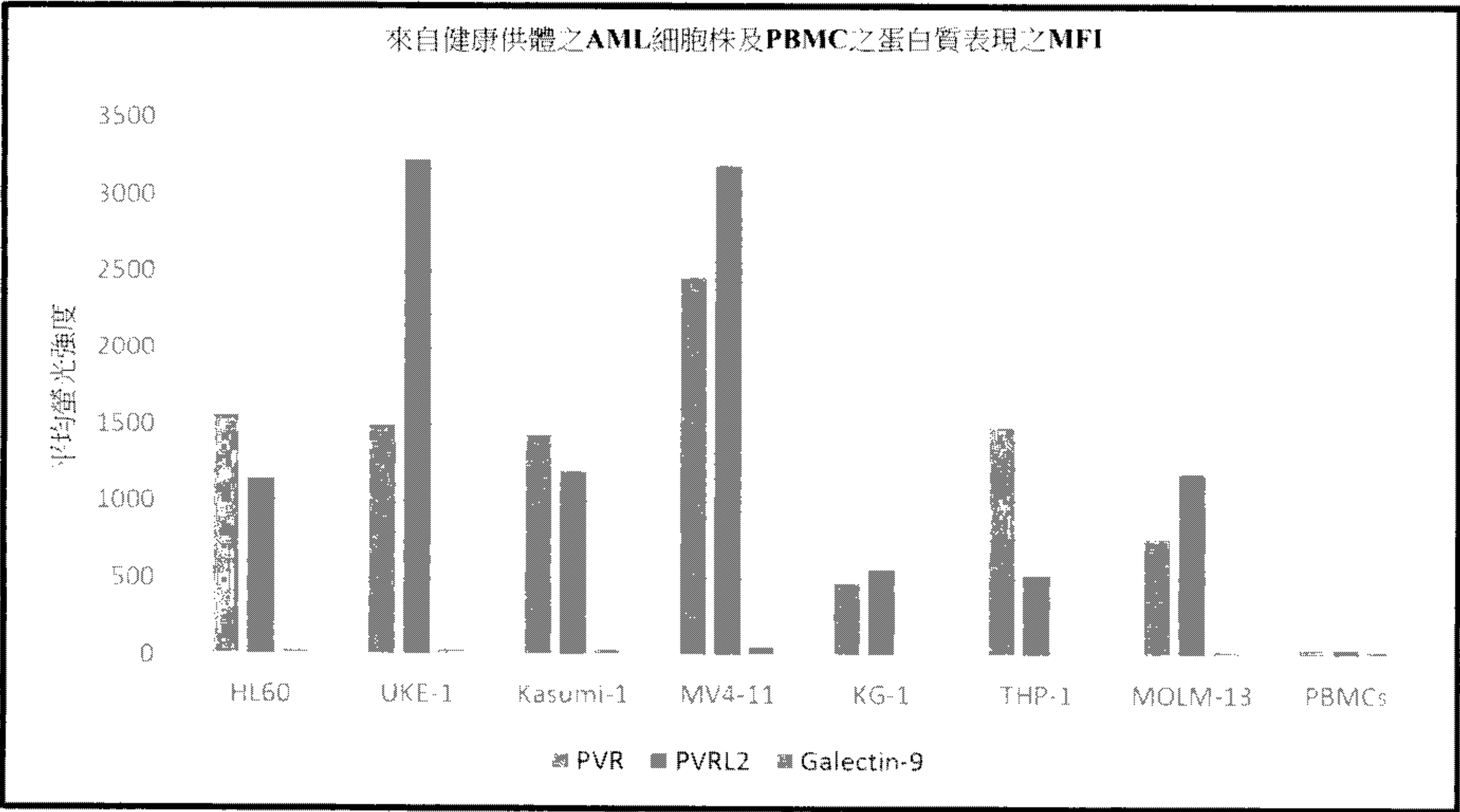


圖1

I719041

發明摘要

※ 申請案號：105年8月5日

※ 申請日：105125042

※IPC 分類：
A61K 39/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
C07K 14/725 (2006.01)
C07K 16/18 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)

【發明名稱】

用於治療血源癌症之免疫查核點抑制劑

IMMUNE-CHECKPOINT INHIBITORS FOR USE IN THE
TREATMENT OF BLOOD-BORNE CANCERS

【中文】

本發明提供抗 CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑，其用於治療血源癌症，詳言之急性骨髓白血病(AML)之方法中。此外，本發明提供包含抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑及CAR T細胞之醫藥組合物。本發明進一步提供包含抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑及能夠接合T細胞之抗體構築體之醫藥組合物。

【英文】

The present invention provides an inhibitor against CD112 (Nectin-2, PVRL2), CD155 (PVR), Galectin-9, TIM-3 and/or TIGIT for use in a method of treatment of a blood-borne cancer, in particular acute myeloid leukemia (AML). Moreover, the present invention provides a pharmaceutical composition comprising an inhibitor against CD112 (Nectin-2, PVRL2), CD155 (PVR), Galectin-9, TIM-3 and/or TIGIT and a CAR T cell. The present invention further provides a pharmaceutical composition comprising an inhibitor against CD112 (Nectin-2, PVRL2), CD155 (PVR), Galectin-9, TIM-3 and/or TIGIT and an antibody construct that is capable of engaging T cells.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

用於治療血源癌症之免疫查核點抑制劑

IMMUNE-CHECKPOINT INHIBITORS FOR USE IN THE
TREATMENT OF BLOOD-BORNE CANCERS

【技術領域】

本發明提供用於治療血源癌症(詳言之，AML)之免疫查核點抑制劑。本發明進一步係關於分別包含該免疫查核點抑制劑及CAR T細胞或能夠接合T細胞之抗體構築體之醫藥組合物。

【先前技術】

在激活治療性抗腫瘤免疫性之最有前景的方法為免疫查核點之阻斷。免疫查核點係指存在於免疫系統中之眾多抑制性路徑，其對於保持自身耐受度及調節周邊組織中之生理免疫反應之持續時間及幅度以便最小化側支組織損傷而言至關重要。

一般而言，T細胞不對此等配位體受體相互作用作出反應，除非T細胞首先經由TCR辨識其同源抗原。許多配位體與多個受體結合，一些受體遞送共刺激信號且其他受體遞送抑制性信號。一般而言，結合諸如CD28及細胞毒性T-淋巴細胞相關抗原4 (CTLA4)之相同的一或多個配位體之共刺激抑制性受體對利用在原初及靜止T細胞上表現之共刺激受體來顯示表現之相異動力學，但在T細胞活化之後通常未調節抑制性受體。結合共刺激受體及抑制性受體兩者之膜結合配位體之一個重要的族為B7族。所有B7族成員及其已知配位體屬於免疫球蛋白總科。用於最近所識別之B7族成員之許多受體尚未加以識別。結合至同源TNF受體族分子之TNF族成員表示調節性配位體-受體對之第

二族。當藉由其同源配位體接合時，此等受體主要遞送共刺激信號。

調節T細胞之活化之另一主要類別的信號來自微環境中之可溶細胞激素。T細胞與APC之間的通信為雙向的。在一些情況下，此發生於當配位體自身傳導信號至APC時。在其他情況下，經活化之T細胞未調節接合APC上之同源受體之配位體，諸如CD40L。

然而，腫瘤共同選擇某些免疫查核點路徑作為免疫抵抗之主要機制，尤其抵抗對腫瘤抗原具有特異性之T細胞。因為許多免疫查核點藉由配位體-受體相互作用啟動，所以其可藉由抗體阻斷或藉由配位體或受體之重組形式來調節。CTLA4抗體為第一個得到FDA核准之此類免疫治療劑。關於額外免疫查核點蛋白質(諸如PD-1)之阻斷劑之基本臨床發現指示增強抗腫瘤免疫性之廣泛及多種機會，有可能產生持久臨床反應。

因此，癌症免疫療法亦關注可使贅生性細胞及癌細胞更適合藉由免疫系統，尤其藉由T細胞殺滅之藥劑之開發。舉例而言，此可藉由利用配位體或受體或該兩者干擾免疫查核點蛋白質而達成。儘管使用了癌細胞憑藉其而增加之關於免疫查核點分子之知識以及免疫查核點分子之知識，但不知其中之哪一者由哪些贅生性細胞並接著由癌細胞使用以避開免疫系統，從而獲得不可控生長之能力。舉例而言，同時已知血源性癌症(詳言之，急性骨髓白血病(AML))避開免疫系統。雖然推測可涉及免疫查核點蛋白質，但仍無關於此之證明。因此，提供超越免疫查核點蛋白質之影響以使血源癌細胞更適合進入免疫系統之殺滅機制之手段及方法的需求仍未得到滿足。

因此，以申請案為基礎之技術問題為滿足此未滿足的需求，亦即，提供用於使血源癌細胞(詳言之，AML細胞)更適合由人體之免疫系統殺滅之手段及方法。一般而言，解決方案為提供用於治療血源癌症(詳言之，AML)之免疫查核點配位體CD112、CD155、其受體

TIGIT、免疫查核點配位體 Galectin-9 及/或其受體 TIM-3 之抑制劑。該解決方案亦反映於申請專利範圍中、體現於說明書中、例示於隨附實例中且說明於圖式中。

【發明內容】

本發明係關於調節免疫系統以用於治療諸如淋巴瘤或白血病之血源癌症(尤其 AML)之化合物。此外，本發明係關於包含該等免疫調節化合物及嵌合抗原受體 T 細胞(CAR T 細胞)之醫藥組合物。此外，本發明提供包含該等免疫調節化合物及能夠接合 T 細胞之抗體構築體之醫藥組合物。

就此而言，本發明重視在可受多種抑制劑影響之血源癌症療法(尤其 AML 療法)中提供新免疫查核點之需求，以便治療已產生免疫逸出機制之癌細胞。詳言之，本發明人發現 CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9 及 TIM-3 作為新免疫查核點蛋白質，其可經特異性標靶以用於血源癌症(尤其 AML)之治療。藉此，抗 CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9 及/或 TIM-3 之抑制劑導致 AML 細胞之顯著增加之細胞裂解。另外，本發明人發現：當與嵌合抗原受體 T 細胞(CAR T 細胞)或能夠接合 T 細胞之抗體構築體(諸如，對於 CD3 及 CD33 具有雙重特異性之雙特異性 T 細胞-接合(BiTE)抗體構築體 AMG 330)組合時，該等免疫查核點抑制劑之影響可甚至更加有效。因此，本發明之化合物及組合物允許對於患有血源癌症(尤其 AML)之患者之新穎的治療選項，從而提供使血源癌細胞更適合藉由人體防衛殺滅之有前景的方式。因此，本發明指示增強抗腫瘤免疫性之廣泛及多種機會且提供似乎有可能達成持久臨床反應之化合物及組合物。

在第一態樣中，本發明係關於用於治療血源癌症(詳言之，急性骨髓白血病(AML))之方法中之抗 CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3 及/或 TIGIT 之抑制劑。第一群此類抑制劑

抑制如本文所描述之免疫查核點蛋白質配位體與受體之間的相互作用。因此，設想本發明之抗CD112之抑制劑抑制CD112與TIGIT之間的相互作用。設想本發明之抗CD155之抑制劑抑制CD155與TIGIT之間的相互作用。設想本發明之抗TIGIT之抑制劑抑制TIGIT與CD112之間的相互作用。設想本發明之抗TIGIT之抑制劑抑制TIGIT與CD155之間的相互作用。設想本發明之抗Galectin-9之抑制劑抑制Galectin-9與TIM-3之間的相互作用。設想本發明之抗TIM-3之抑制劑抑制TIM-3與Galectin-9之間的相互作用。本發明之抑制劑可為抗體構築體。

亦設想本發明之抑制劑可進一步包含CAR T細胞。本發明之抑制劑亦可包含能夠接合T細胞之抗體構築體。能夠接合T細胞之抗體構築體較佳地包含CD3結合域及靶向在AML細胞上表現之表面分子之另一結合域。該表面分子可選自由CD33、CD19及Flt3組成之群。能夠接合T細胞之抗體構築體較佳地為能夠結合至CD3 ϵ 之結合分子。本發明之抑制劑可進一步包含免疫刺激劑。

另一組免疫查核點抑制劑減少如本文所描述之免疫查核點蛋白質之表現。因此，設想本發明之抗CD112之抑制劑減少CD112之表現。設想本發明之抗CD155之抑制劑減少CD155之表現。設想本發明之抗TIGIT之抑制劑減少TIGIT之表現。設想本發明之抗Galectin-9之抑制劑提高Galectin-9之表現。設想本發明之抗TIM3之抑制劑提高TIM-3之表現。設想本發明之抑制劑為iRNA。設想本發明之抑制劑對CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3進行基因剔除。該基因剔除可藉由CRISPR/cas9技術來達成。

另一組免疫查核點抑制劑調節如本文所描述之免疫查核點蛋白質之胞內信號傳導。因此，設想本發明之抗CD112之抑制劑調節CD112之胞內信號傳導。設想本發明之抗CD155之抑制劑調節CD155之胞內信號傳導。設想本發明之抗TIGIT之抑制劑調節TIGIT之胞內

信號傳導。設想本發明之抗Galectin-9之抑制劑調節Galectin-9之胞內信號傳導。設想本發明之抗TIM-3之抑制劑調節TIM-3之胞內信號傳導。

在另一態樣中，本發明係關於包含抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑及CAR T細胞之醫藥組合物。該抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑可為抗體構築體。

在另一態樣中，提供包含抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑及能夠接合T細胞之抗體構築體之醫藥組合物。能夠接合T細胞之該抗體構築體可包含CD3結合域及靶向表現在AML細胞上之表面分子之另一結合域。

必須注意，如本文中所用，除非上下文另外明確指示，否則單數形式「一(a)」、「一(an)」及「該(the)」包括複數個參考物。因此，例如提及「試劑」包括此類不同試劑中之一或多者，且提及「該方法」包括提及一般熟習此項技術者已知的可對本文所述之方法進行修改或取代的等效步驟及方法。

除非另有指示，否則在一系列要素之前的術語「至少」應理解為指代系列中之每個要素。熟習此項技術者使用不超過常規實驗之途徑將識別或能夠確定本文中所述之本發明的特定實施例的許多等效物。此類等效物意欲由本發明涵蓋。

本文各處所用之術語「及/或」包括含義「及」、「或」及「由該術語連接之要素之所有或任何其他組合」。

如本文所使用之術語「約」或「大致」意謂在給定值或範圍之20%內，較佳在10%內，且更佳在5%內。然而，其亦包括具體數目，例如，約20包括20。

術語「小於」或「大於」包括具體數目。舉例而言，小於20意謂小於或等於。類似地，超過或大於分別意謂超過或等於，或大於或等於。

在本說明書通篇及隨後申請專利範圍中，除非本文另有規定，否則詞語「包含(comprise)」及諸如「包含(comprises)」及「包含(comprising)」之變體應理解為暗示包括所述整數或步驟或整數或步驟之群，但不排除任何其他整數或步驟或整數或步驟之群。當在本文中使用時，術語「包含」可經術語「含有」或「包括」取代，或有時當在本文中使用時，經術語「具有」取代。

當在本文中使用時，「由...組成」排除所主張要素中未規定之任何要素、步驟或成分。當在本文中使用時，「基本上由...組成」不排除實質上不影響申請專利範圍之基本及新穎特徵之材料或步驟。

在本文中各情況下，術語「包含」、「基本上由...組成」及「由...組成」中任一者可經其他兩個術語中之任一者替換。

應理解，本發明不限於本文所描述之特定方法、方案、材料、試劑及物質等且因此可變化。本文所用之術語僅出於描述特定實施例之目的，而並不意欲限制本發明之範疇，該範疇僅由申請專利範圍限定。

本說明書之整篇文本中所引用之所有出版物及專利(包括所有專利、專利申請案、科學出版物、製造商之說明書、說明等)，無論前述或下述，特此以全文引用之方式併入。本文不應解釋為承認本發明無權先於憑藉先前發明之此類揭示內容。以引用的方式併入之材料達到與本說明書矛盾或不一致之程度時，本說明書將替代任何該材料。

最後，應理解本文中所揭示的本發明之實施例說明本發明之原理。可採用之其他修改在本發明之範疇內。因此，作為實例而非限制，可根據本文中之教示利用本發明之替代性組態。因此，本發明並

不限於如所準確展示及描述之內容。

【圖式簡單說明】

圖1：與來自健康供體之PBMC相比，在不同AML細胞株上之PVR、PVRL2及Galectin-9蛋白質表現。藉由FACS測定蛋白質表現。所有經偵測之AML細胞株對於PVR及PVRL2蛋白質表現為約100%陽性。相比之下，僅52%及40%之來自健康供體之PBMC分別表現PVR及PVRL2。PVR及PVRL2之蛋白質密度(由MFI假定)與PBMC上之極低密度相比係極高的。Galectin-9蛋白質表現及密度較低且與來自健康供體之PBMC相當。左列展示PVR表現，中間列展示PVRL2表現，右列展示Galectin-9表現。

圖2：藉由AML患者之胚細胞原生胚細胞之PVR及PVRL2之蛋白質表現。隔離重生AML患者之MNC且同時分別沾染CD33及PVR或PVRL2。此處描繪CD33群體內部之PVR或PVRL2陽性細胞之百分比份額。左列展示PVRL2表現，右列展示PVR表現。

圖3：與AMG330組合使用抗PVR及PVRL2之阻斷抗體量測PBMC衍生之細胞毒性之活體外分析。

圖4：PVR阻斷抗體增強細胞毒性分析(細胞株MV441)中之殺滅。在24 h後，PVR阻斷抗體D171以劑量依賴方式顯著增強細胞之殺滅。下圖表展示實驗1，上圖表展示實驗2。

圖5：PVR之阻斷導致MV4-11細胞之細胞裂解之顯著增加。PVR-Ab僅對AMG330具有類似的效果。可針對AMG330與PVR-Ab之組合觀測添加劑效果。

圖6：PVR阻斷抗體增強細胞毒性分析(細胞株KG-1)中之殺滅。在24 h後，PVR阻斷抗體D171以劑量依賴方式顯著增強細胞之殺滅。下圖表展示實驗1，上圖表展示實驗2。

圖7：PVR之阻斷導致KG-1細胞之細胞裂解之顯著增加。PVR-

Ab僅對AMG330具有類似的效果。可針對AMG330與PVR-Ab之組合觀測添加劑效果。

圖8：PVRL2阻斷抗體增強細胞毒性分析(細胞株MV4-11)中之殺滅。在24 h後，PVRL2抗體L-14顯著增強細胞之殺滅。下圖表展示實驗2，上圖表展示實驗1。

圖9：PVRL2之阻斷導致MV4-11細胞之細胞裂解之顯著增加。可針對AMG330與PVRL2-Ab之組合觀測添加劑效果。

圖10：PVRL2阻斷抗體增強細胞毒性分析(細胞株Kasumi-1)中之殺滅。在24 h後，PVRL2抗體L-14顯著增強細胞之殺滅。下圖表展示實驗1，中圖表展示實驗3，上圖表展示實驗2。

圖11：PVRL2之阻斷導致Kasumi-1細胞之細胞裂解之顯著增加。與僅用AMG330治療相比，PVRL2-Ab誘發對細胞裂解之類似效應。可針對AMG330與PVRL2-Ab之組合觀測添加劑效果。

圖12：PVRL2阻斷抗體增強細胞毒性分析(細胞株UKE-1)中之殺滅。在24 h後，PVRL2抗體L-14顯著增強細胞之殺滅。下圖表展示實驗2，上圖表展示實驗1。

圖13：AMG330及PVRL2阻斷抗體兩者之組合導致UKE-1中之細胞毒性顯著增加。

圖14：Galectin-9之阻斷導致MV4-11細胞之細胞裂解之顯著增加。可針對AMG330與9M1-3-Ab之組合觀測添加劑效果。

圖15：Galectin-9之阻斷導致KG-1細胞之細胞裂解顯著增加。可針對AMG330與9M1-3-Ab之組合觀測添加劑效果。

圖16：PVR及PVRL2高度表現於AML細胞株及原生CD33⁺AML胚細胞上。如由陽性CD33⁺細胞之百分比描繪之PVR及PVRL2蛋白質表現以及中值螢光強度比率作為來自未經治療之患者(n=17；C，D)之AML細胞株(n=8；A，B)及CD33⁺ AML胚細胞上之表現強度之量測

值。黑點劃線表示中值。

圖17：PVR及PVRL2之阻斷增加AML細胞株之裂解。在24 h後量測AML細胞株MV4-11 (A)、TF-1 (B)、Molm-13 (C)、Kasumi-1 (D)之經HD-PBMC介導之裂解。結果經描繪為經標準化至不具有無阻斷抗體之對照組之死亡靶細胞之倍數變化(FC)之平均值 $\pm$ SD。為了統計分析，進行Mann-Whitney U測試(# $p \leq 0.05$ ；* $p \leq 0.001$ ； $n \geq 3$)。

圖18：BiTE®抗體構築體AMG 330之T細胞介導之裂解藉由PVR及PVRL2阻斷抗體之額外投與顯著增強。在抗PVR或PVRL2之阻斷抗體之存在或不存在下，用HD-PBMC及AMG 330培育MV4-11 (A)、TF-1 (B)、Molm-13 (C)、Kasumi-1 (D)細胞。結果經描繪為經標準化至無阻斷抗體之對照組之死亡靶細胞之倍數變化(FC)之平均值 $\pm$ SD。為了統計分析，進行Mann-Whitney U測試(# $p \leq 0.05$ ；* $p \leq 0.001$ ； $n \geq 3$)。

圖19：藉由阻斷PVR及PVRL2增加細胞裂解為特定的且不經由ADCC介導。A，B：為排除ADCC之比重，使用細胞株MV4-11 (A)及TF-1 (B)在具有或不具有AMG 330之額外投與的情況下與來自相同健康供體之PBMC對比地分析CD3⁺ T細胞之抗白血病效應。結果經描繪為死亡靶細胞($n=2$)之平均值 $\pm$ SD。C，D：在AMG 330 ($n=2$ ，+2 μ g/mL，++10 μ g/mL，+++50 μ g/mL)之存在或不存在下，用遞增劑量之靶向CD117之抗體培育Kasumi-1細胞。結果經描繪為標準化至對照組之死亡靶細胞之倍數變化(FC)之平均值 $\pm$ SD。E，F：以多株人類IgG使HD-PBMC上之Fc γ 受體飽和且與不飽和HD-PBMC比較，兩者均用作抗MV4-11細胞之效應細胞。結果經描繪為死亡靶細胞($n=3$)之平均值 $\pm$ SD。

圖20：PVR及PVRL2二次基因剔除細胞概括活體外之抗體效應且在活體內延長藉由人類T細胞復原之NSG小鼠之存活率。A：藉由使用CRISPR/Cas9，生成具有PVR及PVRL2之二次基因剔除之MV4-11

之多株群體。在不具有或具有AMG 330之情況下，用HD-PBMC培育MV4-11野生型或二次基因剔除細胞24 h。為了統計分析，進行Mann-Whitney U測試(# $p \leq 0.05$; * $p \leq 0.001$; $n=3$)。B：藉由MV4-11野生型(WT)或PVR及PVRL2二次基因剔除(KO)細胞移植免疫缺乏NSG小鼠且藉由人類T細胞復原。治療由安慰劑之每日腹膜內施用組成(對於WT， $n=13$ 及對於KO， $n=12$)或15 $\mu\text{g/kg}$ AMG 330 (對於WT， $n=12$ 及對於KO， $n=15$)。進行記錄等級測試：WT安慰劑相比於KO安慰劑 $p < 0.001$; WT AMG 330相比於KO AMG 330 $p < 0.001$; WT安慰劑相比於WT AMG 330 $p = 0.003$; KO安慰劑相比於KO AMG 330 $p = 0.027$ 。C：CRISPR/Cas9生成之基因剔除細胞之增殖能力。將MV4-11 PVR及PVRL2二次基因剔除細胞之增長率與MV4-11野生型細胞之增殖能力相比較。使用Vi-Cell™XR自動細胞計數器(Beckman Coulter)在第2天及第4天量測細胞計數； $n=3$ 。

圖21：對CRISPR/Cas9介導之PVR及PVRL2二次基因剔除細胞之基因組分析。為了在基因組水平上驗證MV4-11細胞中之PVR及PVRL2之CRISPR/Cas9介導之基因剔除，藉由次選殖及定序來分析若干單細胞之對應基因部分。分別針對PVR (A)及PVRL2 (B)呈現用於三個不同基因剔除純系之基因組變異，包括對在用於蛋白質序列之影響。在頂部以藍色展示關於目標部位之野生型序列且以綠色展示PAM序列。對於PVRL2，當PVRL2導引RNA辨識到反平行DNA股時，靶向區域及PAM序列處於反向互補定向中。次純系內之刪除經展示為紅色短劃線且以紅色展示插入。WT=野生型，KO=二次基因剔除，PAM=原型間隔區鄰近主結構，AA=胺基酸。

【實施方式】

以下說明書包括可適用於理解演示之資訊。不承認本文所提供之該資訊中之任一者為現有技術或與當前所主張的發明有關，或特別

或隱含參考之任何出版物為現有技術。

本發明至少部分基於出人意料的發現抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Gatletin-9、TIM-3及/或TIGIT之免疫查核點抑制劑可有效地用於治療血源癌症，尤其具有免疫逸出機制之急性骨髓白血病(AML)，由此提供癌症療法中之新的及非常有效的免疫治療方法。就此而言，本發明人在活體外研究各種白血病細胞株中發現免疫查核點配位體CD112及CD155及其受體TIGIT、免疫查核點配位體Gatlectin-9及其受體TIM-3較佳適合靶向治療血源癌症，特定言之AML。CD112為CD155免疫查核點蛋白質配位體，而其受體為TIGIT。Gatlectin-9亦為配位體且TIM-3為其受體。

