



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114423499 A

(43) 申请公布日 2022. 04. 29

(21) 申请号 202080056153.1

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理有限公司 11262

(22) 申请日 2020.06.05

代理人 武晶晶

(30) 优先权数据

62/858,254 2019.06.06 US

62/978,662 2020.02.19 US

(51) Int. Cl.

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 37/02 (2006.01)

C07K 16/30 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

A61K 39/39 (2006.01)

A61K 47/68 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.02.07

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2020/036493 2020.06.05

(87) PCT国际申请的公布数据

W02020/247871 EN 2020.12.10

(71) 申请人 佳努克斯治疗公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 大卫·坎贝尔 拉梅什·巴特

托马斯·R·迪莱蒙多

权利要求书3页 说明书101页

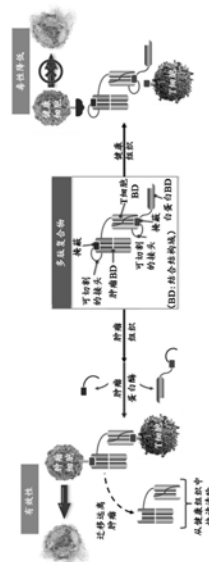
序列表66页 附图122页

(54) 发明名称

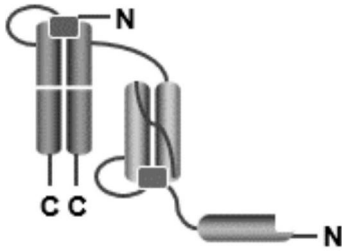
与肿瘤激活的T细胞衔接子相关的组合物和方法

(57) 摘要

本文提供了修饰的T细胞衔接子、其药物组合物以及核酸,以及制备和发现它们的方法。本文所述的修饰的T细胞衔接子通过肽和半衰期延长性分子进行修饰。



1. 一种多肽复合物, 包含根据以下构型的结构排列:



其中所述多肽复合物包含单链可变片段(scFv), 所述单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中所述scFv通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分(L<sub>1</sub>) 在所述scFv的N端而与肽(P<sub>1</sub>) 连接, 其中P<sub>1</sub>破坏所述scFv与效应细胞抗原的结合, 并且P<sub>1</sub>进一步与半衰期延长性分子连接; 和

与肿瘤细胞抗原结合的抗原识别分子, 其中所述抗原识别分子包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中所述抗原识别分子与所述scFv连接, 并且所述抗原识别分子进一步与P<sub>2</sub>和L<sub>2</sub>连接, 其中P<sub>2</sub>包含破坏所述抗原识别分子与所述肿瘤细胞抗原结合的肽; 并且L<sub>2</sub>包含使所述抗原识别分子与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

2. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述抗原识别分子是Fab或Fab'。

3. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述重链可变结构域与所述Fab重链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab轻链多肽的N端相连。

4. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述重链可变结构域与所述Fab轻链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab重链多肽的N端相连。

5. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述轻链可变结构域与所述Fab重链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab轻链多肽的N端相连。

6. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述轻链可变结构域与所述Fab轻链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab重链多肽的N端相连。

7. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述多肽复合物的分子量小于约110kDa。

8. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述重链可变结构域、所述轻链可变结构域、所述Fab重链多肽、所述Fab轻链多肽和所述半衰期延长性分子的组合分子量小于约100kDa。

9. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述肿瘤细胞抗原包含表皮生长因子受体(EGFR)、人表皮生长因子受体2(HER2) 或间皮素。

10. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述效应细胞抗原包含分化簇3(CD3)。

11. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述scFv包含选自莫罗单抗-CD3(OKT3)、奥昔组单抗(TRX4)、替利组单抗(MGA031)、维西珠单抗(Nuvion)、SP34、X35、VIT3、BMA030(BW264/56)、CLB-T3/3、CRIS7、YTH12.5、F111-409、CLB-T3.4.2、TR-66、WT32、SPv-T3b、11D8、XIII-141、XIII-46、XIII-87、12F6、T3/RW2-8C8、T3/RW2-4B6、OKT3D、M-T301、SMC2、F101.01、UCHT-1、WT-31、15865、15865v12、15865v16和15865v19中的互补决定区(CDR)。

12. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述scFv包含SP34的互补决定区(CDR)。

13. 根据权利要求1所述的多肽复合物, 其中所述scFv包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:68具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。

14. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>1</sub>通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、Pi-堆叠相互作用和H-键相互作用与所述scFv结合而破坏所述scFv与所述效应细胞抗原的结合。

15. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>1</sub>通过在抗原结合位点处或其附近与所述scFv结合而破坏所述scFv与所述效应细胞抗原的结合。

16. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>1</sub>包含长度为至少10个氨基酸且长度不超过20个氨基酸的氨基酸序列。

17. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>1</sub>与所述效应细胞抗原的氨基酸序列具有小于70%的序列同一性。

18. 根据权利要求10所述的多肽复合物,其中P<sub>1</sub>与CD3的氨基酸序列具有小于70%的序列同一性。

19. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>1</sub>包含根据SEQ ID NO:18、19、20、21、22、23、24、25、26、27或28的氨基酸序列。

20. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中L<sub>1</sub>包含尿激酶可切割的氨基酸序列、matriptase可切割的氨基酸序列、基质金属蛋白酶可切割的氨基酸序列或legumain可切割的氨基酸序列。

21. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中L<sub>1</sub>具有包括(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:30)、(GGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:31)、(GGGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:32)或(GSSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:33)的式,其中n是至少1的整数。

22. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中L<sub>1</sub>包含根据SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或55的氨基酸序列。

23. 根据权利要求22所述的多肽复合物,其中L<sub>1</sub>包含根据SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

24. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中所述半衰期延长性分子包含使所述半衰期延长性分子与P<sub>1</sub>相连的连接部分(L<sub>3</sub>)。

25. 根据权利要求24所述的多肽复合物,其中L<sub>3</sub>具有选自(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:30)、(GGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:31)、(GGGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:32)和(GSSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:33)中的式,其中n是至少1的整数。

26. 根据权利要求24所述的多肽复合物,其中L<sub>3</sub>包含根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列。

27. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中所述半衰期延长性分子包含抗体。

28. 根据权利要求27所述的多肽复合物,其中所述抗体包含单域抗体、单链可变片段或Fab。

29. 根据权利要求28所述的多肽复合物,其中所述单域抗体与白蛋白结合。

30. 根据权利要求28所述的多肽复合物,其中所述单域抗体包含10G或10GE。

31. 根据权利要求30所述的多肽复合物,其中所述单域抗体包含10G,并且所述单域抗体包含根据SEQ ID NO:52的氨基酸序列。

32. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>2</sub>通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、Pi-堆叠相互作用和H-键相互作用与所述抗原识别分子结合而破坏所述抗原识别分子与所述肿瘤细胞抗原的结合。

33. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中P<sub>2</sub>通过在抗原结合位点处或其附近与所述

抗原识别分子结合而破坏所述抗原识别分子与所述肿瘤细胞抗原的结合。

34. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中 $P_2$ 包含长度为至少10个氨基酸且长度不超过20个氨基酸的氨基酸序列。

35. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中 $P_2$ 与所述肿瘤细胞抗原的氨基酸序列具有小于70%的序列同一性。

36. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中所述肿瘤细胞抗原包含表皮生长因子受体(EGFR)。

37. 根据权利要求36所述的多肽复合物,其中 $P_2$ 包含根据SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6或7的氨基酸序列。

38. 根据权利要求36所述的多肽复合物,其中所述Fab轻链多肽包含与SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:57具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。

39. 根据权利要求36所述的多肽复合物,其中所述Fab重链多肽包含与SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59或SEQ ID NO:60具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。

40. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中所述肿瘤细胞抗原包含人表皮生长因子受体2(HER2)。

41. 根据权利要求40所述的多肽复合物,其中 $P_2$ 包含根据SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14、15、16或17的氨基酸序列。

42. 根据权利要求40所述的多肽复合物,其中所述Fab轻链多肽包含与SEQ ID NO:61具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。

43. 根据权利要求40所述的多肽复合物,其中所述Fab重链多肽包含与SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:63具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。

44. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中 $L_2$ 包含尿激酶可切割的氨基酸序列、matriptase可切割的氨基酸序列、基质金属蛋白酶可切割的氨基酸序列或legumain可切割的氨基酸序列。

45. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中 $L_2$ 具有包括 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:30)、 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:31)、 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:32)或 $(GSSGGS)_n$ (SEQ ID NO:33)的式,其中n是至少1的整数。

46. 根据权利要求1所述的多肽复合物,其中 $L_2$ 包含根据SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或55的氨基酸序列。

47. 根据权利要求46所述的多肽复合物,其中 $L_2$ 包含根据SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

48. 一种药物组合物,包含:

(i) 权利要求1-47中任一项所述的多肽复合物;和

(ii) 药学上可接受的赋形剂。

49. 一种分离的重组核酸分子,编码权利要求1-47中任一项所述的多肽或多肽复合物。

## 与肿瘤激活的T细胞衔接子相关的组合物和方法

### 交叉引用

[0001] 本申请要求于2019年6月6日提交的美国临时申请号62/858,254和于2020年2月19日提交的美国临时申请号62/978,662的权益,这些申请通过引用并入本文中。

### 序列表

[0002] 本申请包含已以ASCII格式以电子方式提交的序列表,并在此通过引用而整体并入。所述ASCII副本创建于2020年6月4日,命名为52426-716\_601\_SL.txt,大小为121,292字节。

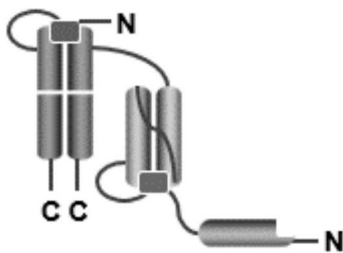
### 背景技术

[0003] 包含T细胞衔接子的基于蛋白质的疗法已被证明可有效治疗多种疾病。与任何治疗性类别一样,需要改进此类治疗的毒性和副作用,同时改进治疗性分子的半衰期。

### 发明内容

[0004] 修饰的T细胞衔接子可用于选择性破坏单独的细胞或细胞类型,例如肿瘤的癌细胞。此类修饰的T细胞衔接子诱导针对肿瘤的免疫应答以清除肿瘤。然而,目前使用修饰的T细胞衔接子的疗法可能具有毒性且无效。此外,此类修饰的T细胞衔接子可能具有较差的药代动力学特性(PK)。本文提供了修饰的T细胞衔接子,其降低健康组织中的毒性并因此提高安全性,同时具有改善的PK特性和消除肿瘤有效性。在一些实施方案中,本文所述的修饰的T细胞衔接子与肽连接,该肽阻断T细胞衔接子与健康组织中的其靶标的相互作用,从而减少靶标介导的药物处置(TMDD)。如本文所述的修饰的T细胞衔接子还与半衰期延长性分子(例如单域抗体)连接,与未修饰的T细胞衔接子相比,该半衰期延长性分子改善了修饰的T细胞衔接子的PK特征。

[0005] 在某些实施方案中,本文公开了包含根据以下构型的结构排列的多肽复合物:



其中所述多肽复合物包含单链可变片段(scFv),所述单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中所述scFv通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分(L<sub>1</sub>) 在所述scFv的N端而与肽(P<sub>1</sub>) 连接,其中P<sub>1</sub>破坏所述scFv与效应细胞抗原的结合,并且P<sub>1</sub>进一步与半衰期延长性分子连接;和与肿瘤细胞抗原结合的抗原识别分子,其中所述抗原识别分子包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中所述抗原识别分子与所述scFv连接,并且所述抗原识别分子进一步与P<sub>2</sub>和L<sub>2</sub>连接,其中P<sub>2</sub>包含破坏所述抗原识别分子与所述肿瘤细胞抗原结合的肽;并且L<sub>2</sub>包含使所述抗原识别分子与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。在一些实例中,所述抗原识别分子是Fab或Fab'。在一些实例中,所述

重链可变结构域与所述Fab重链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab轻链多肽的N端相连。在一些实例中,所述重链可变结构域与所述Fab轻链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab重链多肽的N端相连。在一些实例中,所述轻链可变结构域与所述Fab重链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab轻链多肽的N端相连。在一些实例中,所述轻链可变结构域与所述Fab轻链多肽的N端连接并且L<sub>2</sub>与所述Fab重链多肽的N端相连。在一些实例中,所述多肽复合物的分子量小于约110kDa。在一些实例中,所述重链可变结构域、轻链可变结构域、Fab重链多肽、Fab轻链多肽和半衰期延长性分子的组合分子量小于约100kDa。在一些实例中,所述肿瘤细胞抗原包含表皮生长因子受体(EGFR)、人表皮生长因子受体2(HER2)或间皮素。在一些实例中,所述效应细胞抗原包含分化簇3(CD3)。在一些实例中,所述scFv包含选自莫罗单抗(muromonab)-CD3(OKT3)、奥昔组单抗(otelixizumab)(TRX4)、替利组单抗(teplizumab)(MGA031)、维西珠单抗(visilizumab)(Nuvion)、SP34、X35、VIT3、BMA030(BW264/56)、CLB-T3/3、CRIS7、YTH12.5、F111-409、CLB-T3.4.2、TR-66、WT32、SPv-T3b、11D8、XIII-141、XIII-46、XIII-87、12F6、T3/RW2-8C8、T3/RW2-4B6、OKT3D、M-T301、SMC2、F101.01、UCHT-1、WT-31、15865、15865v12、15865v16和15865v19中的互补决定区(CDR)。在一些实例中,所述scFv包含SP34的互补决定区(CDR)。在一些实例中,所述scFv包含与SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67或SEQ ID NO:68具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实例中,P<sub>1</sub>通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、Pi-堆叠相互作用和H-键相互作用与所述scFv结合而破坏所述scFv与所述效应细胞抗原的结合。在一些实例中,P<sub>1</sub>通过在抗原结合位点处或其附近与所述scFv结合而破坏所述scFv与所述效应细胞抗原的结合。在一些实例中,P<sub>1</sub>包含长度为至少10个氨基酸且长度不超过20个氨基酸的氨基酸序列。在一些实例中,P<sub>1</sub>与所述效应细胞抗原的氨基酸序列具有小于70%的序列同一性。在一些实例中,P<sub>1</sub>与CD3的氨基酸序列具有小于70%的序列同一性。在一些实例中,P<sub>1</sub>包含根据SEQ ID NO:18、19、20、21、22、23、24、25、26、27或28的氨基酸序列。在一些实例中,L<sub>1</sub>包含尿激酶可切割的氨基酸序列、matriptase可切割的氨基酸序列、基质金属蛋白酶可切割的氨基酸序列或legumain可切割的氨基酸序列。在一些实例中,L<sub>1</sub>具有包括(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:30)、(GGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:31)、(GGGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:32)或(GSSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:33)的式,其中n是至少1的整数。在一些实例中,L<sub>1</sub>包含根据SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或55的氨基酸序列。在一些实例中,L<sub>1</sub>包含根据SEQ ID NO:42的氨基酸序列。在一些实例中,所述半衰期延长性分子包含使所述半衰期延长性分子与P<sub>1</sub>相连的连接部分(L<sub>3</sub>)。在一些实例中,L<sub>3</sub>具有选自(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:30)、(GGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:31)、(GGGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:32)和(GSSGGS)<sub>n</sub>(SEQ ID NO:33)中的式,其中n是至少1的整数。在一些实例中,L<sub>3</sub>包含根据SEQ ID NO:51的氨基酸序列。在一些实例中,所述半衰期延长性分子包含抗体。在一些实例中,所述抗体包含单域抗体、单链可变片段或Fab。在一些实例中,所述单域抗体与白蛋白结合。在一些实例中,所述单域抗体包含10G或10GE。在一些实例中,所述单域抗体包含10G,并且所述单域抗体包含根据SEQ ID NO:52的氨基酸序列。在一些实例中,P<sub>2</sub>通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、Pi-堆叠相互作用和H-键相互作用与所述抗原识别分子结合而破坏所述抗原识别分子与所述肿瘤细胞抗原的结合。在一些实例中,P<sub>2</sub>通过在抗原结合位点处或其附近与所述抗原识别分子结合而破坏所述抗原识别分子与所述肿瘤细胞抗原的结合。在一些实例中,P<sub>2</sub>包含长度为至少10个氨基

酸且长度不超过20个氨基酸的氨基酸序列。在一些实例中， $P_2$ 与所述肿瘤细胞抗原的氨基酸序列具有小于70%的序列同一性。在一些实例中，所述肿瘤细胞抗原包含表皮生长因子受体(EGFR)。在一些实例中， $P_2$ 包含根据SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6或7的氨基酸序列。在一些实例中，所述Fab轻链多肽包含与SEQ ID NO:56或SEQ ID NO:57具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实例中，所述Fab重链多肽包含与SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59或SEQ ID NO:60具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实例中，所述肿瘤细胞抗原包含人表皮生长因子受体2(HER2)。在一些实例中， $P_2$ 包含根据SEQ ID NO:8、9、10、11、12、13、14、15、16或17的氨基酸序列。在一些实例中，所述Fab轻链多肽包含与SEQ ID NO:61具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实例中，所述Fab重链多肽包含与SEQ ID NO:62或SEQ ID NO:63具有至少85%序列同一性的氨基酸序列。在一些实例中， $L_2$ 包含尿激酶可切割的氨基酸序列、matriptase可切割的氨基酸序列、基质金属蛋白酶可切割的氨基酸序列或legumain可切割的氨基酸序列。在一些实例中， $L_2$ 具有包括 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:30)、 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:31)、 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:32)或 $(GSSGGS)_n$ (SEQ ID NO:33)的式，其中n是至少1的整数。在一些实例中， $L_2$ 包含根据SEQ ID NO:34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50或55的氨基酸序列。在一些实例中， $L_2$ 包含根据SEQ ID NO:42的氨基酸序列。

[0006] 在某些实施方案中，本文公开了药物组合物，包含：(i)如本文所述的多肽复合物；和(ii)药学上可接受的赋形剂。

[0007] 在某些实施方案中，本文公开了编码本文所述的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子。

#### 援引并入

[0008] 本说明书中提及的所有出版物、专利和专利申请均以如同每个单独的出版物、专利或专利申请被具体地且单独地指出通过引用并入的相同程度通过引用而并入本文中。

#### 附图说明

[0009] 本公开内容的新颖特征在所附权利要求中具体阐述。通过参考阐述其中利用本公开内容的原理的说明性实施方案的以下详细描述和附图，将获得对本公开内容的特征和优点的更好理解，在附图中：

[0010] 图1A-1G示出了西妥昔单抗和曲妥珠单抗的制备和生物素化。在噬菌体淘选之前，使用EZ-link Sulfo-NHS-LC-LC-生物素试剂对抗体进行生物素化，并评价它们结合同源抗原的能力。图1A示出了使用在溶液中的3nM、1nM、0.3nM、0.1nM、0.03nM和0nM Ab-1、Ab-3，与EGFR-生物素结合的裸Ab-1、Ab-3。图1B说明了使用在溶液中的25nM、12.5nM、6.25nM、3.125nM、1.5625nM和0nM EGFR，与生物素化的Ab-1、Ab-3结合的EGFR。图1C示出了使用在溶液中的25nM、12.5nM、6.25nM、3.125nM、1.56nM、0.78nM、0.39nM和0nM Ab-6、Ab-7，与HER2-生物素结合的裸Ab-6、Ab-7。图1D示出了使用在溶液中的70nM HER2，与生物素化的Ab-6、Ab-7结合的HER2。图1E示出了使用在溶液中的0nM HER2，与生物素化的Ab-6、Ab-7结合的HER2。图1F示出了使用在溶液中的3nM、1nM、0.3nM、0.1nM、0.03nM和0nM Ab-9、Ab-10，与CD3-生物素结合的裸Ab-9、Ab-10。图1G示出了使用在溶液中的200nM和0nM CD3，与生物素化的Ab-9、Ab-10结合的CD3。

[0011] 图2A-2C示出了使用噬菌体展示的肽淘选能够发现抗体抑制性肽。肽通过p3或p8噬菌体蛋白融合进行展示,并针对曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)进行生物淘选。图2A描绘了包括标准结合、洗涤、洗脱和扩增循环的淘选过程。多轮淘选后洗脱的噬菌体用于感染细菌,铺在琼脂上,挑取并扩增单独的菌落,随后进行结合评估和测序。图按出现顺序分别公开了SEQ ID NO 112-113。图2B示出了通过ELISA表征的克隆噬菌粒与板捕获的Ab-6、Ab-7的结合。在中性亲和素(neutravidin)包被的板上捕获生物素化抗体,随后与噬菌体一起孵育。使用抗m13 HRP偶联抗体检测结合的噬菌体。将生物素化抗体捕获的与中性亲和素结合的噬菌体与单独地与中性亲和素结合的噬菌体进行比较。图2C示出了不结合中性亲和素的Ab-6、Ab-7的克隆噬菌体结合物,评价它们在存在和不存在同源抗原的情况下的结合能力。使用6nM或20nM的可溶性HER2预孵育来抑制噬菌体结合被用作指示在抗体结合位点内或附近结合的克隆噬菌体引起HER2识别。

[0012] 图3A-3K示出了通过BLI测定的曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与示例肽或HER2的动力学结合。图3A示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-8的动力学结合。图3B示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-9的动力学结合。图3C示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-10的动力学结合。图3D示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-11的动力学结合。图3E示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-12的动力学结合。图3F示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-13的动力学结合。图3G示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-14的动力学结合。图3H示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-15的动力学结合。图3I示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-16的动力学结合。图3J示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与肽-17的动力学结合。图3K示出了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与Her2的动力学结合。

[0013] 图4A-4H示出了通过BLI测定的西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与示例肽或EGFR的动力学结合。图4A示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-1的动力学结合。图4B示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-2的动力学结合。图4C示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-3的动力学结合。图4D示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-4的动力学结合。图4E示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-5的动力学结合。图4F示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-6的动力学结合。图4G示出了西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与肽-7的动力学结合。图4H示出了空白品。

[0014] 图5A-5L示出了通过BLI测定的SP34(Ab-9、Ab-10)与示例肽或CD3的动力学结合。图5A示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-19的动力学结合。图5B示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-20的动力学结合。图5C示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-21的动力学结合。图5D示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-22的动力学结合。图5E示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-23的动力学结合。图5F示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-24的动力学结合。图5G示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-26的动力学结合。图5H示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-26的动力学结合。图5I示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-27的动力学结合。图5J示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-28的动力学结合。图5K示出了SP34(Ab-9、Ab-10)与肽-18的动力学结合。图5L示出了空白品。

[0015] 图6A-6C示出了通过ELISA测定的平衡结合。图6A示出了通过ELISA测定的曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)与示例肽的平衡结合。图6B示出了通过ELISA测定的西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)与示例肽的平衡结合。图6C示出了通过ELISA测定的SP34(Ab-9、Ab-10)与示例肽的平衡结合。

[0016] 图7A-7F示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽抑制2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。图

7A示出了通过BLI测定在不存在肽的情况下2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。图7B示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-8抑制2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。图7C示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-9抑制2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。图7D示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-10抑制2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。图7E示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-11抑制2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。图7F示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-12抑制2nM Ab-6、Ab-7与HER2的动力学结合。

[0017] 图8A-8I示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8A示出了通过BLI测定在不存在肽的情况下2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8B示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-1抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8C示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-2抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8D示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-3抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8E示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-4抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8F示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-5抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8G示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-6抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8H示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-7抑制2nM Ab-1、Ab-3与EGFR的动力学结合。图8I示出了空白品。

[0018] 图9A-9L示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9A示出了通过BLI测定在不存在肽的情况下2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9B示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-18抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9C示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-19抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9D示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-20抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9E示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-21抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9F示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-22抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9G示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-23抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9H示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-24抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9I示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-25抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9J示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-26抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9K示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-26抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。图9L示出了通过BLI测定100 $\mu$ M肽-28抑制2nM Ab-9、Ab-10与CD3的动力学结合。

[0019] 图10A-10C示出了剂量依赖性抑制。图10A示出了通过ELISA测定肽以剂量依赖性方式抑制0.1nM Ab-6、Ab-7结合HER2。图10B示出了通过ELISA测定肽以剂量依赖性方式抑制0.2nM Ab-1、Ab-3结合EGFR。图10C示出了通过ELISA测定肽以剂量依赖性方式抑制1nM Ab-9、Ab-10结合CD3。

[0020] 图11描绘了肿瘤激活的T细胞衔接分子或多肽复合物中的肿瘤特异性活性和交叉PK概念。

[0021] 图12描绘了常规双掩蔽和单掩蔽多肽复合物设计。

[0022] 图13A-13C示出了非掩蔽多肽复合物PC-1的分析。图13A示出了非掩蔽多肽复合物PC-1的SDS-PAGE。图13B示出了非掩蔽多肽复合物PC-1的SEC-FPLC。图13C示出了非掩蔽多肽复合物PC-1的液相色谱-质谱(LC-MS)分析。