本發明人發現免疫查核點配位體PVR及PVRL2及其受體TIGIT似乎對AML患者中之整個存活率具有負面的預測影響(資料未展示)。此外，本發明人披露PVL、PVRL2或TIGIT之阻斷導致AML細胞之顯著殺滅(圖3至圖13)。因此，本發明人注意到PVR、PVRL2及TIGIT在血源癌症治療，特定言之AML治療中作為新的靶向且提供有效地抑制PVR、PVRL2及/或TIGIT之免疫抑制性信號之物質，由此經由T細胞之免疫功能之恢復及活化機制抑制癌症增殖。此外，在此項技術中存在對立資料描述免疫查核點配位體Gatlectin-9及其受體TIM-3對T細胞活性及腫瘤進展之正面以及負面的預測影響。儘管表現研究似乎強調Gatlettin-9及TIM-3對癌症病患具有相當正面的預測影響(資料未展示)，但本發明人披露Gatlettin-9及TIM-3之阻斷導致AML細胞之顯著殺滅(參見圖14及圖15)。因此，本發明進一步提供有效地抑制Gatlettin-9/TIM-3相互作用之免疫抑制性信號之物質，由此經由T細胞之恢復及活化抑制癌細胞增殖。

如藉由本發明人所展示，所有經偵測之AML細胞株對PVR及PVRL2蛋白質表現為約100%陽性。對比而言，僅52%及40%之來自健

健康供體之PBMC分別地表現PVR及PVRL2 (圖1)。此外，用於PVR及PVRL2之蛋白質密度與PBMC上之極低密度相比極高。此外，Galectin-9蛋白質表現及密度較低且與來自健康供體之PBMC類似。AML患者之胚細胞原生胚細胞亦展示PVR及PVRL2之蛋白質表現。由此隔離重生AML患者之MNC且同時分別地染色CD33及PVR或PVRL2。在此處，可發現CD33群體內之PVR或PVRL2陽性細胞之份額百分比(圖2)。

如本文所揭示，PVR及PVRL2與其受體TIGIT相互作用以及Galectin-9與其受體TIM-3相互作用充當免疫遏制性或甚至免疫抑制性信號且因此起AML中之免疫逸出機制的作用。根據前文，預期抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之本發明之免疫查核點抑制劑應抑制或使CD112與TIGIT，CD155與TIGIT及/或Galectin-9及TIM-3之間難以相互作用，由此促進癌症特定的免疫反應。同樣，預期抗CD155之本發明之免疫查核點抑制劑抑制CD155與TIGIT之間的相互作用或使CD155與TIGIT之間的相互作用更加困難。亦預期抗TIGIT之本發明之免疫查核點抑制劑抑制TIGIT與CD112及/或CD155之間的相互作用或使TIGIT與CD112及/或CD155之間的相互作用更加困難。此外，預期抗Galectin-9之本發明之免疫查核點抑制劑抑制Galectin-9與TIM-3之間的相互作用或使Galectin-9與TIM-3之間的相互作用更加困難。同樣，預期抗TIM-3之本發明之免疫查核點抑制劑意抑制TIM-3與Galectin-9之間的相互作用或使TIM-3與Galectin-9之間的相互作用更加困難。

如本文所使用，術語「抑制(inhibit)」或「抑制(inhibiting)」指代本發明之抑制劑阻斷、部分地阻斷、干擾、降低、抑止、減小或去活化靶蛋白之能力，亦即免疫查核點配位體CD112及CD155及/或其受體TIGIT、免疫查核點配位體Galectin-9及/或其受體TIM-3。因此，熟

習此項技術者理解術語「抑制」可涵蓋該配位體或受體之活性之完整及/或局部損耗。可藉由結合至配位體/受體蛋白質之活性位點之化合物，或藉由其他手段(諸如禁用活化經抑制之第一蛋白質之第二蛋白質)來遏制或抑制該配位體或受體之活性。舉例而言，可藉由顯著增加細胞裂解，亦即顯著增加血源癌症靶細胞(詳言之AML靶細胞)之死亡細胞速率，來指示在CD112與TIGIT，CD155與TIGIT以及Galectin-9與TIM-3之間的相互作用之完整及/或局部抑制。

如本文所使用之術語「血源癌症」包括(尤其)白血病及淋巴瘤，例如霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)或非霍奇金淋巴瘤(Non-Hodgkin lymphoma)。亦包括骨髓發育不良症候群(MDS)及多發性骨髓瘤(MM)。

除用於治療血源癌症外，本申請案之免疫查核點抑制劑亦可用於治療固態腫瘤，諸如口腔癌或胰臟癌(Thijssen等人，(2015)，Biochim Biophys 1855，235-247)。

「急性骨髓白血病」亦稱為急性骨髓細胞性白血病、急性骨髓性白血病、急性顆粒球性白血病、急性非淋巴細胞白血病，或僅「AML」通常係指通常表徵為癌性未成熟骨髓胚細胞、紅血球或骨髓中之血小板之過度產生及/或聚集之急性型白血病。「急性」意謂若不治療，則此白血病可迅速發展，且將很可能在幾個月內致命。

「骨髓」係指此白血病開始之細胞之類型。AML之大多數案例自將變為白血球(除淋巴細胞以外)之細胞發展，然而存在不同次型之AML。AML在骨髓中開始，但在大多數情況下其迅速移動至血液中。如本文所使用，術語「AML」包括急性、頑抗性及復發性AML。如本文所使用之術語「頑抗性AML」意謂AML對於習知或標準AML療法之抗性，諸如化學療法及/或造血幹細胞移植(HSCT)，亦即，習知或標準AML療法不能夠最終治癒所有AML患者。如本文所

使用之術語「復發性AML」指示在患者享受緩解之後AML疾病之病徵及症狀之恢復。舉例而言，在使用化學療法及/或HSCT之習知AML治療之後，AML患者可進入無AML之病徵或症狀之緩解狀態，保持緩解數年，但遭受復發且必須再次治療AML。如本文所使用之術語「AML」亦包括患有AML之患者之微小殘留病(MRD)，亦即，當患者處於緩解時，在治療期間或治療後，在患者中存在較小數目之癌性骨髓細胞殘餘。

術語「免疫查核點抑制劑」在用於本文中時係指適合於抗免疫查核點蛋白質CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3起作用之任何結合劑或化合物，由此抑制或遏制CD112與TIGIT，CD155與TIGIT及/或Galectin-9與TIM-3相互作用之間的免疫抑制性信號。術語「免疫抑制性信號」在用於本文中時係指在本發明之免疫查核點配位體與受體之間的相互作用，由此減小相關T細胞抵抗相關腫瘤細胞之免疫活性且允許腫瘤細胞自生物體之免疫防衛機制逸出。因此，本發明之針對CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑抑制在本發明之免疫查核點配位體與受體之間的此免疫抑制性信號，由此允許該等T細胞侵蝕及消除相關腫瘤細胞。因此，本發明之抑制劑能夠減少或抑制在本發明之免疫查核點配位體與其受體之間的免疫抑制性信號。因此，本發明之抑制劑藉由激活對癌細胞之T細胞反應來展現「免疫增強」活性。特定言之，本發明之具有免疫增強活性之抑制劑能夠減少或抑制在CD112與TIGIT之間的免疫抑制性信號之強度。進一步設想，本發明之具有免疫增強活性之抑制劑能夠減少或抑制在CD155與TIGIT之間的免疫抑制性信號之強度。進一步設想，本發明之具有免疫增強活性之抑制劑能夠減少或抑制在Galectin-9與TIM-3之間的免疫抑制性信號之強度。

根據本發明，本發明之抗各別免疫查核點靶蛋白之免疫查核點

抑制劑之結合調節該靶蛋白之胞內信號傳導。因此，設想抗CD112之抑制劑調節CD112之胞內信號傳導。同樣，設想抗CD155之抑制劑調節CD155之胞內信號傳導。同樣，設想抗TIGIT之抑制劑調節TIGIT之胞內信號傳導。同樣，設想抗Galectin-9之抑制劑調節Galectin-9之胞內信號傳導。同樣，設想抗TIM-3之抑制劑調節TIM-3之胞內信號傳導。術語「調節(modulate)」或「調節(modulating)」在用於本文中時包括增加、減少或另外改變本發明之免疫查核點蛋白質(亦即CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3)之胞內信號傳導。就此而言，可增強、阻礙或完全阻止偶合至此免疫查核點蛋白質之胞內信號路徑，由此改變下游信號傳導元素之水平、量及/或活性，包含細胞活化、增殖及惡性生長。

如本文所揭示，本發明之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑可用於治療血源癌症，詳言之，急性骨髓白血病(AML)。血源癌症為開始於骨髓之血球之癌症，通常包含白血病及淋巴瘤。在血源癌症之情況下，骨髓開始製造擠出正常血球之異常細胞。同樣，如本文所揭示之抑制劑特別適用於治療任何類別之血源癌症，其表徵為CD112、CD155及/或Galectin-9在腫瘤細胞上之表現增加。詳言之，本文所揭示之抑制劑尤其適用於治療任何類別有特別特徵之血源癌症。因此，設想本發明之抑制劑亦可用於治療表徵為CD112、CD155及/或Galectin-9在腫瘤細胞上之表現增加之其他血源癌症，諸如慢性骨髓性白血病(CML)、急性淋巴胚細胞白血病(ALL)、骨髓發育不良症候群(MS或骨髓發育不良)及骨髓增生贅瘤(MPN)。進一步設想本發明之抑制劑可用於治療表徵為CD112、CD155及/或Galectin-9之表現增加之實體腫瘤。就此而言，本文所揭示之抑制劑可用於在腫瘤細胞上表現之免疫查核點配位體Cd112、CD155及/或Galectin-9與其在如本文中之其他處所描述之在T細胞上表

現之免疫查核點受體TIGIT及TIM-3之間的相互作用。

如在本發明中藉由針對各種白血病細胞株之FACS分析及活體外細胞毒性分析測試所展現，抗PVR及PVRL2之抗體較適合用於阻斷此等免疫查核點配位體，由此顯著增加AML細胞之細胞裂解(圖3至圖13)。因此，較佳的係，本發明之抑制劑為抗體構築體。術語「抗體構築體」在本發明之意義上指示能夠(特異性地)結合至本發明之免疫查核點分子、與本發明之免疫查核點分子相互作用或辨別本發明之免疫查核點分子之基於抗體的「結合分子」或「結合劑」。抗體構築體可與AML癌症靶細胞上之表面分子或T細胞上之受體錯合物結合/相互作用，較佳之結合分子為抗體。

術語「抗體」係指其結構及/或功能以抗體之結構及/或功能為基礎的分子，例如，全長或完整免疫球蛋白分子。根據本發明，用於治療血源癌症(詳言之，AML)之抗體為特異性地抑制在本發明之免疫查核點配位體與免疫查核點受體之間的相互作用之抑制性抗體。就此而言，設想本文所揭示之抗體特異性地抑制CD112與TIGIT之間的相互作用。亦設想本文所揭示之抗體特異性地抑制CD155與TIGIT之間的相互作用。進一步設想本文所揭示之抗體特異性地抑制Galectin-9與TIM-3之間的相互作用。詳言之，當抑制本發明之免疫查核點配位體與免疫查核點受體之間的相互作用時，本發明之抗體抑制在CD112/TIGIT、CD55/TIGIT及/或Galectin-9/TIM-3之間的免疫抑制性相互作用，由此抑制配位體-受體相互作用之信號。因此，本文所揭示之抗體本身將與本發明之免疫查核點配位體或受體結合且(若並非不可能)使其難以獲得該配位體與該受體之間的免疫抑制性信號。根據前文，適用於本發明之方法及用途之例示性抗體包括抗CD112抗體、抗CD112抗體、抗TIGIT抗體、抗Galectin-9抗體及抗TIM-3抗體。熟習此項技術者咸了解可根據本發明使用之許許多多各種不同抑制性抗

體，由此抑制在如本文中之其他處所揭示之免疫查核點配位體與受體之間的相互作用。

術語「抗體」之定義包括諸如單株、嵌合、單鏈、人源化及人類抗體以及抗體片段、類似物，尤其Fab片段之實施例。抗體片段或衍生物進一步包含 $F(ab')_2$ 、Fv、scFv片段或單域抗體(諸如，域抗體或奈米抗體、單可變域抗體)，或僅包含一個可變域之免疫球蛋白單可變域，該一個可變域可為獨立於其他V區或域而特異性結合抗原或抗原決定基之VHH、VH或VL；參見(例如) Harlow及Lane (1988)及(1999)，上述引文；Kontermann及Dübel，Antibody Engineering，Springer，第2版，2010年，及Little, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press 2009。此等免疫球蛋白單可變域不僅涵蓋經分離抗體單可變域多肽，而且涵蓋包含抗體單可變域多肽序列之一或多種單體的較大多肽。符合以上定義之單價抗體片段描述與本發明有關之結合域之實施例。此等單價抗體片段結合至特定抗原且亦可稱作「抗原結合域」、「抗原結合片段」或「抗體結合區」。

符合本文所提供之此定義，術語抗體可歸入術語「抗體構築體」。該術語亦包括雙功能抗體或雙親和重新靶向(DART)抗體。進一步設想(雙特異性)單鏈雙功能抗體、串聯雙功能抗體(Tandab's)、藉由如下結構例示之「微抗體」： $(VH-VL-CH3)_2$ 、 $(scFv-CH3)_2$ 或 $(scFv-CH3-scFv)_2$ ，「Fc DART」抗體及「IgG DART」抗體及諸如三功能抗體之多抗體。免疫球蛋白單可變域不僅涵蓋經分離抗體單可變域多肽，而且涵蓋包含抗體單可變域多肽序列之一或多種單體的較大多肽。

各種程序為此項技術中已知的，且可用於產生此等抗體構築體(抗體及/或片段)。因此，可藉由肽模擬物製造(抗體)衍生物。此外，

所描述之用於產生單鏈抗體之技術(尤其參見美國專利4,946,778, Kontermann及Dübel (2010), 上述引文及Little (2009), 上述引文)可適於產生對所選擇多肽具有特異性之單鏈抗體。同樣, 轉殖基因動物可用於表現對本發明之多肽及融合蛋白具有特異性之人源化抗體。為製備單株抗體, 可使用提供藉由連續細胞株培養物產生之抗體的任何技術。用於此等技術之實例包括融合瘤技術(Köhler及Milstein Nature 256 (1975), 495-497)、三源融合瘤技術、人類B細胞融合瘤技術(Kozbor, Immunology Today 4 (1983), 72)及EBV融合瘤技術, 以產生人類單株抗體(Cole等人, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985), 77-96)。如BIAcore系統中所採用之表面電漿子共振可用於增加結合至目標多肽之抗原決定基(諸如CD3 ϵ)的噬菌體抗體的功效(Schier, Human Antibodies Hybridomas 7 (1996), 97-105; Malmborg, J. Immunol. Methods 183 (1995), 7-13)。亦設想在本發明的上下文中, 術語「抗體」包含抗體構築體, 其可如以下本文所描述表現於宿主中, 例如, 可尤其經由病毒或質體載體轉染及/或轉導之抗體構築體。

此外, 如本文所用之術語「抗體」亦係關於本文中所描述之抗體之衍生物或變異體, 其顯示與所描述之抗體相同的特異性。「抗體變異體」之實例包括非人類抗體、「親和力成熟」抗體之人源化變異體(參見(例如) Hawkins等人 J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992)及 Lowman等人, Biochemistry 30, 10832-10837 (1991))及具有改變的效應功能之抗體突變體(參見(例如)美國專利5,648,260, Kontermann及 Dübel (2010), 上述引文及Little (2009), 上述引文)。

術語「抗原結合域」、「抗原結合片段」及「抗體結合區」在用於本文中時係指包含負責用於抗體與抗原之間的特異性結合之胺基酸的抗體分子之一部分。由抗體特異性辨識及結合之抗原之部分被稱

為如上文所描述之「抗原決定基」。如上文所提及，抗原結合域通常可包含抗體輕鏈可變區(VL)及抗體重鏈可變區(VH)；然而，其不必包含兩者。Fd片段(例如)具有兩個VH區且常常保留完整抗原結合域之一些抗原結合功能。抗體之抗原結合片段之實例包括：(1) Fab片段，一種具有VL、VH、CL及CH1域之單價片段；(2) F(ab')₂片段，一種具有在鉸鏈區處藉由二硫橋鍵連接之兩個Fab片段之二價片段；(3)具有兩個VH域及CH1域之Fd片段；(4)具有抗體之單側之VL及VH域之Fv片段；(5)具有VH域之dAb片段(Ward等人，(1989) *Nature* 341: 544-546)；(6)經分離之互補決定區(CDR)；及(7)單鏈Fv (scFv)。儘管Fv片段之兩個域(VL及VH)藉由單獨基因編碼，但其可使用重組方法藉由合成連接子連結，該合成連接子使得該兩個域能夠製成為VL與VH區成對以形成單價分子的單蛋白鏈(稱為單鏈Fv (scFv)；參見(例如)Huston等人，(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 85:5879-5883)。此等抗體片段使用熟習此項技術者已知的習知技術獲得，且以與完整抗體相同之方式評估片段之功能。

在使用(合成)連接子之情況下，此連接子較佳具有一定長度及序列以足以確保第一及第二域各自可彼此獨立地保留其不同結合特異性。最佳地及如隨附實例中所記載，本發明之抗體構築體為「雙特異性單鏈抗體構築體」，更佳為雙特異性單鏈Fv (scFv)。雙特異性單鏈分子為此項技術中已知且描述於WO 99/54440, Mack, *J. Immunol.* (1997), 158, 3965-3970, Mack, *PNAS*, (1995), 92, 7021-7025, Kufer, *Cancer Immunol. Immunother.*, (1997), 45, 193-197, Löffler, *Blood*, (2000), 95, 6, 2098-2103, Brühl, *Immunol.*, (2001), 166, 2420-2426, Kipriyanov, *J. Mol. Biol.*, (1999), 293, 41-56中。與本發明有關之為雙特異性單鏈分子之CD33靶向化合物之一個實例為AMG330，其亦用於隨附實例中。AMG330之序列最初描述於WO 2008/119567中。包含於

本文中所描述之抗體構築體之該可變域可藉由額外的連接子序列連接。術語「肽連接子」根據本發明定義胺基酸序列，憑藉該定義，本發明之抗體構築體之第一域及第二域之胺基酸序列彼此連接。此類肽連接子之必需技術特徵為該肽連接子不包含任何聚合活性。用於肽連接子之較佳的胺基酸殘基包括表徵為長度在5個與25個胺基酸殘基之間的 Gly、Ser 及 Thr。其中合適之肽連接子為描述於美國專利 4,751,180 及 4,935,233 或 WO 88/09344 中之彼等者。肽連接子之較佳實施例表徵為胺基酸序列 Gly-Gly-Gly-Gly-Ser，亦即 Gly₄Ser (SEQ ID NO: 9) 或其聚合物，亦即 (Gly₄Ser)_x，其中 x 為 1 或更大之整數（例如 2 或 3）。此連接子序列之變型亦為較佳的，其包括諸如以下之實例：(Gly-Gly-Gly-Gly)_x (SEQ ID No: 10)、(Gly-Gly-Gly-Gly-Gln)_x (SEQ ID No: 11)、(Pro-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_x (SEQ ID No: 12)、(Pro-Gly-Gly-Asp-Gly-Ser)_x (SEQ ID No: 13) 及 (Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_x (SEQ ID No: 14)。該肽連接子之特徵(其包含不促進二級結構)為此項技術中已知且(例如)描述於 Dall'Acqua 等人 (Biochem. (1998) 37, 9266-9273)、Cheadle 等人 (Mol Immunol (1992) 29, 21-30) 及 Raag 及 Whitlow (FASEB (1995) 9(1), 73-80) 中。亦不促進任何二級結構之肽連接子為較佳的。該等域彼此之連接可由(例如)遺傳工程提供，如實例中所描述。製備融合及可操作連接之雙特異性單鏈構築體及在哺乳動物細胞或細菌中表現其之方法為此項技術中熟知的(例如 WO 99/54440 或 Sambrook 等人，Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2001)。

對於連接本發明之抗體構築體中之至少兩個結合域之肽連接子而言，包含僅數目較少之胺基酸殘基(例如，12個胺基酸殘基或更少)之肽連接子為較佳的。因此，12、11、10、9、8、7、6 或 5 個胺基酸殘基之肽連接子為較佳的。設想之具有少於 5 個胺基酸之肽連接子包

含4個、3個、2個或一個胺基酸，其中富含Gly之連接子為較佳的。該「肽連接子」之情形下的尤其較佳「單一」胺基酸為Gly。因此，該肽連接子可由單一胺基酸Gly組成。

如本文中所用之術語「單株抗體」係指自實質上同種抗體之群體獲得的抗體，亦即，包含該群體之個別抗體除可能天然存在的突變體及/或可以少量存在之後轉譯改質(例如，異構化、醯胺化)之外其他相同。單株抗體為高度特異性的，其針對單一抗原位點。此外，相比於通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之習知(多株)抗體製劑，各單株抗體針對抗原上之單一決定子。除了其特異性之外，單株抗體為有利的，因為其藉由融合瘤培養合成，未受其他免疫球蛋白污染。修飾語「單株」指示抗體之特徵為自實質上同種之抗體群體獲得，且不應理解為需要藉由任何特定方法產生該抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由Kohler等人，Nature, 256: 495 (1975)首先描述的融合瘤方法製得，或可藉由重組DNA方法(參見(例如)美國專利第4,816,567號)製得。亦可使用(例如) Clackson等人，Nature, 352: 624-628 (1991)及Marks等人，J. Mol. Biol., 222: 581-597 (1991)中所描述之技術使「單株抗體」自噬菌體抗體庫分離。

術語「人類抗體」包括具有實質上對應於此項技術中已知之人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區之抗體，包括(例如)由Kabat等人(參見Kabat等人(1991)，上述引文)描述之彼等抗體。本發明之人類抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如，藉由活體外隨機或定點突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變)，例如在CDR中，且詳言之在CDR3中。人類抗體可具有由未經人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基置換之至少一個、兩個、三個、四個、五個或更多位置。強調如本文所使用之人類抗體之定義亦涵蓋全人類抗體，其僅包括抗體之非人工及/或遺傳改

變之人類序列，因為彼等人類序列可藉由使用技術、使用諸如 Xenomice 之系統衍生。

「抗體變異體」之實例包括非人類抗體、「親和力成熟」抗體之人源化變異體(參見(例如) Hawkins等人 J. Mol. Biol. 254, 889-896 (1992)及Lowman等人, Biochemistry 30, 10832-10837 (1991))及具有改變的效應功能之抗體突變體(參見(例如)美國專利 5,648,260, Kontermann及Dübel (2010), 上述引文及Little (2009), 上述引文)。如本文所使用，「活體外生成之抗體」係指其中全部或部分可變區(例如，至少一種CDR)在未免疫細胞選擇中產生之抗體(例如，活體外噬菌體顯示、蛋白質晶片或任何其他方法，其中可針對其結合至抗原之能力測試候選序列)。因此，此術語較佳不包括由免疫細胞中之基因組重排生成之序列。VH及VL一起成對形成單一抗原結合位點。最接近於VH的CH域稱為CH1。各L鏈藉由一個共價二硫鍵連接至H鏈，而兩個H鏈視H鏈同型而定藉由一或多個二硫鍵彼此連接。VH域及VL域由被稱為構架區之四個相對保守序列之區(FR1、FR2、FR3及FR4)組成，該等區形成三個高變序列區(互補決定區，CDR)之骨架。CDR含有大部分負責用於抗體與抗原之特異性相互作用之殘基。CDR被稱為CDR1、CDR2及CDR3。因此，重鏈上之CDR組分被稱為H1、H2及H3，而輕鏈上之CDR組分被稱為L1、L2及L3。

術語「可變」係指免疫球蛋白域之部分，其展現其序列中之變化性且其參與測定特定抗體之特異性及結合親和力(亦即「可變域」)。可變性並不均勻分佈於抗體之整個可變域中；其集中於各重鏈及輕鏈可變區之次域中。此等次域稱為「高變區」或「互補決定區」(CDR)。可變域之更保守(亦即，無高變)部分稱為「構架」區(FRM)。天然存在之重鏈及輕鏈之可變域各自包含四個FRM區，大部分採用 β -薄片組態，藉由三個高變區連接，其形成環路連接及在一些

情況下形成 β -薄片結構之部分。各鏈中之高變區藉由FRM與另一鏈之高變區緊密結合在一起，促成抗原結合位點之形成(參見Kabat等人，上述引文)。恆定域不直接參與抗原結合，但展現各種效應功能，諸如抗體依賴性細胞介導之細胞毒性及補體活化。

術語「CDR」及其複數「CDRs」係指互補決定區(CDR)，其中三個CDR (CDRL1、CDRL2及CDRL3)構成輕鏈可變區之結合特徵，且三個CDR (CDRH1、CDRH2及CDRH3)構成重鏈可變區之結合特徵。CDR促成抗體分子之功能活性且藉由包含骨架或構架區之胺基酸序列分離。使精確界定的CDR界限及長度經歷不同分類及編號系統。CDR可因此藉由Kabat、Chothia、觸點或任何其他邊界定義(包括本文所述之編號系統)提及。儘管界限不同，但此等系統中之各者在什麼構成可變序列內之所謂「高變區」方面具有一些程度之重疊。因此，根據此等系統之CDR定義相對於相鄰構架區在長度及界限區域方面可不同。參見(例如) Kabat, Chothia及/或MacCallum (Kabat等人，上述引文；Chothia等人，J. Mol. Biol, 1987, 196: 901；及MacCallum等人，J. Mol. Biol, 1996, 262: 732)。然而，根據所謂Kabat系統編號為較佳的。輕鏈之CDR3及尤其重鏈之CDR3可構成輕鏈及重鏈可變區內抗原結合的最重要決定子。在一些抗體構築體中，重鏈CDR3似乎構成抗原與抗體之間的主要接觸區域。可使用僅CDR3變化之活體外選擇方案來改變抗體之結合特性或確定促成抗原結合之殘基。

在一些實施例中，本文所描述之結合分子為經分離之蛋白質或實質上純的蛋白質。「經分離」蛋白質無在其天然狀態中與其正常締合之至少一些物質伴隨，例如佔給定樣品總蛋白質之至少約5重量%或至少約50重量%。應瞭解，經分離之蛋白質可視環境而定佔總蛋白質含量之5重量%至99.9重量%。舉例而言，蛋白質可經由使用誘導性啟動子或高表現啟動子而以顯著較高濃度製得，使得蛋白質以增加之

濃度水平製得。該定義包括在此項技術中已知之各種生物體及/或宿主細胞中之抗原結合蛋白之產生。

如本文所揭示，本發明之實驗結果尤其展現針對免疫查核點CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及TIM-3之抗體之抑制性效果。然而，可抑制CD112與TIGIT、CD155與TIGIT及/或Galectin-9與TIM-3之間的免疫抑制性信號之任何其他物質將具有類似效果。具有此等效果之物質包括(例如)：可溶CD112、可溶CD155、可溶TIGIT、可溶Galectin-9、可溶TIM-3、CD112拮抗劑、CD155拮抗劑、TIGIT拮抗劑、Galectin-9拮抗劑、TIM-3拮抗劑、抑制CD112與TIGIT、CD155與TIGIT及/或Galectin-9與TIM-3之間的相互作用之物質、CD112產生抑制劑、CD155產生抑制劑、TIGIT產生抑制劑、TIM-3產生抑制劑及藉由TIGIT或TIM-3之胞內抑制性信號抑制劑。

因此，本發明之CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3抑制劑包含蛋白質或非蛋白質化合物或試劑。就此而言，結合至CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之蛋白質及多肽或衍生物包括CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9或TIM-3之各部分蛋白質，其中不誘發CD112與TIGIT、CD155與TIGIT及/或Galectin-9與TIM-3之間的免疫抑制信號。在免疫查核點受體附近存在TIGIT或TIM-3對於TIGIT或TIM-3之免疫抑制性信號之誘導而言為必不可少的，為此目的，其受到與腫瘤或癌瘤細胞中之CD112、CD155 (TIGIT)或Galectin-9 (TIM-3)之相互作用的限制。因此，具有僅胞外域且與TIGIT或TIM-3相互作用之部分的可溶CD112、CD155或Galectin-9可抑制CD112、CD155或Galectin-9之免疫抑制性信號。另一方面，具有結構類似且可與CD112、CD155或Galectin-9相互作用之部分的可溶TIGIT或TIM-3可抑制免疫抑制性信號。此等可溶蛋白質僅需包括必要且足以結合至CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9或TIM-3之胞外

區且可藉由熟知表現及改良技術來製備。

若CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9或TIM-3之相互作用抑制劑為蛋白質或多肽，且用於相互作用之基本區域僅由多肽組成且用於相互作用之基本區域僅由連續多肽組成，則此種多肽片段可變為相互的拮抗劑。此外，可自此多肽片段之分子群識別具有階梯活性(stringer activity)之拮抗劑，其中此多肽片段經電腦基於多肽片段之空間結構化學改質或設計。此外，最佳拮抗劑可更高效地選自由電腦基於相互作用區域之蛋白質立體分析資料設計之分子群。

進一步設想如本文所揭示之用於治療血源癌症(詳言之，AML)之抑制劑為小分子抑制劑。術語「小分子」意謂具有低分子量(通常小於1000 Da)之分子。如本文所使用之此種小分子係指具有低分子量之有益試劑，其通常藉由有機化學合成，但亦可自諸如植株、真菌及微生物之天然來源分離。當在本發明之範疇內用於治療血源癌症時，此等小分子亦被稱為小分子藥物。用於遞送小分子藥物之常見途徑為經口、注射、經肺及經皮。

進一步設想本發明之抗CD112之抑制劑減少CD112之表現。同樣，本發明之抗CD155之抑制劑減少CD155之表現。同樣，本發明之抗TIGIT之抑制劑減少TIGIT之表現。同樣，本發明之抗Galectin-9之抑制劑減少Galectin-9之表現。同樣，本發明之抗TIM-3之抑制劑減少TIM-3之表現。因此，本文進一步揭示核酸序列(例如，治療性核酸分子，例如反義寡核苷酸，編碼該反義寡核苷酸之DNA或產生該反義寡核苷酸之載體)製備適用於減少靶基因(例如對CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及TIM-3編碼之基因)之表現之反義分子之用途。術語「減少表現」在用於本文中時係指本發明之抑制劑減小或阻斷靶基因之表現之能力，該靶基因亦即以特異性及後轉錄方式對CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及TIM-3編碼之基因。就此而言，本發明

係關於能夠減少CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3在癌細胞中之表現之核苷酸。該等核苷酸可表徵為靶向mRNA之序列且與靶向mRNA一起表徵為具有至少50%之序列一致性，或至少70%之序列一致性，或至少80%之序列一致性，或至少90%之序列一致性。可用於製備基於核苷酸之抑制劑之RNA序列尤其適用於此目的。具有約2個核苷酸3'突出端(稱為較小干擾RNA或siRNA)之21至23核苷酸之RNA雙螺旋體經展示以經由被稱為RNA干擾(RNAi)之後轉錄基因靜默(PTGS)機制介導哺乳動物細胞中之基因表現之序列特異性抑制。因此，經由活體內之致病基因之靜默，RNAi被視為最有前景的新穎的治療性策略之一。因此，在本發明之較佳實施例中，能夠減少CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之表現之核苷酸為RNAi (iRNA)。熟習此項技術者知曉在活體內合成RNAi及遞送此等構築體至腫瘤細胞之若干種技術，由此使用例如在(例如)Santel等人，2006, *Gene Therapy* 13, 1360-1370中所描述之脂質體調配物。就此而言，雙鏈RNA首先利用與目的基因互補之序列合成並引入至細胞或生物體中，其中其經辨識為外源遺傳物質且活化RNAi路徑。由於RNAi不可完全消除基因之表現，此技術有時被稱作「*阻斷基因表現(gene knockdown)*」以將其與完全消除基因之表現之「http://en.wikipedia.org/wiki/Gene_knockout」程序相區分。

因此，進一步設想本發明之減少CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之表現之抑制劑基因剔除CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3。術語「基因剔除」在用於本文中時係指多肽之至少一部分之表現之完全減少，該多肽藉由對於與野生型動物相比之哺乳動物之單一細胞、所選擇細胞或所有細胞之CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3編碼之內源性基因而編碼。哺乳動物可為「異型接合基因剔除」，其中內源性基因之一個對偶基因

受到破壞。替代地，哺乳動物可為「同型接合基因剔除」，其中內源性基因之兩個對偶基因受到破壞。亦設想對CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3編碼之多於一個之基因，較佳兩個基因經「基因剔除」。在此情況下，哺乳動物為「經二次基因剔除之」哺乳動物。根據本發明，本發明人展現當使用CRISPR/Cas9技術時，PVR及PVRL2可在AML細胞株中特異性地經單次或二次基因剔除。因此，本發明亦係指基因剔除CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑，其中該基因剔除藉由CRISPR/cas9技術達成。然而，熟習此項技術者知曉適用於基因剔除血源癌細胞(詳言之AML細胞)中之免疫查核點的各種不同技術。因此，在本發明的範疇內之基因剔除技術包含改變基因序列而產生不活化基因之技術或可在產生基因之功能缺失進展期間在所選時間不活化表現之技術中之任一者。

本發明之免疫查核點抑制劑可進一步包含嵌合抗原受體(CAR) T細胞。CAR T細胞展現工程設計之受體(嵌合抗原受體)，其將單株抗體之特異性移植至T細胞上，同時轉移其藉由反轉錄病毒載體促進之編碼序列。此等CAR允許T細胞辨識腫瘤細胞上之特異性蛋白質(抗原)。根據本發明，CAR T細胞較佳地展現允許T細胞辨識血源癌細胞上之特異性蛋白質之CAR。較佳地，本發明之CAR T細胞能夠辨識在血源癌細胞之表面上，詳言之，在AML細胞上之CD33。就此而言，針對表現於血源癌細胞上之特異性表面分子(諸如CD33)之CAR T細胞之添加可增強抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑之細胞毒性效果。因此，設想本發明之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑包含CAR T細胞。該CAR T細胞較佳包含靶向表現於血源癌細胞(詳言之AML細胞)上之表面分子之結合域。該表面分子較佳地為CD33、CD19或Flt3。因此，本發明之

抑制劑可包含具有靶向CD33之結合域之CAR T細胞。本發明之抑制劑可進一步包含具有靶向CD19之結合域之CAR T細胞。本發明之抑制劑亦可包含具有靶向Flt3之結合域之CAR T細胞。熟習此項技術者知曉用以產生指向該等表面分子之所謂第一代、第二及第三代之CAR T細胞之各種技術。

在一些實施例中，如本文之其他處所描述之免疫查核點抑制劑可進一步包含接合T細胞之抗體構築體。接合T細胞之此等抗體構築體較佳地為雙特異性T細胞接合分子(BiTE抗體構築體)，亦即，結合至T細胞抗原及腫瘤抗原之雙特異性抗體。BiTE抗體構築體經展示以誘導靶腫瘤細胞之經導引裂解且因此亦提供針對癌症及其他疾病之較大潛能療法。一個可能的方法為雙特異性T細胞藉由針對CD3及唾液酸結合凝集素CD33之雙特異性接合抗體構築體AMG330，其頻繁地表現於AML胚細胞及白血病幹細胞之表面上。針對急性骨髓白血病(AML)之療法研發AMG330且將立即在階段I研究中進行評估(Friedrich等人，2014, *American Association for Cancer Research*, 1549-1557)。

根據本發明之雙特異性T細胞接合分子可呈不同抗體構築體之型式，此等型式包含(例如)二scFv或雙(scFv、(scFv)₂-Fc、scFv-拉鏈、(scFab)₂、Fab₂、Fab₃、雙功能抗體、單鏈雙功能抗體、串聯雙功能抗體(Tandab's)、串聯二-scFv、串聯三-scFv、藉由如下結構例示之「微抗體」： $(VH-VL-CH3)_2$ 、 $(scFv-CH3)_2$ 、 $((scFv)_2-CH3 + CH3)$ 、 $((scFv)_2-CH3)$ 或 $(scFv-CH3-scFv)_2$ ，諸如三功能抗體或四功能抗體之多抗體，及諸如奈米抗體或雙特異性單可變域抗體之雙特異性單域抗體，其在一或兩個結合域中僅包含一個可變域，該一個可變域可為獨立於其他V區或域而特異性結合抗原或抗原決定基之VHH、VH或VL。在T細胞接合分子/雙特異性抗體內之結合域可通常包含抗體輕鏈可變區(VL)及抗體重鏈可變區(VH)；然而，其不必包含兩個。Fd

片段例如具有兩個VH區且常常保留完整抗原結合域之一些抗原結合功能。用於抗體片段、抗體變異體或結合域之型式之額外實例包括：

(1) Fab片段，一種具有VL、VH、CL及CH1域之單價片段；(2) F(ab')₂片段一種具有在鉸鏈區處藉由二硫橋鍵連接之兩個Fab片段之二價片段；(3)具有兩個VH域及CH1域之Fd片段；(4)具有抗體之單側之VL及VH域之Fv片段；(5)具有VH域之dAb片段(Ward等人，(1989) Nature 341 :544-546)；(6)經分離之互補決定區(CDR)；及(7)單鏈Fv(scFv)，後者為較佳(例如，衍生自scFV庫)。根據本發明之抗體構築體之實施例之實例(例如)描述於WO 00/006605、WO 2005/040220、WO 2008/119567、WO 2010/037838、WO 2013/026837、WO 2013/026833、US 2014/0308285、US 2014/0302037、WO2014/144722、WO 2014/151910及WO 2015/048272中。

就此而言，本發明人在活體外殺滅分析中研究PVR及PVRL2阻斷亦在AMG330存在下之治療性效果(圖3至圖13)。由此出人意料地發現AMG330可顯著增強PVR及/或PVRL2阻斷抗體之細胞毒性。因此，設想本發明之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑可進一步包含能夠接合T細胞之抗體構築體。該抗體構築體較佳包含CD3結合域及靶向表現於血源癌細胞(詳言之AML細胞)上之表面分子之另一結合域。該表面分子選自由CD33、CD19及Flt3組成之群。根據前文，本發明提供在治療血源癌症(詳言之AML)之方法中使用之抗CD112、CD155、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑，其包含具有CD3結合域及CD33結合域之抗體構築體。本發明進一步提供在治療血源癌症(詳言之AML)之方法中使用之抗CD112、CD155、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之抑制劑，其包含具有CD3結合域及CD19結合域之抗體構築體。本發明亦提供在治療血源癌症(詳言之AML)之方法中使用之抗CD112、CD155、Galectin-9、TIM-3及/或

TIGIT之抑制劑，其包含具有CD3結合域及Flt3結合域之抗體構築體。該抗體構築體較佳地為能夠結合至CD3 ϵ 之結合分子。

因此，設想本文所描述之CD33、CD19或Flt3靶向抗體構築體具有除其功能之外結合至血源癌症靶細胞上之細胞表面分子CD33、CD19或Flt3及T細胞之細胞表面上之CD3之額外功能。在此型式中，化合物為多功能化合物，其經由結合至癌症靶細胞之細胞表面上之CD33、CD19或Flt3來標靶細胞，經由CD3結合介導細胞毒性T細胞活性及提供另一功能(諸如，全功能Fc恆定域經由如同NK細胞之效應細胞之募集介導抗體依賴性細胞毒性；諸如白蛋白結合域或經修飾Fc恆定域之半衰期延長域缺乏抗體依賴性細胞毒性但擴展化合物之分子量；對於標記(螢光等)、諸如毒素或放射性核素之治療劑之介導)，及/或增強血清半衰期之手段等。靶向血源癌症標靶細胞之表面上之CD33、CD19或Flt3及T細胞之細胞表面上之CD3之雙特異性抗體構築體之實例為(例如) SEQ ID NO: 15至37中描繪之分子。

術語「(能夠)結合至」、「特異性地辨識」、「抗」及「與...反應」根據本發明意謂結合域能夠特異性地與抗原決定基之一或多個，較佳至少兩個，更佳地至少三個且最佳至少四個胺基酸相互作用。如本文所使用，術語「特異性地相互作用」、「特異性結合(specifically binding)」或「特異性結合(specifically bind)」意謂展現對於特定蛋白質或抗原之可觀的親和力之結合域且通常不展現與除CD33、CD19、Flt3或CD3以外之蛋白質或抗原顯著的反應性。「可觀的親和力」包括以約 10^{-6} M (KD)或更強之親和力結合。較佳地，當結合親和力為約 10^{-12} M至 10^{-8} M、 10^{-12} M至 10^{-9} M、 10^{-12} M至 10^{-10} M、 10^{-11} M至 10^{-8} M，較佳約 10^{-11} M至 10^{-9} M時，將結合視為特異性的。結合域是否與標靶特異性反應或是否特異性結合於標靶可尤其易於藉由將該結合域與靶蛋白或抗原的反應與該結合域與除CD33、

CD19、Flt3或CD3以外的蛋白質或抗原的反應相比較來測試。較佳地，本發明之結合域基本上不結合於或不能結合於除CD33、CD19、Flt3或CD3以外的蛋白質或抗原(亦即，第一結合域不能結合於除CD33、CD19或Flt3以外之蛋白質且第二結合域不能結合於除CD3以外之蛋白質)。術語「基本上不結合」或「不能結合」意謂本發明之結合域並未結合除CD33、CD19、Flt3或CD3以外的其他蛋白質或抗原，亦即，並未展示與除CD33、CD19、Flt3或CD3以外的蛋白質或抗原之不大於30%、較佳不大於20%、更佳不大於10%、尤佳不大於9%、8%、7%、6%或5%的反應性，藉此將分別結合於CD33、CD19、Flt3或CD3設定成100%。本文所描述之CD33、CD19或FLT3靶向化合物亦可包含額外的域，其(例如)有助於分子之分離或係關於分子之經修改藥物動力學概況。

如本文所描述之結合CD33、CD19或FLT3及CD3之靶向化合物可在細菌中產生。在表現之後，靶向化合物，較佳地抗體構築體，自可溶部分中之大腸桿菌(*E. coli*)細胞團(cell paste)分離且可經由(例如)親和性層析法及/或尺寸排阻純化。可類似於用於純化(例如)CHO細胞中表現之抗體之過程來進行最終純化。除原核生物以外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物為適用於本文所描述之CD33、CD19或FLT3靶向化合物之選殖或表現宿主。棉花、玉米、馬鈴薯、大豆、矮牽牛、番茄、芥菜及菸草之植物細胞培養物亦可用作宿主。適用於在植物細胞培養物中產生蛋白質之選殖及表現載體為熟習此項技術者已知。參見(例如) Hiatt等人，*Nature* (1989) 342: 76-78，Owen等人(1992) *Bio/Technology* 10: 790-794，Artsaenko等人(1995) *The Plant J* 8: 745-750，及Fecker等人(1996) *Plant Mol Biol* 32: 979-986。

可直接篩選如本文所描述之抑制CD112與TIGIT，CD155與TIGIT及/或Galectin-9與TIM-3之相互作用之物質。可(例如)自蛋白質、多肽

胜肽、聚核苷酸或聚核苷、非肽類化合物有機合成化合物或天然產物(例如，醱酵產物、細胞提取物、植物提取物及動物組織提取物)之庫來識別此物質。因此，本文進一步揭示用於篩選在治療血源癌症(詳言之AML)之方法中使用之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑之方法。可藉由量測血源癌細胞(尤其AML細胞)之細胞功能之方法來執行所描述之篩選方法。就此而言，在其表面上之表現CD112、CD155或Galectin-9之細胞可用於篩選方法。此等細胞包括白細胞、單核細胞、巨噬細胞或抗原呈現細胞、上皮細胞、腫瘤細胞、癌細胞或彼等細胞株。

本文進一步揭示本發明之抑制劑，其包含免疫刺激劑。如本文所使用，術語「免疫刺激劑」係指另外刺激本發明之抑制劑之免疫增強效果之任何助劑，從而增強相關T細胞抗相關腫瘤細胞之細胞毒性活性。偵測有大量跡象表明，癌症病患具有能夠侵蝕其腫瘤細胞之T細胞，且癌症之出現係免疫監督(一旦癌症細胞出現，其自身免疫系統即消滅癌細胞之能力)之失效。免疫刺激劑為上調身體免疫防禦之非特異性試劑。就此而言，描述了關於直接注射助劑類試劑至腫瘤中，用左旋咪唑、白細胞介素-2 (IL-2)之口服療法，用於T細胞、介白素-15 (IL-15)或 α -干擾素(IFN- α)之有效生長因子之一些成功案例，僅舉幾例。

如本文所描述，抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑可極適合在治療血源癌症(詳言之，AML)之方法中使用。因此，本發明亦在本文中揭示一種用於治療患有血源癌症(詳言之，AML)之個體之方法，該方法包含向需要其之個體投與治療有效量之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑。

如本文所使用之術語「治療(treat、treating或treating)」意謂降低、穩定或抑制血源癌症(詳言之，AML)之發展。需要治療之彼等者

包含已患有該疾病之彼等者。較佳地，治療減少或抑制血源癌細胞之增殖活性，從而引起該等癌細胞之增強型裂解。「治療(treat、treating或treating)」係指治療性治療，其中目標為減緩(減輕)或至少部分地緩解或消除生物體中之病理性病狀。需要治療之彼等者包括已具有該疾病之彼等者以及推測具有該疾病之彼等者。術語「投與」係關於將化合物併入至生物體之細胞或組織中之方法。

通常以治療有效量向個體投與如本發明中所描述之用於治療患有血源癌症(詳言之，AML)之個體之化合物。該治療有效量足以抑制或緩解血源癌症(詳言之，AML)之症狀。「治療性效果」或「治療上有效」意謂供使用之化合物將引出由研究人員、獸醫、醫療醫生或其他臨床醫師探尋之組織、系統、動物或人類之生物學或醫療反應。術語「治療上有效」進一步係指抑制引起或促成疾病之因素。術語「治療有效量」包括投與時之化合物之量足以顯著改良所治療之疾病之發展。治療有效量將視化合物、疾病及其嚴重程度及視此個體之個人因素而變化。因此，本發明之化合物將不會在所有情況下證明為治療上有效的，係因為由於亦涉及個體因素，本文所揭示之方法不能提供個體是否可回應該化合物之100%安全預測。預期年齡、體重、一般健康狀況、性別、膳食、藥物相互作用，等等可能對該用於治療患有血源癌症(詳言之，AML)之個體之化合物是否具有治療有效性具有一般影響。較佳地，用以治療患有血源癌症(詳言之，AML)之個體之化合物之治療有效量在約0.01 mg/kg體重與約1 g/kg體重之間，諸如約0.02 mg/kg體重、0.03 mg/kg體重、0.04 mg/kg體重、0.05 mg/kg體重、0.06 mg/kg體重、0.07 mg/kg體重、0.08 mg/kg體重、0.09 mg/kg體重、0.1 mg/kg體重、0.2 mg/kg體重、0.3 mg/kg體重、0.4 mg/kg體重、0.5 mg/kg體重、0.6 mg/kg體重、0.7 mg/kg體重、0.8 mg/kg體重、0.9 mg/kg體重、1 mg/kg體重、2 mg/kg體重、3 mg/kg體重、4

mg/kg體重、5 mg/kg體重、6 mg/kg體重、7 mg/kg體重、8 mg/kg體重、9 mg/kg體重、10 mg/kg體重、100 mg/kg體重、200 mg/kg體重、300 mg/kg體重、400 mg/kg體重、500 mg/kg體重、600 mg/kg體重、700 mg/kg體重、800 mg/kg體重或約900 mg/kg體重。甚至更佳地，用以治療患有血源癌症(詳言之，AML)之個體之化合物之治療有效量在約0.01 mg/kg體重與約100 mg/kg體重之間，諸如在約0.1 mg/kg體重及約10 mg/kg體重之間。化合物之治療性有效量將基於其中所含之活性化化合物之重量，根據待治療之個體之種類而變化。

如本文所使用之術語「個體」亦被稱為個別物體，係指哺乳動物。哺乳動物可為小鼠、大鼠、天竺鼠、兔、貓、狗、猴、馬或人類中之任一者。因此，本發明之哺乳動物可為人類或非人類哺乳動物。因此，本文件中所描述之方法、用途及組合物通常適用於人類及非人類哺乳動物兩者。當個體為可接受治療如本文所描述之疾病的人類的情況下，其亦被稱為「患者」。本文中針對「患者」所揭示之內容加上必要修正亦適用於一群患者。

可藉由此項技術中已知之任何方法投與根據本發明之用於治療患有血源癌症(詳言之AML)之個體之抑制劑。在一些實施例中，經口、非經腸、皮下、經靜脈內、經肌內、經腹膜內、藉由鼻內滴入法，藉由植入，藉由腔內或膀胱內滴入法、經眼內、動脈內、病灶內、經皮、或藉由施用至黏膜、或其組合法，來進行投藥，僅舉幾例。

在本發明之範疇內，例如設想藉由使用在此項技術中可用的技術(例如使用白血球(WBC或白細胞)計數及差異性)評估患者中血源癌細胞之數目，來偵測所使用之抑制劑之治療性效果。可在血球計(Neubauer計數盤)中或藉由自動化計數器來對白血球進行人工計數。為測定差異性，一滴血液可在玻璃載片上稀薄擴散，風乾且利用

Romanofsky染料，最常見為Wright或May-Grunewald-Giemsa技術來染色。接著對細胞計數且使用形態學檢查及/或如Blumenreich MS. The White Blood Cell and Differential Count. 在以下各者中：Walker HK, Hall WD, Hurst JW，編。Clinical Methods: The History, Physicals, and Laboratory Examinations.第3版。Boston: Butterworths；1990. 第153章中所描述之組織化學來對細胞分類。替代地，白細胞自血液樣本分離且藉由經螢光標記之抗白血球細胞表面標記物之抗體染色且隨後藉由流式細胞測量術分析，以便計算用於各白細胞亞群之絕對細胞數目。另外地或可替代地，亦有可能評估各別患者之大體外觀，其將亦輔助熟練從業者評估該療法是否有效。熟習此項技術者知曉大量其他方式，其將使得從業者能夠在本發明之方法或用途的環境中觀測用於治療如本文所揭示之血源癌症(詳言之AML)之化合物之治療性效果。

儘管有可能在無任何調配物之情況下直接投與本發明之抑制劑，但在本發明之另一態樣中，較佳地以醫藥或獸醫調配組合物之形式使用化合物，其包含醫藥學上或獸醫學上可接受之載劑、稀釋劑或賦形劑及本發明之化合物，較佳為本發明之免疫球蛋白。與本發明之化合物組合使用之載劑為水性的且形成水性溶液。含有本發明之化合物之油性載劑溶液係水性載體溶液之替代。水性或油性溶液進一步含有增稠劑以提供具有擦劑、乳膏、軟膏、凝膠或其類似物之黏度之組合物。合適的增稠劑為熟習此項技術者所熟知。本發明之替代實施例亦可使用含有用於治療如本文中之其他處所揭示之S100A12:TLR4/MD2/CD14介導之發炎性病症之化合物之固體載劑。此使得替代實施例能夠經由棍狀塗藥器、貼劑或栓劑施用。固體載劑進一步含有增稠劑以提供具有蠟或石蠟之稠度之組合物。

亦可設想與用於治療患有血源癌症(詳言之AML)之個體之本發明之抑制劑相組合來使用其他AML治療。其他AML治療通常可在之

前、同時及/或之後應用於本發明之用途及方法。

造血幹細胞移植(HSCT)為常見AML治療。術語通常係指造血幹細胞之移植，常衍生自骨髓或血液，且包含自體(亦即，幹細胞自患者衍生)及同種異體(亦即幹細胞自供體衍生) HSCT。對於AML治療，同種異體HSCT通常較佳。亦設想本發明之用途及方法可在HSCT之前或之後或之前及之後，或兩個HSCT治療之間應用。