[0023] 图14A-14C示出了掩蔽多肽复合物PC-2的分析。图14A示出了掩蔽多肽复合物PC-2的SDS-PAGE。图14B示出了掩蔽多肽复合物PC-2的SEC-FPLC。图14C示出了掩蔽多肽复合物

PC-2的液相色谱-质谱(LC-MS)分析。

[0024] 图15A-15C示出了掩蔽多肽复合物PC-3的分析。图15A示出了掩蔽多肽复合物PC-3的SDS-PAGE。图15B示出了掩蔽多肽复合物PC-3的SEC-FPLC。图15C示出了掩蔽多肽复合物PC-3的液相色谱-质谱(LC-MS)分析。

[0025] 图16A-16C示出了掩蔽多肽复合物PC-4的分析。图16A示出了掩蔽多肽复合物PC-4的SDS-PAGE。图16B示出了掩蔽多肽复合物PC-4的SEC-FPLC。图16C示出了掩蔽多肽复合物PC-4的液相色谱-质谱(LC-MS)分析。

[0026] 图17A-17B示出了掩蔽多肽复合物PC-5的分析。图17A示出了掩蔽多肽复合物PC-5的SDS-PAGE。图17B示出了掩蔽多肽复合物PC-5的SEC-FPLC。

[0027] 图18A-18C示出了掩蔽多肽复合物PC-6的分析。图18A示出了掩蔽多肽复合物PC-6的SDS-PAGE。图18B示出了掩蔽多肽复合物PC-6的SEC-FPLC。图18C示出了掩蔽多肽复合物PC-6的液相色谱-质谱(LC-MS)分析。

[0028] 图19A-19B示出了掩蔽多肽复合物PC-7的分析。图19A示出了掩蔽多肽复合物PC-7的SDS-PAGE。图19B示出了掩蔽多肽复合物PC-7的SEC-FPLC。

[0029] 图20A-20B示出了非掩蔽多肽复合物PC-8的分析。图20A示出了非掩蔽多肽复合物PC-8的SDS-PAGE。图20B示出了非掩蔽多肽复合物PC-8的SEC-FPLC。

[0030] 图21A-21B示出了掩蔽多肽复合物PC-9的分析。图21A示出了掩蔽多肽复合物PC-9的SDS-PAGE。图21B示出了掩蔽多肽复合物PC-9的SEC-FPLC。

[0031] 图22A-22B示出了掩蔽多肽复合物PC-10的分析。图22A示出了掩蔽多肽复合物PC-10的SDS-PAGE。图22B示出了掩蔽多肽复合物PC-10的SEC-FPLC。

[0032] 图23A-23B示出了非掩蔽多肽复合物PC-11的分析。图23A示出了非掩蔽多肽复合物PC-11的SDS-PAGE。图23B示出了非掩蔽多肽复合物PC-11的SEC-FPLC。

[0033] 图24A-24B示出了掩蔽多肽复合物PC-12的分析。图24A示出了掩蔽多肽复合物PC-12的SDS-PAGE。图24B示出了掩蔽多肽复合物PC-12的SEC-FPLC。

[0034] 图25示出了通过ELISA测定与来自不同物种的白蛋白结合的多肽复合物。HAS=人血清白蛋白;CSA=食蟹猴(cynomolgus)血清白蛋白;MSA=小鼠血清白蛋白;BSA=牛血清白蛋白

[0035] 图26A-26D示出了通过BLI测定的多肽复合物与HER2的动力学结合。图26A示出了非掩蔽多肽复合物PC-11与HER2的结合。图26B示出了掩蔽多肽复合物PC-12与HER2的结合。图26C示出了用MTSP1处理的掩蔽多肽复合物PC-12与HER2的结合。图26D示出了空白品。

[0036] 图27A-27H示出了通过BLI测定在存在牛血清白蛋白(BSA)缓冲液的情况下多肽复合物与EGFR的动力学结合。图27A示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-1与EGFR的动力学结合。图27B示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-1与EGFR的动力学结合。图27C示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-2与EGFR的动力学结合。图27D示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-2与EGFR的动力学结合。图27E示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-3与EGFR的动力学结合。图27F示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-3与EGFR的动力学结合。图27G示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-10与EGFR的动力学结合。图27H示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-6与EGFR的动力学结合。

[0037] 图28A-28R示出了通过BLI测定在存在人血清白蛋白(HSA)缓冲液的情况下多肽复

合物与EGFR的动力学结合。图28A示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-1与EGFR的动力学结合。图28B示出了在存在HSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-1与EGFR的动力学结合。图28C示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-2与EGFR的动力学结合。图28D示出了在存在HSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-2与EGFR的动力学结合。图28E示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-3与EGFR的动力学结合。图28F示出了在存在HSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-3与EGFR的动力学结合。图28G示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-4与EGFR的动力学结合。图28H示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-4与EGFR的动力学结合。图28I示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-5与EGFR的动力学结合。图28J示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-5与EGFR的动力学结合。图28K示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-7与EGFR的动力学结合。图28L示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-7与EGFR的动力学结合。图28M示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-8与EGFR的动力学结合。图28N示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-8与EGFR的动力学结合。图28O示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-9与EGFR的动力学结合。图28P示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-9与EGFR的动力学结合。图28Q示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-10与EGFR的动力学结合。图28R示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-10与EGFR的动力学结合。

[0038] 图29A-29L示出了通过BLI测定在存在牛血清白蛋白 (BSA) 缓冲液的情况下多肽复合物与CD3的动力学结合。图29A示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-1与CD3的动力学结合。图29B示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-1与CD3的动力学结合。图29C示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-2与CD3的动力学结合。图29D示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-2与CD3的动力学结合。图29E示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-3与CD3的动力学结合。图29F示出了在存在BSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-3与CD3的动力学结合。图29G示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-10与CD3的动力学结合。图29H示出了在存在BSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-10与CD3的动力学结合。图29I示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-12与CD3的动力学结合。图29J示出了在存在BSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-12与CD3的动力学结合。图29K示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-11与CD3的动力学结合。图29L示出了在存在BSA缓冲液的情况下PC-6与CD3的动力学结合。

[0039] 图30A-30R示出了通过BLI测定在存在人血清白蛋白 (HSA) 缓冲液的情况下多肽复合物与CD3的动力学结合。图30A示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-1与CD3的动力学结合。图30B示出了在存在HSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-1与CD3的动力学结合。图30C示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-2与CD3的动力学结合。图30D示出了在存在HSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-2与CD3的动力学结合。图30E示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-3与CD3的动力学结合。图30F示出了在存在HSA缓冲液的情况下用uPa处理的PC-3与CD3的动力学结合。图30G示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-4与CD3的动力学结合。图30H示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-4与CD3的动力学结合。图30I示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-5与CD3的动力学结合。图30J示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-5与CD3的动力学结合。图30K示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-7与CD3的动力学结合。图30L示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-7与CD3的动力学结合。图30M示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-8与CD3的动力学结合。图30N示出了在存

在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-8与CD3的动力学结合。图300示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-9与CD3的动力学结合。图30P示出了在存在HSA缓冲液的情况下用MTSP1处理的PC-9与CD3的动力学结合。图30Q示出了在存在HSA缓冲液的情况下PC-6与CD3的动力学结合。图30R示出了空白品。

[0040] 图31示出了通过ELISA测定在含有牛血清白蛋白 (BSA) 或人血清白蛋白 (HSA) 的缓冲液中多肽复合物与HER2的平衡结合。

[0041] 图32A-32C示出了在蛋白酶处理之前或之后,通过ELISA测定在含有BSA或HSA的缓冲液中多肽复合物与EGFR的平衡结合。图32A示出了在uPa处理之前或之后,在含有HSA的缓冲液中多肽复合物与EGFR的平衡结合。图32B示出了在uPa处理之前或之后,在含有BSA的缓冲液中多肽复合物与EGFR的平衡结合。图32C示出了在MTSP1处理之前或之后,在含有BSA或HSA的缓冲液中多肽复合物与EGFR的平衡结合。

[0042] 图33A-33D示出了在蛋白酶处理之前或之后,通过ELISA测定在含有BSA或HSA的缓冲液中多肽复合物与CD3的平衡结合。图33A示出了在uPa处理之前或之后,通过ELISA测定在含有HSA的缓冲液中多肽复合物与CD3的平衡结合。图33B示出了在MTSP1处理之前或之后,通过ELISA测定在含有BSA的缓冲液中多肽复合物与CD3的平衡结合。图33C示出了在MTSP1处理之前或之后,通过ELISA测定在含有HSA的缓冲液中多肽复合物与CD3的平衡结合。图33D示出了在MTSP1处理之前或之后,通过ELISA测定在含有BSA的缓冲液中多肽复合物与CD3的平衡结合。

[0043] 图34示出了通过流式细胞术测定在人T细胞表面上形成的细胞CD3、多肽复合物和EGFR四聚体三元复合物。

[0044] 图35示出了通过流式细胞术测定在HCT116细胞表面上形成的细胞EGFR、多肽复合物和CD3四聚体三元复合物。

[0045] 图36示出了通过LDH-G10测定多肽复合物介导的针对肿瘤靶细胞HCC1569的细胞毒性。

[0046] 图37示出了通过IFN  $\gamma$  ELISA测定多肽复合物介导的针对肿瘤靶细胞HCC1569的T细胞激活。

[0047] 图38示出了使用实时细胞分析仪 (RTCA) 测定多肽复合物介导的HCC1569肿瘤细胞杀伤。

[0048] 图39A-39C示出了通过LDH-G10测定多肽复合物介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的细胞毒性。图39A示出了在uPa处理之前或之后,通过LDH-G10测定多肽复合物 (PC-1、PC-2、PC-3) 介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的细胞毒性。图39B示出了在MTSP1处理之前或之后,通过LDH-G10测定多肽复合物 (PC-4) 介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的细胞毒性。图39C示出了在MTSP1处理之前或之后,通过LDH-G10测定多肽复合物 (PC-10) 介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的细胞毒性。

[0049] 图40A-40C示出了通过IFN  $\gamma$  ELISA测定多肽复合物介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的T细胞激活。图40A示出了在uPa处理之前或之后,通过IFN  $\gamma$  ELISA测定多肽复合物 (PC-1、PC-2、PC-3) 介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的T细胞激活。图40B示出了在MTSP1处理之前或之后,通过IFN  $\gamma$  ELISA测定多肽复合物 (PC-4) 介导的针对肿瘤靶细胞HCT116的T细胞激活。图40C示出了在MTSP1处理之前或之后,通过IFN  $\gamma$  ELISA测定多肽复合物 (PC-10) 介导的针

对肿瘤靶细胞HCT116的T细胞激活。

[0050] 图41示出了使用实时细胞分析仪 (RTCA) 测定多肽复合物 (PC-8、PC-4) 介导的HCT116肿瘤细胞杀伤。

[0051] 图42示出了PC-8和PC-4小鼠药代动力学。

[0052] 图43示出了荷瘤NCG小鼠中的HCT116生长动力学。

[0053] 图44示出了随着时间小鼠体重。

[0054] 图45描绘了实施例5中使用的多肽复合物。

[0055] 图46示出了食蟹猴中的TRACT血浆浓度 (nM)。

[0056] 图47A-47F示出了在多肽复合物分子给药后食蟹猴血浆中促炎性细胞因子的释放。图47A示出了血浆IFN  $\gamma$  浓度 (pg/mL)。图47B示出了血浆TNF $\alpha$ 浓度 (pg/mL)。图47C示出了血浆IL-6浓度 (pg/mL)。图47D示出了血浆IL-5浓度 (pg/mL)。图47E示出了血浆IL-4浓度 (pg/mL)。图47F示出了血浆IL-2浓度 (pg/mL)。

[0057] 图48A-48C示出了多肽复合物给药后来自食蟹猴的PBMC群。图48A示出了呈CD3+的PBMC%。图48B示出了呈CD69+的CD3+细胞%。图48C示出了呈Ki-67+的CD3+细胞%。

[0058] 图49A-49D示出了在食蟹猴中多肽复合物给药后的临床化学和血液学。图49A示出了多肽复合物给药后随时间的淋巴细胞 (LYM) 浓度。图49B示出了多肽复合物给药后随时间的天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 浓度。图49C示出了多肽复合物给药后随时间的白蛋白 (ALB) 浓度。图49D示出了多肽复合物给药后随时间的丙氨酸 (alamine) 氨基转移酶 (ALT) 浓度。

[0059] 图50A-50P示出了本文所述的多肽复合物的示例性方案。

## 具体实施方式

[0060] 虽然本公开内容的优选实施方案已经在本文中示出和描述,但对于本领域技术人员而言显而易见,这些实施方案仅作为实例提供。在不背离本公开内容的情况下,本领域技术人员现将想到许多变化、改变和替换。应当理解,在实践本公开内容时,可以采用本文描述的本公开内容的实施方案的各种替代方案。以下权利要求旨在限定本公开内容的范围并且由此涵盖这些权利要求及其等同方案的范围内的方法和结构。

### 某些定义

[0061] 本文使用的术语仅用于描述特定情况,并非旨在进行限制。如本文所用,单数形式“一个(a)”、“一种(an)”和“该(the)”也旨在包括复数形式,除非上下文另有明确指示。此外,如果在具体实施方式和/或权利要求中使用术语“包括(including、includes)”、“具有(having、has、with)”或其变体,此类术语旨在以类似于术语“包含(comprising)”的方式包含在内。

[0062] 术语“约”或“大约”意指在由本领域普通技术人员确定的特定值的可接受误差范围内,这将部分取决于如何测量或确定该值,例如,测量系统的限制。例如,根据给定值中的实践,“约”可以表示在1个或超过1个标准偏差内。在本申请和权利要求中描述特定值的情况下,除非另有说明,否则术语“约”应被假定为表示特定值的可接受误差范围。

[0063] 如本文所用,“片段”是指包含少于全长氨基酸序列的肽或多肽。

[0064] 如本文所用,“抗原结合位点”是指多肽的与抗原相互作用的区域。抗原结合位点包括与抗原直接相互作用的氨基酸残基以及在该抗原附近但可能不与该抗原直接相互作用

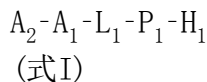
用的那些氨基酸残基。

多肽或多肽复合物。

[0065] 在一些实施方案中,本文公开了包含半衰期延长性分子的多肽或多肽复合物。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物与肿瘤细胞抗原结合。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物与效应细胞抗原结合。

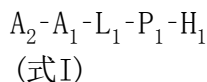
[0066] 在进一步的实施方案中,本文所述的多肽或多肽复合物具有用于增强组织渗透和分布的最佳分子量。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量为约80kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量为约90kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量为约100kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量为约110kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量为约120kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量为约130kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量小于约80kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量小于约90kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量小于约100kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量小于约110kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量小于约120kDa。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物的分子量小于约130kDa。

[0067] 在一些实施方案中,本文公开了根据式I的多肽或多肽复合物:



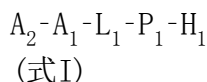
其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子;以及 $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0068] 在一些实施方案中,本文公开了根据式I的多肽或多肽复合物:



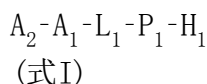
其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子;以及 $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0069] 在一些实施方案中,本文公开了包含式I的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子;以及 $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

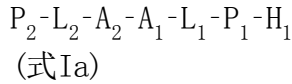
[0070] 在一些实施方案中,本文公开了包含式I的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子;以及 $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。在一些实施方案中,第一靶抗原包含肿瘤细胞抗原并

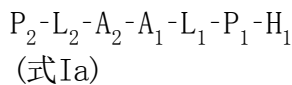
且第二靶抗原包含效应细胞抗原。在一些实施方案中,第一靶抗原包含效应细胞抗原并且第二靶抗原包含肿瘤细胞抗原。在一些实施方案中,当 $L_1$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割时,式I的多肽或多肽复合物与靶细胞结合。在一些实施方案中,当 $L_1$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割时,式I的多肽与效应细胞结合。

[0071] 在一些实施方案中,本文公开了根据式Ia的多肽或多肽复合物:



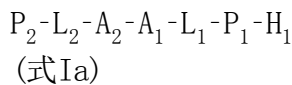
其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子; $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;以及 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0072] 在一些实施方案中,本文公开了根据式Ia的多肽或多肽复合物:



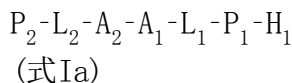
其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子; $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 是与 $A_2$ 结合的肽;以及 $L_2$ 是使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0073] 在一些实施方案中,本文公开了包含式Ia的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子; $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;以及 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

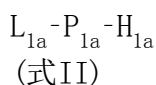
[0074] 在一些实施方案中,本文公开了包含式Ia的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子; $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 是与 $A_2$ 结合的肽;以及 $L_2$ 是使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0075] 在一些实施方案中,多肽或多肽复合物包含修饰的氨基酸、非天然氨基酸、修饰的非天然氨基酸或其组合。在一些实施方案中,修饰的氨基酸或修饰的非天然氨基酸包含翻译后修饰。

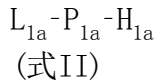
[0076] 在一些实施方案中,本文进一步公开了根据式II的多肽或多肽复合物:



其中: $L_{1a}$ 包含肿瘤特异性蛋白酶切割的连接部分,所述连接部分当未被切割时使

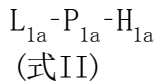
$P_{1a}$ 与抗原识别分子相连,该抗原识别分子与靶抗原结合并且; $P_{1a}$ 包含当 $L_{1a}$ 未被切割时与抗原识别分子结合的肽;以及 $H_{1a}$ 包含半衰期延长性分子。

[0077] 在一些实施方案中,本文进一步公开了根据式II的多肽或多肽复合物:



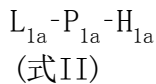
其中: $L_{1a}$ 是肿瘤特异性蛋白酶切割的连接部分,所述连接部分当未被切割时使 $P_{1a}$ 与抗原识别分子相连,该抗原识别分子与靶抗原结合并且; $P_{1a}$ 是当 $L_{1a}$ 未被切割时与抗原识别分子结合的肽;以及 $H_{1a}$ 是半衰期延长性分子。

[0078] 在一些实施方案中,本文进一步公开了包含式II的多肽或多肽复合物:



其中: $L_{1a}$ 包含肿瘤特异性蛋白酶切割的连接部分,所述连接部分当未被切割时使 $P_{1a}$ 与抗原识别分子相连,该抗原识别分子与靶抗原结合并且; $P_{1a}$ 包含当 $L_{1a}$ 未被切割时与抗原识别分子结合的肽;以及 $H_{1a}$ 包含半衰期延长性分子。

[0079] 在一些实施方案中,本文进一步公开了多肽或包含式II的多肽:



其中: $L_{1a}$ 是肿瘤特异性蛋白酶切割的连接部分,所述连接部分当未被切割使 $P_{1a}$ 与抗原识别分子相连,该抗原识别分子与靶抗原结合并且; $P_{1a}$ 是当 $L_{1a}$ 未被切割时与抗原识别分子结合的肽;以及 $H_{1a}$ 是半衰期延长性分子。在一些实施方案中,抗原识别分子包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中,靶抗原是抗CD3效应细胞抗原。

抗原识别分子( $A_1$ )

[0080] 在一些实施方案中,本文公开了多肽或多肽复合物,其中第一靶抗原包含效应细胞抗原并且第二靶抗原包含肿瘤细胞抗原。在一些实施方案中,效应细胞抗原包含CD3。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含EGFR、HER2、间皮素或CEACAM5。

[0081] 在一些实施方案中, $A_1$ 包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中, $A_1$ 包含人抗体或人源化抗体或抗体片段。在一些实施方案中, $L_1$ 与抗体或抗体片段的N端结合。在一些实施方案中, $L_1$ 与抗体或抗体片段的N端结合并且 $A_2$ 与抗体或抗体片段的N端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 与抗体或抗体片段的C端结合。在一些实施方案中, $L_1$ 与抗体或抗体片段的C端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 与抗体或抗体片段的N端结合。在一些实施方案中,抗体或抗体片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab片段。在一些实施方案中, $A_1$ 是单链可变片段(scFv)。在一些实施方案中,scFv包含scFv重链多肽和scFv轻链多肽。在一些实施方案中, $A_1$ 是单域抗体。在一些实施方案中, $A_1$ 是Fab片段。在一些实施方案中, $A_1$ 包含抗CD3e单链可变片段。在一些实施方案中, $A_1$ 包含与表达CD3的细胞上的CD3以 $1\mu\text{M}$ 或更小的 $K_D$ 结合的抗CD3e单链可变片段。在一些实施方案中, $A_1$ 包含可变轻链和可变重链,其各自都能够特异性结合至人CD3。在一些实施方案中, $A_1$ 包含选自莫罗单抗-CD3 (OKT3)、奥昔组单抗 (TRX4)、替利组单抗 (MGA031)、维西珠单抗 (Nuvion)、SP34、X35、VIT3、BMA030 (BW264/56)、CLB-T3/3、CRIS7、YTH12.5、F111-409、CLB-T3.4.2、TR-66、WT32、SPv-T3b、11D8、XIII-141、XIII-46、XIII-87、12F6、T3/RW2-8C8、T3/RW2-4B6、OKT3D、M-T301、SMC2、F101.01、UCHT-1、WT-31、

15865、15865v12、15865v16和15865v19中的互补决定区(CDR)。

[0082] 在一些实施方案中,当 $L_1$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割时,式I的多肽或多肽复合物与效应细胞结合。在一些实施方案中,当 $L_1$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割并且 $A_1$ 与效应细胞结合时,式I的多肽或多肽复合物与效应细胞结合。在一些实施方案中,效应细胞是T细胞。在一些实施方案中, $A_1$ 与作为效应细胞上TCR-CD3复合物的部分的多肽结合。在一些实施方案中,作为TCR-CD3复合物的部分的多肽是人CD3 $\epsilon$ 。在一些实施方案中,效应细胞抗原包含CD3,并且scFv包含根据SEQ ID NO:64、65或66的氨基酸序列。

[0083] 在一些实施方案中,本文公开了多肽或多肽复合物,其中第一靶抗原包括肿瘤细胞抗原并且第二靶抗原包括效应细胞抗原。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含EGFR、HER2、间皮素或CEACAM5。在一些实施方案中,效应细胞抗原包含CD3。

[0084] 在一些实施方案中, $A_1$ 包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中, $A_1$ 包含人抗体或人源化抗体或抗体片段。在一些实施方案中, $L_1$ 与抗体或抗体片段的N端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 与抗体或抗体片段的C端结合。在一些实施方案中, $L_1$ 与抗体或抗体片段的C端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 与抗体或抗体片段的N端结合。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含源自骆驼科动物的单域抗体的单链可变片段(scFv)、重链可变结构域(VH结构域)、轻链可变结构域(VL结构域)、可变结构域(VHH)。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段是人源化的或人的。

[0085] 在一些实施方案中, $A_1$ 是Fab。在一些实施方案中,Fab包含(a) Fab轻链多肽和(b) Fab重链多肽,其中 $A_1$ 的Fab轻链多肽与 $A_2$ 的单链可变片段(scFv)的C端结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的单链可变片段(scFv)的C端结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab轻链多肽与 $A_2$ 的单链可变片段(scFv)的N端结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的单链可变片段(scFv)的N端结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab轻链多肽与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab重链多肽结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab轻链多肽与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab重链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 进一步包含 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合,并且多肽复合物包含根据SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:71的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab轻链多肽与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab重链多肽与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合。在一些实施方案中, $A_1$ 的Fab轻链多肽与 $A_2$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_1$ 与 $A_1$ 的Fab重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的scFv重链多肽结合。

[0086] 在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含表皮生长因子受体(EGFR)结合结构域。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含间皮素结合结构域。在一些实施方案中,抗

体或其抗体片段包含癌胚抗原相关的细胞粘附分子CEACAM5结合结构域。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含HER2结合结构域。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:56或57的氨基酸序列。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:59或60的氨基酸序列。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含HER2,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:61的氨基酸序列。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含HER2并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:62或63的氨基酸序列。

[0087] 在一些实施方案中,与不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力相比,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少5倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少8倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少10倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少15倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少20倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少25倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少30倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少35倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少40倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少45倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少50倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少55倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少60倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少65倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少70倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有 $P_1$ 或 $L_1$ 的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少75倍。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合













肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少10,000倍。

[0095] 在一些实施方案中,与不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 相比,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少10倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少50倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少75倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少100倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少200倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少300倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少400倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少500倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少600倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少700倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少800倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少900倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形式在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 高至少1000倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$  (式Ia) 在IFN  $\gamma$  释放T细胞激活测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比不具有 $P_1$ 、 $L_1$ 、 $P_2$ 或 $L_2$ 的式Ia的多肽或多肽复合物的形





解测定中的 $EC_{50}$ 高至少50倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少75倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少100倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少200倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少300倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少400倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少500倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少600倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少700倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少800倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少900倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少1000倍。在一些实施方案中,多肽或多肽复合物 $P_2-L_2-A_2-A_1-L_1-P_1-H_1$ (式Ia)在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 增加,其比其中 $L_1$ 和 $L_2$ 已被肿瘤特异性蛋白酶切割的式Ia的多肽或多肽复合物在T细胞细胞溶解测定中的 $EC_{50}$ 高至少10,000倍。

#### 抗原识别分子( $A_2$ )

[0099] 在一些实施方案中, $A_2$ 包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含源自骆驼科动物的单域抗体的单链可变片段(scFv)、重链可变结构域(VH结构域)、轻链可变结构域(VL结构域)、可变结构域(VHH)。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段是人源化的或人的。在一些实施方案中, $A_2$ 是Fab。在一些实施方案中,Fab包含(a) Fab轻链多肽和(b) Fab重链多肽。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含表皮生长因子受体(EGFR)结合结构域。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含间皮素结合结构域。在一些实施方案中,抗体或其抗体片段包含癌胚抗原相关的细胞粘附分子CEACAM5结合结构域。在一些实施方案中,抗

体或其抗体片段包含癌胚抗原相关的细胞粘附分子HER2结合结构域。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:56或57的氨基酸序列。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含EGFR并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:59或60的氨基酸序列。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含HER2并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:61的氨基酸序列。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原包含HER2并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:62或63的氨基酸序列。

[0100] 在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的单链可变片段(scFv)的C端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的单链可变片段(scFv)的C端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的单链可变片段(scFv)的N端结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的单链可变片段(scFv)的N端结合。

在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合,并且多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:76的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:78的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:73的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合,并且多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:74的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 进一步包含 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合并且多肽复合物包含SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:73的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合并且多肽复合物包含SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的氨基酸序列。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab重链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合。在一些实施方案中, $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab重链多肽结合。

[0101] 在一些实施方案中, $A_2$ 包含抗CD3e单链可变片段。在一些实施方案中, $A_2$ 包含与表达CD3的细胞上的CD3以 $1\mu\text{M}$ 或更小的 $K_D$ 结合的抗CD3e单链可变片段。在一些实施方案中, $A_2$ 包含可变轻链和可变重链,其各自都能够特异性结合至人CD3。在一些实施方案中, $A_2$ 包含选自莫罗单抗-CD3 (OKT3)、奥昔组单抗 (TRX4)、替利组单抗 (MGA031)、维西珠单抗 (Nuvion)、SP34、X35、VIT3、BMA030 (BW264/56)、CLB-T3/3、CRIS7、YTH12.5、F111-409、CLB-T3.4.2、TR-66、WT32、SPv-T3b、11D8、XIII-141、XIII-46、XIII-87、12F6、T3/RW2-8C8、T3/RW2-4B6、OKT3D、M-T301、SMC2、F101.01、UCHT-1、WT-31、15865、15865v12、15865v16和15865v19中的互补决定区(CDR)。在一些实施方案中,式I的多肽或多肽复合物与效应细胞结合。在一些实施方案中,效应细胞是T细胞。在一些实施方案中, $A_2$ 与作为效应细胞上TCR-CD3复合物的部分的多肽结合。在一些实施方案中,作为TCR-CD3复合物的部分的多肽是人

CD3 $\epsilon$ 。在一些实施方案中,效应细胞抗原包含CD3,并且scFv包含根据SEQ ID NO:66、67或68的氨基酸序列。

肽( $P_1$ 和 $P_2$ 和 $P_{1a}$ )

[0102] 在一些实施方案中, $P_1$ 破坏 $A_1$ 与第一靶抗原的结合。在一些实施方案中, $P_1$ 通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、Pi-堆叠相互作用和H-键相互作用或其组合而与 $A_1$ 结合。在一些实施方案中, $P_1$ 在抗原结合位点处或其附近与 $A_1$ 结合。在一些实施方案中,当 $L_1$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割从而使 $A_1$ 暴露于第一靶抗原时, $P_1$ 变得不与 $A_1$ 结合。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于70%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于75%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于80%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于85%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于90%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于95%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于98%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 与第一靶抗原具有小于99%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_1$ 包含与第一靶抗原共有小于10%的序列同一性的从头氨基酸序列。

[0103] 在一些实施方案中, $P_2$ 破坏 $A_2$ 与第二靶抗原的结合。在一些实施方案中, $P_2$ 通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、Pi-堆叠相互作用和H-键相互作用或其组合而与 $A_2$ 结合。在一些实施方案中, $P_2$ 在抗原结合位点处或其附近与 $A_2$ 结合。在一些实施方案中,当 $L_2$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割从而使 $A_2$ 暴露于第二靶抗原时, $P_2$ 变得不与 $A_2$ 结合。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于70%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于75%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于80%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于85%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于90%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于95%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于98%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 与第二靶抗原具有小于99%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_2$ 包含与第二靶抗原共有小于10%序列同一性的从头氨基酸序列。

[0104] 在一些实施方案中,当 $L_{1a}$ 未被切割时, $P_{1a}$ 破坏抗原识别分子与靶抗原的结合。在一些实施方案中,抗原识别分子包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中,靶抗原是抗CD3效应细胞抗原。在一些实施方案中,靶抗原是肿瘤细胞抗原。在一些实施方案中,肿瘤细胞抗原是EGFR、HER2、间皮素或CEACAM5。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于70%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于75%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于80%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于85%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于90%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于95%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于98%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 与靶抗原具有小于99%的序列同一性。在一些实施方案中, $P_{1a}$ 包含与第二靶抗原共有小于10%序列同一性的从头氨基酸序列。

[0105] 在一些实施方案中, $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含长度为至少5个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含长度为至少6个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含长度为至少10个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含长度为至少10个氨基酸且长度不超过20个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含长度为至少16个

氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含长度不超过40个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含至少两个半胱氨酸氨基酸残基。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含环肽或线性肽。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含环肽。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 包含线性肽。在一些实施方案中, 肿瘤细胞抗原包含EGFR, 并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含肽-1、肽-2、肽-3、肽-4、肽-5、肽-6或肽-7。在一些实施方案中, 肿瘤细胞抗原包含EGFR, 并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含选自GGDWCRSLMSYTDLCP (SEQ ID NO:1)、GGTSCADAHLIAPSCS (SEQ ID NO:2)、GGNCQWDRVEHTYACS (SEQ ID NO:3)、GGVWSCHDGSHTMCFH (SEQ ID NO:4)、GGMNCLNRLWVEYCLV (SEQ ID NO:5)、GGYCGQDNTWVREGCF (SEQ ID NO:6)和QQQSGQLSCEGWAMNREQCRA (SEQ ID NO:7)中的氨基酸序列。在一些实施方案中, 肿瘤细胞抗原包含HER2, 并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含肽-8、肽-9、肽-10、肽-11、肽-12、肽-13、肽-14、肽-15、肽-16或肽-17。在一些实施方案中, 肿瘤细胞抗原包含HER2, 并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含选自GGPLCSLDHITRLCD (SEQ ID NO:8)、GGIDCASLDHYTESCY (SEQ ID NO:9)、GGNPVCTLGDPYEC SH (SEQ ID NO:10)、GGTFCQLNADPYECQS (SEQ ID NO:11)、GGGYCELIGDYVVCSP (SEQ ID NO:12)、GGLCDRWGWIDAPYCH (SEQ ID NO:13)、GGTGCTEGHWHWGTC S (SEQ ID NO:14)、GGNICMDYSWRSGCAV (SEQ ID NO:15)、GGHSCTFGDWSLGTCA (SEQ ID NO:16)和GGFICTLGNWWDGSCE (SEQ ID NO:17)中的氨基酸序列。在一些实施方案中, 效应细胞抗原包含CD3, 并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含肽-18、肽-19、肽-20、肽-21、肽-22、肽-23、肽-24、肽-25、肽-26、肽-27、肽-28或肽-29。在一些实施方案中, 效应细胞抗原包含CD3, 并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含选自QQQSGQGYLWGCEWNCGGITT (SEQ ID NO:18)、GGDSVCADPEVPICEI (SEQ ID NO:19)、GGMSDCGDPGVEICTH (SEQ ID NO:20)、GGIQCHDPDLSPCYI (SEQ ID NO:21)、GGEWCLFDPDVPTCQD (SEQ ID NO:22)、GGLGCNDIDPGEQCIV (SEQ ID NO:23)、GGLECFDPEIPEAFCI (SEQ ID NO:24)、GGQCGTIADPEPHCW (SEQ ID NO:25)、GGNCHDPDIPAYVLCS (SEQ ID NO:26)、GGLCPINDWEPQDICW (SEQ ID NO:27)和GGLCMIGDWLPGDVCL (SEQ ID NO:28)中的氨基酸序列。

[0106] 在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ , 或 $P_1$ 、 $P_2$ 和 $P_{1a}$ 包含修饰的氨基酸或非天然氨基酸, 或修饰的非天然氨基酸, 或其组合。在一些实施方案中, 修饰的氨基酸或修饰的非天然氨基酸包含翻译后修饰。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ , 或 $P_1$ 、 $P_2$ 和 $P_{1a}$ 包含修饰, 包括但不限于乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、黄素的共价附接、血红素部分的共价附接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附接、脂质或脂质衍生物的共价附接、磷脂酰肌醇的共价附接、交联、环化、二硫键形成、去甲基化、共价交联的形成、胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成、甲酰化、 $\gamma$ 羧化、糖基化、GPI锚形成、羟基化、碘化、甲基化、肉豆蔻酰化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒酰化 (selenoylation)、硫酸化、转运RNA介导的向蛋白质添加氨基酸, 例如精氨酸化和泛素化。在 $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ , 或 $P_1$ 、 $P_2$ 和 $P_{1a}$ 的任何位置 (包括肽主链、氨基酸侧链和末端) 进行修饰。

[0107] 在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 不包含白蛋白或白蛋白片段。在一些实施方案中,  $P_1$ 、 $P_2$ 或 $P_{1a}$ 不包含白蛋白结合结构域。

连接部分 ( $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 和 $L_{3a}$ )

[0108] 在一些实施方案中,  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 是具有至少5个至不超过50个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 是具有至少10个至不超过30个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 是具有至少10个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或

$L_{3a}$ 是具有至少18个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 是具有至少26个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 具有包含 $(G_2S)_n$ 的式,其中n为1至3的整数(SEQ ID NO:29)。在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 具有包含 $(G_2S)_n$ 的式,其中n是至少1的整数。在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 具有选自 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$ (SEQ ID NO:30)、 $(GGGS)_n$ (SEQ ID NO:31)、 $(GGGGS)_n$ (SEQ ID NO:32)和 $(GSSGGS)_n$ (SEQ ID NO:33)中的式,其中n是至少1的整数。在一些实施方案中,肿瘤特异性蛋白酶选自金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、苏氨酸蛋白酶和天冬氨酸蛋白酶。在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 包含尿激酶可切割的氨基酸序列、matriptase可切割的氨基酸序列、legumain可切割的氨基酸序列、或基质金属蛋白酶可切割的氨基酸序列。

[0109] 在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ 是接头-1、接头-2、接头-3、接头-4、接头-5、接头-6、接头-7、接头-8、接头-9、接头-10、接头-11、接头-12、接头-13、接头-14、接头-15、接头-16、接头-17、接头-18、接头-19或接头20。在一些实施方案中, $L_1$ 或 $L_2$ 包含选自GGGGSLSGRSDNHGSSGT(SEQ ID NO:34)、GGGGSSGGSGGSLSGRSDNHGSSGT(SEQ ID NO:35)、ASGRSDNH(SEQ ID NO:36)、LAGRSDNH(SEQ ID NO:37)、ISSGLASGRSDNH(SEQ ID NO:38)、ISSGLLAGRSDNH(SEQ ID NO:39)、LSGRSDNH(SEQ ID NO:40)、ISSGLLSGRSDNP(SEQ ID NO:41)、ISSGLLSGRSDNH(SEQ ID NO:42)、LSGRSDNHSPLGLAGS(SEQ ID NO:43)、SPLGLAGSLSGRSDNH(SEQ ID NO:44)、SPLGLSGRSDNH(SEQ ID NO:45)、LAGRSDNHSPLGLAGS(SEQ ID NO:46)、LSGRSDNHVPLSLKMG(SEQ ID NO:47)、LSGRSDNHVPLSLSMG(SEQ ID NO:48)、GSSGGSGGSGGSGISSGLLSGRSDNHGSSGT(SEQ ID NO:49)和GSSGGSGGSGGISSGLLSGRSDNHGGGS(SEQ ID NO:50)中的氨基酸序列。在一些实施方案中, $L_1$ 或 $L_2$ 包含氨基酸序列ASGRSDNH(SEQ ID NO:36)、LAGRSDNH(SEQ ID NO:37)、ISSGLASGRSDNH(SEQ ID NO:38)和ISSGLLAGRSDNH(SEQ ID NO:39)。在一些实施方案中, $L_3$ 或 $L_{3a}$ 包含氨基酸序列GGGGSGGGS(SEQ ID NO:51)。

[0110] 在一些实施方案中, $L_1$ 与 $A_1$ 的N端结合。在一些实施方案中, $L_1$ 与 $A_1$ 的C端结合。在一些实施方案中, $L_2$ 与 $A_2$ 的N端结合。在一些实施方案中, $L_2$ 与 $A_2$ 的C端结合。在一些实施方案中,当 $L_1$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割从而使 $A_1$ 暴露于第一靶抗原时, $P_1$ 变得不与 $A_1$ 结合。在一些实施方案中,当 $L_2$ 被肿瘤特异性蛋白酶切割从而使 $A_2$ 暴露于第二靶抗原时, $P_2$ 变得不与 $A_2$ 结合。

[0111] 在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ ,或 $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 和 $L_{3a}$ 包含修饰的氨基酸或非天然氨基酸,或修饰的非天然氨基酸,或其组合。在一些实施方案中,修饰的氨基酸或修饰的非天然氨基酸包含翻译后修饰。在一些实施方案中, $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ ,或 $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 和 $L_{3a}$ 包含修饰,包括但不限于乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、黄素的共价附接、血红素部分的共价附接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附接、脂质或脂质衍生物的共价附接、磷脂酰肌醇的共价附接、交联、环化、二硫键形成、去甲基化、共价交联的形成、胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成,甲酰化、 $\gamma$ 羧化、糖基化、GPI锚形成、羟基化、碘化、甲基化、肉豆蔻酰化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒酰化、硫酸化、转运RNA介导的向蛋白质添加氨基酸,例如精氨酰化和泛素化。在 $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 或 $L_{3a}$ ,或 $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$ 和 $L_{3a}$ 的任何位置(包括肽主链或氨基酸侧链)进行修饰。

半衰期延长性分子( $H_1$ 和 $H_{1a}$ )

[0112] 在一些实施方案中, $H_1$ 不断 $A_1$ 与第一靶抗原的结合。在一些实施方案中, $H_1$ 包含

使 $H_1$ 与 $P_1$ 相连的连接部分( $L_3$ )。在一些实施方案中, $H_{1a}$ 不阻断抗原识别分子与靶抗原的结合。在一些实施方案中, $H_{1a}$ 包含使 $H_{1a}$ 与 $P_{1a}$ 相连的连接部分( $L_3$ )。在一些实施方案中,半衰期延长性分子( $H_1$ 或 $H_{1a}$ )对抗原识别分子不具有结合亲和力。在一些实施方案中,半衰期延长性分子( $H_1$ 或 $H_{1a}$ )对靶抗原不具有结合亲和力。在一些实施方案中,半衰期延长性分子( $H_1$ 或 $H_{1a}$ )不掩蔽抗原识别分子免受靶抗原的影响。在一些实施方案中,半衰期延长性分子( $H_1$ 或 $H_{1a}$ )不与抗原识别分子直接连接。

[0113] 在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 包含具有重复序列基序的氨基酸序列。在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 包含具有高度有序二级结构的氨基酸序列。在此上下文中使用的“高度有序二级结构”意指 $H_1$ 或 $H_{1a}$ 的至少约50%、或约70%、或约80%、或约90%的氨基酸残基有助于二级结构,如通过包括但不限于分光光度法(例如通过“远UV”光谱区域(190-250nm)中的圆二色光谱法,以及计算机程序或算法,例如Chou-Fasman算法和Garnier-Osguthorpe-Robson (“GOR”)算法的方式测量或确定的。

[0114] 在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 包含聚合物。在一些实施方案中,聚合物是聚乙二醇(PEG)。在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 包含白蛋白。在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 包含Fc结构域。在一些实施方案中,白蛋白是血清白蛋白。在一些实施方案中,白蛋白是人血清白蛋白。在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 包含多肽、配体或小分子。在一些实施方案中,多肽、配体或小分子结合血清蛋白或其片段、循环免疫球蛋白或其片段、或CD35/CR1。在一些实施方案中,血清蛋白包含甲状腺素结合蛋白、转甲状腺素蛋白、1-酸糖蛋白、转铁蛋白、转铁蛋白受体或其转铁蛋白结合部分、纤维蛋白原或白蛋白。在一些实施方案中,循环免疫球蛋白分子包含IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、sIgA、IgM或IgD。在一些实施方案中,血清蛋白是白蛋白。在一些实施方案中,多肽是抗体。在一些实施方案中,抗体包含单域抗体、单链可变片段或Fab。在一些实施方案中,单域抗体包含与白蛋白结合的单域抗体。在一些实施方案中,抗体是人抗体或人源化抗体。在一些实施方案中,抗体选自645gH1gL1、645dsgH5gL4、23-13-A01-sc02、A10m3或其片段、DOM7r-31、DOM7h-11-15、A1b-1、A1b-8、A1b-23、10G、10GE和SA21。在一些实施方案中,单域抗体是10G,并且单域抗体包含氨基酸序列EVQLVESGGGLVQP GNSLR LSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRP EDTAVYYCTIGGSLVSSQGT LVT VSS (SEQ ID NO:52)。

[0115] 在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ ,或 $H_1$ 和 $H_{1a}$ 包含修饰的氨基酸或非天然氨基酸,或修饰的非天然氨基酸,或其组合。在一些实施方案中,修饰的氨基酸或修饰的非天然氨基酸包含翻译后修饰。在一些实施方案中, $H_1$ 或 $H_{1a}$ 或 $H_1$ 和 $H_{1a}$ 包含修饰,包括但不限于乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、黄素的共价附接、血红素部分的共价附接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价附接、脂质或脂质衍生物的共价附接、磷脂酰肌醇的共价附接、交联,环化、二硫键形成、去甲基化、共价交联的形成、胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成、甲酰化、 $\gamma$ 羧化、糖基化、GPI锚形成、羟基化、碘化、甲基化、肉豆蔻酰化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒酰化、硫酸化、转运RNA介导的向蛋白质添加氨基酸,例如精氨酰化和泛素化。在 $H_1$ 或 $H_{1a}$ ,或 $H_1$ 和 $H_{1a}$ 的任何位置(包括肽主链、氨基酸侧链和末端)进行修饰。

[0116] 在一些实施方案中, $H_1$ 包含使 $H_1$ 与 $P_1$ 相连的连接部分( $L_3$ )。

在一些实施方案中, $L_3$ 是具有至少5个至不超过50个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $L_3$ 是具有至少10个至不超过30个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中, $L_3$ 是具有至

少10个氨基酸的肽序列。

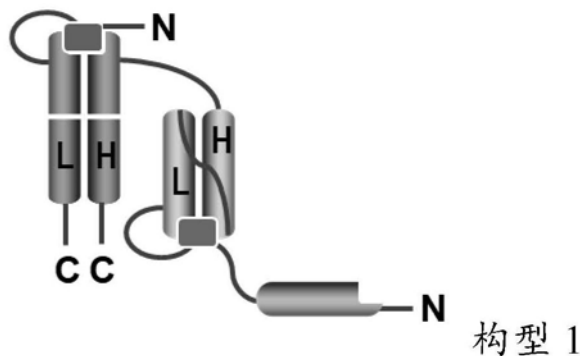
在一些实施方案中,  $L_3$  是具有至少18个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_3$  是具有至少26个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_3$  具有选自  $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$  (SEQ ID NO:30)、 $(GGGS)_n$  (SEQ ID NO:31)、 $(GGGGS)_n$  (SEQ ID NO:32) 和  $(GSSGGS)_n$  (SEQ ID NO:33) 中的式, 其中  $n$  是至少1的整数。在一些实施方案中,  $L_3$  包含氨基酸序列  $GGGGS GGGS$  (SEQ ID NO:51)。

[0117] 在一些实施方案中,  $H_{1a}$  包含使  $H_{1a}$  与  $P_{1a}$  相连的连接部分 ( $L_{3a}$ )。

在一些实施方案中,  $L_{3a}$  是具有至少5个至不超过50个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_{3a}$  是具有至少10个至不超过30个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_{3a}$  是具有至少10个氨基酸的肽序列。

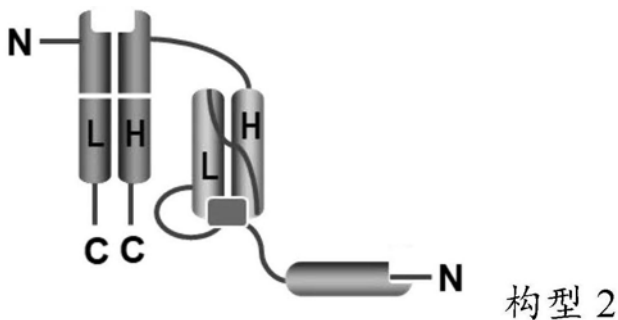
在一些实施方案中,  $L_{3a}$  是具有至少18个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_{3a}$  是具有至少26个氨基酸的肽序列。在一些实施方案中,  $L_{3a}$  具有选自  $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$  (SEQ ID NO:30)、 $(GGGS)_n$  (SEQ ID NO:31)、 $(GGGGS)_n$  (SEQ ID NO:32) 和  $(GSSGGS)_n$  (SEQ ID NO:33) 中的式, 其中  $n$  是至少1的整数。在一些实施方案中,  $L_3$  包含氨基酸序列  $GGGGS GGGS$  (SEQ ID NO:51)。

[0118] 在一些实施方案中, 本文公开了包含根据构型1的结构排列的多肽或多肽复合物:



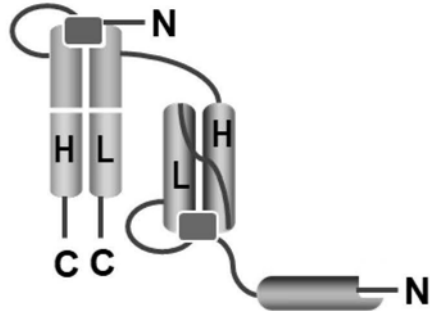
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该 scFv 与破坏 scFv 与效应细胞抗原结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且  $P_1$  通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分 ( $L_1$ ) 而与该 scFv 的轻链可变结构域的 N 端连接, 并且  $P_1$  进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的 Fab, 其中该 Fab 包含 Fab 轻链多肽和 Fab 重链多肽, 其中该 Fab 重链多肽与该 scFv 的重链可变结构域的 C 端连接, 并且其中该 Fab 连接至  $P_2$  和  $L_2$ , 其中  $P_2$  包含破坏 Fab 与肿瘤细胞抗原结合的肽; 并且  $L_2$  包含使 Fab 轻链多肽与  $P_2$  相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0119] 在一些实施方案中, 本文公开了包含根据构型2的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链,并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的重链可变结构域的C端连接。

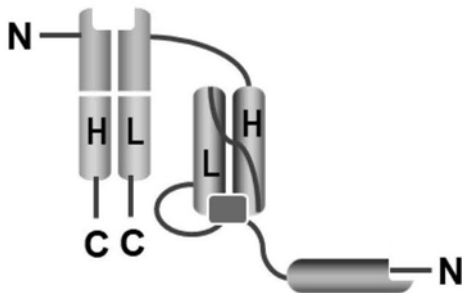
[0120] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型3的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 3

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab重链多肽与 $P_2$ 连接并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

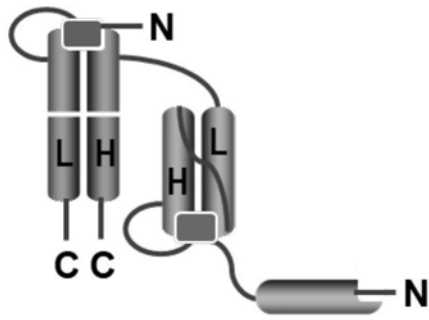
[0121] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型4的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 4

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv进一步与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接。

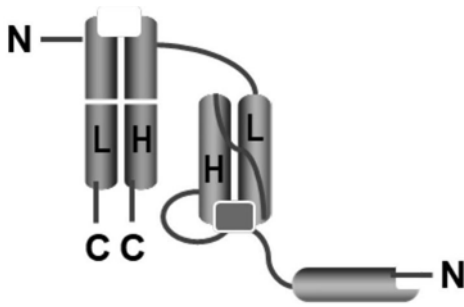
[0122] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型5的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 5

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分 ( $L_1$ ) 而与该scFv的重链可变结构域的N端连接, 并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中该Fab重链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接, 并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ , 其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽; 并且 $L_2$ 包含使Fab轻链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