根據本發明之方法治療之患者(或患者群)亦可接受化學療法治療。在本發明之上下文中，「化學療法治療」係指用抗腫瘤劑或此等試劑中之多於一者之組合治療而達到標準化治療方案。在本發明之上下文中，術語「化學療法治療」包含包括小型有機分子、肽、寡核苷酸及其類似物之任何抗腫瘤劑。化學療法之定義中所包括之試劑為(但不限於)：烷基化劑，例如氮芥、環磷醯胺、美法侖(melphalan)、氮芥苯丁酸、異環磷醯胺(ifosfamide)、硫酸布他卡因、N-亞硝基-N-甲基脲(MNU)、卡莫司汀(BCNU)、洛莫司汀(CCNU)、司莫司汀(MeCCNU)、福莫司汀、鏈佐黴素、達卡巴嗪、米托唑胺、替莫唑胺、噻替派、絲裂黴素、亞絲醯(AZQ)、順鉑、卡鉑、奧沙利鉑、甲基苄肼(procarbazine)及六甲基三聚氰胺；抗代謝物，例如甲胺喋呤、培美曲唑、氟尿嘧啶、卡培他濱、阿糖胞苷、吉西他濱、地西他濱、維達紮(Vidaza)、氟達拉賓、奈拉濱、克拉屈濱、氯法拉濱、噴司他丁、硫鳥嘌呤、巯基嘌呤；抗微管試劑，例如長春新鹼、長春鹼、長春瑞濱、長春地辛、長春氟甯、太平洋紫杉醇、多西他賽、鬼臼毒素(podophyllotoxin)；拓撲異構酶抑制劑，例如伊立替康、拓撲替康、依託泊苷、小紅莓、米托蒽醌、替尼泊甙、新生黴素、美巴酮(merbarone)、阿克拉黴素；細胞毒素抗生素，例如放線菌素、博萊黴素、普卡黴素、絲裂黴素、小紅莓、道諾黴素、表阿黴素、艾達黴素、吡柔比星、阿柔比星及米托蒽醌，僅舉幾例。然而，一般熟習此

項技術者將瞭解，本發明不限於此等化學治療劑且亦可涉及其他DNA損傷劑之用途。根據本發明之該組合可作為經組合之調配物或與彼此分離投與。

其他AML治療亦包括放射療法。亦設想CNS治療或預防以便預防惡性細胞在CNS中擴散，例如藉由大腦及脊髓之鞘內化學療法及/或放射療法。

由於本發明人推測本文所揭示之抑制劑之治療性成效可藉由抑制本文所描述之免疫查核點從而產生增強型T細胞抗癌活性而(部分地)基於該等抑制劑之免疫增強活性，故可設想T細胞活化及/或增殖之誘導劑及增強劑、CAR T細胞、供體T細胞、抗細胞毒性T-淋巴細胞相關聯之抗原-4 (CTLA-4)抗體及其他。

根據另一態樣，本發明提供包含如本文中其他處所描述之抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之免疫查核點抑制劑及如本文中其他處所描述之CAR T細胞之醫藥組合物。在另一態樣中，本發明提供包含如本文中其他處所描述之抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)、Galectin-9、TIM-3及/或TIGIT之免疫查核點抑制劑及如本文中其他處所描述之能夠接合T細胞之抗體構築體之醫藥組合物。

該醫藥組合物可包含本文所描述之治療有效量之一個或複數個免疫查核點抑制劑、CAR T細胞及/或抗體構築體，以及醫藥上有效之稀釋劑、載劑、增溶劑、乳化劑、防腐劑及/或助劑。本文所描述之醫藥組合物包括(但不限於)液體、冷凍及凍乾組合物。較佳地，調配物質在所用劑量及濃度下對接受者係無毒的。

如本文所使用，術語「醫藥組合物」係關於用於向患者，較佳為人類患者投與之組合物。較佳地，醫藥組合物包含載劑、安定劑及/或賦形劑之合適的調配物。在較佳實施例中，醫藥組合物包含用於

非經腸的、經皮、官腔內的、動脈內、鞘內及/或鼻內投與或直接注射至組織之組合物。詳言之，設想經由輸液或注射向患者投與該組合物。合適的組合物之投與可藉由不同方式來實現，例如藉由靜脈內、腹膜內、皮下、肌內、局部或皮內投與。詳言之，本發明提供合適組合物之不間斷投與。作為非限制性實例，可藉由患者穿戴之用於計量流入患者體內之治療劑之小泵系統來實現不間斷的(亦即連續)投與，如WO2015/036583中所描述。

本發明組合物可進一步包含醫藥學上可接受之載劑。合適之醫藥載劑之實例在此項技術中已熟知且包括溶液，例如磷酸鹽緩衝鹽水溶液、水、諸如油狀/水乳化液之乳化液、各種類型之潤濕劑、無菌溶液、脂質體等。包含此類載劑之組合物可藉由熟知的習知方法調配。調配物可包含碳水化合物、緩衝溶液、胺基酸及/或界面活性劑。碳水化合物可為非還原糖，較佳地為海藻糖、蔗糖、八硫酸酯、山梨糖醇或木糖醇。一般而言，如本文中所使用，「醫藥學上可接受之載劑」意謂與醫藥投與相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗菌劑及抗真菌劑、等滲及吸收延遲劑。此類介質及試劑用於醫藥活性物質之用途為此項技術中所熟知的。可接受之載劑、賦形劑或安定劑在所採用之劑量及濃度下對接受者係無毒的且包括：額外的緩衝劑；防腐劑；共溶劑；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；螯合劑，諸如EDTA；金屬錯合物(例如，Zn蛋白質錯合物)；可生物降解聚合物，諸如聚酯；成鹽相對離子，諸如鈉、多元糖醇；胺基酸，諸如丙胺酸、甘胺酸、天冬醯胺、2-苯丙胺酸及蘇胺酸；糖或糖醇，諸如海藻糖、蔗糖、八硫酸酯、山梨糖醇或木糖醇水蘇糖、甘露糖、山梨糖、木糖、核糖、肌糖(myoinisitose)、半乳糖、乳糖醇、核糖醇、肌醇、半乳糖醇、丙三醇、環醇(例如，肌醇(inositol))、聚乙二醇；含硫還原劑，諸如麩胱甘肽、硫辛酸、硫乙醇酸鈉、硫代甘油、[α]-

單硫代甘油及硫代硫酸鈉；低分子量蛋白質，諸如人類血清白蛋白、牛血清白蛋白、明膠或其他免疫球蛋白；及親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯酮。此等調配物可用於在具有及/或無泵系統之情況下之連續性投與，其可為靜脈內或皮下形式。胺基酸可為帶電胺基酸，較佳地為離胺酸、酸醋離胺酸、精胺酸、麩胺酸及/或組胺酸。界面活性劑可為較佳地具有>1.2 KD之分子量之清潔劑及/或較佳地具有>3 KD之分子量之聚醚。用於較佳的清潔劑之非限制性實例為Tween 20、Tween 40、Tween 60、Tween 80或Tween 85。用於較佳的聚醚之非限制性實例為PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000或PEG 5000。本發明中所使用之緩衝系統可具有5至9之較佳的pH且可包含檸檬酸鹽、丁二酸鹽、磷酸鹽、組胺酸及醋酸鹽。

本發明之醫藥組合物可以合適劑量投與至個體，該適合劑量可(例如)藉由劑量遞增研究，藉由向非黑猩猩靈長類動物(例如，短尾猿)投與漸增劑量之展現本文所描述之跨種特異性之本文所描述之多肽來測定。如上所述，展現本文所描述之跨種特異性之本文所描述之CD33靶向組合物可以相同形式有利地用於非黑猩猩靈長類動物之臨床前測試且用作人類之藥物。組合物或此等組合物亦可與額外的其他蛋白質及非蛋白質藥物組合投與。此等藥物可與包含本文中所描述之多肽之組合物同時投與，如本文中所定義，或以適時界定間隔及劑量在該多肽之投與之前或之後單獨地投與。給藥方案將由主治醫師及臨床因素判定。如醫學技術中所熟知，對於任何一個患者，劑量視許多因素而定，包括患者之大小、體表面積、年齡、待投與之特定化合物、性別、投與時間及途徑、一般健康狀況及同時投與之其他藥物。

用於非經腸投與之製劑包括無菌水性或非水性溶液、懸浮液及乳液。非水性溶劑之實例為丙二醇、聚乙二醇、諸如橄欖油之植物油及諸如油酸乙酯之可注射有機酯。水性載劑包括水、酒精性/水性溶

液、乳液或懸浮液，包括鹽水及緩衝介質。非經腸媒劑包括氯化鈉溶液、林格氏右旋糖(Ringer's dextrose)、右旋糖及氯化鈉、乳酸化林格氏液或不揮發性油。靜脈內媒劑包括流體及養分補充劑、電解質補充劑(諸如基於林格氏右旋糖之彼等)補充劑及其類似物。亦可存在防腐劑及其他添加劑，諸如抗菌劑、抗氧化劑、螯合劑、惰性氣體及其類似物。此外，本發明之組合物可能包含蛋白質載劑，如同例如血清白蛋白或免疫球蛋白，較佳地為人源。設想除本文所定義之本文所描述之多肽之外，本發明之組合物可能包含其他生物學活性劑，視組合物之預期用途而定。此類試劑可為作用於胃腸系統之藥物、充當細胞抑制劑(cytostatica)之藥物、預防高尿酸血症之藥物、抑制免疫反應之藥物(例如，皮質類固醇)、調節發炎性反應之藥物、作用於循環系統之藥物及/或諸如此項技術中已知的細胞激素之試劑。亦設想本發明之包含CD33靶向化合物及至少一種後生因素之呈單一或單獨調配物形式之組合物在額外的協同療法中應用，亦即，與另一抗癌藥劑組合。

本文所定義之醫藥組合物的生物活性可(例如)藉由細胞毒性分析測定，如以下實例、WO 99/54440或由Schlereth等人(Cancer Immunol. Immunother. 20 (2005), 1-12)中所描述。如本文所使用之「功效」或「活體內功效」係指使用(例如)標準化NCI反應準則對藉由本發明之醫藥組合物之療法的反應。使用本發明之醫藥組合物之療法的成果或活體內功效係指用於其預期目的之組合物之有效性，亦即，組合物引起其所需效應(亦即病理性細胞，例如腫瘤細胞之耗盡)的能力。活體內功效可藉由對各別疾病實體建立之標準方法來監測，包括(但不限於)白血球計數、差異、螢光活化細胞分選、骨髓抽吸。此外，可使用各種疾病特異性臨床化學參數及其他已建立之標準方法。此外，可使用電腦輔助斷層攝影術、X射線、核磁共振斷層攝影術(例如，用於

基於國家癌症研究所準則之反應評定[Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, Lister TA, Vose J, Grillo-Lopez A, Hagenbeek A, Cabanillas F, Klippensten D, Hiddemann W, Castellino R, Harris NL, Armitage JO, Carter W, Hoppe R, Canellos GP. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. J Clin Oncol. 1999年4月 ; 17(4):1244])、正電子發射斷層攝影掃描、白血球計數、差異、螢光活化細胞分選、骨髓抽吸、淋巴結活檢/組織學及各種淋巴瘤特異性臨床化學參數(例如，乳酸脫氫酶)及其他已建立之標準方法。

藥物(諸如本發明之醫藥組合物)之研發中的另一個主要難題為藥物動力學特性之可預測調節。為此目的，可建立候選藥物之藥物動力學概況，亦即，影響特定藥物治療給定病狀之能力之藥物動力學參數之概況。影響藥物治療一定疾病實體之能力的藥物之藥物動力學參數包括(但不限於)：半衰期、分佈體積、肝首過代謝及血清結合程度。給定藥劑之功效可受上文所提及之參數中之每一者影響。「半衰期」意謂50%投與藥物經由(例如)代謝、排泄等之生物過程消除之時間。

「肝首過代謝」意謂藥物在首次與肝接觸之後(亦即在其首次穿過肝期間)代謝之傾向。「分佈體積」意謂藥物遍及身體之各種隔室(如同例如胞內及胞外空間、組織及器官等)之保留程度，及在此等隔室內之藥物分佈。「血清結合之程度」意謂藥物與血清蛋白(諸如白蛋白)相互作用及結合而導致藥物之生物活性降低或損失之傾向。

藥物動力學參數亦包括給定量的投與藥物之生物可用性、滯後時間(Tlag)、Tmax、吸收速率、更加起效及/或Cmax。「生物可用性」意謂藥物在血液隔室中之量。「滯後時間」意謂藥物投與與其在血液或血漿中之偵測及可量測性之間的時間延遲。「Tmax」為達到

藥物最大血液濃度後的時間，且「C_{max}」為使用既定藥物最大限度獲得的血液濃度。達到藥物生物效果所需的藥物之血液或組織濃度之時間受所有參數影響。

如本文中所使用之術語「毒性」係指體現在不良事件或嚴重不良事件中之藥物的毒性作用。此等副事件可指一般缺乏藥物耐受性及/或投與之後缺乏局部耐受性。毒性亦可包括由藥物引起之致畸或致癌作用。

如本文中所用之術語「安全性」、「活體內安全性」或「耐受性」定義投與藥物而不會在投與後立即誘導嚴重不良事件(局部耐受性)及在藥物之較長期施用期間誘導嚴重不良事件。「安全性」、「活體內安全性」或「耐受性」可在治療及追蹤階段期間(例如)以常規間隔進行評估。量測包括臨床評估，例如器官表現及實驗室異常之篩選。臨床評估可進行且偏向根據NCI-CTC及/或MedDRA標準所記錄/編碼之正常研究結果。器官表現可包括諸如過敏/免疫學、血液/骨髓、心律不整、凝血及其類似者之準則，如闡述於(例如)用於不良事件之通用術語標準3.0版(Common Terminology Criteria for adverse events v3.0) (CTCAE)中。可測試之實驗室參數包括(例如)血液學、臨床化學、凝血概況及尿液分析及諸如血清、血漿、淋巴或脊髓液、液體及其類似物之其他體液的檢查。因此，安全性可(例如)藉由身體檢查、成像技術(亦即，超音波、x射線、CT掃描、磁共振成像(MRI)、藉由技術裝置之其他量測(亦即心電圖))、生命徵象、藉由量測實驗室參數及記錄不良事件來評定。舉例而言，在根據本發明之用途及方法中，非黑猩猩靈長類動物中之不良事件可藉由組織病理學及/或組織化學方法檢查。

術語「有效劑量(effective dose或effective dosage)」定義為足以達成或至少部分達成所要效果之量。術語「治療有效劑量」定義為足

以治癒或至少部分地遏止已患有疾病之患者體內之疾病及其併發症之量。對於此用途有效之量將取決於疾病之嚴重程度及個體自身免疫系統之一般狀態。術語「患者」包括接受預防性或治療性治療之人類及其他哺乳動物個體。如本文所使用之術語「有效且無毒劑量」係指醫藥組合物(亦即，包含抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑及CAR T細胞或以單個或單獨調配物接合T細胞之抗體構築體之醫藥組合物)之可耐受劑量，其足夠高以造成病理性細胞之耗竭、腫瘤消除、腫瘤收縮或在無或基本上無主要毒性效應之情況下之疾病之穩定。此類有效且無毒劑量可(例如)藉由此項技術中描述之劑量遞增研究測定且應低於誘導嚴重不良副事件之劑量(劑量限制性毒性(dose limiting toxicity；DLT))。

以上術語亦(例如)在 Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6；ICH Harmonised Tripartite Guideline；1997年7月16日之ICH指導委員會會議(ICH Steering Committee meeting)中提及。包含如本文中之其他處所描述之本發明之抑制劑及CAR T細胞或抗體構築體之醫藥組合物之適當劑量或治療有效量將視待治療之病狀、病狀之嚴重程度、先前療法及患者的臨床病史及對治療劑之反應而定。適當劑量可根據主治醫師之判斷調整，使得可一次或經一系列投與將其投與給患者。醫藥組合物可以單一治療劑之形式投與或按需要與諸如抗癌療法之額外的療法組合投與。

本發明之醫藥組合物特別適用於非經腸的投與，亦即皮下、肌肉、經靜脈內、關節內及/或滑膜內。非經腸投與可藉由快速注射或連續輸液進行。若醫藥組合物已凍乾，則使經凍乾物質首先在適當液體中復原，隨後投與。經凍乾物質可在(例如)注射用抑菌水(BWFI)、生理鹽水、磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)或蛋白質在凍乾之前所處之相同調配物中復原。

與本發明結合出人意料地發現，如與藉由阻斷僅抗CD112及CD155之抗體僅降低細胞裂解相比較，本發明之抑制劑與雙特異性抗體構築體AMG330之組合以劑量依賴性方式顯著增加AML細胞之細胞裂解(圖3至圖13)。此發現支援抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑與CD33、CD19或Flt3導引之T細胞接合分子之組合將比分別投與之任一療法更加協同有效。因此，所描述之一或多個抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑與本文所描述之CD33、CD19或Flt3導引之T細胞接合分子組合之投與可允許較少劑量雙特異性T細胞接合分子在給定時間點有效。藉由多特異性，至少雙特異性構築體經由T細胞之募集再導引靶細胞之裂解涉及細胞溶解突觸形成及穿孔素及顆粒酶之遞送。接合之T細胞能夠進行連續靶細胞裂解，且不受干擾肽抗原加工及呈現或純系T細胞分化的免疫逃逸機制影響；參見(例如) WO 2007/042261或WO 2008/119567。

本文所述之調配物適用作治療、改善及/或預防有需要之患者之如本文所描述之病理性醫學病狀的醫藥組合物。術語「治療」係指治療性治療及預防性或防治性措施兩者。治療包括將調配物施用或投與來自患有疾病/病症、具有疾病/病症之症狀或易患疾病/病症之患者之身體、分離組織或細胞，目的為治癒、癒合、緩解、減輕、改變、補救、改善、改良或影響疾病、疾病症狀或疾病之傾向。「需要治療」之彼等者包括彼等已經患有病症者以及彼等待預防病症者。術語「疾病」為將受益於用本文中所描述之蛋白質調配物治療之任何病狀。其包括慢性及急性病症或疾病，包括使哺乳動物易患所論述之疾病之彼等病理病狀。本文中待治療之疾病/病症之非限制性實例包括本文中所描述之血源癌症，尤其係骨髓白血病，諸如AML。

醫藥組合物可含有用於調節、維持或保持(例如)組合物之pH、容積滲透濃度、黏度、透明度、顏色、等張性、氣味、無菌性、穩定

性、溶解或釋放速率、吸收或滲透的調配物質。在此等實施例中，合適的調配物質包括(但不限於)：胺基酸(諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、精胺酸、脯胺酸或離胺酸)；抗菌劑；抗氧化劑(諸如抗壞血酸、亞硫酸鈉或氫亞硫酸鈉)；緩衝劑(諸如硼酸鹽、碳酸氫鹽、Tris-HCl、檸檬酸鹽、磷酸鹽或其他有機酸)；膨化劑(諸如甘露醇或甘胺酸)；螯合劑(諸如乙二胺四乙酸(EDTA))；錯合劑(諸如咖啡鹼、聚乙烯吡咯啶酮、 β -環糊精或羥丙基- β -環糊精)；填充劑；單醣；雙糖；及其他碳水化合物(諸如葡萄糖、甘露糖或糊精)；蛋白質(諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白)；染色劑、調味劑及稀釋劑；乳化劑；親水性聚合物(諸如聚乙烯吡咯啶酮)；低分子量多肽；成鹽相對離子(諸如鈉)；防腐劑(諸如氯化苯甲烴銨、苯甲酸、柳酸(salicylic acid)、硫柳汞、苯乙基乙醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸或過氧化氫)；溶劑(諸如丙三醇、丙二醇或聚乙二醇)；糖醇(諸如甘露醇或山梨糖醇)；懸浮劑；界面活性劑或潤濕劑(諸如普朗尼克、PEG、脫水山梨糖醇酯、諸如聚山梨糖醇酯20之聚山梨糖醇酯、聚山梨糖醇酯、曲拉通、緩血酸胺、卵磷脂、膽固醇、泰洛沙泊)；穩定性增強劑(諸如蔗糖或山梨醇)；張力增強劑(諸如鹼金屬鹵化物，較佳地為氯化鈉或氯化鉀、甘露醇、山梨醇)；遞送媒劑；稀釋劑；賦形劑及/或醫藥助劑。參見 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18"版，(A. R. Genrmo編)，1990, Mack Publishing Company。

最佳醫藥組合物將由熟習此項技術者根據(例如)預定投與途徑、遞送形式及所要劑量而確定。參見(例如) REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES，見上文。在某些實施例中，此等組合物可影響本文所描述之抗原結合蛋白的物理狀態、穩定性、活體內釋放速率及活體內清除速率。在某些實施例中，醫藥組合物中之主要

媒劑或載劑本質上可為水性或非水性的。舉例而言，適合的媒劑或載劑可為注射用水、生理鹽水溶液或人工腦脊髓液，可能補充有供非經腸投與之組合物中所常見之其他物質。中性緩衝鹽水或與血清白蛋白混合之鹽水為另外的例示性媒劑。在特定實施例中，醫藥組合物包含pH約為7.0至8.5之三羥甲基胺基甲烷緩衝液(Tris buffer)或pH約為4.0至5.5之乙酸酯緩衝液，且因此可進一步包括山梨糖醇或適合之取代物。在本發明之某些實施例中，本文所描述之人類抗體或其抗原結合片段或本文所描述之抗體構築體可藉由將具有所需純度之所選擇組合物與呈凍乾塊或水性溶液形式之視情況選用之調配物試劑(REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES，見上文)混合來製備以供儲存。此外，在某些實施例中，可使用適當賦形劑(諸如蔗糖)將抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑及CAR T細胞或接合T細胞之抗體構築體調配為凍乾物。

可選擇本文所描述之醫藥組合物以用於非經腸遞送。替代地，可選擇組合物以經由消化道(諸如經口)吸入或遞送。此等醫藥學上可接受之組合物之製備係在此項技術範圍內。調配組分較佳以投與部位可接受之濃度存在。在某些實施例中，緩衝劑用於將組合物維持在生理pH值或稍低之pH值，通常在約5至約8之pH範圍內。

額外的醫藥組合物對熟習此項技術者將為顯而易見的，包括涉及在持續或受控遞送調配物中之如本文所描述之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑及CAR T細胞或接合T細胞之抗體構築體之調配物。用於調配多種其他持續或受控遞送方式(諸如脂質體載劑、生物可侵蝕微粒或多孔珠粒及儲槽式注射劑)的技術亦為熟習此項技術者所知。參見(例如)國際專利申請案第PCT/US93/00829號，其係以引用之方式併入且描述用於醫藥組合物之遞送之多孔高分子微粒之受控釋放。持續釋放製劑可包括呈成形製

品(例如，膜或微囊)形式之半滲透性聚合物基質。持續釋放基質可包括聚酯、水凝膠、聚乳酸交酯(如美國專利第3,773,919號及歐洲專利申請公開案第EP 058481號中所揭示，其各自以引用的方式併入)、L-麩胺酸與 γ 乙基-L-麩胺酸鹽之共聚物(Sidman等人，1983, *Biopolymers* 2:547-556)、聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯)(Langer等人，1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277及Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105)、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人，1981，見上文)或聚-D(-)-3-羥基丁酸(歐洲專利申請公開案第EP 133,988號)。持續釋放組合物亦可包括可藉由此項技術中已知之若干方法中之任一者製備之脂質體。參見(例如) Eppstein等人，1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3688-3692；歐洲專利申請公開案第EP 036,676號、第EP 088,046號及第EP 143,949號，其以引用之方式併入。

用於活體內投與之醫藥組合物通常以無菌製劑形式提供。可藉由經由無菌過濾膜過濾來實現滅菌。當組合物經凍乾時，使用此方法之滅菌可在凍乾及復原之前或之後進行。用於非經腸投與之組合物可以凍乾形式或溶液形式儲存。一般將非經腸組合物置放於具有無菌取孔(access port)之容器中，例如具有可藉由皮下注射針穿透之塞子之靜脈溶液袋或小瓶。鹽可根據本發明之某些實施例用於(例如)調節調配物之離子強度及/或等張性及/或改良根據本發明之組合物之蛋白質或其他成分的溶解性及/或物理穩定性。眾所周知，離子可藉由結合於蛋白質表面上之帶電殘基及藉由遮蔽蛋白質中之帶電及極性基團且減小其靜電相互作用、吸引及排斥相互作用的強度而使天然狀態之蛋白質穩定。離子亦可藉由結合於詳言之蛋白質之變性肽鍵(--CONH)而使變性狀態之蛋白質穩定。此外，離子與蛋白質中之帶電基團及極性基團的相互作用亦可減小分子間靜電相互作用，並由此預防或減少蛋白質凝聚及不可溶性。

已完善可用於調配根據本發明之醫藥組合物的許多類別等級的離子及其對蛋白質之效應。一個實例為霍夫梅斯特序列(Hofmeister series)，其藉由對蛋白質在溶液中之構形穩定性的效應排列離子及極性非離子溶質。使溶質穩定稱為「親液的(kosmotropic)」。使溶質去穩定化稱為「離液的(chaotropic)」。親液劑通常在高濃度(例如，>1莫耳濃度硫酸銨)下使用以使蛋白質自溶液沈澱(「鹽析」)。離液劑通常用於使蛋白質變性及/或溶解(「鹽溶」)。離子對「鹽溶」及「鹽析」之相對有效性定義其在霍夫梅斯特序列中之位置。

游離胺基酸可在根據本發明之各種實施例之調配物中用作膨化劑、安定劑(stabilizer)及抗氧化劑以及其他標準用途。離胺酸、脯胺酸、絲胺酸及丙胺酸可用於使調配物中之蛋白質穩定。甘胺酸適用於凍乾以確保正確凍乾塊結構及特性。精胺酸可適用於在液體及凍乾調配物中抑制蛋白質凝聚。甲硫胺酸適用作抗氧化劑。聚醇包括糖，例如甘露醇、蔗糖及山梨糖醇；及多元醇，諸如(例如)丙三醇及丙二醇及(出於本文論述之目的)聚乙二醇(PEG)及相關物質。聚醇為親液的。其為在液體及凍乾調配物中適用的穩定劑，保護蛋白質免於物理及化學降解過程。聚醇亦適用於調節調配物之張力。

調配物可進一步包含一或多種抗氧化劑。在一定程度上，可藉由維持適當含量之環境氧氣及溫度及藉由避免曝光而在醫藥調配物中預防蛋白質的有害氧化。抗氧化劑賦形劑亦可用於預防蛋白質的氧化降解。在此方面，適用之抗氧化劑為還原劑、氧氣/自由基清除劑及螯合劑。適用於根據本發明之治療性蛋白質調配物的抗氧化劑較佳為水溶性的且在產品之整個存放期中維持其活性。在此方面，EDTA為根據本發明之較佳抗氧化劑。

抗氧化劑可損傷蛋白質。舉例而言，還原劑(詳言之，諸如麩胱甘肽)可破壞分子內二硫鍵。因此，選擇適用於本發明之抗氧化劑以

尤其消除或充分降低其自身損傷調配物中之蛋白質的可能性。根據本發明之調配物可包括金屬離子，其為蛋白質輔助因子且為形成蛋白質配位錯合物所需，諸如形成某些胰島素懸浮液所需的鋅。金屬離子亦可抑制一些降解蛋白質之過程。然而，金屬離子亦催化降解蛋白質之物理及化學過程。

如可預期，研發含有防腐劑之液體調配物比凍乾調配物更具挑戰性。凍乾產品可在無防腐劑的情況下凍乾且在使用時用含有防腐劑之稀釋劑復原。此縮短防腐劑與蛋白質接觸的時間，使相關穩定性風險顯著減至最小。利用液體調配物，應經整個產品存放期(約18至24個月)維持防腐劑有效性及穩定性。注意的重點為防腐劑有效性應展現在含有活性藥物及全部賦形劑組分之最終調配物中。

醫藥組合物一經調配，即可以溶液、懸浮液、凝膠、乳液、固體、晶體或脫水或凍乾散劑形式儲存於無菌小瓶中。此類調配物可以即用形式或在投與前復原之形式(例如，凍乾形式)儲存。本發明亦提供用於產生單次劑量投與單位之套組。在本發明之某些實施例中，提供含有單室及多室預填充注射器(例如，液體注射器及冷凍乾燥物注射器)的套組。包含抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑及CAR T細胞或接合T細胞之抗體構築體之治療有效量之醫藥組合物將(例如)視治療情形及目標而定。熟習此項技術者將瞭解，用於治療之適當劑量水平將部分地視所遞送之分子、對於使用本文所描述之組合物之指示、投與途徑及患者之大小(體重、體表或器官大小)及/或狀況(年齡及一般健康狀況)而變化。在某些實施例中，臨床醫師可滴定劑量及修改投與途徑以獲得最佳治療效果。典型劑量可在約0.1 $\mu\text{g/kg}$ 至高達約30 mg/kg 或更多之範圍內變化，視上文所提及之因素而定。在特定實施例中，劑量可在1.0 $\mu\text{g/kg}$ 至約20 mg/kg 、視情況10 $\mu\text{g/kg}$ 至約10 mg/kg 或100 $\mu\text{g/kg}$ 至約5 mg/kg 範圍內。

本發明之治療性有效量之醫藥組合物較佳地引起疾病症狀之嚴重程度之降低，無疾病症狀週期之頻率或持續時間之增加或對於歸因於疾病病痛之障礙或殘疾之預防，該醫藥組合物包含如本文中之其他處所描述之抗CD112、CD155、TIGIT、Galectin-9及/或TIM-3之抑制劑及CAR T細胞或接合T細胞之抗體構築體。為了治療表現CD112、CD155及/或Galectin-9之腫瘤，相對於未經治療之患者，本文所揭示之治療有效量之組合物較佳地抑制細胞生長或腫瘤生長達至少約20%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%或至少約80%或至少約90%。可在預測在人類腫瘤中之功效的動物模型中評估化合物抑制腫瘤生長的能力。

可使用醫療裝置投與本發明之醫藥組合物。用於投與醫藥組合物之醫療裝置之實例描述於美國專利第4,475,196號；第4,439,196號；第4,447,224號；第4,447,233號；第4,486,194號；第4,487,603號；第4,596,556號；第4,790,824號；第4,941,880號；第5,064,413號；第5,312,335號；第5,312,335號；第5,383,851號；及第5,399,163號中，其全部以引用的方式併入本文中。

值得注意的是，本文所描述之免疫查核點抑制劑以及如本文所描述之與其有關之所有實施例可應用於諸如白血病或淋巴瘤之血源癌症(尤其係AML)之治療方法中，包含向需要免疫查核點抑制劑之個體投與治療有效量之該抑制劑。

類似地，本文所描述之免疫查核點抑制劑以及如本文所描述之與其有關之所有實施例可用於製備治療諸如白血病或淋巴瘤之血源癌症(尤其係AML)之醫藥組合物。

實例

提供以下實例以說明本發明之特定實施例或特徵。此等實例不應理解為限制本發明之範疇。包括實例以用於說明，且本發明僅受申

請專利範圍限制。

針對免疫查核點分子PVR、PVRL2及Galectin-9 (Gal-9)之表現，藉由RT-qPCR分析來自140個未經治療之患有最近診斷之AML (AMLSG 07-04，NCT00151242)患者之樣本。表現與患者人口統計資料(年齡、核型、FLT3突變狀況)及藉由多變量cox回歸之臨床存活率資料相關。大部分患者展示PVR (94%)、PVRL2 (95%)及Gal-9 (92%)之mRNA表現。在針對整體存活率之多變量逐步地cox回歸中，不利核型、高PVR及高Gal-9表現經識別為獨立預後標記物(針對核型， $p<0.001$ ，HR: 2.10，CI 1.39-3.15；針對PVR， $p=0.001$ ，HR: 1.64，CI 1.21-2.21，且針對Gal-9， $p<0.001$ ，HR: 0.67，CI 0.54-0.84)。由於在PVR與PVRL2 ((Pearson's rho=0.827， $p<0.001$)之間的高度相關性，在逐步處理期間去除PVRL2。然而，若自多變量cox回歸中排除PVR，則除核型及Gal-9以外，PVRL2在逐步程序中保持作為有效項(針對PVRL2， $p=0.003$ ，HR: 1.58，CI 1.17-2.13)。在含有291個AML患者之基於微陣列之基因表現及臨床資料 (Verhaak等人，Haematologica 2009;94)之第二獨立患者群中，相較於CD80、CD86或PD-L1之表現的高PVR及PVRL2表現與不良整體存活率相關聯(對數秩測試分別為 $p=0.003$ 及 $p=0.032$)。在活體外殺滅分析中，由FACS使用7-AAD染色來研究PVR及PVRL2阻斷之治療效果。藉由抗PVR、PVRL2或該兩者之阻斷抗體預培育AML細胞株MV4-11、Kasumi-1及Molm-13，且在AMG 330之存在或不存在下與健康供體之周邊血液單核細胞(PBMC)共同培養24 h。

在無AMG 330時，MV4-11之細胞殺滅自 $12.6\pm4.7\%$ (對照)增加至 $33.0\pm8.8\%$ (PVR)、至 $40.4\pm10.4\%$ (PVRL2)及至 $56.0\pm12.0\%$ (PVR+PVRL2兩者)。在存在最佳濃度之AMG 330時，0.1 ng/ml MV4-

11 細胞裂解為 $29.4 \pm 9.0\%$ (僅 AMG 330)、 $49.7 \pm 12.6\%$ (AMG 330+PVR)、 $57.9 \pm 11.3\%$ (AMG 330+PVRL2) 及 $70.0 \pm 9.8\%$ (針對所有比較, AMG 330+PVR+PVRL2; $n=4$, $p<0.05$)。發現 Kasumi-1 及 Molm-13 之可比較結果, 其中兩種查核點抑制劑之阻斷為最有效的治療, 儘管抗 PVR 及 PVRL2 之抗體之添加劑效果可未在所有情況下驗證 (未展示之資料)。為確認方法之特異性且為排除由抗體依賴性細胞毒性 (ADCC) 引起之效應, 細胞株 MV4-11 之 PVR 及 PVRL2 二次基因剔除由 CRISPR/Cas-9 產生。在與野生型細胞相比之 PVR 及 PVRL2 二次基因剔除細胞中觀測到顯著增加之殺滅 ($40.5 \pm 8.1\%$ 相對於 25.9 ± 9.1 ; $n=3$, $p<0.001$)。使用抗 CD117 之無關抗體或藉由經純化之 IgG 抗體之 Fc γ 受體阻斷的其他實驗排除 ADCC, 從而確認 PVR/PVRL2 阻斷之功能關聯性。

免疫查核點配位體 PVR 及 PVRL2 之表現可能由於免疫逃避而向 AML 患者賦予負面預後。吾人可進一步展示, 藉由 PBMC 殺滅 AML 細胞可藉由此等新穎查核點抑制劑之阻斷擴增。此外, 添加 PVR 及/或 PVRL2 阻斷抗體至 AMG 330 可增強細胞毒性。因此, PVR 及 PVRL2 之阻斷表示用於治療 AML 之有前景的目標。

PVR、PVRL2 及 Galectin-9 在 AML 中之預後影響

使用 LightCycler 96 (Roche, Basel, Switzerland) 在定量 RT-PCR 中分析患有全新 AML 之 140 個患者之 PVR、PVRL2 及 Galectin-9 mRNA 之表現。甘油醛 3-磷酸鹽去氫酶 (GAPDH) 充當參照基因。使用以下引子: PVR 正向 5'-agcaggagcgtggatatctg-3' (SEQ ID NO: 1)、PVR 反向 5'-gactgtgccagacaggaacc-3' (SEQ ID NO: 2)、PVRL2 正向 5'-gaggacgagggcaactacac-3' (SEQ ID No: 3)、PVRL2 反向 5'-agggatgagagccaggagat-3' (SEQ ID No: 4)、Galectin-9 正向 5'-gtctccaggacggacttcag-3' (SEQ ID No: 5)、Galectin-9 反向 5'-

caggaagcagaggtcaaagg-3' (SEQ ID No: 6)、GAPDH 正向 5'-gtcagtgggtggacctgacct-3' (SEQ ID No: 7)、GAPDH 反向 5'-tgctgtagccaaattcgttg-3' (SEQ ID No: 8)。針對各基因界定截斷，從而將 AML 患者群劃分為低表現者與高表現者。基因表現與患者人口統計資料(年齡、核型、FLT3 突變狀況)及使用多變量 cox 回歸之臨床存活率資料相關。藉由 SPSS 17 (SPSS Inc, Chicago, IL) 完成統計分析。

PVR、PVRL2 及 Galectin-9 之蛋白質表現

使用以下抗體以流式細胞測量術 (FACSCalibur and CellQuestPro Software, BD Biosciences) 在 AML 細胞株及初級 AML 細胞中分析 PVR 及 PVRL2 之蛋白質表現：小鼠抗-PVR 殖株 D171 (Thermo Scientific™ Lab Vision, Waltham, MA) 及小鼠抗-PVRL2 殖株 L14 (Bottino 等人, J Exp Med 2003; 198:557-567) 作為初級抗體及抗小鼠 APC 抗體作為二級抗體。藉由直接經 APC 標記之小鼠抗人類抗體染色 Galectin-9 (殖株 9M1-3; Biozol, Eching, Germany)。

T 細胞誘發之 AML 細胞裂解

將來自健康供體之白血球層用作 T 細胞源。使用菲科爾帕克離心 (Ficoll-Paque centrifugation) 分離單核細胞 (MNC) 部分。藉由 CellTracker™ Green CMFDA Dye (Life Technologies) 預染色 AML 細胞一小時且用細胞培養基洗滌兩次。將預染色之 AML 靶細胞與含有 MNC 部分之 T 細胞以 1:6 之比率混合且在 96 孔板 (200,000 細胞/孔) 鍍敷。將細胞混合物與 PVR 阻斷抗體殖株 D171 (4-20 µg/ml; Thermo Scientific™ Lab Vision)、PVRL2 阻斷抗體殖株 L14 (5-20 µl 細胞培養上澄液; Bottino 等人, J Exp Med 2003; 198:557-567)、Galectin-9 阻斷抗體 9M3-1 (10-50 µg/ml; Biozol, Eching, Germany) 或在無抗體添加物的情況下一起預培育 2 小時。2 小時後，將 100 pg/ml 至 500 pg/ml AMG330 添加至培養物中。

24小時後，藉由7-AAD染色細胞混合物且使用FACSCalibur及CellQuestPro Software (BD Biosciences)經由流式細胞測量術分析。基於CellTracker™ Green CMFDA Dye染色閘控AML靶細胞。殺滅比率經測定為在靶細胞閘內之7-AAD陽性細胞之比例。

【符號說明】

無

【序列表】

<110>	德商安美基研究(慕尼黑)公司	
<120>	AML中之免疫查核點	
<130>	to be added	
<150>	US 62/201,461	
<151>	2015-08-05	
<160>	37	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	1	
	agcaggagcg tggatatctg	20
<210>	2	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	2	
	gactgtgccca gacaggaacc	20
<210>	3	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	3	
	gaggacgagg gcaactacac	20
<210>	4	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	4	
	agggatgaga gccaggagat	20
<210>	5	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	合成引子	
<400>	5	20
	gtctccagga cggacttcag	
<210>	6	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	6	20
	caggaagcag aggtcaaagg	
<210>	7	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	7	20
	gtcagtgggtg gacctgacct	
<210>	8	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成引子	
<400>	8	20
	tgctgtagcc aaattcgttg	
<210>	9	
<211>	5	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成連接子	
<400>	9	
	Gly Gly Gly Gly Ser	
	1 5	
<210>	10	
<211>	4	
<212>	PRT	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	合成連接子	
<400>	10	

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成連接子

<400> 11

Gly Gly Gly Gly Gln
1 5

<210> 12
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成連接子

<400> 12

Pro Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 13
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成連接子

<400> 13

Pro Gly Gly Asp Gly Ser
1 5

<210> 14
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成連接子

<400> 14

Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 15
<211> 505
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> CD33×CD3雙特異性抗體構築體

<400> 15

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

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

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

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

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

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
355 360 365

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
370 375 380

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385 390 395 400

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
405 410 415

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
420 425 430

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
435 440 445

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
450 455 460

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465 470 475 480

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
485 490 495

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
500 505

<210> 16
<211> 993

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CD33×CD3雙特異性HLE 1

<400> 16

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

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

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

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

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

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
355 360 365

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
370 375 380

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385 390 395 400

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
405 410 415

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
420 425 430

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
435 440 445

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
450 455 460

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465 470 475 480

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
485 490 495

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr
500 505 510

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
515 520 525

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
530 535 540

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
545 550 555 560

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
565 570 575

Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
580 585 590

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
595 600 605

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
610 615 620

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
625 630 635 640

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
645 650 655

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
660 665 670

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
675 680 685

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
690 695 700

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
705 710 715 720

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
725 730 735

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
740 745 750

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys
755 760 765

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

770 775 780

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
785 790 795 800

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
805 810 815

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
820 825 830

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
835 840 845

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
850 855 860

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
865 870 875 880

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
885 890 895

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
900 905 910

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
915 920 925

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
930 935 940

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
945 950 955 960

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
965 970 975

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
980 985 990

Lys

- <210> 17
- <211> 991
- <212> PRT
- <213> 人工
- <220>
- <223> CD33×CD3雙特異性HLE 2

<400> 17

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

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

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

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

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

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ser
180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
530 535 540

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
545 550 555 560

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
565 570 575

Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
580 585 590

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
595 600 605

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
610 615 620

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
625 630 635 640

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
645 650 655

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
660 665 670

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
675 680 685

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
690 695 700

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
705 710 715 720

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
725 730 735

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
740 745 750

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His
755 760 765

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
770 775 780

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
785 790 795 800

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
805 810 815

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
820 825 830

Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser
835 840 845

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
850 855 860

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
865 870 875 880

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
885 890 895

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
900 905 910

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
915 920 925

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
930 935 940

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
945 950 955 960

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
965 970 975

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985 990

<210> 18
<211> 505
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CD33×CD3 雙特異性抗體構築體

<400> 18

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

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

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

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

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

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240

Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
355 360 365

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
370 375 380

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385 390 395 400

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
405 410 415

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
420 425 430

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
435 440 445

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
450 455 460

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465 470 475 480

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
485 490 495

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
500 505

<210> 19
<211> 993
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CD33xCD3 HLE 1

<400> 19

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

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

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
355 360 365

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
370 375 380

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385 390 395 400

Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
405 410 415

Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
420 425 430

Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
435 440 445

Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
450 455 460

Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465 470 475 480

Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
485 490 495

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr
500 505 510

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
515 520 525

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
530 535 540

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
545 550 555 560

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

820 825 830

Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
835 840 845

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
850 855 860

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
865 870 875 880

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
885 890 895

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
900 905 910

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
915 920 925

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
930 935 940

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
945 950 955 960

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
965 970 975

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
980 985 990

Lys

<210> 20
<211> 991
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CD33xCD3 HLE 2

<400> 20

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

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

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

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

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

Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140

Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220

Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240

Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
260 265 270

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
275 280 285

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
290 295 300

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp

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

Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
 580 585 590
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 595 600 605
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 610 615 620
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 625 630 635 640
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 645 650 655
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 660 665 670
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 675 680 685
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 690 695 700
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 705 710 715 720
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
 725 730 735
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 740 745 750
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His
 755 760 765
 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 770 775 780
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 785 790 795 800
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 805 810 815
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 820 825 830
 Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser
 835 840 845

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
850 855 860

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
865 870 875 880

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
885 890 895

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
900 905 910

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
915 920 925

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
930 935 940

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
945 950 955 960

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
965 970 975

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985 990

<210> 21
<211> 498
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> CD19×CD3雙特異性抗體構築體

<400> 21

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

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

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

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

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

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

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
115 120 125

Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser Ser Val
130 135 140

Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met
145 150 155 160

Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln
165 170 175

Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly
180 185 190

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
195 200 205

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

Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
245 250 255

Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser
260 265 270

Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr
275 280 285

Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
290 295 300

Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
305 310 315 320

Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
325 330 335

Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
340 345 350

Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro
385 390 395 400

Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg
405 410 415

Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
420 425 430

Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly
435 440 445

Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu
450 455 460

Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
465 470 475 480

Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
485 490 495

Leu Lys

<210> 22
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_16xCD3-scFc

<400> 22

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Arg Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Tyr Phe Asp
100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Tyr Asp Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Phe Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
755 760 765

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
770 775 780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
820 825 830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 980 985

<210> 23
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_16xCD3-scFc_delGK

<400> 23

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Arg Asn Ala
 20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Tyr Phe Asp
 100 105 110

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

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

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
725 730 735

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
740 745 750

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
755 760 765

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
770 775 780

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
785 790 795 800

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
805 810 815

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
820 825 830

Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
835 840 845

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
850 855 860

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
865 870 875 880

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
885 890 895

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
900 905 910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 24
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_23xCD3-scFc

<400> 24

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Phe Arg Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Met Pro Glu Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Glu Phe Thr Leu Ile Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Phe Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 690 695 700
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 705 710 715 720
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
 725 730 735
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 740 745 750
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
 755 760 765
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 770 775 780
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 785 790 795 800
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 805 810 815
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 820 825 830
 Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
 835 840 845
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 850 855 860
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 865 870 875 880
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 885 890 895
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 900 905 910
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 915 920 925
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 930 935 940
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 25
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_23xCD3-scFc_delGK

<400> 25

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Phe Arg Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Met Pro Glu Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175

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

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

450	455	460
Ala 465	Ala Leu Thr Leu Ser 470	Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr 480
Tyr Cys Val Leu Trp 485	Tyr Ser Asn Arg Trp 490	Val Phe Gly Gly Gly Thr 495
Lys Leu Thr Val 500	Leu Gly Gly Gly Gly 505	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro 510
Pro Cys Pro 515	Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe 525	
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr 535	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val 540	
Thr Cys Val Val Val Asp 550	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe 560	
Asn Trp Tyr Val Asp 565	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro 575	
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr 580		
Val Leu His 595	Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val 605	
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala 610		
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 625		
Glu Glu Met Thr Lys 645	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly 655	
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro 660		
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser 675		
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 690		
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His 705		

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 725 730 735
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 740 745 750
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 755 760 765
 Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 770 775 780
 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 785 790 795 800
 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 805 810 815
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
 820 825 830
 Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
 835 840 845
 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 850 855 860
 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 865 870 875 880
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
 885 890 895
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
 900 905 910
 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 915 920 925
 Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
 930 935 940
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 945 950 955 960
 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 965 970 975
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 980 985

<210> 26
 <211> 989
 <212> PRT
 <213> 人工

<220>
 <223> FL_36xCD3-scFc

<400> 26

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
 50 55 60

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

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
 85 90 95

Cys Ala Arg Met Pro Glu Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Gly Ala Phe Asp
 100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
 130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
 145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln
 165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
 195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
 210 215 220

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

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

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
770 775 780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
820 825 830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 27
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_36xCD3-scFc-delGK

<400> 27

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Leu Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
85 90 95

Cys Ala Arg Met Pro Glu Tyr Ser Ser Gly Trp Ser Gly Ala Phe Asp
100 105 110

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

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

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
805 810 815

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
820 825 830

Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
835 840 845

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
850 855 860

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
865 870 875 880

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
885 890 895

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
900 905 910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 28
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_39_xCD3-scFc

<400> 28

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30

Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu

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

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
755 760 765

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
770 775 780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
820 825 830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 29
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_39_xCD3-scFc_delGK

<400> 29

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

610	615	620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
625	630	635 640
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		
	645	650 655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro		
	660	665 670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser		
	675	680 685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln		
	690	695 700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
	710	715 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
	725	730 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	740	745 750
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro		
	755	760 765
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro		
	770	775 780
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr		
	785	790 795 800
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn		
	805	810 815
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys		
	820	825 830
Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val		
	835	840 845
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
	850	855 860
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
	865	870 875 880

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
885 890 895

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
900 905 910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 30
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_42_xCD3-scFc

<400> 30

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Thr Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
100 105 110

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

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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 660 665 670
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 675 680 685
 Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
 690 695 700
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 705 710 715 720
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
 725 730 735
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 740 745 750
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
 755 760 765
 Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 770 775 780
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 785 790 795 800
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 805 810 815
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 820 825 830
 Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
 835 840 845
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 850 855 860
 Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 865 870 875 880
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 885 890 895
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 900 905 910
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 31
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_42_xCD3-scFc_delGK

<400> 31

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60

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

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Thr Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

690	695	700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His		
705	710	715 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
	725	730 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	740	745 750
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro		
	755	760 765
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro		
	770	775 780
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr		
	785	790 795 800
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn		
	805	810 815
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys		
	820	825 830
Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val		
	835	840 845
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser		
	850	855 860
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys		
	865	870 875 880
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu		
	885	890 895
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe		
	900	905 910
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu		
	915	920 925
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
	930	935 940
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
	945	950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 32
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_46_CCxCD3-scFc

<400> 32

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

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

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

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

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
755 760 765

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
770 775 780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
820 825 830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 33
<211> 987

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_46_CCxCD3-scFc_delGK

<400> 33
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Val Leu Val Lys Pro Thr Gln
1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Asn Ala
20 25 30

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

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Arg Tyr Ser Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Thr Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

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

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175

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

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220

Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240

Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
725 730 735

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
740 745 750

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
755 760 765

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

770

775

780

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

785790795800

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

805810815

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys

820825830

Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val

835840845

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

850855860

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

865870875880

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

885890895

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

900905910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

915920925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

930935940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

945950955960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

965970975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

980985

<210> 34

<211> 989

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> FL_52_CCxCD3-scFc

<400> 34

Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Glu

151015

C198527SEQA.docx

- 71 -

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
725 730 735

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
755 760 765

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
770 775 780

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785 790 795 800

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
805 810 815

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
820 825 830

Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
835 840 845

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 35
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_52_CCxCD3-scFc_delGK

<400> 35

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

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

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

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

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335

Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400

Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415

Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430

Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445

Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460

Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480

Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495

Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
500 505 510

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
515 520 525

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
530 535 540

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545 550 555 560

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
565 570 575

Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
580 585 590

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
595 600 605

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
610 615 620

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625 630 635 640

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
725 730 735

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
740 745 750

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
755 760 765

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
770 775 780

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
785 790 795 800

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
805 810 815

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
820 825 830

Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
835 840 845

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

850 855 860

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
865 870 875 880

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
885 890 895

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
900 905 910

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 36
<211> 994
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_61xCD3-scFc

<400> 36

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

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Glu Phe Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Glu Ile Thr Met Val Arg Gly Val Ile Gly Tyr Tyr
100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
145 150 155 160

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
165 170 175

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
210 215 220

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu
225 230 235 240

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
260 265 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
275 280 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
290 295 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305 310 315 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
325 330 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
340 345 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr

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

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625 630 635 640

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
645 650 655

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
660 665 670

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
675 680 685

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
690 695 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705 710 715 720

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
725 730 735

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
755 760 765

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
770 775 780

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
785 790 795 800

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
805 810 815

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
820 825 830

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
835 840 845

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
850 855 860

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
865 870 875 880

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
885 890 895

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
900 905 910

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
915 920 925

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
930 935 940

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
945 950 955 960

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
965 970 975

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
980 985 990

Gly Lys

<210> 37
<211> 992
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> FL_61xCD3-scFc_delGK

<400> 37

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

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

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

Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Glu Phe Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Glu Ile Thr Met Val Arg Gly Val Ile Gly Tyr Tyr
100 105 110

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

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
145 150 155 160

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
165 170 175

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
180 185 190

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
210 215 220

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu
225 230 235 240

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
260 265 270

Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
275 280 285

Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
290 295 300

Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305 310 315 320

Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
325 330 335

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
340 345 350

Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
355 360 365

Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385 390 395 400

Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
405 410 415

Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
420 425 430

Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
435 440 445

Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
450 455 460

Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465 470 475 480

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
485 490 495

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys
500 505 510

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
515 520 525

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
530 535 540

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545 550 555 560

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
565 570 575

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
595 600 605

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
610 615 620

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625 630 635 640

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
645 650 655

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
660 665 670

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
675 680 685

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
690 695 700

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705 710 715 720

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
725 730 735

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
740 745 750

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr
755 760 765

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
770 775 780

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
785 790 795 800

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
805 810 815

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
820 825 830

Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
835 840 845

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
850 855 860

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
865 870 875 880

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
885 890 895

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
900 905 910

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

915					920					925					
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp
930					935						940				
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser
945					950					955					960
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala
				965					970					975	
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys
			980					985					990		