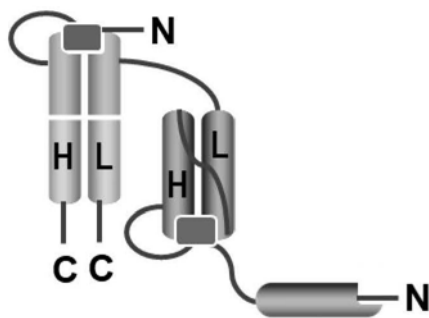
[0123] 在一些实施方案中, 本文公开了包含根据构型6的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 6

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的重链可变结构域连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链, 并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的轻链可变结构域的C端连接。

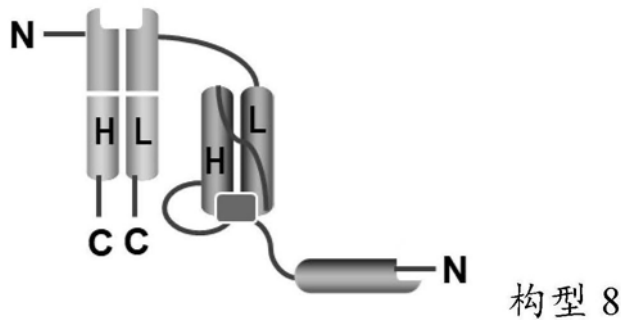
[0124] 在一些实施方案中, 本文公开了包含根据构型7的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 7

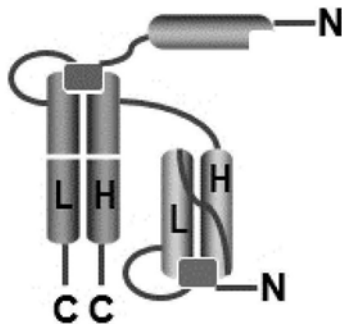
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与该scFv的重链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab重链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0125] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型8的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与scFv的重链可变结构域的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接。

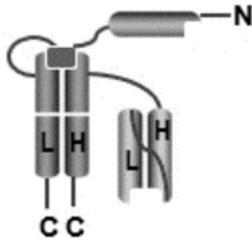
[0126] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型9的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0127] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型10的结构排列的多肽或多肽复合

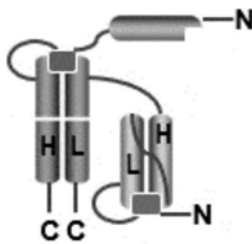
物:



构型 10

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接。

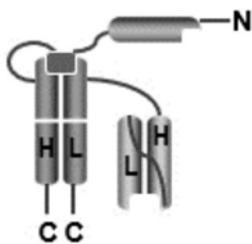
[0128] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型11的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 11

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv进一步连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

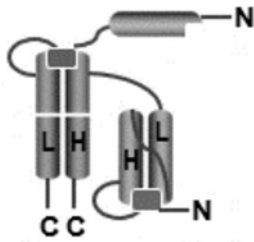
[0129] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型12的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 12

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接。

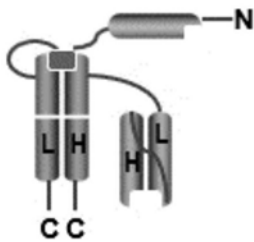
[0130] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型13的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 13

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

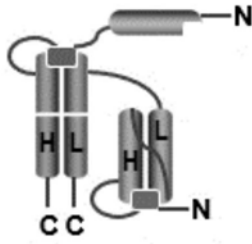
[0131] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型14的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 14

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接。

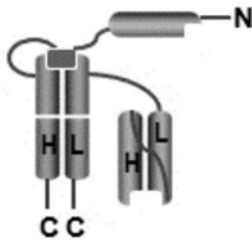
[0132] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型15的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 15

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的(P<sub>1</sub>)连接并且P<sub>1</sub>通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分(L<sub>1</sub>)而与Fab重链多肽的N端连接,并且P<sub>1</sub>进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv连接至P<sub>2</sub>和L<sub>2</sub>,其中P<sub>2</sub>包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且L<sub>2</sub>包含使scFv的重链可变结构域与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0133] 在一些实施方案中,本文公开了包含根据构型16的结构排列的多肽或多肽复合物:



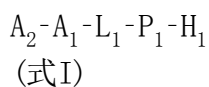
构型 16

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接。

#### 编码多肽或多肽复合物的多核苷酸

[0134] 在一些实施方案中,本文公开了编码本文公开的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物包含抗体或抗体片段。在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物包含Fab和单链可变片段(scFv)。

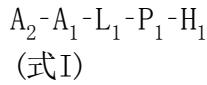
[0135] 在一些实施方案中,本文公开了编码根据式I的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



其中:A<sub>1</sub>包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子;P<sub>1</sub>包含与A<sub>1</sub>结合的肽;L<sub>1</sub>包含使A<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;H<sub>1</sub>包含半衰期延长性分子;以

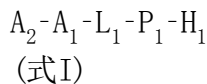
及A<sub>2</sub>包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0136] 在一些实施方案中,本文公开了编码根据式I的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



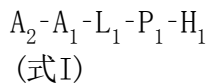
其中:A<sub>1</sub>是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子;P<sub>1</sub>是与A<sub>1</sub>结合的肽;L<sub>1</sub>是使A<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;H<sub>1</sub>包含半衰期延长性分子;以及A<sub>2</sub>是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0137] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含式I的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



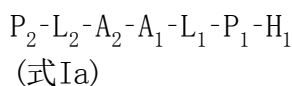
其中:A<sub>1</sub>包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子;P<sub>1</sub>包含与A<sub>1</sub>结合的肽;L<sub>1</sub>包含使A<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;H<sub>1</sub>包含半衰期延长性分子;以及A<sub>2</sub>包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0138] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含式I的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



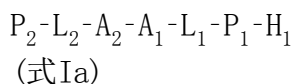
其中:A<sub>1</sub>是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子;P<sub>1</sub>是与A<sub>1</sub>结合的肽;L<sub>1</sub>是使A<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;H<sub>1</sub>是半衰期延长性分子;以及A<sub>2</sub>是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0139] 在一些实施方案中,本文公开了编码根据式Ia的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



其中:A<sub>1</sub>包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子;P<sub>1</sub>包含与A<sub>1</sub>结合的肽;L<sub>1</sub>包含使A<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;H<sub>1</sub>包含半衰期延长性分子;A<sub>2</sub>包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子;P<sub>2</sub>包含与A<sub>2</sub>结合的肽;以及L<sub>2</sub>包含使A<sub>2</sub>与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

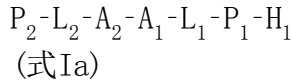
[0140] 在一些实施方案中,本文公开了编码根据式Ia的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



其中:A<sub>1</sub>是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子;P<sub>1</sub>是与A<sub>1</sub>结合的肽;L<sub>1</sub>是使A<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;H<sub>1</sub>是半衰期延长性分子;A<sub>2</sub>是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子;P<sub>2</sub>是与A<sub>2</sub>结合的肽;以及L<sub>2</sub>是使A<sub>2</sub>与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

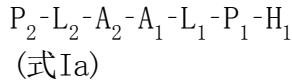
[0141] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含式Ia的多肽或多肽复合物的分离的重组

核酸分子:



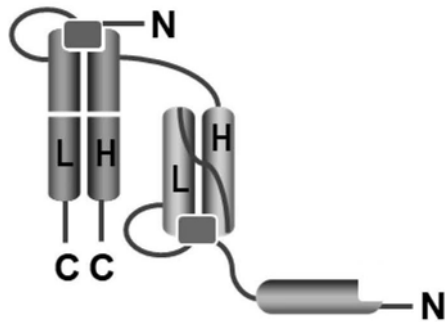
其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子; $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;以及 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0142] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含式Ia的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子:



其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子; $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 是与 $A_2$ 结合的肽;以及 $L_2$ 是使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

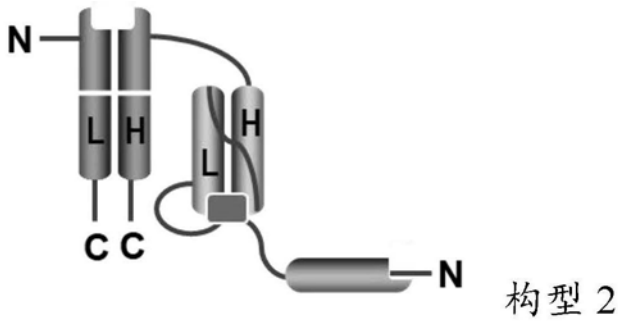
[0143] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型1的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 1

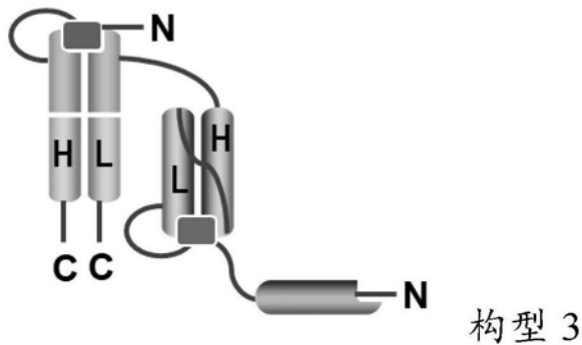
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab重链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab轻链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0144] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型2的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



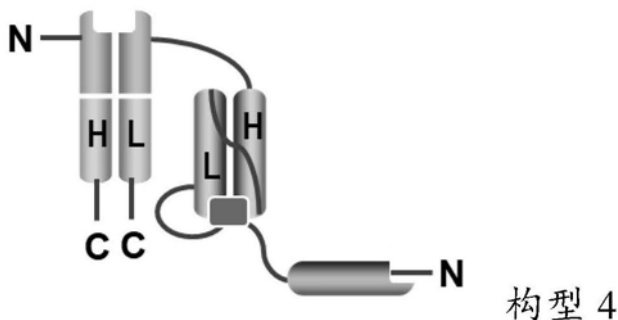
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链, 并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的重链可变结构域的C端连接。

[0145] 在一些实施方案中, 本文公开了编码包含根据构型3的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



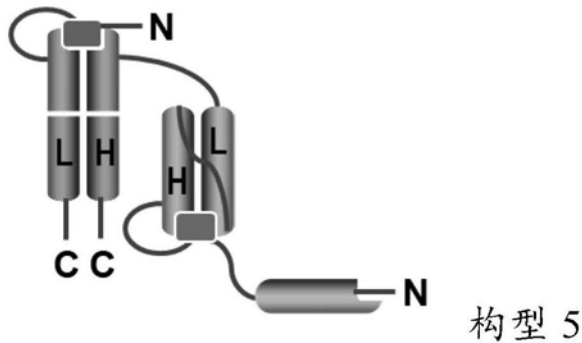
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接, 并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接, 并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ , 其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽; 并且 $L_2$ 包含使Fab重链多肽与 $P_2$ 连接并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0146] 在一些实施方案中, 本文公开了编码包含根据构型4的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



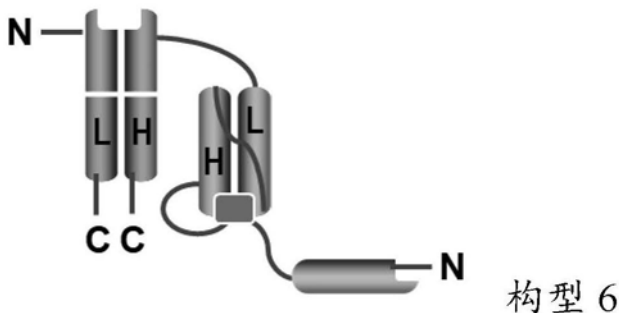
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv进一步与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接。

[0147] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型5的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与该scFv的重链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab重链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab轻链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

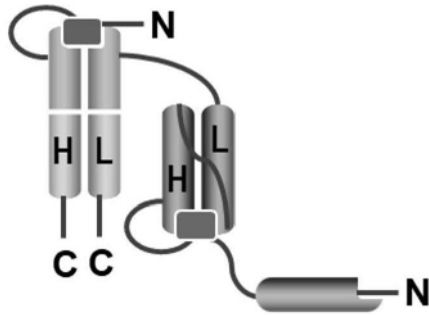
[0148] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型6的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的重链可变结构域连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链,并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的轻链可变结构域的C端连接。

[0149] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型7的结构排列的多肽或多肽复

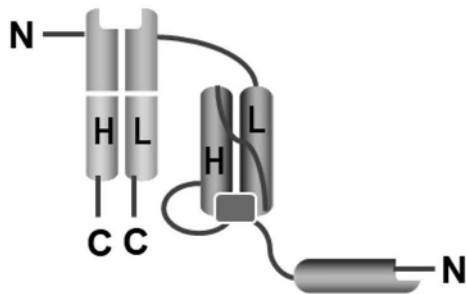
合物的分离的核酸分子：



构型 7

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该 scFv 与破坏 scFv 与效应细胞抗原的结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且  $P_1$  通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分 ( $L_1$ ) 而与该 scFv 的重链可变结构域的 N 端连接, 并且  $P_1$  进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的 Fab, 其中该 Fab 包含 Fab 轻链多肽和 Fab 重链多肽, 其中该 Fab 轻链多肽与该 scFv 的轻链可变结构域的 C 端连接, 并且其中该 Fab 连接至  $P_2$  和  $L_2$ , 其中  $P_2$  包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽; 并且  $L_2$  包含使 Fab 重链多肽与  $P_2$  相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

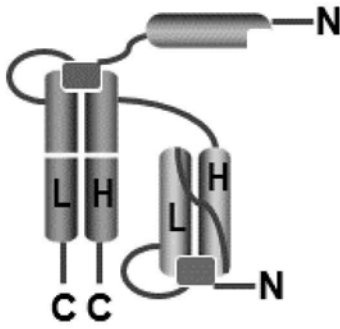
[0150] 在一些实施方案中, 本文公开了编码包含根据构型 8 的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 8

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该 scFv 与破坏 scFv 与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与 scFv 的重链可变结构域的 N 端连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的 Fab, 其中该 Fab 包含 Fab 轻链多肽和 Fab 重链多肽, 其中该 Fab 轻链多肽与该 scFv 的轻链可变结构域的 C 端连接。

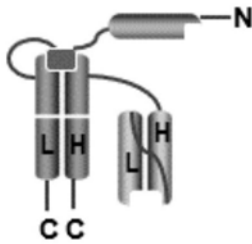
[0151] 在一些实施方案中, 本文公开了编码包含根据构型 9 的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 9

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

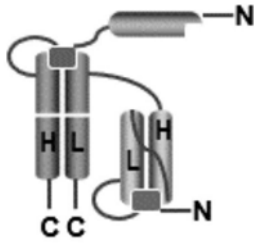
[0152] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型10的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 10

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接。

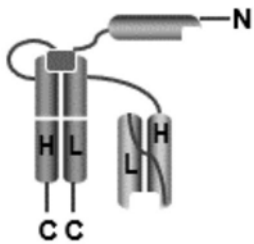
[0153] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型11的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 11

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv进一步连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

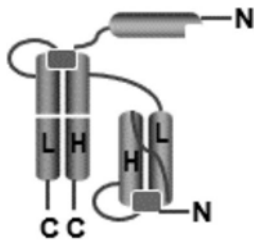
[0154] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型12的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 12

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接。

[0155] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型13的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:

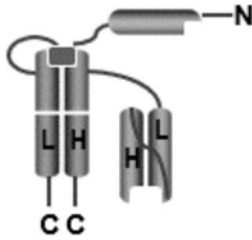


构型 13

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多

肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

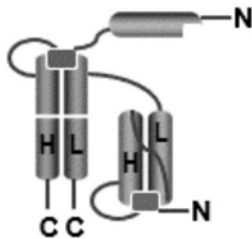
[0156] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型14的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 14

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接。

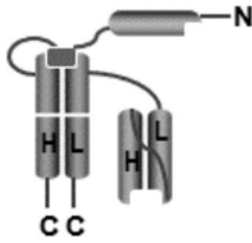
[0157] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型15的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



构型 15

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0158] 在一些实施方案中,本文公开了编码包含根据构型16的结构排列的多肽或多肽复合物的分离的核酸分子:



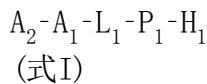
构型 16

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接。

#### 药物组合物

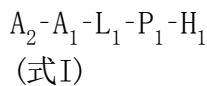
[0159] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含:(a)如本文所公开的多肽或多肽复合物;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0160] 在一些实施方案中,药物组合物包含(a)根据式I的多肽或多肽复合物:



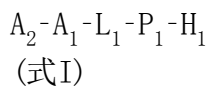
其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子;并且 $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0161] 在一些实施方案中,药物组合物包含(a)根据式I的多肽或多肽复合物:



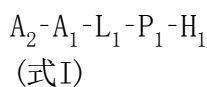
其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子;并且 $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0162] 在一些实施方案中,药物组合物包含(a)包含式I的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子;并且 $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子;和(b)药学上可接受的赋形剂。

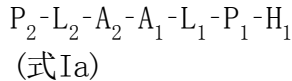
[0163] 在一些实施方案中,药物组合物包含(a)包含式I的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子;并且 $A_2$ 是与第

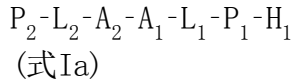
二靶抗原结合的第二抗原识别分子;和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

[0164] 在一些实施方案中,药物组合物包含 (a) 根据式Ia的多肽或多肽复合物:



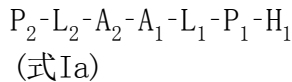
其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子; $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

[0165] 在一些实施方案中,药物组合物包含 (a) 根据式Ia的多肽或多肽复合物:



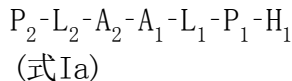
其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子; $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 是与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 是使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

[0166] 在一些实施方案中,药物组合物包含 (a) 包含式Ia的多肽或多肽复合物:



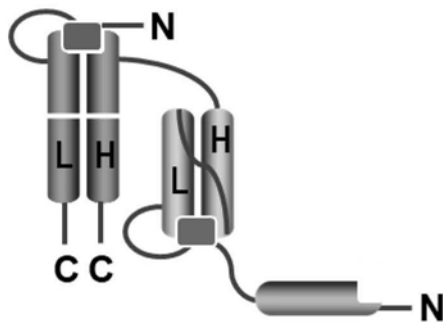
其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子; $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

[0167] 在一些实施方案中,药物组合物包含 (a) 包含式Ia的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 是与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 是与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 是使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 是半衰期延长性分子; $A_2$ 是与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子; $P_2$ 是与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 是使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

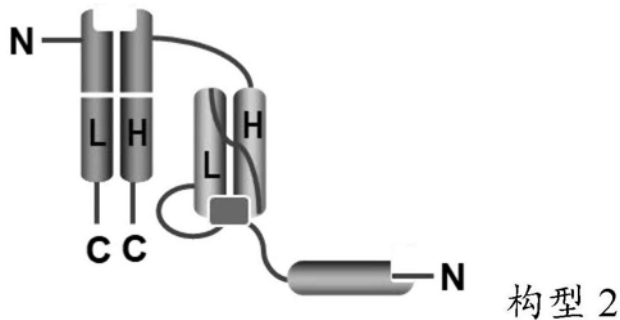
[0168] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含 (a) 包含根据构型1的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 1

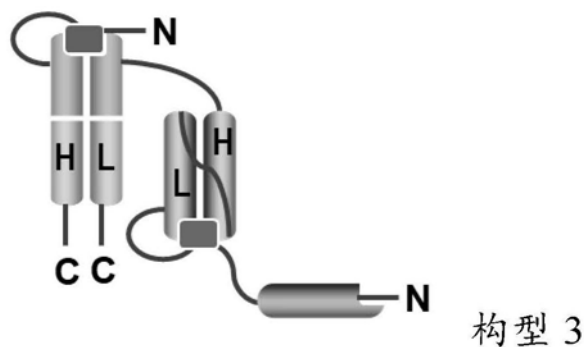
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab重链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab轻链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;

和(b)药学上可接受的赋形剂。  
[0169] 在一些实施方案中,本文公开药物组合物,包含(a)包含根据构型2的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链,并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的重链可变结构域的C端连接;和(b)药学上可接受的赋形剂。

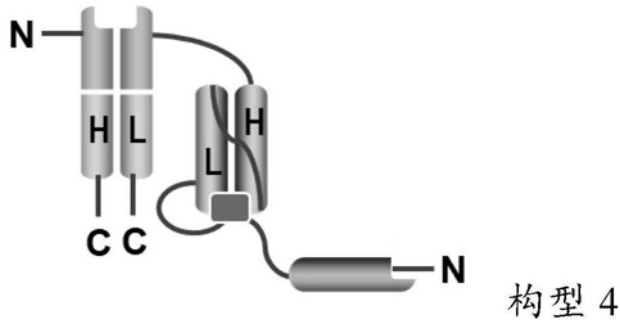
[0170] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型3的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并

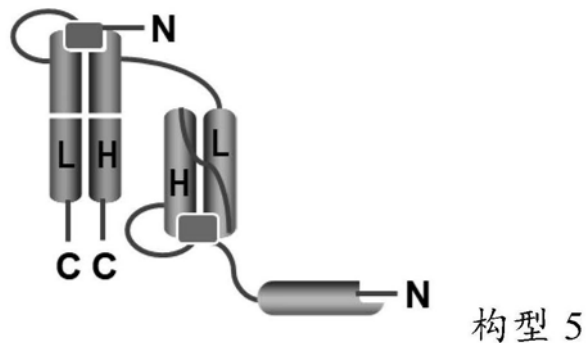
且L<sub>2</sub>包含使Fab重链多肽与P<sub>2</sub>连接并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0171] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型4的结构排列的多肽或多肽复合物:



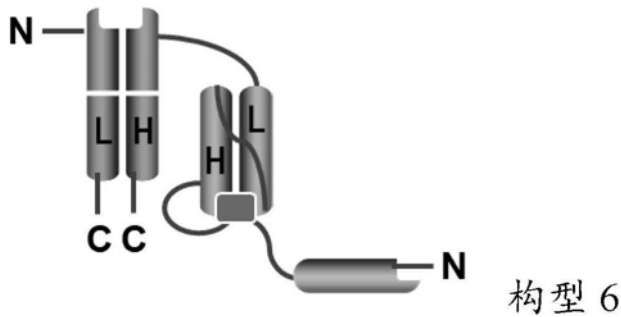
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv进一步与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0172] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型5的结构排列的多肽或多肽复合物:



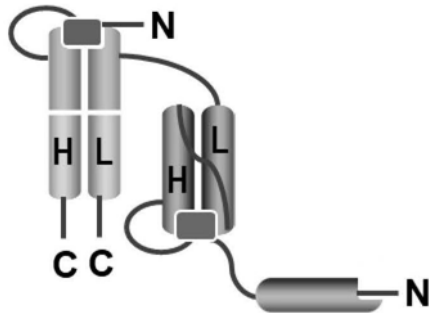
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽(P<sub>1</sub>)连接并且P<sub>1</sub>通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分(L<sub>1</sub>)而与该scFv的重链可变结构域的N端连接,并且P<sub>1</sub>进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab重链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至P<sub>2</sub>和L<sub>2</sub>,其中P<sub>2</sub>包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且L<sub>2</sub>包含使Fab轻链多肽与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0173] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型6的结构排列的多肽或多肽复合物:



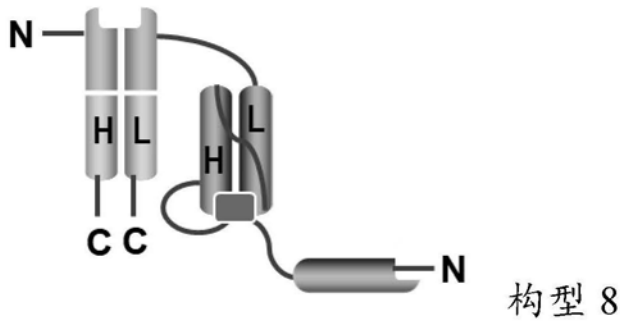
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的重链可变结构域连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链, 并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的轻链可变结构域的C端连接; 和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

[0174] 在一些实施方案中, 本文公开了药物组合物, 包含 (a) 包含根据构型7的结构排列的多肽或多肽复合物:



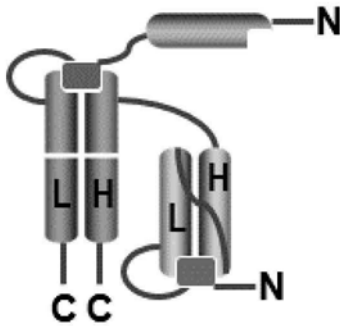
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分 ( $L_1$ ) 而与该scFv的重链可变结构域的N端连接, 并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中该Fab轻链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接, 并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ , 其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽; 并且 $L_2$ 包含使Fab重链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; 和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

[0175] 在一些实施方案中, 本文公开了药物组合物包含 (a) 包含根据构型8的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与scFv的重链可变结构域的N端连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中该Fab轻链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接; 和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

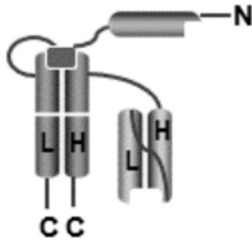
[0176] 在一些实施方案中, 本文公开了药物组合物, 包含 (a) 包含根据构型9的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 9

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分 ( $L_1$ ) 而与Fab轻链多肽的N端连接, 并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段 (scFv), 该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接, 其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ , 其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽, 并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; 和 (b) 药学上可接受的赋形剂。

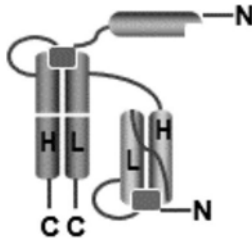
[0177] 在一些实施方案中, 本文公开了药物组合物, 包含 (a) 包含根据构型10的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 10

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接;和(b)药学上可接受的赋形剂。

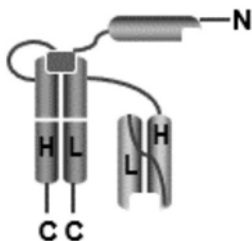
[0178] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型11的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 11

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv进一步与 $P_2$ 和 $L_2$ 连接,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和(b)药学上可接受的赋形剂。

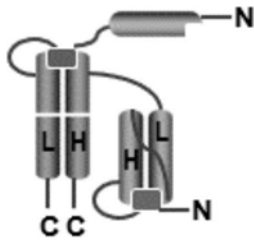
[0179] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型12的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 12

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接;和(b)药学上可接受的赋形剂。

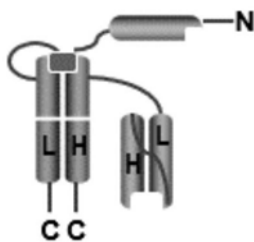
[0180] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型13的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 13

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0181] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型14的结构排列的多肽或多肽复合物:

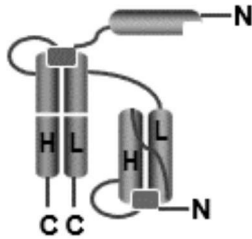


构型 14

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0182] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型15的结构排列

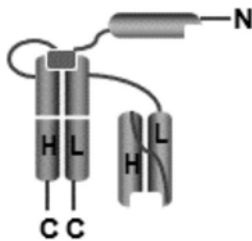
的多肽或多肽复合物:



构型 15

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分;和b)药学上可接受的赋形剂。

[0183] 在一些实施方案中,本文公开了药物组合物,包含(a)包含根据构型16的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 16

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接;和(b)药学上可接受的赋形剂。

[0184] 在一些实施方案中,该多肽或多肽复合物进一步包含可检测的标记、治疗剂或药代动力学修饰性部分。在一些实施方案中,可检测的标记包括荧光标记、放射性标记、酶、核酸探针或造影剂。

[0185] 为了向受试者施用,本文公开的多肽或多肽复合物可以与一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂一起以药物组合物的形式提供。术语“药学上可接受的载体”包括但不限于,不干扰成分生物活性的有效性并且对所施用的患者无毒的任何载体。合适的药物载体的实例是本领域熟知的,包括磷酸盐缓冲盐水溶液、水、乳剂(例如油/水乳剂)、各种类型的润湿剂、无菌溶液等。此类载体可以通过常规方法配制并且可以以合适的剂量施用于受试

者。优选地,组合物是无菌的。这些组合物还可以包含佐剂,例如防腐剂、乳化剂和分散剂。可以通过包含各种抗细菌剂和抗真菌剂来确保防止微生物的作用。

[0186] 药物组合物可以是任何合适的形式,(取决于期望的施用方法)。它可以以单位剂型提供,可以在密封容器中提供并且可以作为试剂盒的部分提供。此类试剂盒可以包括使用说明。它可以包括多个所述单元剂型。

[0187] 药物组合物可以被适配成通过任何合适的途径施用,包括肠胃外(例如,皮下、肌内或静脉内)途径。此类组合物可以通过药剂学领域中已知的任何方法进行制备,例如通过在无菌条件下将活性成分与载体或赋形剂混合。

[0188] 本公开内容的物质的剂量可以在宽极限之间变化,取决于待治疗的疾病或病症、待治疗的个体的年龄和病况等,并且医生将最终确定待使用的适当剂量。

[0189] 表1提供了本文所述构建体的氨基酸序列。

表1.氨基酸序列总结

构建体 ID	构建体描述	氨基酸序列 (N 至 C)	SEQ ID NO:
<b>肽掩蔽序列</b>			
肽-1	抗 EGFR 肽掩蔽	GGDWCRSLMSYTDLCP	1
肽-2	抗 EGFR 肽掩蔽	GGTSCADAHLIAPSCS	2
肽-3	抗 EGFR 肽掩蔽	GGNCQWDRVEHTYACS	3
肽-4	抗 EGFR 肽掩蔽	GGWVSCHDGSMTCFH	4
肽-5	抗 EGFR 肽掩蔽	GGMNCLNRLWVEYCLV	5
肽-6	抗 EGFR 肽掩蔽	GGYCGQDNTWVREGCF	6
肽-7	抗 EGFR 肽掩蔽	QGQSQQLSCEGWAMNREQCRA	7
肽-8	抗 HER2 肽掩蔽	GGPLCSDLHDHITRLCD	8
肽-9	抗 HER2 肽掩蔽	GGIDCASLDHYTESCY	9

肽-10	抗 HER2 肽掩蔽	GGNPVCTLGDPYEC SH	10
肽-11	抗 HER2 肽掩蔽	GGTFCQLNADPYECQS	11
肽-12	抗 HER2 肽掩蔽	GGGYCELDYVVCSP	12
肽-13	抗 HER2 肽掩蔽	GGLCDRWGWIDAPYCH	13
肽-14	抗 HER2 肽掩蔽	GGTGCTEGHWHWGTC S	14
肽-15	抗 HER2 肽掩蔽	GGNICMDYSWRSGCAV	15
肽-16	抗 HER2 肽掩蔽	GGHSCTFGDWSLGTCA	16
肽-17	抗 HER2 肽掩蔽	GGFICTLGNWWDGSCE	17
肽-18	抗 CD3 肽掩蔽	QQSQGQGYLWGCEWNCGGITT	18
肽-19	抗 CD3 肽掩蔽	GGDSVCADPEVPICEI	19
肽-20	抗 CD3 肽掩蔽	GGMSDCGDPGVEIC TH	20
肽-21	抗 CD3 肽掩蔽	GGIQCHDPDLSPCYI	21
肽-22	抗 CD3 肽掩蔽	GGEWCLFDPDPVTCQD	22
肽-23	抗 CD3 肽掩蔽	GGLGCNDIDPGEQCIV	23
肽-24	抗 CD3 肽掩蔽	GGLECFDPEIPEAFCI	24
肽-25	抗 CD3 肽掩蔽	GGQCGTIADPEPHCW	25
肽-26	抗 CD3 肽掩蔽	GGNCHDPDIPAYV LCS	26
肽-27	抗 CD3 肽掩蔽	GGLCPINDWEPQDICW	27
肽-28	抗 CD3 肽掩蔽	GGLCMIGDWLPGDVCL	28
肽-29	抗 CD3 肽掩蔽	QQSQSGGYLWGCEWNCGGITT	53
<b>接头序列</b>			
接头-1	接头	GGGGSLSGRSDNHGSSGT	34
接头-2	接头	GGGSSGGSGGSGLSGRSDNHGSSGT	35
接头-3	接头	ASGRSDNH	36
接头-4	接头	LAGRSDNH	37
接头-5	接头	ISSGLASGRSDNH	38
接头-6	接头	ISSGLLAGRSDNH	39
接头-7	接头	LSGRSDNH	40
接头-8	接头	ISSGLSGRSDNP	41
接头-9	接头	ISSGLSGRSDNH	42
接头-10	接头	LSGRSDNHSPLGLAGS	43
接头-11	接头	SPLGLAGLSGRSDNH	44
接头-12	接头	SPLGLSGRSDNH	45
接头-13	接头	LAGRSDNHSPLGLAGS	46
接头-14	接头	LSGRSDNHVPLSLKMG	47
接头-15	接头	LSGRSDNHVPLSLSMG	48
接头-16	接头	GSSGSGGSGGSGISSGLSGRSDNHGSSGT	49
接头-17	接头	GSSGSGGSGGSGISSGLSGRSDNHGGGS	50
接头-18	接头 (非可切割的)	GSSGSGGSGGASSGAGGSGGSGGGGS	54
接头-19	接头	GGGSGGGSGGSGISSGLSGRSDNHGSSGT	55
接头-20	接头	GGGSGGGGS	51
<b>抗体和抗体片段序列</b>			
Ab-1	抗 EGFR 轻链	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE	56

		C	
Ab-2	抗 EGFR 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKAYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNW PTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
Ab-3	抗 EGFR 重链	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTN YGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDY NTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSN TAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV NKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSR DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK	58
Ab-4	抗 EGFR 重链	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTN YGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDY NTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSN TAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSC	59
Ab-5	抗 EGFR 重链	QVQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTN YGVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDY NTPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQD TAIYYCARALTYDYEFAYWGQGLVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQS SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSC	60
Ab-6	抗 HER2 轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVN TAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFGSRSRGTDFLTISLQPEDFATYYCQQH YTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYBREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	61
Ab-7	抗 HER2 重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFMN DTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVL	62

		QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	
Ab-8	抗 HER2 重链	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIK DTYIHWRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAE DTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLV TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVL QSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSC	63
Ab-9	抗 CD3 轻链	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQEKPDHLFTGLIGGTNKRAPG VPARFSGSLIGDKAALTITGAQTEDEAIYFC ALWYSNLWVFGGGTKLTVLQPKSSPSVTL FPPSSEELTNKATLVCTITDFYPGVVTV WKVDGTPVTQGMETTQPSKQSNNKYMAS SYLTLTARAWERHSSYSCQVTHEGHTVEK SLSRADCS	64
Ab-10	抗 CD3 重链	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFN TYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSQSILYLQMNLL KTEDTAMYCVRHGNFGNSYVSWFAYWG QGLTVTVSSAKTTPPSVYPLAPGSAQTNS MVTLGCLVKGYFPEPVTVTVNSGSLSSGV HTFPAVLQSDLYTLSSSVTVSSPRPSETVT CNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTV PEVSSVFIFPPKPKDVLITITLTPKVTVCVVDI SKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQ FNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS AAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQ MAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQ PAENYKNTQPIMNTNGSYFVYSKLVQKS NWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTKESLSHSP GK	65
Ab-11	抗 CD3 scFv (N-重链- 轻链-C) SP34.185 (VH-VL)	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFN KYAMNWRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMN LKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW GQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQTVV TQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNY PNWVQKPGQAPRGLIGGKFLAPGTPARF SGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLW YSNRWVFGGGTKLTVL	66
Ab-12	抗 CD3 scFv (N-轻链- 重链-C) SP34.v16 (VL-VH)	QTVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTT SNYANWVQQTPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYC ALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGG	67

		SGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCA ASGFTFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIR SKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTA YLQMNSLKTEDTAVYYCTRHGNGFGNSYVS WFAYWGQGLTVTVSS	
Ab-13	抗 CD3 scFv (N-重链- 轻链-C) SP34.194 (VL-VH)	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS AASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVAR IRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGFGNSY VSWFAYWGQGLTVTVSS	68
<b>半衰期延长性部分</b>			
HE-1	10G 单域抗体	EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSACAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLLYQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSS	52
<b>多肽复合物全长序列</b>			
PC-1	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVCLLNFFYP EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGL SSPVTKSFNRGEC	56
PC-1	重链序列: N-[抗 CD3 scFv (轻链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS AASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVAR IRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNGFGNSY VSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSQVQLKQ SGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHW VRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFS RLSINKDNSKSKVFFKMNSLQSNDAIYYC ARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCGGHHHHHHHHGGGLNDIFEAQK IEWHE	69
PC-2	轻链序列: N-[肽 -7]-[接头]-[抗 EGFR Fab 轻链]-C	QGQSGQLSCEGWAMNREQCRAGSSGGSG GSGGSGISSGLLSGRSDNHGSSGTDILLTQS PVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQ RTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGGTD FTLSINSVESEDIADYYCQNNNWPTTFGA GTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	70

PC-2	<p>重链序列: N-[肽-18] [接头]-[抗 CD3 scFv (轻链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C</p>	<p>QGQSGQGYLWGCEWNCGGITTGSSGSGG SGGISSGLLSGRSDNHGGGSQTVVVTQEPSLT VSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQ KPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLW VFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY YADSVKDRFTISRDDSK NTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGN SYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSQVQL KQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVH WVRQSPGKGLEWLGVIWSSGGNTDYNTPF SRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYY CARALTYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVD KKVEPKSCGGHHHHHHHHGGGLNDIFEAQ KIEWHE</p>	71
PC-3	<p>轻链序列: N-[10G SDA]-[肽-7]-[接 头]-[抗 EGFR Fab 轻 链]-C</p>	<p>EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLSCAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSSGGGG SGGGSQGQSGQLSCEGWAM NREQCRAGSSGGSGGGSGGISSGLLSGRS DNHGSSGTDILLTQSPVILSVSPGERVSFSCR ASQSIGTNIHWYQQRNTGSPRLLIKYASESI SGIPSRFSGSGSGTDFTLINSVSEDIADYY CQQNNNWPTTFGAGTKLELKRVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNFPYAPREKVVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL STLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC</p>	72
PC-3	<p>重链序列: N-[肽 -18]-[接头]-[抗 CD3 scFv (轻链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C</p>	<p>QGQSGQGYLWGCEWNCGGITTGSSGSGG SGGISSGLLSGRSDNHGGGSQTVVVTQEPSLT VSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQ KPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLSGVQPEDEAEYYCALWYSNLW VFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY YADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQ GLTVTVSSGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQS PGKGLEWLGVIWSSGGNTDYNTPFTRSRLSIN KDNSKSQVFFKMNSLQSNDAIYYCARAL TYDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSLSSLTQTYICNVNHPKPSNTKVDKVE PKSCGGHHHHHHHHHHGGGLNDIFEAQKIEW HE</p>	71
PC-4	<p>轻链序列: N-[肽</p>	<p>QGQSQQLSCEGWAMNREQCRAGSSGGSG GSGGSGISSGLLSGRSDNHGSSGTDILLTQS</p>	70

	-7]-[接头]-[抗 EGFR Fab 轻链]-C	PVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQ RTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSD FTLSINSVESEDIADYYCQQNNNWPTTFGA GTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAS VVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKH KVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
PC-4	重链序列: N-[10G SDA]-[肽-18]-[接头]-[抗 CD3 scFv (轻链-重链) ]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGTSLTVSSGGGG SGGGSQGQSGQGYLWGCEW NCGGITGSSGGSGSGGSSGLLSGRSDNH GGGSQTVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCSRST GAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNK RAPGTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDE AEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGG SGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSL KLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLE WVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISR DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYVSWFAYWGQGTSLTVSSGGGGSQ VQLKQSGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNY GVHWVRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYN TPFTSRLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSN AIYYCARALTYDYEFAYWGQGTSLTVSA ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTISWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCGGHHHHHHHHGGGLNDI FEAQKIEWHE	73
PC-5	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRTNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFLTSINSVESEDIADYYCQQNNNW PTTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
PC-5	重链序列: N-[10G SDA]-[肽-25]-[接头]-[抗 CD3 scFv (重链-轻链) ]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGTSLTVSSGGGG SGGGSQGQCGTIADPEPHCWGSSGGSGGS GGISSGLLSGRSDNHGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTSLTVSSG GGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSTLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGKFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLGSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVLGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSL ITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEW LVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQV	74

		FFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYDYDEFA YWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGH HHHHHHH	
PC-6	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
PC-6	重链序列: N-[10G SDA]-[肽-25]-[非可切 割的接头]-[抗 CD3 scFv (重链-轻链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPGLNSLRSLCAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSSGGGG SGGGSGGQCGTIADPEPHCWSSGGSGGS GGASSGAGSGGGSGGGGSEVQLVESGGG LVQPGGSLKLSAASGFTFNKYAMNWVRQ APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKD RFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYY CVRHGNFGNSYISYWAYWGQGLVTVSSG GGGSGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPG GTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQKPGQ APRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAA LTLGVQPEDEAEYCVLWYSNRWVFGGG TKLTVLGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSL ITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWL GVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQV FFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYDYDEFA YWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGH HHHHHHH	75
PC-7	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
PC-7	重链序列: N-[10G SDA]-[肽-25]-[接 头]-[抗 CD3 scFv (轻 链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPGLNSLRSLCAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSSGGGG SGGGSGGQCGTIADPEPHCWSSGGSGGS GGISSGLLSGRSDNHGGGSQTVVTQEPSLT VSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQK KPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLG GKAALTLGVQPEDEAEYCVLWYSNLW VFGGGTKLTVLGGGSGGGGSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYA	76

		MNWVVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATY YADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKT EDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQG TLVTVSSGGGGSQVQLKQSGPGLVQPSQSL SITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPGKGLEWL GVIWSSGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKSQV FFKMNSLQSQDTAIYYCARALTYDYEFAY YWGQGLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCGGGH HHHHHHH	
PC-8	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
PC-8	重链序列: N-[抗 CD3 scFv (轻链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYY CALWYSNLWVFGGKTLTVLGGGGSGGG GSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSL AASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVAR IRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSQVQLKQ SGPGLVQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHW VRQSPGKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPFTS RLSINKDNSKSQVFFKMNSLQSQDTAIYYC ARALTYDYEFAYWGQGLVTVSAASTKGP PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP VTVSWNSGALTSVHTFPAVLQSSGLYSL SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCGGHHHHHHHHGGGLNDIFEAQK IEWHE	77
PC-9	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRINGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVCLLNFPYFREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
PC-9	重链序列: N-[10G SDA]-[肽 29]-[接 头]-[抗 CD3 scFv (轻 链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLVTVSSGGGG SGGGSQGSGSYLWGCEWNCGGITGSS GGSGGSGGSSGLSRSRDNHGGGQTVVT QEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQTPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPDFR SGSILGNKAALITGAQADDESYYCALW YSNLWVFGGKTLTVLGGGGSGGGGSGG	78

		GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFSTYAMNWVRQASGKGLEWVGRIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNSLKTEDTAVYYCTRHGNGNSYVSWFA YWGQGLTVTVSSGGGGSQVQLKQSGPGLV QPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSPG KGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFSRLSINKD NSKSQVFFKMNSLQSDTAIYYCARALTY YDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK SCGGHHHHHHHHGGGLNDIFEAQKIEWHE	
PC-10	轻链序列: 抗 EGFR Fab 轻链	QILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNI HWYQQRNNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSG SGSGTDFTLINSVESEDIADYYCQQNNNW PTTFGAGTKLELKRVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	57
PC-10	重链序列: N-[10G SDA]-[肽-18]-[接 头]-[抗 CD3 scFv (轻 链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGRDTL YADSVKGRFTISRDNAAKTLLYLQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSSGGGG SGGGSQGGQGYLWGCEWNCGGITGSS GGSGGSGGSSGLLSGRSDNHGGGSQTVVT QEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARF SGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGG GGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGF TFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNGNSYVSWF AYWGQGLTVTVSSGGGGSQVQLKQSGPGL VQPSQSLITCTVSGFSLTNYGVHWVRQSP GKGLEWLGVIWSSGNTDYNTPTFSRLSINK DNSKSQVFFKMNSLQSDTAIYYCARALT YDYEFAYWGQGLTVTVSAASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPK KSCGGHHHHHHHHGGGLNDIFEAQKIEWH E	73
PC-11	轻链序列: 抗 HER2 Fab 轻链	DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRASQDVN TAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQH YTPPTFGQGTKVEIKRVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLTKA ADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG EC	61
PC-11	重链序列: N-[抗 CD3 scFv (轻链-重链)]-[抗	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVT TSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY	79

	HER2 Fab 重链]-C	CALWYSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLS AASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVAR IRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNT AYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSY VSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSEVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWV RQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKG RFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYC SRWGGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KKVEPKSCAAHHHHHHHHH	
PC-12	轻链序列: N-[肽 -14]-[接头]-[抗 HER2 Fab 轻链]-C	GGTGCTEGHWHWGTCSGGGSGGGGSGG ISSLLSGRSDNHGSSGTDIQMTQSPSSLSA SVGDRVITICRASQDVNTAVAWYQQKPGK APKLLIYSASFLYSGVPSRFSGRSGTDFTLT ISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKV EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDYSLSSLTLSKADYEEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	80
PC-12	重链序列: N-[10G SDA]-[肽-18]-[接 头]-[抗 CD3 scFv (轻 链-重链)]-[抗 EGFR Fab 重链]-C	EVQLVESGGGLVQPNSLRLSCAASGFTFS KFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSRDTL YADSVKGRFTISRDNKTTLLYQMNSLRPE DTAVYYCTIGGSLVSSQGLTVTVSSGGGG SGGGSQGSQGYLWGCEWNCGGITGSS GGSGSGGISSLLSGRSDNHGGGSQTVVT QEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYA NWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGTPARF SGSLLGGKAALTLGVPPEDEAEYYCALW YSNLWVFGGGTKLTVLGGGGSGGGGSGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGF TFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKY NNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQ MNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWF AYWGQGLTVTVSSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAP GKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTIS ADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCAAHHHHHHHHH	81

[0190] 在一些实施方案中,多肽或多肽复合物包含表1中列出的序列。在一些实施方案中,该序列包含与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80或81具有至少或约70%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的序列同一性。在一些实例中,该序列包含与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80或81具有至少或约95%的同一性。在一些实例中,该序列包含与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、

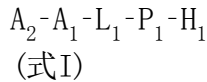
13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80或81具有至少或约97%的同一性。在一些实例中,该序列包含与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80或81具有至少或约99%的同一性。在一些实例中,该序列包含与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80或81具有至少或约100%的同一性。在一些实例中,该序列包含具有SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80或81的至少或约10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400个或超过400个氨基酸的至少一个部分。

[0191] 术语“序列同一性”意指两个多核苷酸序列在比较窗口内相同(即,在逐个核苷酸的基础上)。术语“序列同一性百分比”通过以下计算:在比较窗口内比较两个最佳比对的序列,确定相同核酸碱基(例如,A、T、C、G、U或I)在两个序列中出现的位置数以得出匹配的位置数,将匹配的位置数除以比较窗口中的位置总数(即窗口大小),并将结果乘以100以得出序列同一性的百分比。通常,用于确定序列同一性的技术包括比较两个核苷酸序列或氨基酸序列并确定它们的百分比同一性。序列比较,例如为了评估同一性,可以通过任何合适的比对算法进行,包括但不限于Needleman-Wunsch算法(参见,例如,[www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss\\_needle/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle/)上可获得的EMBOSS Needle aligner,可选择地利用默认设置)、BLAST算法(参见,例如,[blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi](http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)上可获得的BLAST比对工具,可选择地用默认设置)和Smith-Waterman算法(参见,例如,[www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss\\_water/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/)上可获得的EMBOSS Water aligner,可选择地用默认设置)。可以使用所选算法的任何合适的参数(包括默认参数)来评估最佳比对。两个序列之间的“同一性百分比”,也称为“同源性百分比”,可以计算为两个最佳比对的序列之间的精确匹配数除以参考序列的长度并乘以100。例如,还可以通过使用高级BLAST计算机程序(包括可从美国国立卫生研究院获得的2.2.9版)比较序列信息来确定同一性百分比。BLAST程序基于Karlin和Altschul, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 87:2264-2268 (1990) 以及如Altschul等人, *J.Mol.Biol.* 215: 403-410 (1990); Karlin和Altschul, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90:5873-5877 (1993); 和 Altschul等人, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402 (1997) 中所讨论的比对方法。简言之, BLAST程序将同一性定义为相同比对的符号(即核苷酸或氨基酸)的数量除以两个序列中较短序列中的符号总数。该程序可用于确定所比较的序列全长的同一性百分比。提供默认参数以优化使用短查询序列的搜索,例如,使用blastp程序。该程序还允许使用SEG过滤器来掩蔽查询序列的片段,这由Wootton和Federhen, *Computers and Chemistry* 17:149-163

(199)的SEG程序确定。高序列同一性通常包括约80%至100%的序列同一性范围以及其间的整数值。

#### 实施方案

[0192] 实施方案1包含根据式I的多肽或多肽复合物:



其中: $A_1$ 包含与第一靶抗原结合的第一抗原识别分子; $P_1$ 包含与 $A_1$ 结合的肽; $L_1$ 包含使 $A_1$ 与 $P_1$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分; $H_1$ 包含半衰期延长性分子;以及 $A_2$ 包含与第二靶抗原结合的第二抗原识别分子。