申請專利範圍

1. 一種包含(i)抗CD112 (Nectin-2、PVRL2)、CD155 (PVR)及/或TIGIT之抑制劑及(ii)基於雙特異性單鏈Fv(scFv)抗體之結合分子的醫藥組合物之用途，其係用於製備治療血源癌症，詳言之急性骨髓白血病(AML)之藥物，其中該抑制劑係特異性結合CD112、CD155及/或TIGIT之抗體，且其中該基於雙特異性單鏈Fv(scFv)抗體之結合分子接合T細胞且包含CD3 ϵ 結合域及另一靶向選自由CD33、CD19及Flt3組成之群之表面分子之結合域。。
2. 如請求項1之用途，其中該抗CD112之抑制劑抑制CD112與TIGIT之間的相互作用，或其中該抗CD155之抑制劑抑制CD155與TIGIT之間的相互作用，或其中該抗TIGIT之抑制劑抑制TIGIT與CD112之間的相互作用，或其中該抗TIGIT之抑制劑抑制TIGIT與CD155之間的相互作用。
3. 如請求項1之用途，其中該抗CD112之抑制劑減少CD112之表現。
4. 如請求項1之用途，其中該抗CD155之抑制劑減少CD155之表現。
5. 如請求項1之用途，其中該抗TIGIT之抑制劑減少TIGIT之表現。
6. 如請求項1之用途，其中接合T細胞且包含CD3 ϵ 結合域及另一靶向選自由CD33、CD19及Flt3組成之群之表面分子之結合域的抗體構築體具有選自由SEQ ID NO:15至37組成之群之序列。

圖式

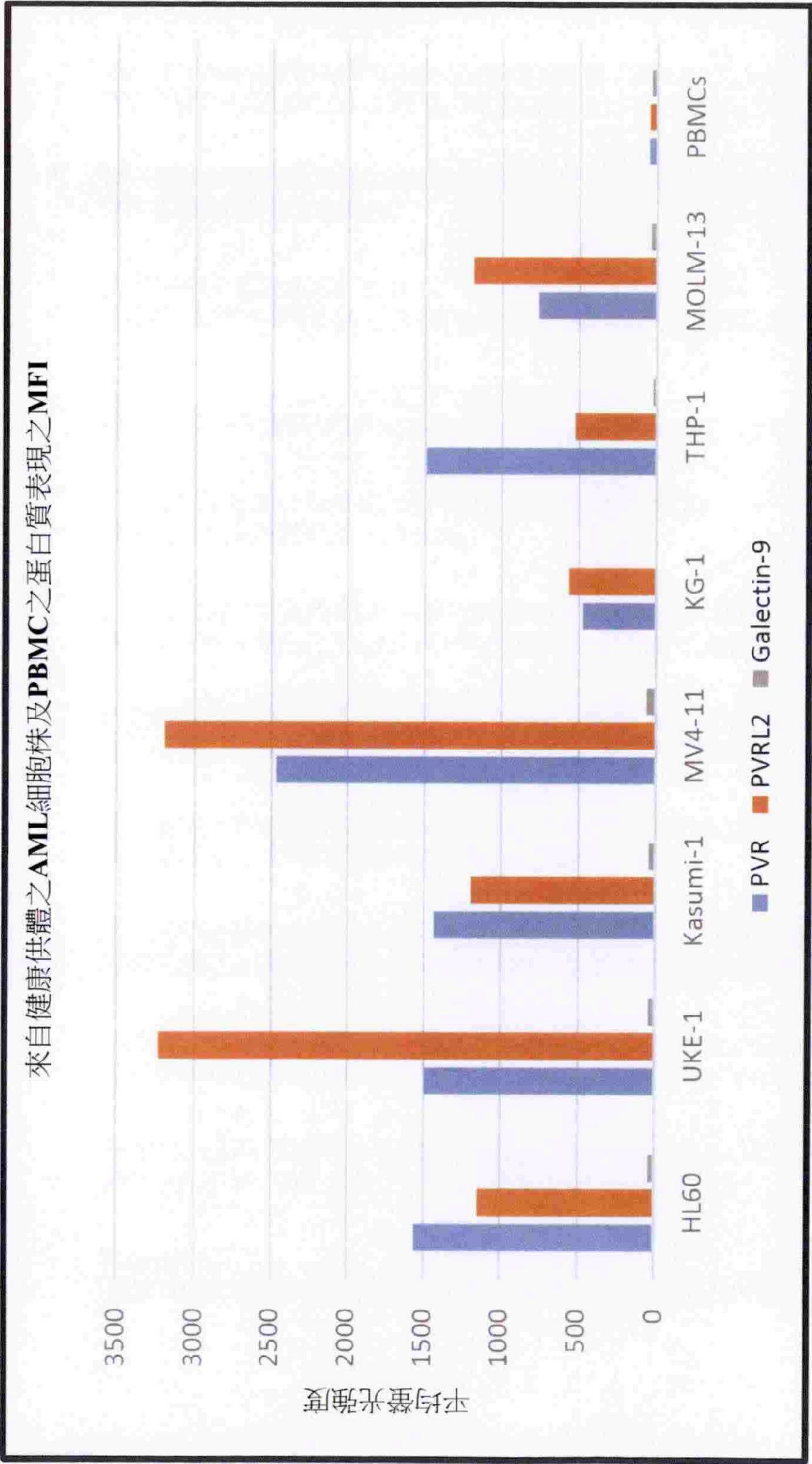
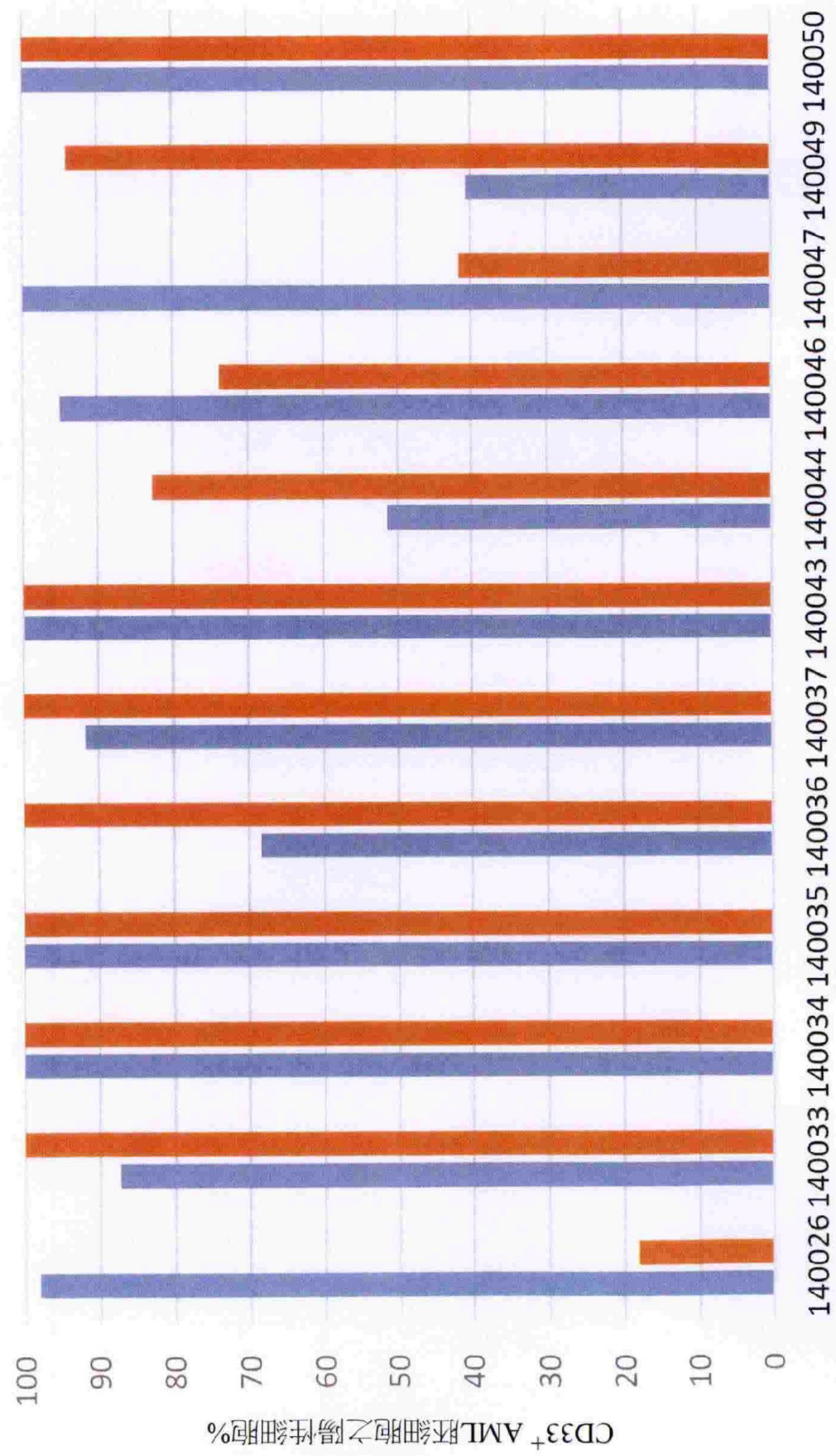


圖1



■ PVRL2 ■ PVR

圖2

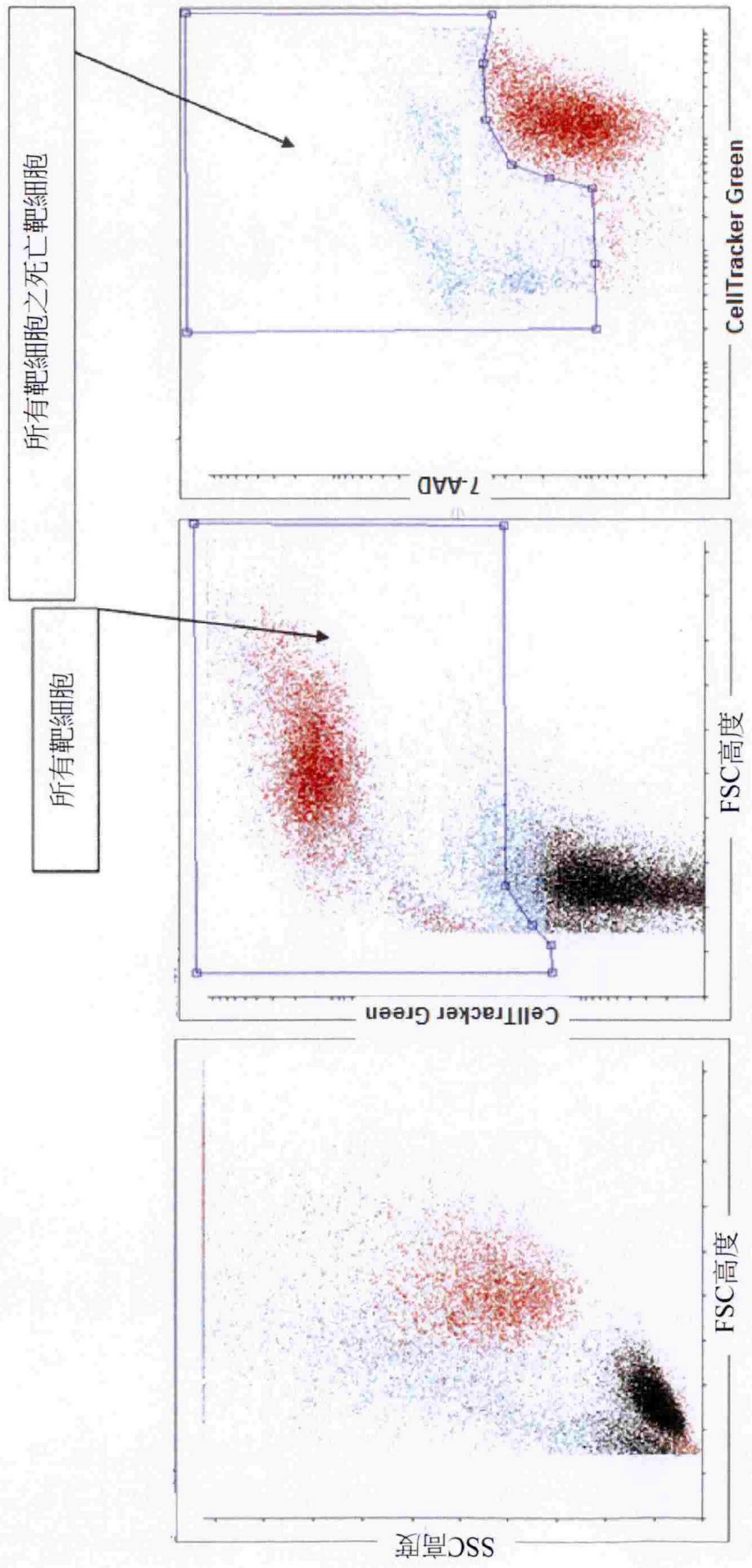


圖3

概觀：MV4-11 + PVR-D171

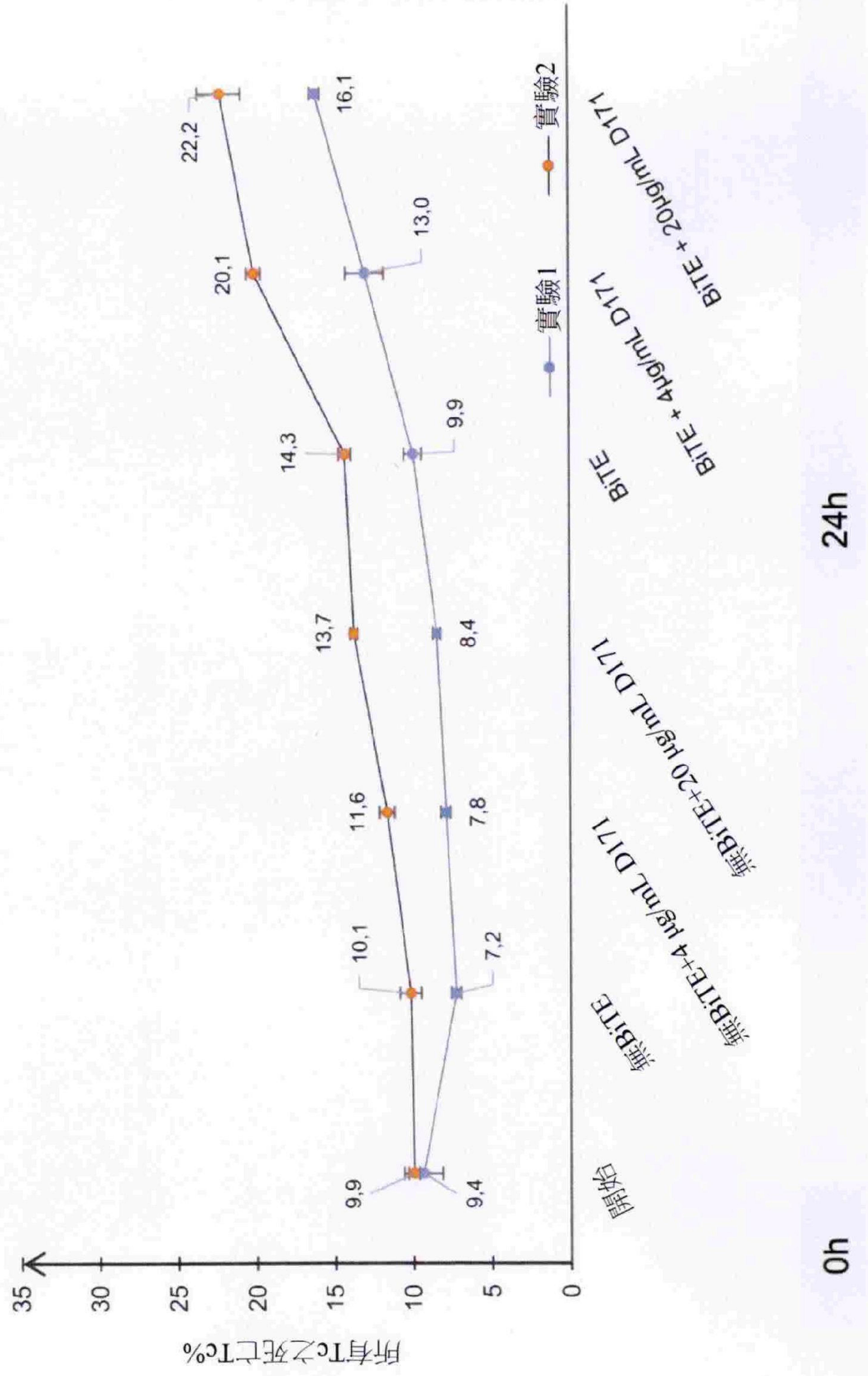


圖4

具有BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

無BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

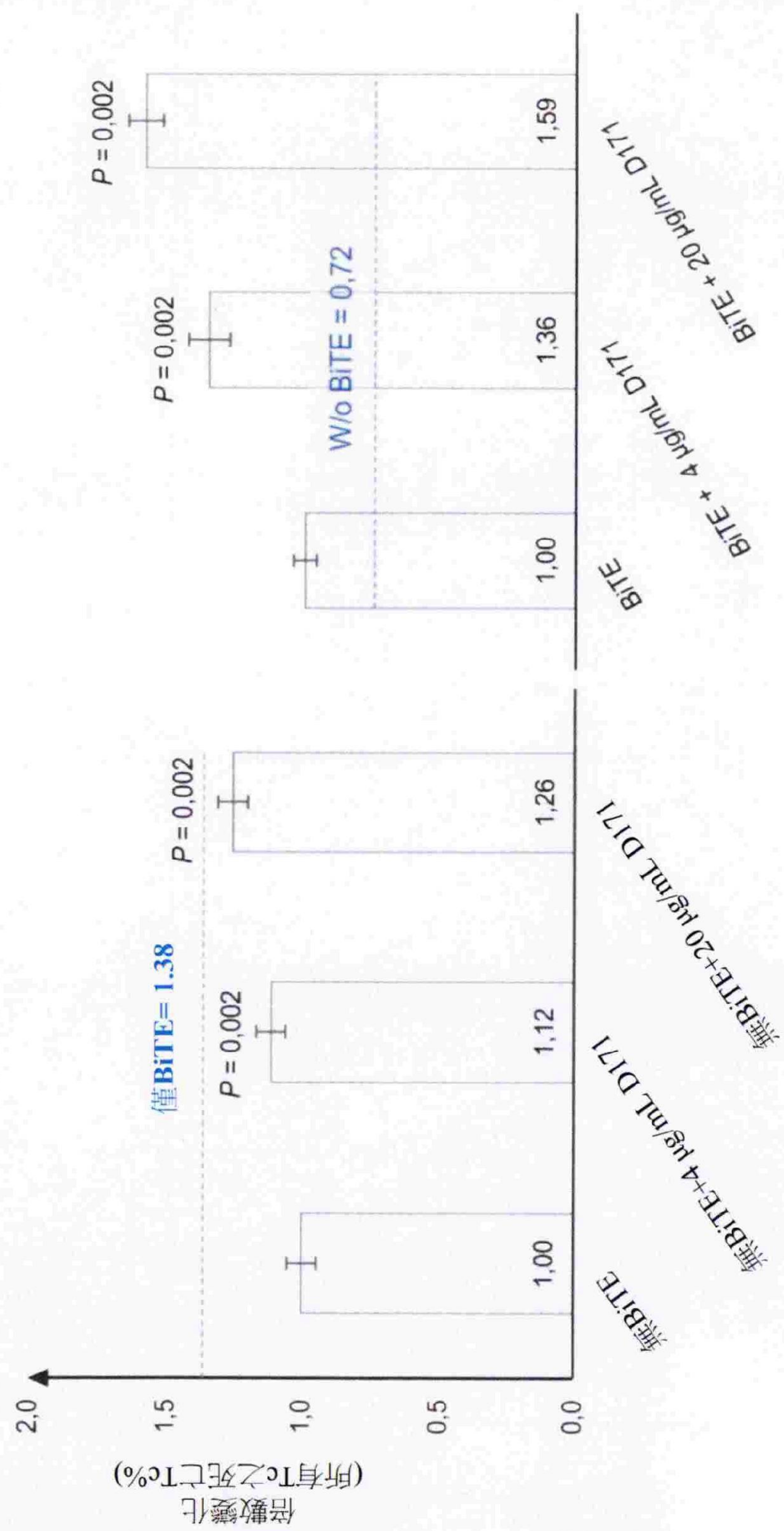
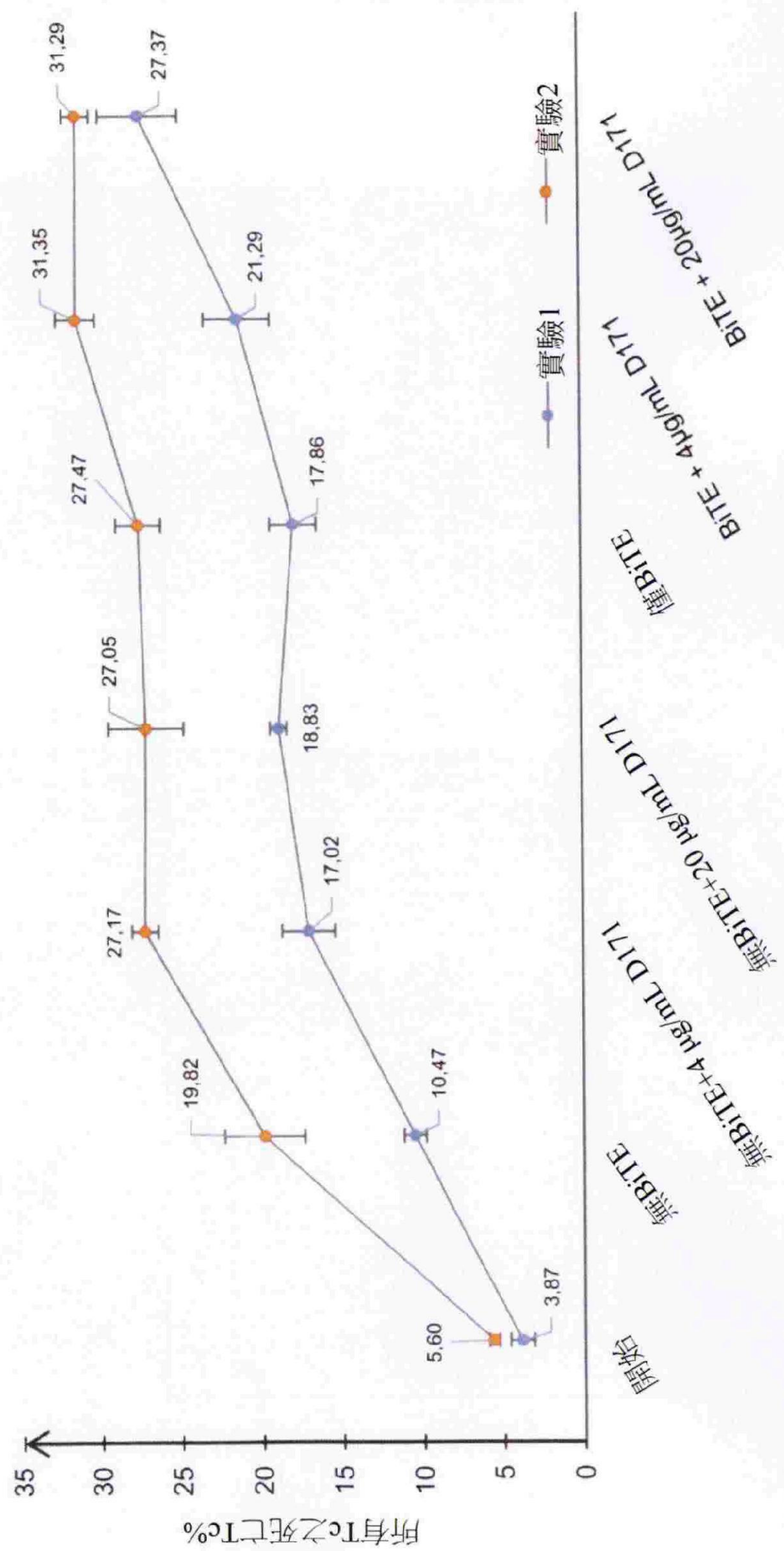