[0193] 实施方案2包含实施方案1的多肽或多肽复合物,其中该第一靶抗原包含效应细胞抗原并且该第二靶抗原包含肿瘤细胞抗原。

[0194] 实施方案3包含实施方案1-2中任一项的多肽或多肽复合物,其中该效应细胞抗原包含CD3。

[0195] 实施方案4包含实施方案1-3中任一项的多肽或多肽复合物,其中该肿瘤细胞抗原包含EGFR、HER2、间皮素或CEACAM5。

[0196] 实施方案5包含实施方案1-4中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 包含抗体或抗体片段。

[0197] 实施方案6包含实施方案1-5中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 包含人的或人源化的抗体或抗体片段。

[0198] 实施方案7包含实施方案1-6中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_1$ 与抗体或抗体片段的N端结合。

[0199] 实施方案8包含实施方案1-7中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 与抗体或抗体片段的C端结合。

[0200] 实施方案9包含实施方案1-8中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_1$ 与抗体或抗体片段的C端结合。

[0201] 实施方案10包含实施方案1-9中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 与抗体或抗体片段的N端结合。

[0202] 实施方案11包含实施方案1-10中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或抗体片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab片段。

[0203] 实施方案12包含实施方案1-11中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 是单链可变片段(scFv)。

[0204] 实施方案13包含实施方案1-12中任一项的多肽或多肽复合物,其中scFv包含scFv重链多肽和scFv轻链多肽。

[0205] 实施方案14包含实施方案1-13中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 是单域抗体。

[0206] 实施方案15包含实施方案1-14中任一项的多肽或多肽复合物, $A_1$ 是源自骆驼科动物的单域抗体的单链可变片段(scFv)、重链可变结构域(VH结构域)、轻链可变结构域(VL结构域)、或可变结构域(VHH)。

[0207] 实施方案16包含实施方案1-15中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 包含抗CD3e

单链可变片段。

[0208] 实施方案17包含实施方案1-16中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>包含抗CD3ε单链可变片段,其与表达CD3的细胞上的CD3以1μM或更小的K<sub>d</sub>结合。

[0209] 实施方案18包含实施方案1-17中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>包含可变轻链和可变重链,其各自都能够特异性结合至人CD3。

[0210] 实施方案19包含实施方案1-18中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>包含选自莫罗单抗-CD3 (OKT3)、奥昔组单抗 (TRX4)、替利组单抗 (MGA031)、维西珠单抗 (Nuvion)、SP34、X35、VIT3、BMA030 (BW264/56)、CLB-T3/3、CRIS7、YTH12.5、F111-409、CLB-T3.4.2、TR-66、WT32、SPv-T3b、11D8、XIII-141、XIII-46、XIII-87、12F6、T3/RW2-8C8、T3/RW2-4B6、OKT3D、M-T301、SMC2、F101.01、UCHT-1、WT-31、15865、15865v12、15865v16和15865v19中的互补决定区 (CDR)。

[0211] 实施方案20包含实施方案1-19中任一项的多肽或多肽复合物,其中当L<sub>1</sub>被肿瘤特异性蛋白酶切割时,式I的多肽或多肽复合物与效应细胞结合。

[0212] 实施方案21包含实施方案1-20中任一项的多肽或多肽复合物,其中当L<sub>1</sub>被肿瘤特异性蛋白酶切割并且A<sub>1</sub>与效应细胞结合时,式I的多肽或多肽复合物与效应细胞结合。

[0213] 实施方案22包含实施方案1-21中任一项的多肽或多肽复合物,其中效应细胞是T细胞。

[0214] 实施方案23包含实施方案1-22中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>与作为效应细胞上的TCR-CD3复合物的部分的多肽结合。

[0215] 实施方案24包含实施方案1-23中任一项的多肽或多肽复合物,其中作为TCR-CD3复合物的部分的多肽是人CD3ε。

[0216] 实施方案25包含实施方案1-24中任一项的多肽或多肽复合物,其中效应细胞抗原包含CD3,并且scFv包含根据SEQ ID NO:66、67或68的氨基酸序列。

[0217] 实施方案26包含实施方案1-25中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含抗体或抗体片段。

[0218] 实施方案27包含实施方案1-26中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab。

[0219] 实施方案28包含实施方案1-27中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含源自骆驼科动物的单域抗体的单链可变片段 (scFv)、重链可变结构域 (VH结构域)、轻链可变结构域 (VL结构域)、可变结构域 (VHH)。

[0220] 实施方案29包含实施方案1-28中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段是人源化的或人的。

[0221] 实施方案30包含实施方案1-29中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>是Fab。

[0222] 实施方案31包含实施方案1-30中任一项的多肽或多肽复合物,其中Fab包含 (a) Fab轻链多肽和 (b) Fab重链多肽。

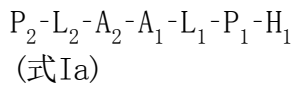
[0223] 实施方案32包含实施方案1-31中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含表皮生长因子受体 (EGFR) 结合结构域。

[0224] 实施方案33包含实施方案1-32中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含间皮素结合结构域。

- [0225] 实施方案34包含实施方案1-33中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含癌胚抗原相关的细胞粘附分子CEACAM5结合结构域。
- [0226] 实施方案35包含实施方案1-34中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:56或57的氨基酸序列。
- [0227] 实施方案36包含实施方案1-35中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:59或60的氨基酸序列。
- [0228] 实施方案37包含实施方案1-36中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含HER2,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:61的氨基酸序列。
- [0229] 实施方案38包含实施方案1-37中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含HER2并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:62或63的氨基酸序列。
- [0230] 实施方案39包含实施方案1-38中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>1</sub>的单链可变片段(scFv)的C端结合。
- [0231] 实施方案40包含实施方案1-39中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的单链可变片段(scFv)的C端结合。
- [0232] 实施方案41包含实施方案1-40中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>1</sub>的单链可变片段(scFv)的N端结合。
- [0233] 实施方案42包含实施方案1-41中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的单链可变片段(scFv)的N端结合。
- [0234] 实施方案43包含实施方案1-42中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的scFv重链多肽结合。
- [0235] 实施方案44包含实施方案1-43中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的scFv重链多肽结合。并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:76的氨基酸序列。
- [0236] 实施方案45包含实施方案1-44中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的scFv重链多肽结合。并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:78的氨基酸序列。
- [0237] 实施方案46包含实施方案1-45中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的scFv重链多肽结合。并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:73的氨基酸序列。
- [0238] 实施方案47包含实施方案1-46中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>1</sub>的scFv重链多肽结合。
- [0239] 实施方案48包含实施方案1-47中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的scFv轻链多肽结合。
- [0240] 实施方案49包含实施方案1-48中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab重链多肽与A<sub>1</sub>的scFv轻链多肽结合,并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:57和SEQ ID NO:74的氨基酸序列。
- [0241] 实施方案50包含实施方案1-49中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>1</sub>的scFv轻链多肽结合。
- [0242] 实施方案51包含实施方案1-50中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>进一步包含

$P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含与 $A_2$ 结合的肽;并且 $L_2$ 包含使 $A_2$ 与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0243] 实施方案52包含实施方案1-51中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物根据式Ia



[0244] 实施方案53包含实施方案1-52中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合。

[0245] 实施方案54包含实施方案1-53中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:70和SEQ ID NO:73的氨基酸序列。

[0246] 实施方案55包含实施方案1-54中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:80和SEQ ID NO:81的氨基酸序列。

[0247] 实施方案56包含实施方案1-55中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的scFv重链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab重链多肽结合。

[0248] 实施方案57包含实施方案1-56中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 的Fab重链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab轻链多肽结合。

[0249] 实施方案58包含实施方案1-57中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 的Fab轻链多肽与 $A_1$ 的scFv轻链多肽结合并且 $L_2$ 与 $A_2$ 的Fab重链多肽结合。

[0250] 实施方案59包含实施方案1-58中任一项的多肽或多肽复合物,其中第一靶抗原包含肿瘤细胞抗原并且第二靶抗原包含效应细胞抗原

[0251] 实施方案60包含实施方案1-59中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含EGFR、HER2、间皮素或CEACAM5。

[0252] 实施方案61包含实施方案1-60中任一项的多肽或多肽复合物,其中效应细胞抗原包含CD3。

[0253] 实施方案62包含实施方案1-61中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 包含抗体或抗体片段。

[0254] 实施方案63包含实施方案1-62中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_1$ 包含人的或人源化的抗体或抗体片段。

[0255] 实施方案64包含实施方案1-63中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_1$ 与抗体或抗体片段的N端结合。

[0256] 实施方案65包含实施方案1-64中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 与抗体或抗体片段的C端结合。

[0257] 实施方案66包含实施方案1-65中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_1$ 与抗体或抗体片段的C端结合。

[0258] 实施方案67包含实施方案1-66中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $A_2$ 与抗体或抗体片段的N端结合。

[0259] 实施方案68包含实施方案1-67中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体

片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab。

[0260] 实施方案69包含实施方案1-68中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含源自骆驼科动物的单域抗体的单链可变片段(scFv)、重链可变结构域(VH结构域)、轻链可变结构域(VL结构域)、可变结构域(VHH)。

[0261] 实施方案70包含实施方案1-69中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段是人源化的或人的。

[0262] 实施方案71包含实施方案1-70中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>是Fab。

[0263] 实施方案72包含实施方案1-71中任一项的多肽或多肽复合物,其中Fab包含(a) Fab轻链多肽和(b) Fab重链多肽。

[0264] 实施方案73包含实施方案1-72中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含表皮生长因子受体(EGFR)结合结构域。

[0265] 实施方案74包含实施方案1-73中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含间皮素结合结构域。

[0266] 实施方案75包含实施方案1-74中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或其抗体片段包含癌胚抗原相关的细胞粘附分子CEACAM5结合结构域。

[0267] 实施方案76包含实施方案1-75中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:56或57的氨基酸序列。

[0268] 实施方案77包含实施方案1-76中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:59或60的氨基酸序列。

[0269] 实施方案78包含实施方案1-77中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含HER2,并且Fab轻链多肽包含根据SEQ ID NO:61的氨基酸序列。

[0270] 实施方案79包含实施方案1-78中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含HER2并且Fab重链多肽包含根据SEQ ID NO:62或63的氨基酸序列。

[0271] 实施方案80包含实施方案1-79中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含抗体或抗体片段。

[0272] 实施方案81包含实施方案1-80中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含人的或人源化的抗体或抗体片段。

[0273] 实施方案82包含实施方案1-81中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体或抗体片段包含单链可变片段、单域抗体或Fab片段。

[0274] 实施方案83包含实施方案1-82中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>是单链可变片段(scFv)。

[0275] 实施方案84包含实施方案1-83中任一项的多肽或多肽复合物,其中scFv包含scFv重链多肽和scFv轻链多肽。

[0276] 实施方案85包含实施方案1-84中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>是单域抗体。

[0277] 实施方案86包含实施方案1-85中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体包含源自骆驼科动物的单域抗体的单链可变片段(scFv)、重链可变结构域(VH结构域)、轻链可变结构域(VL结构域)、或可变结构域(VHH)。

[0278] 实施方案87包含实施方案1-86中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含抗CD3e

单链可变片段。

[0279] 实施方案88包含实施方案1-87中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含抗CD3ε单链可变片段,其与表达CD3的细胞上的CD3以1μM或更小的K<sub>d</sub>结合。

[0280] 实施方案89包含实施方案1-88中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含可变轻链和可变重链,其各自都能够特异性结合至人CD3。

[0281] 实施方案90包含实施方案1-89中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>包含选自莫罗单抗-CD3 (OKT3)、奥昔组单抗 (TRX4)、替利组单抗 (MGA031)、维西珠单抗 (Nuvion)、SP34、X35、VIT3、BMA030 (BW264/56)、CLB-T3/3、CRIS7、YTH12.5、F111-409、CLB-T3.4.2、TR-66、WT32、SPv-T3b、11D8、XIII-141、XIII-46、XIII-87、12F6、T3/RW2-8C8、T3/RW2-4B6、OKT3D、M-T301、SMC2、F101.01、UCHT-1、WT-31、15865、15865v12、15865v16和15865v19中的互补决定区 (CDR)。

[0282] 实施方案91包含实施方案1-90中任一项的多肽或多肽复合物,其中式I的多肽或多肽复合物与效应细胞结合。

[0283] 实施方案92包含实施方案1-91中任一项的多肽或多肽复合物,其中效应细胞是T细胞。

[0284] 实施方案93包含实施方案1-92中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>与作为效应细胞上的TCR-CD3复合物的部分的多肽结合。

[0285] 实施方案94包含实施方案1-93中任一项的多肽或多肽复合物,其中作为TCR-CD3复合物的部分的多肽是人CD3ε。

[0286] 实施方案95包含实施方案1-94中任一项的多肽或多肽复合物,其中效应细胞抗原原包含CD3,并且scFv包含根据SEQ ID NO:66、67或68的氨基酸序列。

[0287] 实施方案96包含实施方案1-95中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>2</sub>的单链可变片段 (scFv) 的C端结合。

[0288] 实施方案97包含实施方案1-96中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的单链可变片段 (scFv) 的C端结合。

[0289] 实施方案98包含实施方案1-97中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>2</sub>的单链可变片段 (scFv) 的N端结合。

[0290] 实施方案99包含实施方案1-98中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的单链可变片段 (scFv) 的N端结合。

[0291] 实施方案100包含实施方案1-99中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽结合。

[0292] 实施方案101包含实施方案1-100中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab重链多肽结合。

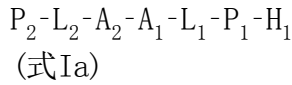
[0293] 实施方案102包含实施方案1-101中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽结合。

[0294] 实施方案103包含实施方案1-102中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab重链多肽结合。

[0295] 实施方案104包含实施方案1-103中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>2</sub>进一步包含P<sub>2</sub>和L<sub>2</sub>,其中P<sub>2</sub>包含与A<sub>2</sub>结合的肽;并且L<sub>2</sub>包含使A<sub>2</sub>与P<sub>2</sub>相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的

底物的连接部分。

[0296] 实施方案105包含实施方案1-104中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物根据式Ia



[0297] 实施方案106包含实施方案1-105中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽结合并且L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合。

[0298] 实施方案107包含实施方案1-106中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽结合并且L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合,并且该多肽复合物包含SEQ ID NO:72和SEQ ID NO:71的氨基酸序列。

[0299] 实施方案108包含实施方案1-107中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab重链多肽结合并且L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合。

[0300] 实施方案109包含实施方案1-108中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab重链多肽与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽结合并且L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合。

[0301] 实施方案110包含实施方案1-109中任一项的多肽或多肽复合物,其中A<sub>1</sub>的Fab轻链多肽与A<sub>2</sub>的scFv轻链多肽结合并且L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的Fab重链多肽结合并且L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的scFv重链多肽结合。

[0302] 实施方案111包含实施方案1-110中任一项的多肽或多肽复合物,其中与不具有P<sub>1</sub>或L<sub>1</sub>的多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力相比,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱。

[0303] 实施方案112包含实施方案1-111中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有P<sub>1</sub>或L<sub>1</sub>的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少10倍。

[0304] 实施方案113包含实施方案1-112中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比不具有P<sub>1</sub>或L<sub>1</sub>的多肽或多肽复合物的形式对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少100倍。

[0305] 实施方案114包含实施方案1-113中任一项的多肽或多肽复合物,其中与其中L<sub>1</sub>已被肿瘤特异性蛋白酶切割的多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力相比,该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱。

[0306] 实施方案115包含实施方案1-114中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比其中L<sub>1</sub>已被肿瘤特异性蛋白酶切割的多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少10倍。

[0307] 实施方案116包含实施方案1-115中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力较弱,其比其中L<sub>1</sub>已被肿瘤特异性蛋白酶切割的多肽或多肽复合物对肿瘤细胞抗原的结合亲和力高至少100倍。

[0308] 实施方案117包含实施方案1-116中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1</sub>破坏A<sub>1</sub>与

第一靶抗原的结合。

[0309] 实施方案118包含实施方案1-117中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、 $\pi$ -堆叠相互作用和H-键相互作用或其组合而与 $A_1$ 结合。

[0310] 实施方案119包含实施方案1-118中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 与第一靶抗原具有小于70%的序列同一性。

[0311] 实施方案120包含实施方案1-119中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_2$ 破坏 $A_2$ 与第二靶抗原的结合。

[0312] 实施方案121包含实施方案1-120中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_2$ 通过离子相互作用、静电相互作用、疏水相互作用、 $\pi$ -堆叠相互作用和H-键相互作用或其组合而与 $A_2$ 结合。

[0313] 实施方案122包含实施方案1-121中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_2$ 在抗原结合位点处或其附近与 $A_2$ 结合。

[0314] 实施方案123包含实施方案1-122中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_2$ 与第二靶抗原具有小于70%的序列同一性。

[0315] 实施方案124包含实施方案1-123中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含长度为至少10个氨基酸的肽序列。

[0316] 实施方案125包含实施方案1-124中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含长度为至少10个氨基酸且长度不超过20个氨基酸的肽序列。

[0317] 实施方案126包含实施方案1-125中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含长度为至少16个氨基酸的肽序列。

[0318] 实施方案127包含实施方案1-126中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含长度不超过40个氨基酸的肽序列。

[0319] 实施方案128包含实施方案1-127中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含至少两个半胱氨酸氨基酸残基。

[0320] 实施方案129包含实施方案1-128中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包括环肽或线性肽。

[0321] 实施方案130包含实施方案1-129中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含环肽。

[0322] 实施方案131包含实施方案1-130中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 或 $P_2$ 包含线性肽。

[0323] 实施方案132包含实施方案1-131中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $P_1$ 包含至少两个半胱氨酸氨基酸残基。

[0324] 实施方案133包含实施方案1-132中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原包含EGFR,并且 $P_1$ 或 $P_2$ 包含选自GGDWCRSLMSYTDLCP (SEQ ID NO:1)、GGTSCADAHLIAPSCS (SEQ ID NO:2)、GGNCQWDRVEHTYACS (SEQ ID NO:3)、GGWVSCHDGSMTCFH (SEQ ID NO:4)、GGMNCLNRLWVEYCLV (SEQ ID NO:5)、GGYCGQDNTWVREGCF (SEQ ID NO:6)和QQSGQLSCEGWAMNREQRA (SEQ ID NO:7)中的氨基酸序列。

[0325] 实施方案134包含实施方案1-133中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗

原包含HER2,并且P<sub>1</sub>或P<sub>2</sub>包含选自GGPLCSDLHDITRLCD (SEQ ID NO:8)、GGIDCASLDHYTESCY (SEQ ID NO:9)、GGNPVCTLGDPYECSE (SEQ ID NO:10)、GGTFCQLNADPYECQS (SEQ ID NO:11)、GGGYCELIGDYVVCSP (SEQ ID NO:12)、GGLCDRWGWIDAPYCH (SEQ ID NO:13)、GGTGCTEGHWHWGTC (SEQ ID NO:14)、GGNICMDYSWRSRSCAV (SEQ ID NO:15)、GGHCTFGDWSLGTCA (SEQ ID NO:16)和GGFICTLGNWWDGSCE (SEQ ID NO:17)中的氨基酸序列。

[0326] 实施方案135包含实施方案1-134中任一项的多肽或多肽复合物,其中效应细胞抗原包含CD3,并且P<sub>1</sub>或P<sub>2</sub>包含选自QGQSGQGGLWGCWNCGGITT (SEQ ID NO:18)、GGDSVCADPEVPICEI (SEQ ID NO:19)、GGMSDCGDPGVEICTH (SEQ ID NO:20)、GGIQCHDPDLSPCYI (SEQ ID NO:21)、GGEWCLFDPDVPTCQD (SEQ ID NO:22)、GGLGCNDIDPGEQCIV (SEQ ID NO:23)、GGLECFDPEIPEAFCI (SEQ ID NO:24)、GGQGC GTIADPEPHCW (SEQ ID NO:25)、GGNCHDPDIPAYVLC (SEQ ID NO:26)、GGLCPINDWEPQDICW (SEQ ID NO:27)和GGLCMIGDWLPGDVCL (SEQ ID NO:28)中的氨基酸序列。

[0327] 实施方案136包含实施方案1-135中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的N端结合。

[0328] 实施方案137包含实施方案1-136中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>与A<sub>1</sub>的C端结合。

[0329] 实施方案138包含实施方案1-137中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的N端结合。

[0330] 实施方案139包含实施方案1-138中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>2</sub>与A<sub>2</sub>的C端结合。

[0331] 实施方案140包含实施方案1-139中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>是具有至少5个至不超过50个氨基酸的肽序列。

[0332] 实施方案141包含实施方案1-140中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>是具有至少10个至不超过30个氨基酸的肽序列。

[0333] 实施方案142包含实施方案1-141中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>是具有至少10个氨基酸的肽序列。

[0334] 实施方案143包含实施方案1-142中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>是具有至少18个氨基酸的肽序列。

[0335] 实施方案144包含实施方案1-143中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>是具有至少26个氨基酸的肽序列。

[0336] 实施方案145包含实施方案1-144中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>具有包含(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>的式,其中n为1至3的整数(SEQ ID NO:29)。

[0337] 实施方案146包含实施方案1-145中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>具有选自(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>、(GS)<sub>n</sub>、(GSGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:30)、(GGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:31)、(GGGG)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:32)和(GSSGG)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:33)中的式,其中n是至少1的整数。

[0338] 实施方案147包含实施方案1-146中任一项的多肽或多肽复合物,其中当L<sub>1</sub>被肿瘤特异性蛋白酶切割从而使A<sub>1</sub>暴露于第一靶抗原时,P<sub>1</sub>变得不与A<sub>1</sub>结合。

[0339] 实施方案148包含实施方案1-147中任一项的多肽或多肽复合物,其中当L<sub>2</sub>被肿瘤特异性蛋白酶切割从而使A<sub>2</sub>暴露于第二靶抗原时,P<sub>2</sub>变得不与A<sub>2</sub>结合。

[0340] 实施方案149包含实施方案1-148中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤特异性蛋白酶选自金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、苏氨酸蛋白酶和天冬氨酸蛋白酶。

[0341] 实施方案150包含实施方案1-149中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>包含尿激酶可切割的氨基酸序列、matriptase可切割的氨基酸序列、基质金属蛋白酶可切割的氨基酸序列、或legumain可切割的氨基酸序列。

[0342] 实施方案151包含实施方案1-150中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>包含选自GGGGSLSGRSDNHGSSGT (SEQ ID NO:34)、GGGGSSGGSGGSLSGRSDNHGSSGT (SEQ ID NO:35)、ASGRSDNH (SEQ ID NO:36)、LAGRSDNH (SEQ ID NO:37)、ISSGLASGRSDNH (SEQ ID NO:38)、ISSGLLAGRSDNH (SEQ ID NO:39)、LSGRSDNH (SEQ ID NO:40)、ISSGLLSGRSDNP (SEQ ID NO:41)、ISSGLLSGRSDNH (SEQ ID NO:42)、LSGRSDNHSPLGLAGS (SEQ ID NO:43)、SPLGLAGSLSGRSDNH (SEQ ID NO:44)、SPLGLSGRSDNH (SEQ ID NO:45)、LAGRSDNHSPLGLAGS (SEQ ID NO:46)、LSGRSDNHVPLSLKMG (SEQ ID NO:47)、LSGRSDNHVPLSLSMG (SEQ ID NO:48)、GSSGGSGGSGGSGISSGLLSGRSDNHGSSGT (SEQ ID NO:49)和GSSGGSGGSGGISSGLLSGRSDNHGGGS (SEQ ID NO:50)中的氨基酸序列。

[0343] 实施方案152包含实施方案1-151中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>或L<sub>2</sub>包含氨基酸序列ASGRSDNH (SEQ ID NO:36)、LAGRSDNH (SEQ ID NO:37)、ISSGLASGRSDNH (SEQ ID NO:38)和ISSGLLAGRSDNH (SEQ ID NO:39)。

[0344] 实施方案153包含实施方案1-152中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1</sub>包含聚合物。

[0345] 实施方案154包含实施方案1-153中任一项的多肽或多肽复合物,其中聚合物是聚乙二醇(PEG)。

[0346] 实施方案155包含实施方案1-154中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1</sub>包含白蛋白。

[0347] 实施方案156包含实施方案1-155中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1</sub>包含Fc结构域。

[0348] 实施方案157包含实施方案1-156中任一项的多肽或多肽复合物,其中白蛋白是血清白蛋白。

[0349] 实施方案158包含实施方案1-157中任一项的多肽或多肽复合物,其中白蛋白是人血清白蛋白。

[0350] 实施方案159包含实施方案1-158中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1</sub>包含多肽、配体或小分子。

[0351] 实施方案160包含实施方案1-159中任一项的多肽或多肽复合物,其中多肽、配体或小分子结合血清蛋白或其片段、循环免疫球蛋白或其片段、或CD35/CR1。

[0352] 实施方案161包含实施方案1-160中任一项的多肽或多肽复合物,其中血清蛋白包含甲状腺素结合蛋白、转甲状腺素蛋白、1-酸性糖蛋白、转铁蛋白、转铁蛋白受体或其转铁蛋白结合部分、纤维蛋白原或白蛋白。

[0353] 实施方案162包含实施方案1-161中任一项的多肽或多肽复合物,其中循环免疫球蛋白分子包含IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、sIgA、IgM或IgD。

- [0354] 实施方案163包含实施方案1-162中任一项的多肽或多肽复合物,其中血清蛋白是白蛋白。
- [0355] 实施方案164包含实施方案1-163中任一项的多肽或多肽复合物,其中多肽是抗体。
- [0356] 实施方案165包含实施方案1-164中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体包含单域抗体、单链可变片段或Fab。
- [0357] 实施方案166包含实施方案1-165中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体包含与白蛋白结合的单域抗体。其中单域抗体是人抗体或人源化抗体。
- [0358] 实施方案167包含实施方案1-166中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是645gH1gL1。
- [0359] 实施方案168包含实施方案1-167中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是645dsgH5gL4。
- [0360] 实施方案169包含实施方案1-168中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是23-13-A01-sc02。
- [0361] 实施方案170包含实施方案1-169中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是A10m3或其片段。
- [0362] 实施方案171包含实施方案1-170中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是DOM7r-31。
- [0363] 实施方案172包含实施方案1-171中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是DOM7h-11-15。
- [0364] 实施方案173包含实施方案1-172中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是Alb-1、Alb-8或Alb-23。
- [0365] 实施方案174包含实施方案1-173中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是10G或10GE。
- [0366] 实施方案175包含实施方案1-174中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是10G,并且单域抗体包含氨基酸序列EVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL EWWSSISGSGRDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDT AVYYCTIGGSLSVSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO:52)。
- [0367] 实施方案176包含实施方案1-175中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是SA21。
- [0368] 实施方案177包含实施方案1-176中任一项的多肽或多肽复合物,其中该多肽或多肽复合物包含修饰的氨基酸、非天然氨基酸、修饰的非天然氨基酸或其组合。
- [0369] 实施方案178包含实施方案1-177中任一项的多肽或多肽复合物,其中修饰的氨基酸或修饰的非天然氨基酸包含翻译后修饰。
- [0370] 实施方案179包含实施方案1-178中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1</sub>包含使H<sub>1</sub>与P<sub>1</sub>相连的连接部分(L<sub>3</sub>)。
- [0371] 实施方案180包含实施方案1-179中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>是具有至少5个至不超过50个氨基酸的肽序列。
- [0372] 实施方案181包含实施方案1-180中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>是具有至

少10个至不超过30个氨基酸的肽序列。

[0373] 实施方案182包含实施方案1-181中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>是具有至少10个氨基酸的肽序列。

[0374] 实施方案183包含实施方案1-182中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>是具有至少18个氨基酸的肽序列。

[0375] 实施方案184包含实施方案1-183中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>是具有至少26个氨基酸的肽序列。

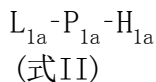
[0376] 实施方案185包含实施方案1-184中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>具有选自(G<sub>2</sub>S)<sub>n</sub>、(GS)<sub>n</sub>、(GSGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:30)、(GGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:31)、(GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:32)和(GSSGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO:33)中的式,其中n是至少1的整数。

[0377] 实施方案186包含实施方案1-185中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>3</sub>包含根据GGGSGGGS (SEQ ID NO:51)的氨基酸序列。

[0378] 实施方案187包含一种药物组合物,包含:实施方案1-186中任一项的多肽或多肽复合物;和药学上可接受的赋形剂。

[0379] 实施方案188包含编码实施方案1-187中任一项的多肽或多肽复合物的分离的重组核酸分子。

[0380] 实施方案189包含根据式II的多肽或多肽复合物:



其中:L<sub>1a</sub>包含肿瘤特异性蛋白酶切割的连接部分,该连接部分当未被切割时使P<sub>1a</sub>与抗原识别分子相连,该抗原识别分子与靶抗原结合并且;P<sub>1a</sub>包含当L<sub>1a</sub>未被切割时与抗原识别分子结合的肽;以及H<sub>1a</sub>包含半衰期延长性分子

[0381] 实施方案190包含实施方案1-189中任一项的多肽或多肽复合物,其中L<sub>1</sub>未被切割时P<sub>1a</sub>破坏抗原识别分子与靶抗原的结合。

[0382] 实施方案191包含实施方案1-190中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗原识别分子包含抗体或抗体片段。

[0383] 实施方案192包含实施方案1-191中任一项的多肽或多肽复合物,其中靶抗原是抗CD3效应细胞抗原。

[0384] 实施方案193包含实施方案1-192中任一项的多肽或多肽复合物,其中靶抗原是肿瘤细胞抗原。

[0385] 实施方案194包含实施方案1-193中任一项的多肽或多肽复合物,其中肿瘤细胞抗原是EGFR、HER2、间皮素或CEACAM5。

[0386] 实施方案195包含实施方案1-194中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>与靶抗原具有小于70%的序列同一性。

[0387] 实施方案196包含实施方案1-195中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含长度为至少10个氨基酸的肽序列。

[0388] 实施方案197包含实施方案1-196中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含长度为至少10个氨基酸且长度不超过20个氨基酸的肽序列。

[0389] 实施方案198包含实施方案1-197中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含长度

为至少16个氨基酸的肽序列。

[0390] 实施方案199包含实施方案1-198中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含长度不超过40个氨基酸的肽序列。

[0391] 实施方案200包含实施方案1-199中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含至少两个半胱氨酸氨基酸残基。

[0392] 实施方案201包含实施方案1-200中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含环肽或线性肽。

[0393] 实施方案202包含实施方案1-201中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含环肽。

[0394] 实施方案203包含实施方案1-202中任一项的多肽或多肽复合物,其中P<sub>1a</sub>包含线性肽。

[0395] 实施方案204包含实施方案1-203中任一项的多肽或多肽复合物,其中靶抗原包含EGFR,并且P<sub>1a</sub>包含选自GGDWCRSLMSYTDLCP (SEQ ID NO:1)、GGTSCADAHLIAPSCS (SEQ ID NO:2)、GGNCQWDRVEHTYACS (SEQ ID NO:3)、GGWVSCHDGSMTCTFH (SEQ ID NO:4)、GGMNCLNRLWVEYCLV (SEQ ID NO:5)、GGYCGQDNTWVREGCF (SEQ ID NO:6)和QQQSGQLSCEGWAMNREQCRA (SEQ ID NO:7)中的氨基酸序列。

[0396] 实施方案205包含实施方案1-204中任一项的多肽或多肽复合物,其中靶标包含HER2,并且P<sub>1a</sub>包含选自GGPLCSDLHITRLCD (SEQ ID NO:8)、GGIDCASLDHYTESCY (SEQ ID NO:9)、GGNPVCTLGDPYEC SH (SEQ ID NO:10)、GGTFCQLNADPYECQS (SEQ ID NO:11)、GGGYCELIGDYVVCSP (SEQ ID NO:12)、GGLCDRWGWIDAPYCH (SEQ ID NO:13)、GGTGCTEGHWHWGTC S (SEQ ID NO:14)、GGNICMDYSWRS GCAV (SEQ ID NO:15)、GGHCTFGDWSLGTCA (SEQ ID NO:16)和GGFICTLGNWWDGSCE (SEQ ID NO:17)中的氨基酸序列。

[0397] 实施方案206包含实施方案1-205中任一项的多肽或多肽复合物,其中靶标包含CD3,并且P<sub>1a</sub>包含选自QQQSGQGYLWGCEWNCGGITT (SEQ ID NO:18)、GGDSVCADPEVPICEI (SEQ ID NO:19)、GGMSDCGDPGVEICTH (SEQ ID NO:20)、GGIQCHDPDLSPCYI (SEQ ID NO:21)、GGEWCLFDPDVPTCQD (SEQ ID NO:22)、GGLGCNDIDPGEQCIV (SEQ ID NO:23)、GGLECFDPEIPEAFCI (SEQ ID NO:24)、GGQGC GTIADPEPHCW (SEQ ID NO:25)、GGNCHDPDIPAYV LCS (SEQ ID NO:26)、GGLCPINDWEPQD ICW (SEQ ID NO:27)和GGLCMIGDWLPGDVCL (SEQ ID NO:28)中的氨基酸序列。

[0398] 实施方案207包含实施方案1-206中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1a</sub>包含聚合物。

[0399] 实施方案208包含实施方案1-207中任一项的多肽或多肽复合物,其中聚合物是聚乙二醇(PEG)。

[0400] 实施方案209包含实施方案1-208中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1a</sub>包含白蛋白。

[0401] 实施方案210包含实施方案1-209中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1a</sub>包含Fc结构域。

[0402] 实施方案211包含实施方案1-210中任一项的多肽或多肽复合物,其中白蛋白是血清白蛋白。

- [0403] 实施方案212包含实施方案1-211中任一项的多肽或多肽复合物,其中白蛋白是人血清白蛋白。
- [0404] 实施方案213包含实施方案1-212中任一项的多肽或多肽复合物,其中H<sub>1a</sub>包含多肽、配体或小分子。
- [0405] 实施方案214包含实施方案1-213中任一项的多肽或多肽复合物,其中多肽、配体或小分子结合血清蛋白或其片段、循环免疫球蛋白或其片段、或CD35/CR1。
- [0406] 实施方案215包含实施方案1-214中任一项的多肽或多肽复合物,其中血清蛋白包含甲状腺素结合蛋白、转甲状腺素蛋白、1-酸糖蛋白、转铁蛋白、转铁蛋白受体或其转铁蛋白结合部分、纤维蛋白原或白蛋白。
- [0407] 实施方案216包含实施方案1-215中任一项的多肽或多肽复合物,其中循环免疫球蛋白分子包含IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、sIgA、IgM或IgD。
- [0408] 实施方案217包含实施方案1-216中任一项的多肽或多肽复合物,其中血清蛋白是白蛋白。
- [0409] 实施方案218包含实施方案1-217中任一项的多肽或多肽复合物,其中多肽是抗体。
- [0410] 实施方案219包含实施方案1-218中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体包含单域抗体、单链可变片段或Fab。
- [0411] 实施方案220包含实施方案1-219中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体包含与白蛋白结合的单域抗体。
- [0412] 实施方案221包含实施方案1-220中任一项的多肽或多肽复合物,其中抗体是人抗体或人源化抗体。
- [0413] 实施方案222包含实施方案1-221中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是645gH1gL1。
- [0414] 实施方案223包含实施方案1-222中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是645dsgH5gL4。
- [0415] 实施方案224包含实施方案1-223中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是23-13-A01-sc02。
- [0416] 实施方案225包含实施方案1-224中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是A10m3或其片段。
- [0417] 实施方案226包含实施方案1-225中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是DOM7r-31。
- [0418] 实施方案227包含实施方案1-226中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是DOM7h-11-15。
- [0419] 实施方案228包含实施方案1-227中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是Alb-1、Alb-8或Alb-23。
- [0420] 实施方案229包含实施方案1-228中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是10G或10GE。
- [0421] 实施方案230包含实施方案1-229中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是10G,并且单域抗体包含氨基酸序列EVQLVESGGGLVQPGNSLRSLCAASGFTFSKFGMSWVRQAPGKGL

WVSSISGSGRDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSVSSQGTLVTVSS (SEQ ID NO:52)。

[0422] 实施方案231包含实施方案1-230中任一项的多肽或多肽复合物,其中单域抗体是SA21。

[0423] 实施方案232包含实施方案1-231中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $H_{1a}$ 包含使 $H_{1a}$ 与 $P_{1a}$ 相连的连接部分( $L_{3a}$ )

[0424] 实施方案233包含实施方案1-232中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 是具有至少5个至不超过50个氨基酸的肽序列。

[0425] 实施方案234包含实施方案1-233中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 是具有至少10个至不超过30个氨基酸的肽序列。

[0426] 实施方案235包含实施方案1-234中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 是具有至少10个氨基酸的肽序列。

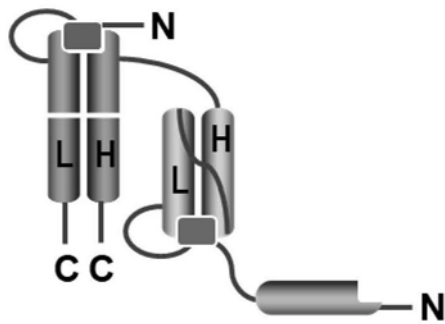
[0427] 实施方案236包含实施方案1-235中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 是具有至少18个氨基酸的肽序列。

[0428] 实施方案237包含实施方案1-236中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 是具有至少26个氨基酸的肽序列。

[0429] 实施方案238包含实施方案1-237中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 具有选自 $(G_2S)_n$ 、 $(GS)_n$ 、 $(GSGGS)_n$  (SEQ ID NO:30)、 $(GGGS)_n$  (SEQ ID NO:31)、 $(GGGGS)_n$  (SEQ ID NO:32)和 $(GSSGGS)_n$  (SEQ ID NO:33)中的式,其中n是至少1的整数。

[0430] 实施方案239包含实施方案1-238中任一项的多肽或多肽复合物,其中 $L_{3a}$ 包含氨基酸序列GGGGSGGGS (SEQ ID NO:51)。

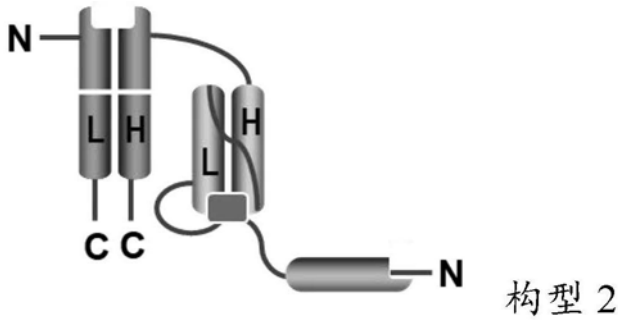
[0431] 实施方案240包含具有根据构型1的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 1

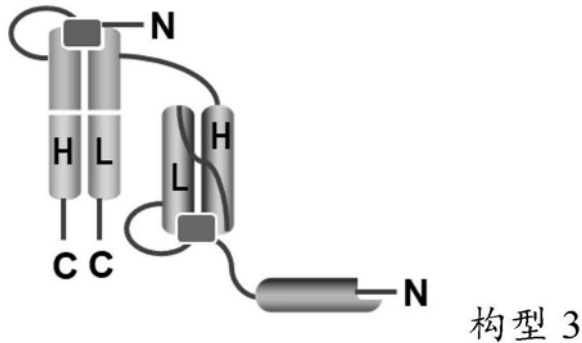
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab重链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab轻链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0432] 实施方案241包含包含根据构型2的结构排列的多肽或多肽复合物:



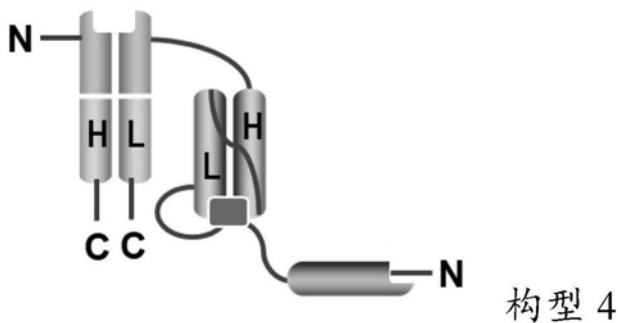
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链, 并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的重链可变结构域的C端连接。

[0433] 实施方案242包含包含根据构型3的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接, 并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab, 其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽, 其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接, 并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ , 其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽; 并且 $L_2$ 包含使Fab重链多肽与 $P_2$ 连接并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

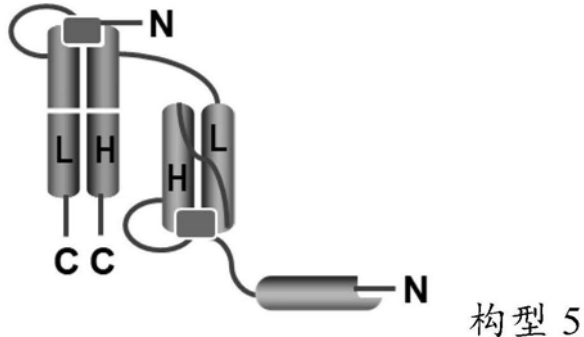
[0434] 实施方案243包含包含根据构型4的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该scFv进一步与破坏scFv与效应细胞抗原的结合

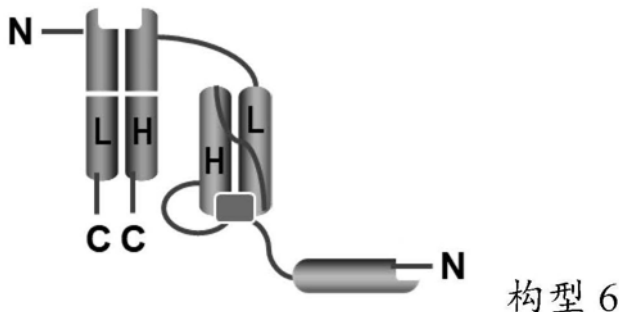
的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的轻链可变结构域的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab轻链多肽与该scFv的重链可变结构域的C端连接。

[0435] 实施方案244包含包含根据构型5的结构排列的多肽或多肽复合物:



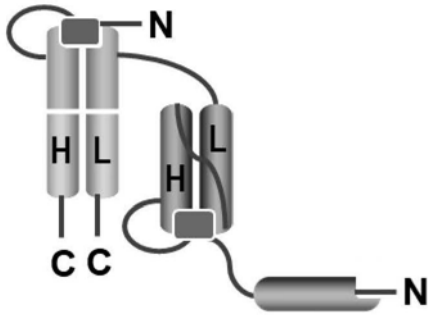
其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与该scFv的重链可变结构域的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab重链多肽与该scFv的轻链可变结构域的C端连接,并且其中该Fab连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽;并且 $L_2$ 包含使Fab轻链多肽与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0436] 实施方案245包含包含根据构型6的结构排列的多肽或多肽复合物:



其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段(scFv),该单链可变片段(scFv)包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv与破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与该scFv的重链可变结构域连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与肿瘤细胞抗原结合的Fab,其中该Fab包含Fab轻链多肽链和Fab重链多肽链,并且其中该Fab重链多肽链与该scFv的轻链可变结构域的C端连接。

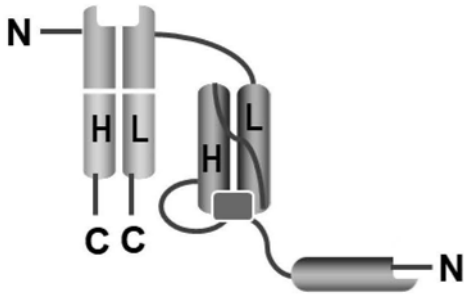
[0437] 实施方案246包含包含根据构型7的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 7

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该 scFv 与破坏 scFv 与效应细胞抗原的结合的肽 ( $P_1$ ) 连接并且  $P_1$  通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分 ( $L_1$ ) 而与该 scFv 的重链可变结构域的 N 端连接, 并且  $P_1$  进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的 Fab, 其中该 Fab 包含 Fab 轻链多肽和 Fab 重链多肽, 其中该 Fab 轻链多肽与该 scFv 的轻链可变结构域的 C 端连接, 并且其中该 Fab 连接至  $P_2$  和  $L_2$ , 其中  $P_2$  包含破坏与肿瘤细胞抗原的结合的肽; 并且  $L_2$  包含使 Fab 重链多肽与  $P_2$  相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

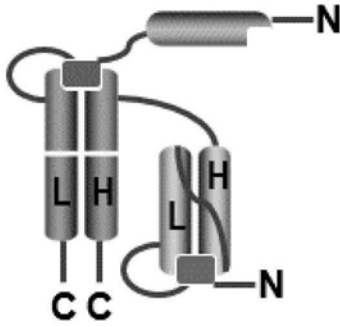
[0438] 实施方案 247 包含包含根据构型 8 的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 8

其中该多肽或多肽复合物包含单链可变片段 (scFv), 该单链可变片段 (scFv) 包含轻链可变结构域和重链可变结构域, 其中该 scFv 与破坏 scFv 与效应细胞抗原的结合的肽连接并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与 scFv 的重链可变结构域的 N 端连接, 并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接; 以及与肿瘤细胞抗原结合的 Fab, 其中该 Fab 包含 Fab 轻链多肽和 Fab 重链多肽, 其中该 Fab 轻链多肽与该 scFv 的轻链可变结构域的 C 端连接。

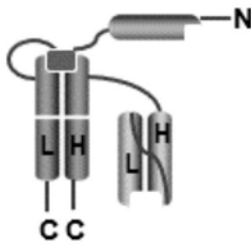
[0439] 实施方案 248 包含包含根据构型 9 的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 9

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

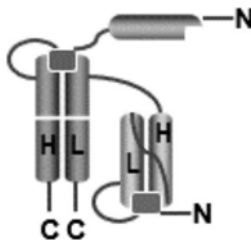
[0440] 实施方案249包含包含根据构型10的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 10

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接。

[0441] 实施方案250包含包含根据构型11的结构排列的多肽或多肽复合物:

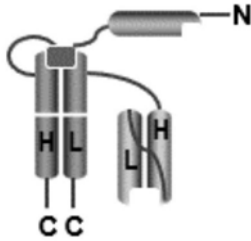


构型 11

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多

肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv进一步与 $P_2$ 和 $L_2$ 连接,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的轻链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

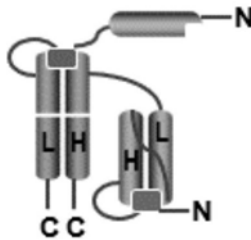
[0442] 实施方案251包含包含根据构型12的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 12

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的重链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接。

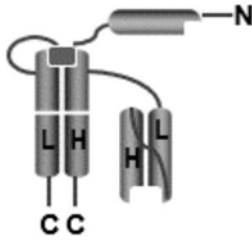
[0443] 实施方案252包含包含根据构型13的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 13

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab轻链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与Fab重链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

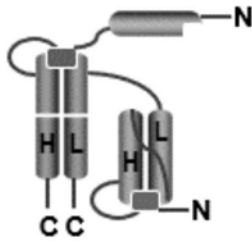
[0444] 实施方案253包含包含根据构型14的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 14

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab轻链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab重链多肽的N端连接。

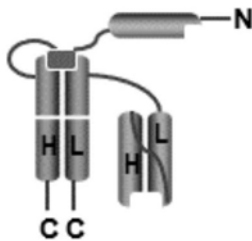
[0445] 实施方案254包含包含根据构型15的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 15

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的( $P_1$ )连接并且 $P_1$ 通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分( $L_1$ )而与Fab重链多肽的N端连接,并且 $P_1$ 进一步与半衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接,其中该scFv连接至 $P_2$ 和 $L_2$ ,其中 $P_2$ 包含破坏scFv与效应细胞抗原的结合的肽,并且 $L_2$ 包含使scFv的重链可变结构域与 $P_2$ 相连并且是肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分。

[0446] 实施方案255包含包含根据构型16的结构排列的多肽或多肽复合物:



构型 16

其中该多肽或多肽复合物包含与肿瘤细胞抗原结合的Fab,该Fab包含Fab轻链多肽和Fab重链多肽,其中该Fab与破坏Fab与肿瘤细胞抗原的结合的肽连接,并且该肽通过作为肿瘤特异性蛋白酶的底物的连接部分而与Fab重链多肽的N端连接,并且该肽进一步与半

衰期延长性分子连接;以及与效应细胞抗原结合的单链可变片段(scFv),该scFv包含轻链可变结构域和重链可变结构域,其中该scFv的轻链可变结构域与该Fab轻链多肽的N端连接。

## 实施例

### 实施例1.生物素化抗体的制备和评价

[0447] 西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)和曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)来自SelleckChem(分别为A2000和A2007),而SP34(Ab-9、Ab-10)来自BD Biosciences(551916)。直接与抗体结合的噬菌粒展示肽的鉴定和确认需要将抗体生物素化并负载至链霉亲和素包被的珠上。按照生产商的说明,通过使用来自Thermo Fisher Scientific(A35358)的EZ-Link Sulfo NHS-LC-LC-生物素试剂对抗体进行化学生物素化。简言之,将抗体缓冲液交换至PBS中并浓缩至1mg/mL。根据生产商的说明制备EZ-link Sulfo NHS-LC-LC试剂,以相对于抗体20倍摩尔过量的量添加,并在室温下孵育30min。将反应在冰上冷却30min,然后透析至冷PBS中以除去生物素试剂。生物素化抗体的百分比通过减去链霉亲和素珠进行测量(表2)。将裸抗体或生物素化抗体样品与过量链霉亲和素珠一起在室温下孵育1小时。用磁体使珠团聚并收集上清液。通过使用Pierce BCA测定法测量上清液中蛋白质的浓度,并与裸抗体对照的蛋白质浓度进行比较。通过质量平衡计算珠结合的抗体的百分比并用于近似计算相对于总蛋白质生物素化抗体的量。然后验证生物素化前后的抗体结合其同源抗原的能力。