圖5

概觀：KG-1 + PVR-D171



0h 24h

圖6

無BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

具有BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

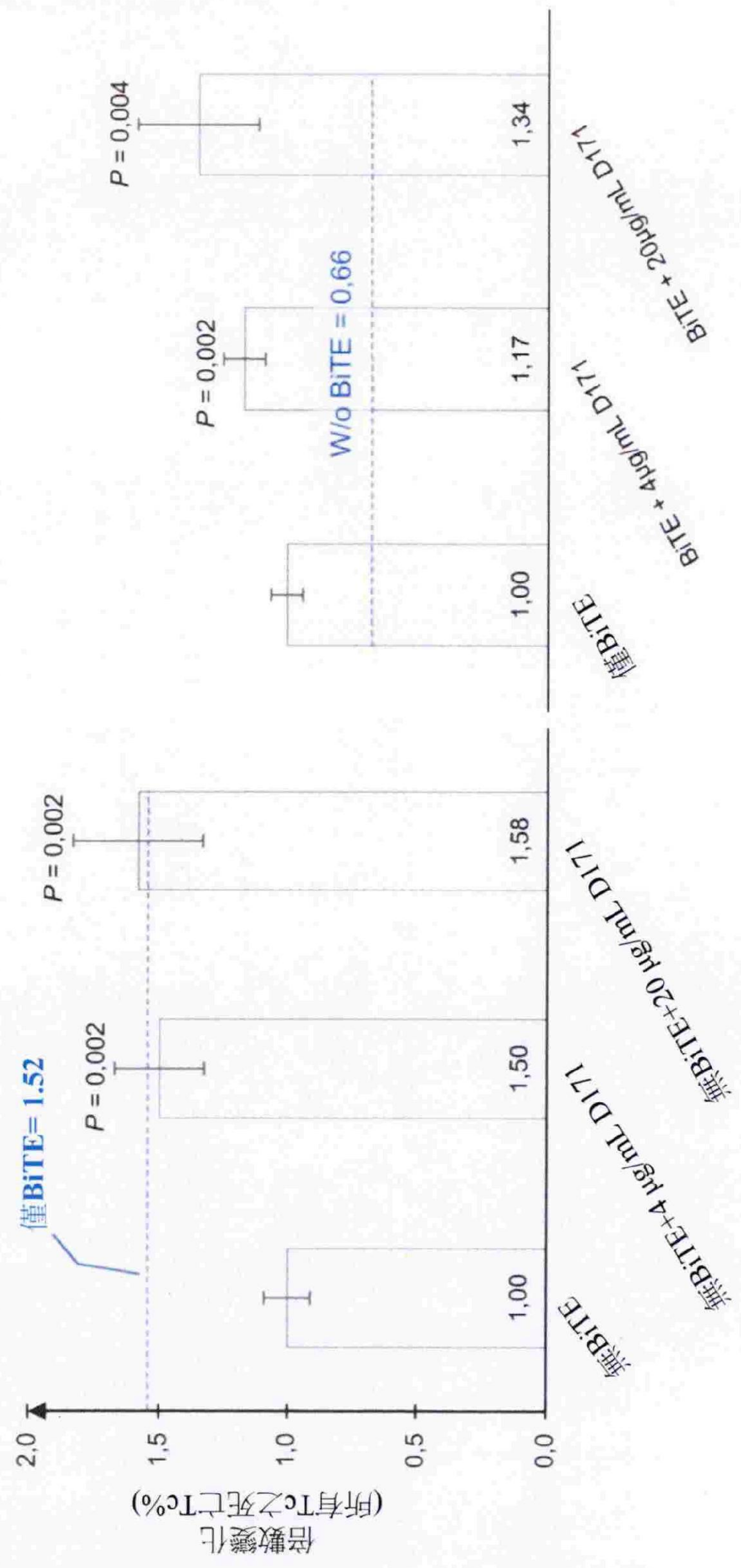
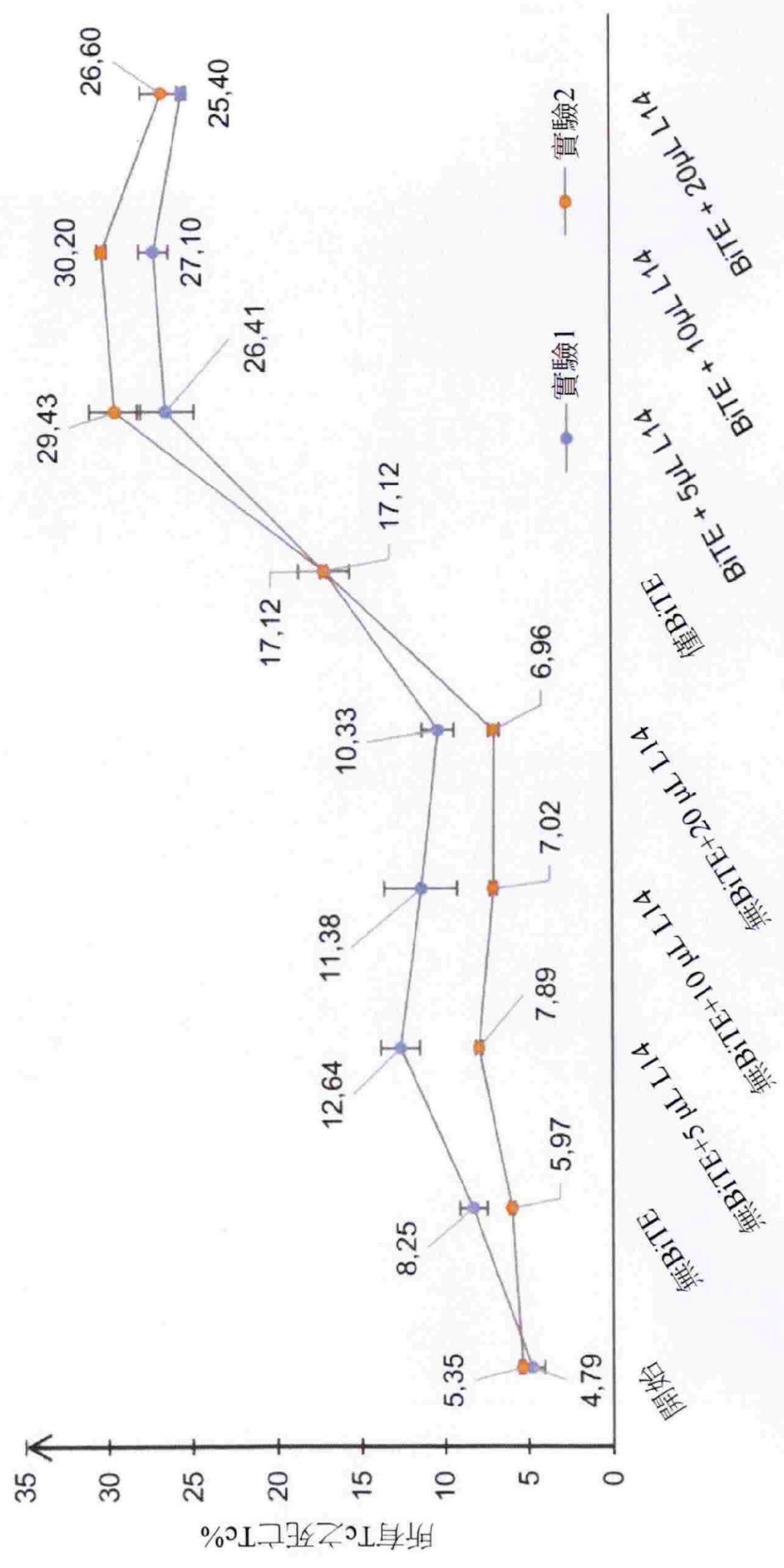


圖7

概觀：MV4-11 + PVRL2-L14



0h 24h

圖8

無BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

具有BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

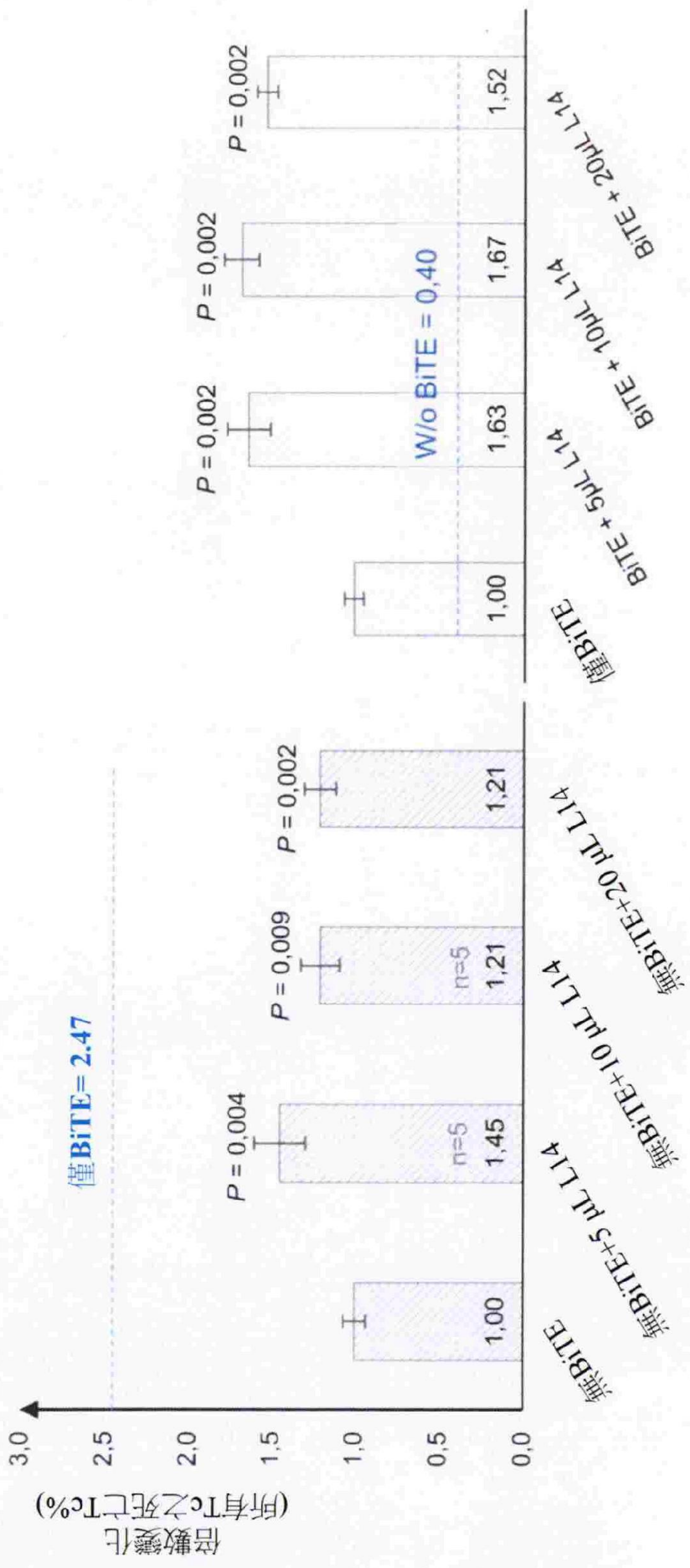
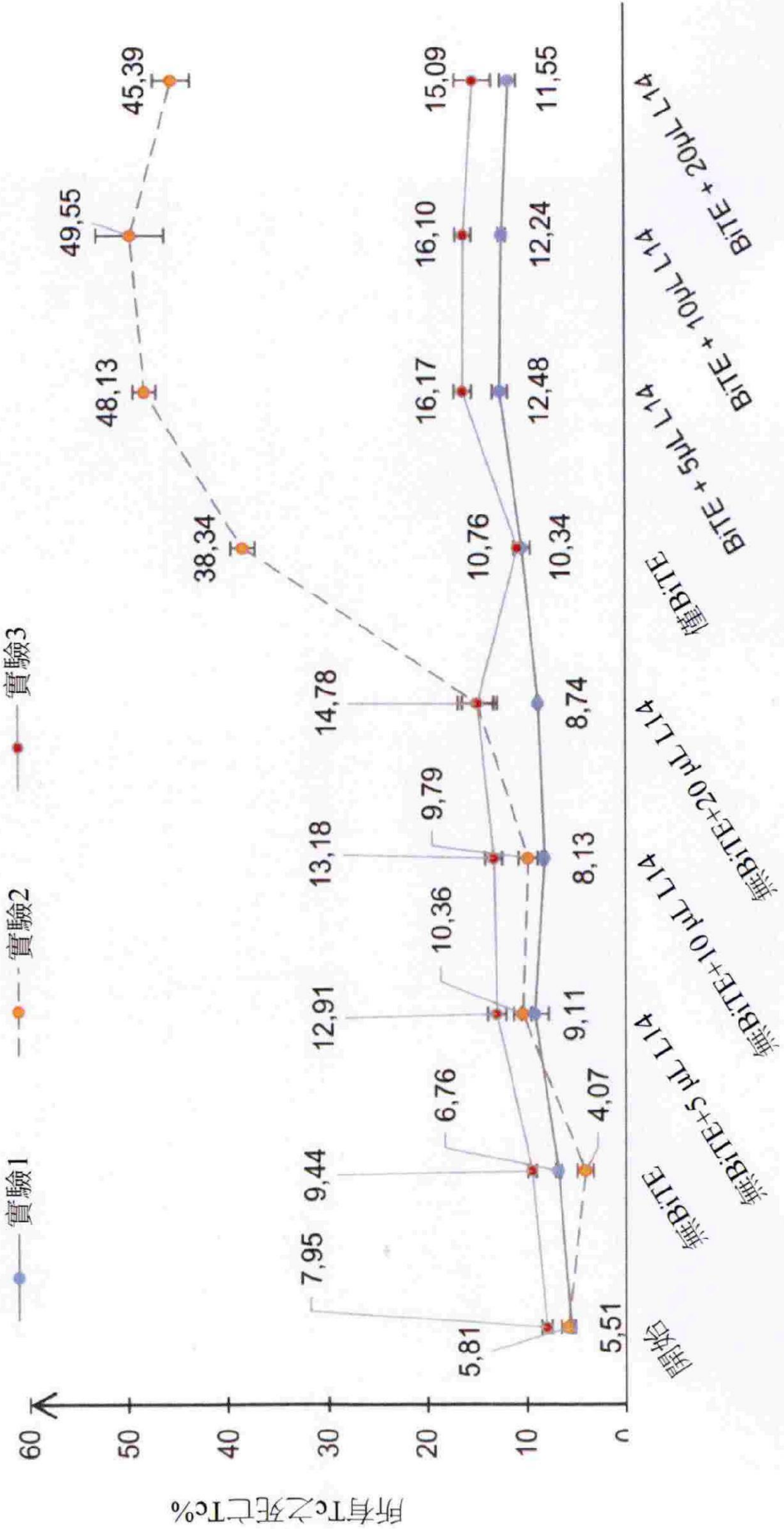


圖9

概觀：Kasumi-1 + PVRL2-L14



0h 24h

圖10

具有BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

無BiTE之組，24 h後
(實驗1 + 2)

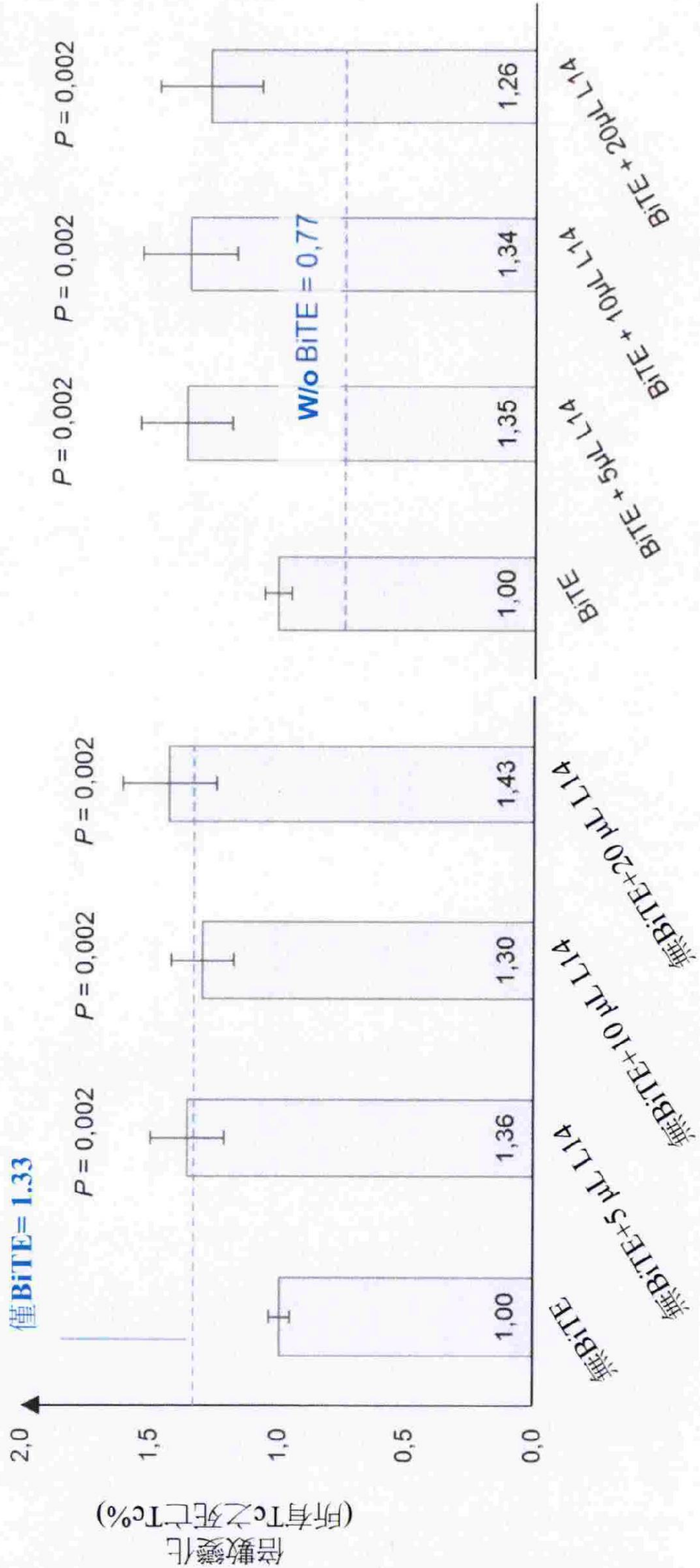
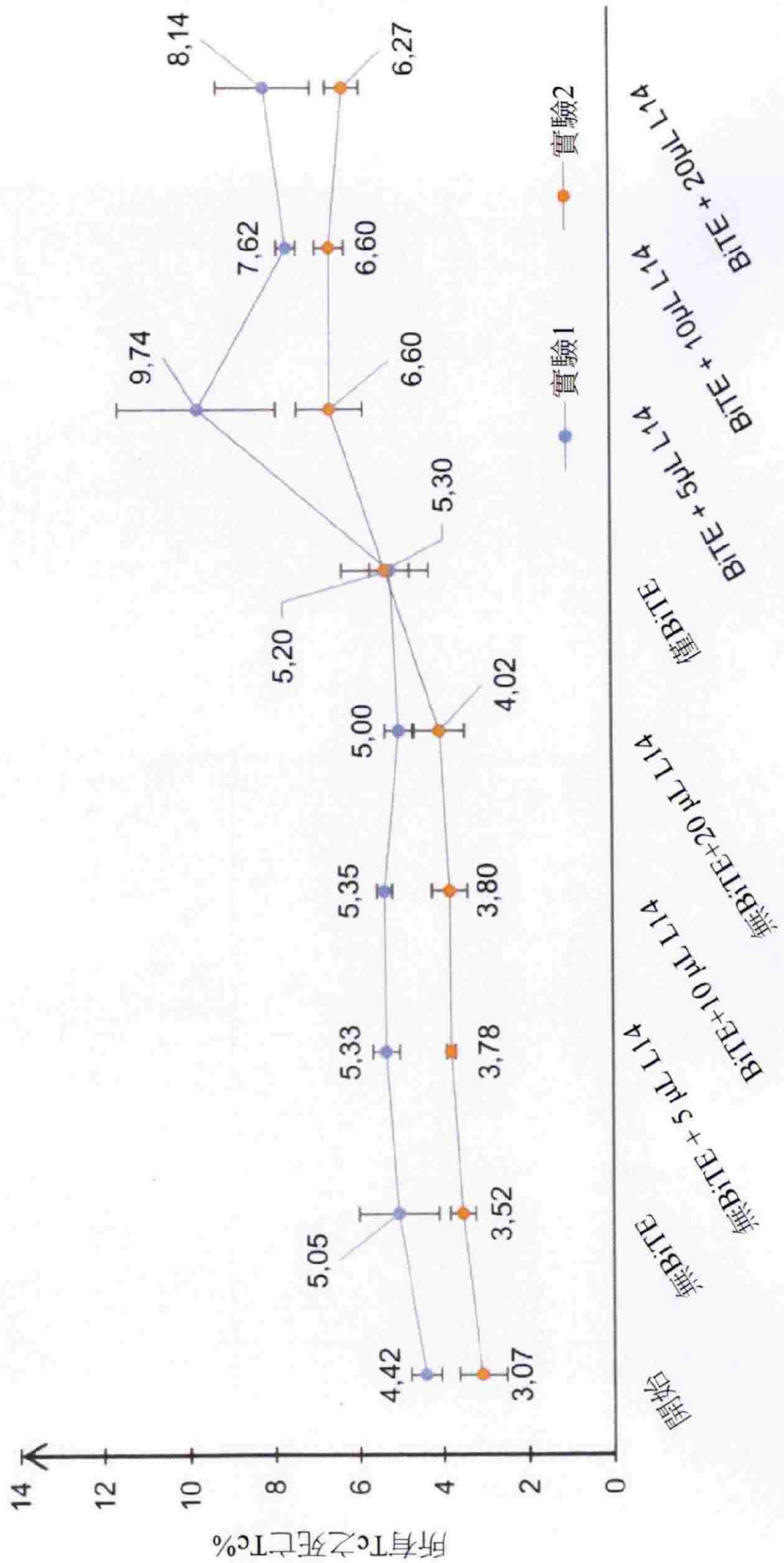


圖11

概觀：UKE-1 + PVRL2-L14



0h 24h

圖12

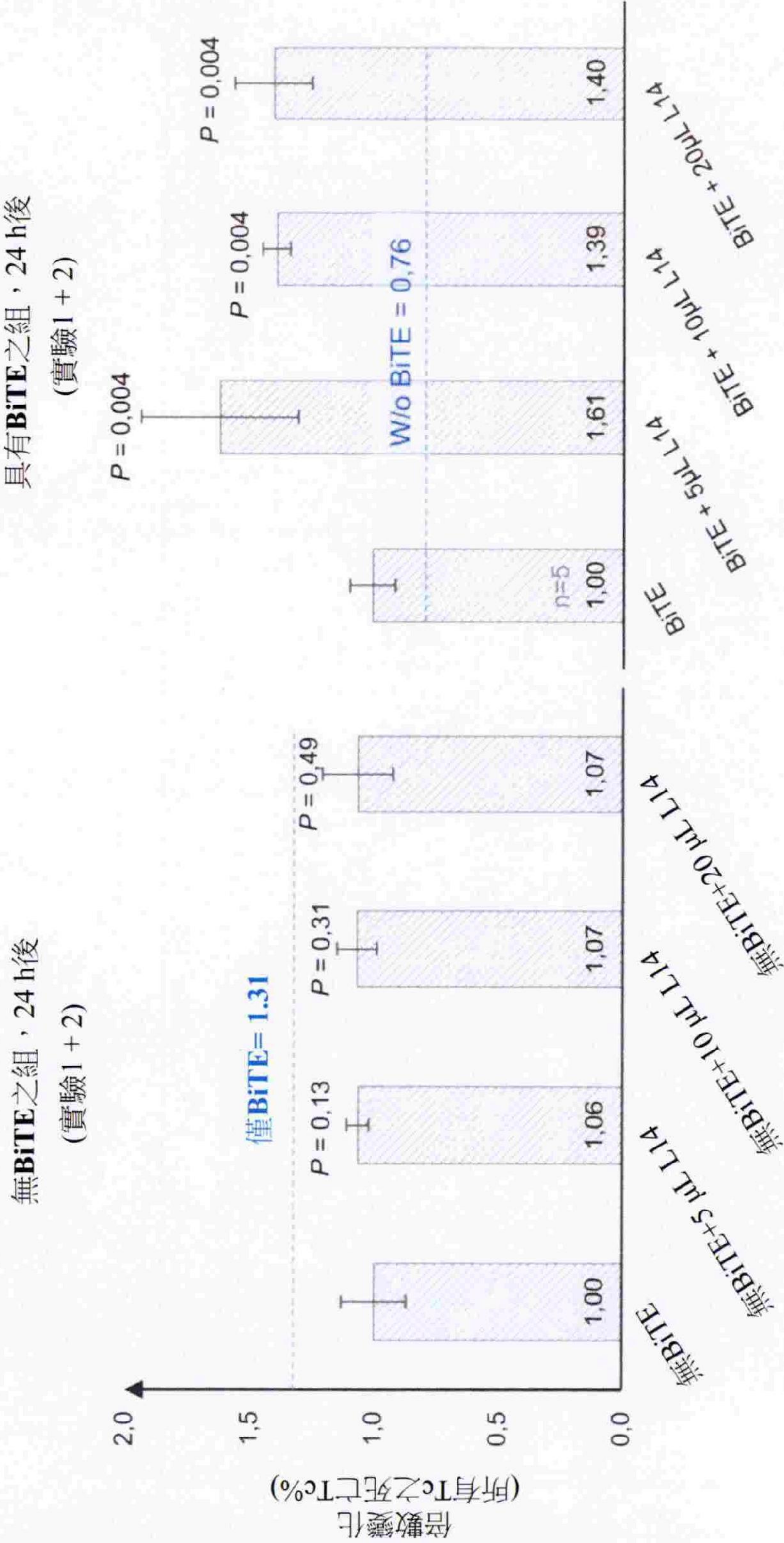


圖13

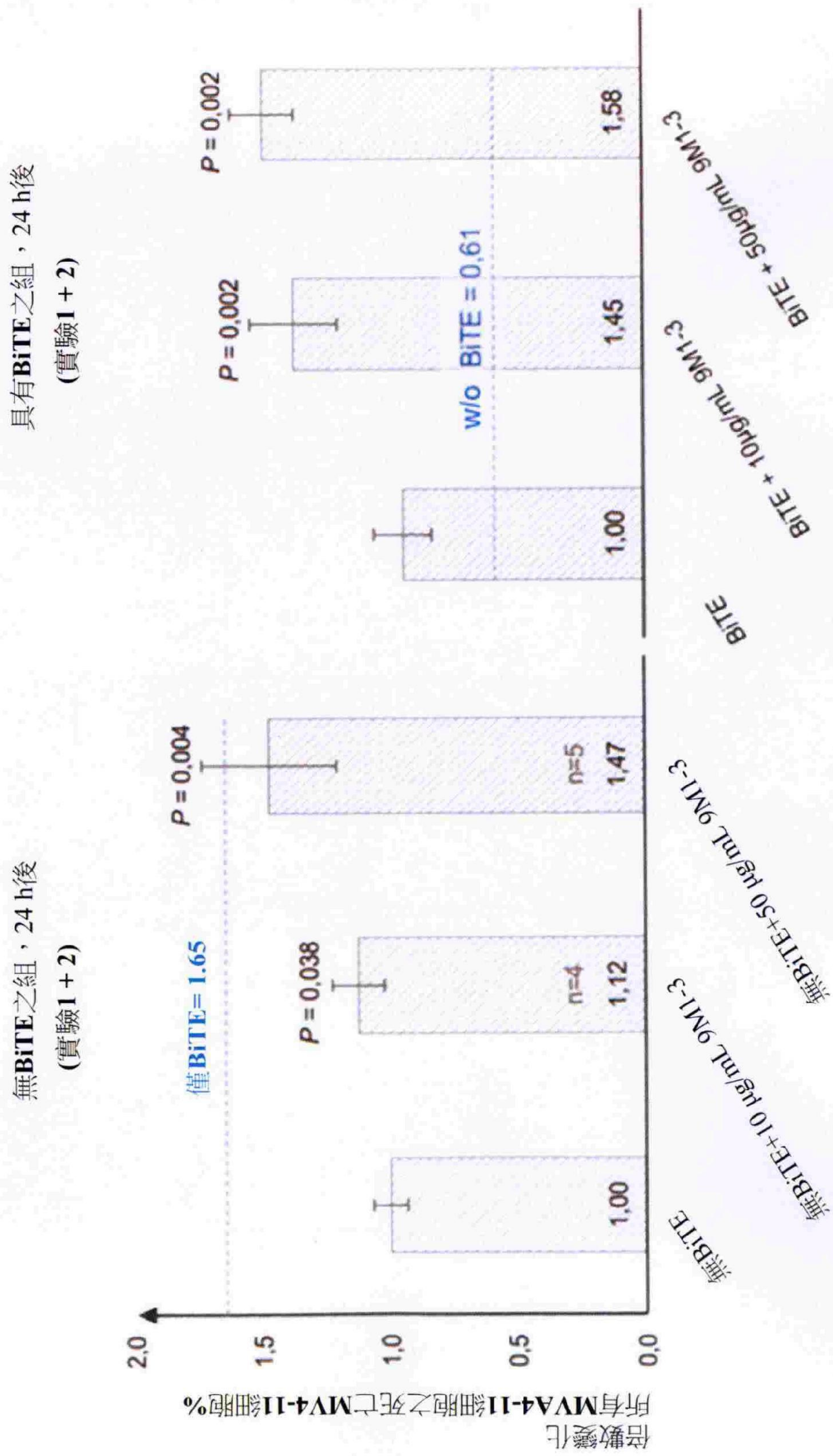


圖14

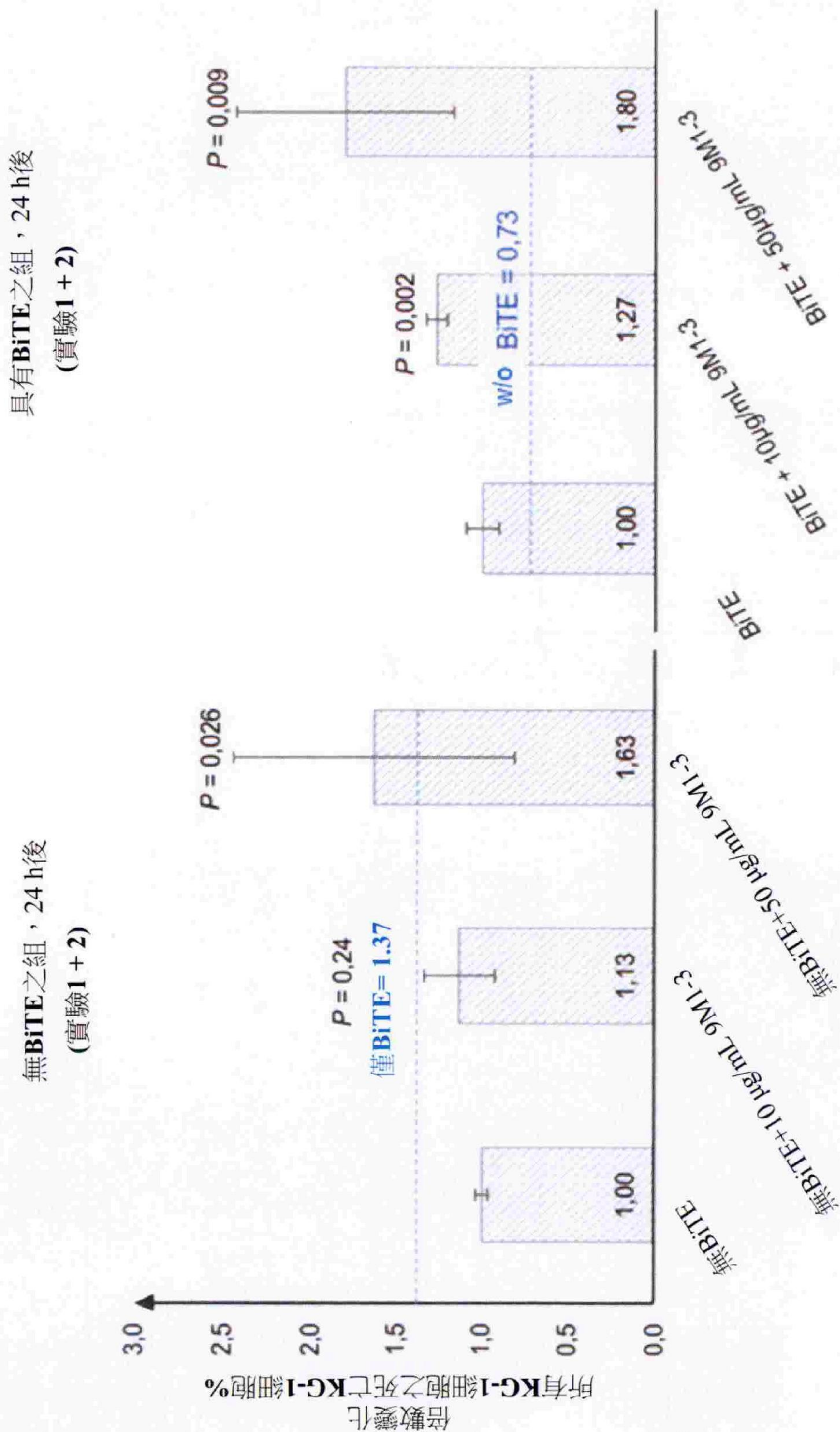


圖15

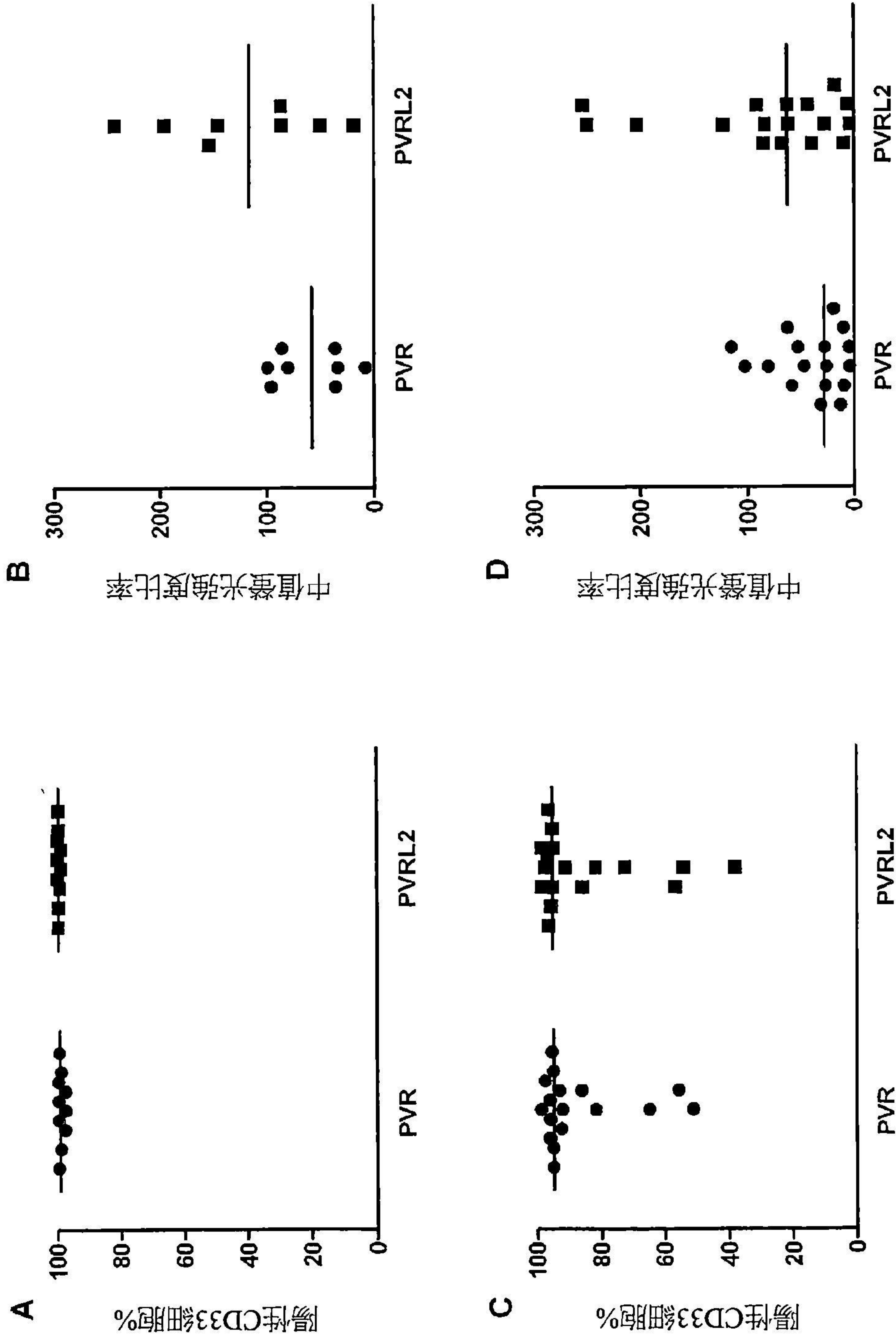


圖16

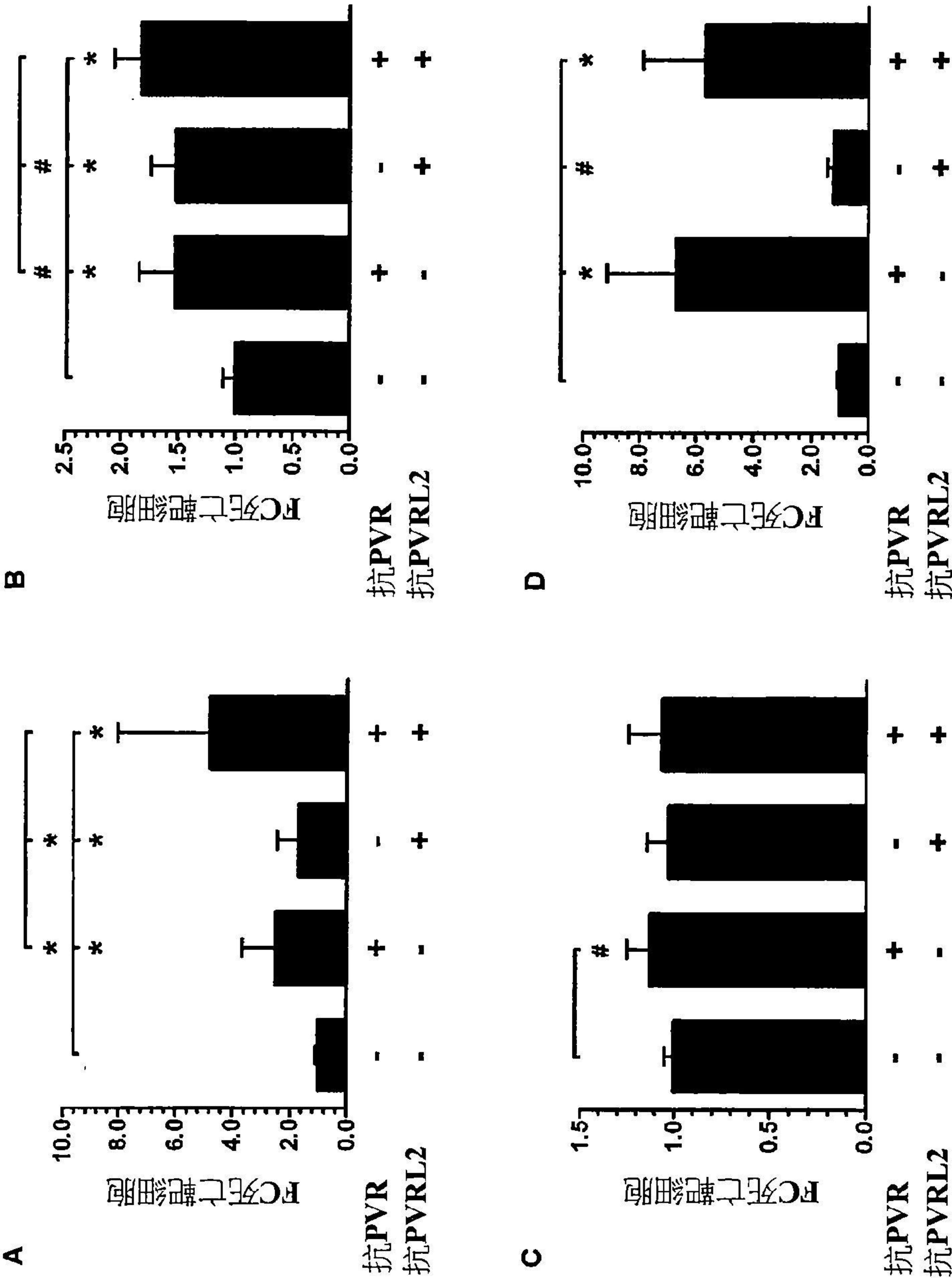


圖17

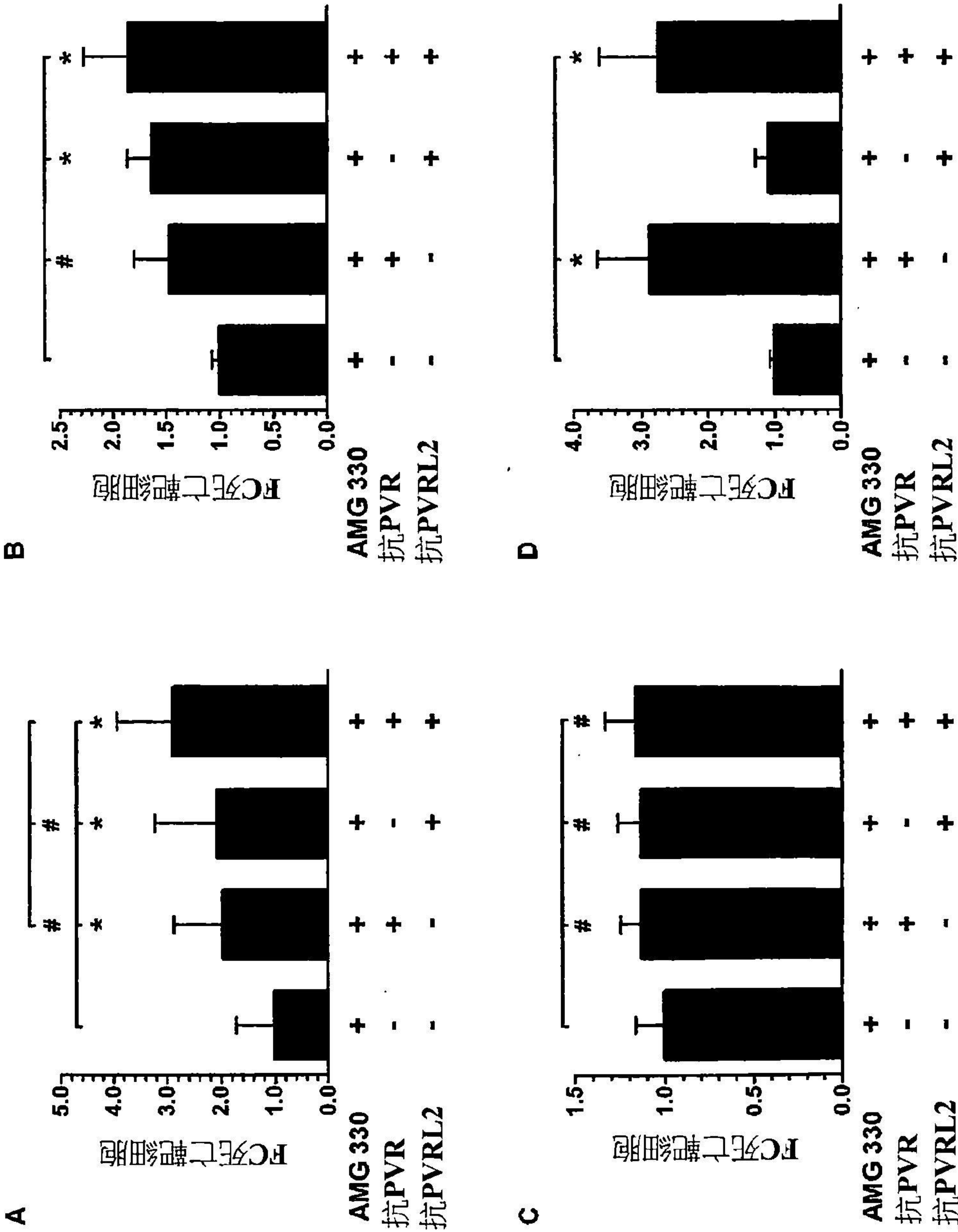


圖18

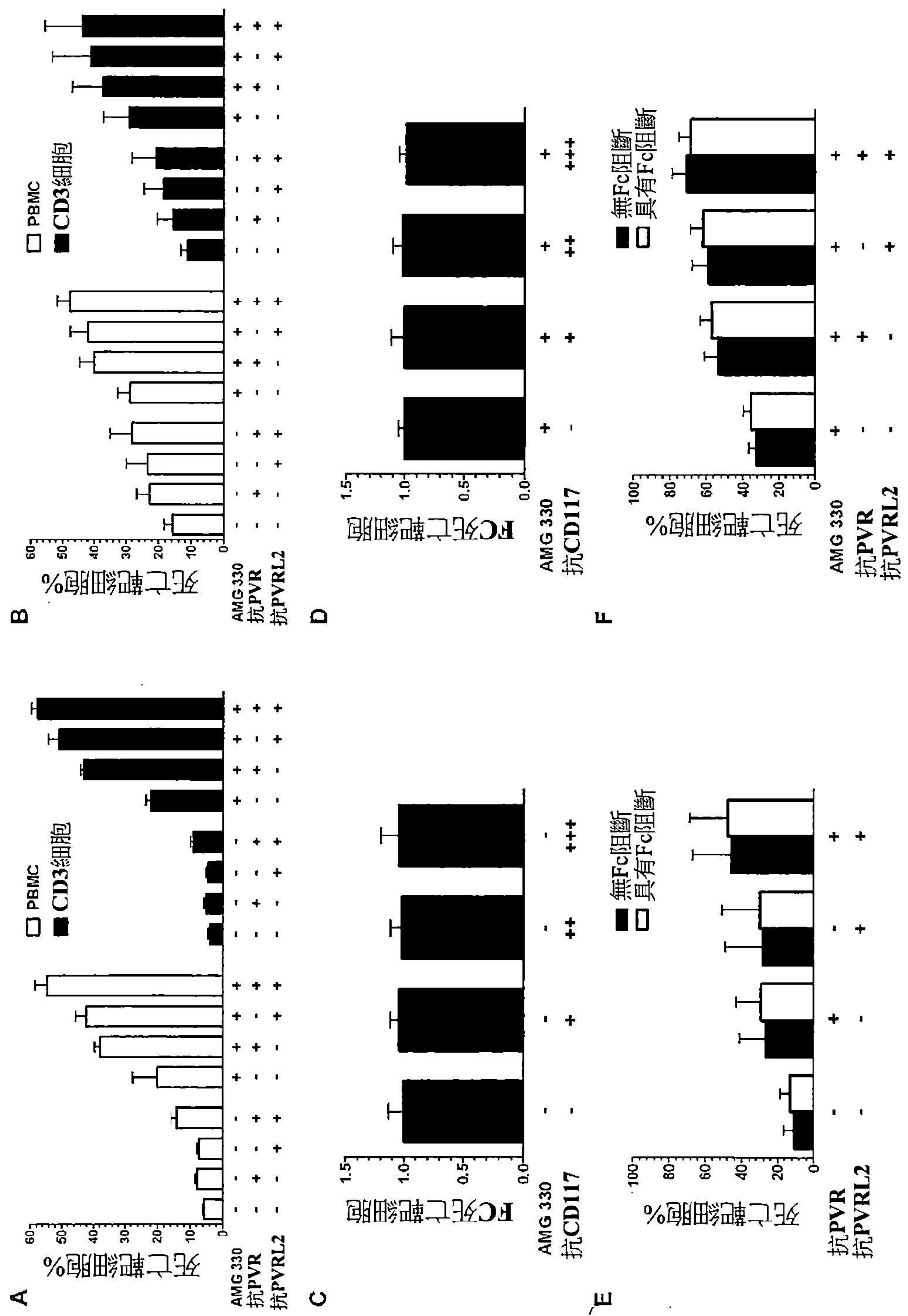


圖19

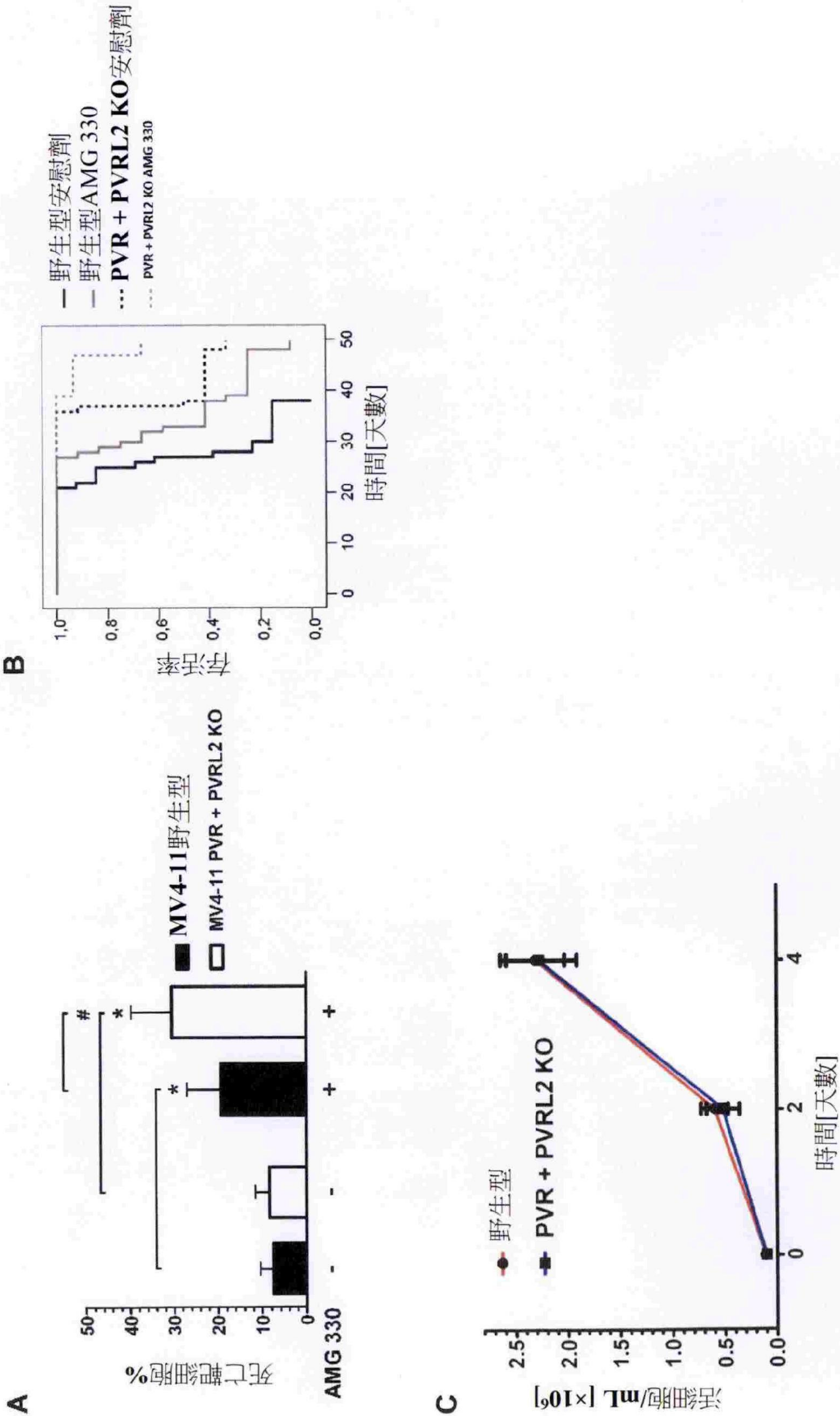


圖20

A

PVR (NCBI Ref Seq NM_006505.3)

靶向區 PAM

WT序列 CTGAGGATGTTCCGGGTTGCGCGTAGAGGATGAAGG 野生型蛋白質(417 AA)
PVR KO結果#1 CTGAGGATGTTCCGGGTTGCGC-TAGAGGATGAAGG 提前終止密碼子→截短蛋白質(AA 1-114)
PVR KO結果#2 CTGAGGATGTTCCGGGTTGCGCG--GAGGATGAAGG 提前終止密碼子→截短蛋白質(AA 1-116)
PVR KO結果#3 CTGAGGATGTTCCGGGTTGCGCG----GATGAAGG 提前終止密碼子→截短蛋白質(AA 1-115)

B

PVRL2 (NCBI Ref Seq NM_001042724.1)

PAM 靶向區 (反向互補定向)

WT序列 CATGGCCCGGGCGCTGCCCTCCTGCCGTCGAGATCGCCGACGCCGCTGCTGTGGCCGCTGCTG 野生型蛋白質(538 AA)
PVRL2 KO結果#1 CATGGCC-----GACGCCGCTGCTGTGGCCGCTGCTG 提前終止密碼子→截短蛋白質(AA 1-75)
PVRL2 KO結果#2 CATGGCC**AT**GG-----AG-----GA-----GCTG AA 3至21之缺失，2×麩胺酸之插入
PVRL2 KO結果#3 CATGGCCCGGGCGCTGCCCTCC**T**TGCCGTCGAGATCGCCGCGACGCCGCTGCTGTGGCCGCTGCTG 提前終止密碼子→截短蛋白質(AA 1-87)

圖21