表2-计算的每种抗体的生物素化百分比。

样品	生物素化%
Ab-1、Ab-3(西妥昔单抗)	66
Ab-6、Ab-7(曲妥珠单抗)	95
Ab-9、Ab-10(SP34)	93

[0448] 通过使用ForteBio Octet RED96仪器测量生物素化前后的抗体的动力学结合。为了评价裸抗体生物素化的同源抗原,EGFR-生物素、HER2-生物素或CD3生物素首先被链霉亲和素生物传感器捕获。通过使用过量的生物胞素猝灭传感器,然后在缓冲液中作为基线。将裸抗体从50nM开始以2倍稀释系列滴定,并与负载抗原的生物传感器缔合。实时监测缔合信号。然后将生物传感器转移至缓冲液中,实时测量抗体的解离。对数据进行背景校正,拟合至经典1:1结合模型,并用于计算动力学速率常数。分析了生物素化的抗体以确保生物素化不干扰抗体识别其同源抗原的能力。生物素化的抗体首先被链霉亲和素生物传感器捕获。通过使用过量的生物胞素猝灭传感器,然后在缓冲液中作为基线。对裸抗原EGFR、HER2或CD3从50nM开始以2倍稀释系列进行滴定,并与负载抗体的生物传感器缔合。实时监测缔合信号。然后将生物传感器转移至缓冲液中,实时测量抗体的解离。对数据进行背景校正,拟合至经典1:1结合模型,并用于计算动力学速率常数

[0449] 图1A-1G显示了西妥昔单抗与EGFR-生物素、西妥昔单抗-生物素与EGFR、曲妥珠单抗与HER2-生物素、曲妥珠单抗-生物素与HER2、SP34与CD3-生物素、以及SP34-生物素与CD3之间结合相互作用的代表性实例。

实施例2.直接与抗体结合并竞争同源抗原结合位点的噬菌粒展示肽的鉴定和确认

[0450] 通过生物淘选候选肽的噬菌粒展示文库鉴定具有与目标抗体结合的能力的肽(图

2A)。通过引入融合至m13噬菌体外壳蛋白III (p3) 或VIII (p8) 的肽的重组表达来创建文库，从而在分泌的噬菌体表面上展示候选肽。候选肽库具有可变的氨基酸序列和共同可变的氨基酸长度。

[0451] 使用固定在链霉亲和素包被的顺磁性珠上的生物素偶联抗体对m13噬菌粒p3展示的肽库进行生物淘选。如实施例1中所述，通过使用Sulfo-NHS-LC-LC生物素试剂对抗体进行化学生物素化。在pH7.4下与靶标结合和随后的洗涤步骤后，通过在pH 2.2或pH 11.0下洗脱来回收特异性结合的噬菌体。虽然单独的克隆可以在单轮后进行测序或检测，但特异性结合克隆的富集通常通过2-4轮连续的生物淘选和扩增完成。在池富集后，噬菌体生物淘选噬菌体池被感染至TG1细胞中并铺在LB-氨苄青霉素/琼脂板上，用于随后的克隆分离、DNA测序和表征(图2A)。

[0452] 噬菌粒苗头结果(hit) 鉴定ELISA

[0453] 对于苗头结果鉴定，使单独菌落在96-深孔板中生长2-4小时并用辅助噬菌体感染以在过夜生长后产生展示肽的噬菌粒。第二天将深孔板离心以将可溶性噬菌粒从大肠杆菌细胞分离。然后将含有噬菌粒的上清液与PBS-吐温20(0.05%)+BSA(1%) pH中性封闭缓冲液混合，并在先前抗体包被和封闭的孔中孵育。在4°C下结合后，洗涤板，并使用基于TMB的标准显色ELISA程序通过抗m13 HRP偶联抗体来检测特异性结合的噬菌体。对子板或各个孔进行标准DNA测序以进行肽鉴定。

[0454] 噬菌粒结合ELISA的代表性实例参见图2B，来自针对曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)进行三轮生物淘选后分离的富集的克隆集合。噬菌粒结合ELISA的代表性实例参见图2C，来自针对西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)进行三轮生物淘选后分离的富集的克隆集合。噬菌粒结合ELISA的代表性实例参见图2D，来自针对SP34(Ab-9、Ab-10)进行三轮生物淘选后分离的富集的克隆集合。

[0455] 噬菌粒竞争ELISA测定

[0456] 接下来使用基于靶标的竞争测定来检测噬菌粒肽克隆以确定它们是否结合在抗体的同源抗原结合空间内。我们制备了与上述类似的生物素偶联抗体固定和封闭的96孔ELISA板。接下来我们将同源抗原添加至孔中以封闭抗原结合位点。在短暂的孵育期后，接下来将噬菌粒上清液加入孔中。在4°C孵育后，洗涤板，并使用标准的基于TMB的显色ELISA程序通过抗m13 HRP偶联抗体来检测特异性结合的噬菌体。在抗体的抗原结合袋内结合的噬菌粒克隆被阻断并通过相对于缺乏抗原预孵育的孔降低的ELISA信号进行鉴定。

[0457] 噬菌粒竞争ELISA的代表性实例参见图2B，来自针对曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)进行三轮生物淘选后分离的富集的克隆集合。噬菌粒竞争ELISA的代表性实例参见图2B，来自针对西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)进行三轮生物淘选后分离的富集的克隆集合。噬菌粒竞争ELISA的代表性实例参见图2B，来自针对SP34(Ab-9、Ab-10)进行三轮生物淘选后分离的富集的克隆集合。

实施例3. 抗体结合和抑制的合成肽评价

[0458] 选择在克隆噬菌体上表达的表现出抗体特异性结合和抑制作用的肽用于进一步表征。与曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)、西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)或SP34(Ab-9、Ab-10)结合的示范性噬菌粒肽列于表3A、3B和4中，并且被选择用于肽合成。首先化学合成选择用于附加评价的肽，然后评价抗体结合和抗原竞争。

表3A-与Ab-6、Ab-7结合的示例噬菌粒肽序列进行固相合成。表按出现顺序分别公开了SEQ ID NO 8-17。

噬菌体克隆	肽 ID	噬菌体 ELISA				来自克隆噬菌体的肽氨基酸序列															
		NAv bkg d	Ab-6、Ab-7 信号	6nM Her2 抑制%	20nM Her2 抑制%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
J551A03	肽-8	0.080	2.066	92%	96%	G	G	P	L	C	S	D	L	D	H	I	T	R	L	C	D
J551A10	肽-9	0.084	2.004	90%	96%	G	G	I	D	C	A	S	L	D	H	Y	T	E	S	C	Y
J549G12	肽-10	0.083	1.406	94%	94%	G	G	N	P	V	C	T	L	G	D	P	Y	E	C	S	H
J550G07	肽-11	0.074	1.571	95%	96%	G	G	T	F	C	Q	L	N	A	D	P	Y	E	C	Q	S
J550B09	肽-12	0.086	1.789	95%	95%	G	G	G	Y	C	E	L	I	G	D	Y	V	V	C	S	P
J579A01	肽-13	0.089	2.205	82%	96%	G	G	L	C	D	R	W	G	W	I	D	A	P	Y	C	H
J578H04	肽-14	0.057	2.070	80%	91%	G	G	T	G	C	T	E	G	H	W	H	W	G	T	C	S
J577A02	肽-15	0.084	1.865	95%	98%	G	G	N	I	C	M	D	Y	S	W	R	S	G	C	A	V
J578A05	肽-16	0.072	1.487	85%	98%	G	G	H	S	C	T	F	G	D	W	S	L	G	T	C	A
J578C08	肽-17	0.057	1.025	97%	97%	G	G	F	I	C	T	L	G	N	W	W	D	G	S	C	E

表3B-与Ab-1、Ab-3结合的示例噬菌粒肽序列进行固相合成。表按出现顺序分别公开了SEQ ID NO 1-6。

噬菌体克隆	肽 ID	噬菌体 ELISA				来自克隆噬菌体的肽氨基酸序列															
		NAv bkg d	Ab-1、Ab-3 信号	2nM EGFR 抑制%	20nM EGFR 抑制%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
J455A12	肽-1	0.080	1.221	94%	94%	G	G	D	W	C	R	S	L	M	S	Y	T	D	L	C	P
J455F12	肽-2	0.065	0.541	85%	86%	G	G	T	S	C	A	D	A	H	L	I	A	P	S	C	S
J456E05	肽-3	0.077	1.400	95%	95%	G	G	N	C	Q	W	D	R	V	E	H	T	Y	A	C	S
J461A02	肽-4	0.075	0.109	39%	39%	G	G	W	V	S	C	H	D	G	S	H	M	T	C	F	H
J462A05	肽-5	0.089	0.107	39%	20%	G	G	M	N	C	L	N	R	L	W	V	E	Y	C	L	V
J464D03	肽-6	0.060	1.300	95%	95%	G	G	Y	C	G	Q	D	N	T	W	V	R	E	G	C	F

表4-与Ab-9、Ab-10结合的示例噬菌粒肽序列进行固相合成。表按出现顺序分别公开了SEQ ID NO 19-28。

噬菌体克隆	肽 ID	噬菌体 ELISA				来自克隆噬菌体的肽氨基酸序列															
		NAv bkg d	Ab-9、Ab-10 信号	20nM CD3 抑制%	200nM CD3 抑制%	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
J476C07	肽-19	0.051	2.652	92%	94%	G	G	D	S	V	C	A	D	P	E	V	P	I	C	E	I
J457A0	肽-20	0.09	2.979	97%	98%	G	G	M	S	D	C	G	D	P	G	V	E	I	C	T	H
J465E03	肽-21	0.052	2.107	89%	89%	G	G	I	Q	C	H	D	P	D	L	P	S	P	C	Y	I
J465F09	肽-22	0.051	2.281	87%	93%	G	G	E	W	C	L	F	D	P	D	V	P	T	C	Q	D
J465D07	肽-23	0.055	2.279	85%	85%	G	G	L	G	C	N	D	I	D	P	G	E	Q	C	I	V
J466C07	肽-24	0.053	2.273	90%	90%	G	G	L	E	C	F	D	P	E	I	P	E	A	F	C	I
J466C02	肽-25	0.061	2.473	84%	84%	G	G	Q	G	C	G	T	I	A	D	P	E	P	H	C	W
J479B08	肽-26	0.084	0.540	81%	85%	G	G	N	C	H	D	P	D	I	P	A	Y	V	L	C	S
J467F08	肽-27	0.062	2.576	94%	95%	G	G	L	C	P	I	N	D	W	E	P	Q	D	I	C	W
J467D04	肽-28	0.058	2.587	93%	94%	G	G	L	C	M	I	G	D	W	L	P	G	D	V	C	L

[0459] 肽通过标准肽化学进行合成。适当地将肽合成为线性或环状。将由Gly4Ser (SEQ

ID NO:82)、PEG4和Lys(生物素)组成的C端接头添加至从淘选和DNA测序鉴定的噬菌粒肽序列中。C端酸也通过酰胺化被封端。将肽通过HPLC纯化至 $\geq 95\%$ 纯度,并通过液相色谱辅助质谱(LC-MS)进行验证。在溶解于DMSO之前将肽冻干。

[0460] 最初筛选合成肽与它们的淘选靶标的结合。例如,列出的肽与Ab-6、Ab-7(表2)、Ab-1、Ab-3(表3)或Ab-9、Ab-10(表4)结合。使用通过生物层干涉(BLI)的动力学测量或使用酶联免疫吸附测定(ELISA)的平衡测量来评价肽结合。

#### [0461] 抗体与肽的动力学结合

[0462] 通过使用ForteBio Octet RED96仪器来测量基于BLI的抗体与肽的动力学结合。生物素化肽首先被链霉亲和素生物传感器直接捕获。通过使用过量的生物胞素猝灭传感器,然后在缓冲液中作为基线。制备一系列稀释的抗体或抗体片段并将其缔合至负载肽的生物传感器上。实时监测缔合和解离信号。将信号拟合至1:1结合模型以推导结合常数、 $k_{on}$ 和 $k_{off}$ 以及KD。图3A-3K显示了相对于HER2抗原,曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)识别肽的示例性动力学结合传感图。图4A-4H显示了相对于Her2抗原,西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)识别肽的示例性动力学结合传感图。图5A-5L显示了相对于Her2抗原,5P34(Ab-9、Ab-10)识别肽的示例性动力学结合传感图。

#### [0463] 抗体与肽的平衡结合

[0464] 肽结合也以ELISA形式进行检查。在中性亲和素包被的板上捕获生物素化肽。然后从 $10\mu\text{M}$ 开始以半对数稀释系列制备抗体,并滴定至捕获肽的板上。使用识别小鼠或人抗体的辣根过氧化物酶(HRP)偶联二抗来检测结合的抗体。然后使用Graphpad Prism来计算观察半数最大结合信号(EC50)所需的抗体浓度。图6A-6C分别显示了曲妥珠单抗(Ab-6、Ab-7)、西妥昔单抗(Ab-1、Ab-3)或SP34(Ab-9、Ab-10)与捕获的肽或抗原的结合实例。观察到肽EC50的宽范围,从 $10\text{nM}$ 至大于 $10\mu\text{M}$ ,而同源抗原EC50小于 $1\text{nM}$ 。表5总结了肽的EC50结合数据。通过BLI和ELISA表现出合理结合的有希望的肽继续进行竞争性结合实验。

表5-示例肽结合特性总结。

靶标	肽 ID	肽序列	Octet BLI		ELISA	
			结合	在 100 $\mu$ M 下竞争	EC50 nM	IC50 $\mu$ M
曲妥珠单抗	肽-8	GGPLCSDLHDHITRLCDGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 83)	是	是	0.03	15.98
曲妥珠单抗	肽-9	GGIDCASLDHYTESCYGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 84)	是	是	0.11	37.16
曲妥珠单抗	肽-10	GGNPVCTLGDPYEC SHGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 85)	是	否	3.84	>300
曲妥珠单抗	肽-11	GGTFCQLNADPYECQSGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 86)	否	否	1.67	>300
曲妥珠单抗	肽-12	GGGYCELIGDYVVCSPGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 87)	否	否	972	>300
曲妥珠单抗	肽-13	GGLCDRWGWIDAPYCHGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 88)	否		0.34	>300
曲妥珠单抗	肽-14	GGTGCTEGHWHWGTCSSGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 89)	弱		0.03	1.31
曲妥珠单抗	肽-15	GGNICMDYSWRSGCAVGDGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 90)	是		0.05	4.09
曲妥珠单抗	肽-16	GGHSCTFGDWSLGTCAAGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 91)	是		0.08	3.06
曲妥珠单抗	肽-17	GGFICTLGNWWDGSCGEGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 92)	是		0.22	11.41
西安普单抗	肽-1	GGDWCRSLMSYTDLCPPGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 93)	是	否	52.03	>300
西安普单抗	肽-2	GGTSCADAHLIAPSCSGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 94)	是	否	84.47	>300
西安普单抗	肽-3	GGNCQWDRVEHTYACSGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 95)	弱	否	412.70	>300
西安普单抗	肽-4	GGWVSCHDGSMTFCFHGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 96)	否	否	>1000	>300
西安普单抗	肽-5	GGMNCLNRLWVEYCLVGGGG[PEG4]Lys (生物素)-NH2 (SEQ ID NO: 97)	是	否	1.96	>300

单抗		素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 97)				
西安昔单抗	肽-6	GGYCGQDNTWVREGCFGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 98)	是	是	0.27	28.03
西安昔单抗	肽-7	QGQSGQLSCEGWAMNREQCRAAGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 99)	是	是	0.25	10.02
SP34	肽-18	QGQSGQGYLWGCEWNCGGITGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 100)	是	是	2.75	4.76
SP34	肽-19	GGDSVCADPEVPICEIGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 101)	是	是	8.03	>300
SP34	肽-20	GGMSDCGDPGVEICTHGGGGS[PEG4]Lys(生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 102)	是	是	7.13	>300
SP34	肽-21	GGIQCHDPDLSPCYIGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 103)	是	是	8.25	>300
SP34	肽-22	GGEWCLFDPDVPTCQDGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 104)	是	是	2.56	1.81
SP34	肽-23	GGLGCNDIDPGEQCIVGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 105)	是	是	8.20	>300
SP34	肽-24	GGLECFDPEIPEAFCIGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 106)	是	是	2.66	2.22
SP34	肽-25	GGQCGTIADPEPHCWGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 107)	是	是	1.95	2.49
SP34	肽-26	GGNCHDPDIPAYVLCSSGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 108)	是	是	8.69	>300
SP34	肽-27	GGLCPINDWEPQDICWGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 109)	是	是	7.62	>300
SP34	肽-28	GGLCMIGDWLPGDVCLGGGGS[PEG4]Lys (生物素)-NH <sub>2</sub> (SEQ ID NO: 110)	是	是	6.76	96.01

[0465] 使用抑制性肽来抑制抗体与其同源抗原的动力学结合

[0466] 结合的肽不一定表现出期望的功能。对于作为掩蔽的肽，根据定义，它必须抑制目标抗体与其同源抗原结合。因此，与示例抗体靶标结合的肽继续进行旨在检测每种肽的抑制功能的竞争性抑制研究。通过BLI和ELISA评价多种肽的掩蔽功能。图7A-7F、图8A-8I和图9A-9L提供了示例肽以剂量依赖性方式对指示的抗体与同源抗原结合的抑制。表5总结了所有肽的IC<sub>50</sub>数据。

[0467] 使用已鉴定的肽结合剂通过BLI使用ForteBio Octet RED96仪器来测量对抗体与其同源物结合的剂量依赖性动力学抑制。首先，生物素化抗原被链霉亲和素生物传感器捕获。通过使用过量的生物胞素猝灭传感器，然后在缓冲液中作为基线。对抑制性肽从100 $\mu$ M开始以两倍稀释系列进行滴定，并与恒定浓度的抗体一起预孵育。然后将肽和抗体混合物缔合至负载抗原的生物传感器上。零浓度的抑制性肽或零浓度的抗体用作对照。实时监测缔合和解离信号。将最大缔合信号从100% (0 $\mu$ M抑制性肽对照) 至0% (0nM抗体对照) 归一化，并相对于对数标尺的抑制性肽浓度作图。Graphpad Prism用于计算达到50%最大信号 (IC<sub>50</sub>) 所需的肽抑制浓度，总结于表5中。

[0468] 使用抑制性肽来抑制抗体与其同源抗原的平衡结合

[0469] 还以ELISA形式测量了对抗体与其同源抗原结合的抑制。生物素化抗原被捕获在中性亲和素包被的板上，通过使用过量的生物胞素进行猝灭，并洗涤。对抑制性肽从100 $\mu$ M开始以半对数稀释系列进行滴定，并与恒定浓度的抗体一起预孵育。然后将抑制性肽和抗体混合物在捕获抗原的板上孵育。然后使用识别小鼠或人抗体的HRP偶联二抗来检测板结合的抗体。将ELISA信号从100% (0nM抑制性肽对照) 至0% (0nM抗体对照) 归一化，并相对于

对数标尺的抑制性肽浓度作图(图10A-10C)。信号的剂量依赖性降低表明肽竞争与其同源抗原结合的抗体。Graphpad Prism用于计算达到50%最大信号(IC50)所需的肽抑制浓度,总结于表5中。

#### 实施例4. 肿瘤激活的T细胞衔接子的设计、合成和体外效能

[0470] 双特异性T细胞衔接子通常具有较差的药代动力学(PK)特性。我们假设添加半衰期延长性分子串联蛋白水解可裂解的掩蔽将表现出交叉PK,其定义为体循环中的半衰期长,但由于特异性蛋白水解活性,因而在掩蔽和PK延长剂在肿瘤部位切割后快速清除。因此,这些交叉PK分子一旦在肿瘤部位被激活将具有附加的安全开关而防止在健康组织中蓄积。图11示出了肿瘤激活的T细胞衔接分子的肿瘤比活性和交叉PK。

[0471] 通过融合抗白蛋白单域抗体(SDA)串联由短GlySer接头间隔的抑制性肽掩蔽来制备各种多肽复合物构建体。串联SDA肽掩蔽是通过使用由肿瘤特异性蛋白酶识别的可切割或不可切割的接头来基因融合至多肽复合物上。然后评价多肽复合物的功能结合、肿瘤细胞杀伤和T细胞激活。分别针对HER2或EGFR阳性肿瘤细胞系检测TrastuzuFab SP34 scFv或CetuxiFab SP34 scFv多肽复合物。此外,使用多肽复合物构建体分别在Balb/c和HCT116荷瘤NCG小鼠中评价小鼠PK和小鼠效能。还在食蟹猴PK和安全性研究中评价交叉PK增强的多肽复合物构建体。数据表明,多肽复合物分子在提高PK和安全性的同时保持了有效的抗肿瘤活性。

[0472] 图12显示了概括的多肽复合物分子设计。将蛋白质在哺乳动物宿主细胞中重组产生并如所述纯化。图13A-13C至图24A-24B突出显示了多肽复合物构建体的产生质量。

#### [0473] 多肽复合物的产生和纯化

通过使用标准分子生物学技术产生编码多肽复合物的表达质粒。将质粒转染至CHO或HEK293细胞中,并使用标准哺乳动物宿主重组蛋白产生技术每隔一天供养孵育10天。10天后将上清液收集,过滤并使用抗CH1亲和色谱法纯化,然后进行离子交换精处理步骤。将纯化的蛋白质缓冲液更换为储存缓冲液并冷冻储存。通过三种分析方法检测所得可溶性蛋白质的生化完整性和质量。首先,通过在存在或不存在还原剂的情况下在负载缓冲液中加热来检测纯化的多肽复合物的部分。然后通过SDS-PAGE检查总蛋白质,表明相对蛋白质纯度和正确的分子量和二硫键配对。其次,通过尺寸排阻色谱法检测所得多肽复合物批次的部分,以确定是否存在小于或大于预期分子量的组分,分别表明降解或聚集的蛋白质。最后,多肽复合物批次通过LC-MS方法进行分析,以进一步证明正确的二硫键配对,并证明最终多肽复合物批次中没有掩蔽切割。

[0474] 图13A-13C至图24A-24B中显示了各种多肽复合物分子的蛋白质产生、纯化和生物分析的代表性实例。

#### [0475] 通过ELISA测定白蛋白与多肽复合物的平衡结合

[0476] 抗白蛋白单域抗体(SDA)串联连接至与核心双特异性结构衔接的多肽复合物掩蔽以形成各种形式的完整交叉PK分子(图12)。为了检测与多肽复合物分子连接时抗白蛋白结构域的功能性结合,首先检测多肽复合物分子与几种物种的白蛋白结合的能力。图25示出了与牛、小鼠、食蟹猴和人白蛋白的结合。简言之,将来自不同物种的血清白蛋白直接包被在高结合ELISA板上,洗涤,在脱脂奶粉中封闭,然后再次洗涤。将多肽复合物分子在脱脂奶粉中稀释至期望浓度,加入白蛋白包被的板中并洗涤。抗his标签HRP偶联二抗用于检测结

合的多肽复合物。洗涤后,使用标准ELISA技术对板进行显影、终止和测量。将OD450nm信号相对于对数多肽复合物浓度作图。在Graphpad Prism中计算达到半数最大信号(EC50)的多肽复合物浓度。尽管将抗白蛋白SDA连接在多肽复合物分子内的TCR掩蔽上,但仍保持了有效的白蛋白识别。

[0477] 通过BLI测定多肽复合物与同源抗原的动力学结合

[0478] 评价多肽复合物分子结合同源抗原、HER2或EGFR以及CD3的能力。在蛋白酶处理之前和之后测量HER2、EGFR或CD3的多肽复合物结合动力学。简言之,将生物素化抗原负载至链霉亲和素包被的生物传感器上,在生物胞素中猝灭,并在缓冲液中作为基线。将多肽复合物分子用活性matriptase (MTSP1) 或尿激酶 (uPa) 在指示时处理。然后将在缓冲液中稀释的多肽复合物分子缔合至负载抗原的生物传感器上。然后将传感器转移至缓冲液中,然后多肽复合物分子从传感器上解离。通过使用OCTET RED96仪器来实时测量缔合速率和解离速率。在图26A-26D至图30A-30R显示了示例传感图。多肽复合物在肽掩蔽和抗原结合结构域之间含有可切割的底物IGLLSGRSDNH (SEQ ID NO:111)。动力学结合数据表明多肽复合物需要经蛋白酶处理才能结合抗原。此外,将抗白蛋白SDA连接至肽掩蔽未妨碍肽掩蔽的抑制特性。一些多肽复合物用不可切割的接头产生,其中ISSGLSGRSDNH序列 (SEQ ID NO:42) 被GlySer重复序列 (例如PC-6) 取代。动力学结合数据表明,尽管经蛋白酶处理,这些不可切割的形式仍缺乏结合抗原的能力。相关数据进一步支持在肽掩蔽和多肽复合物的核心抗原结合结构域之间使用不同接头序列而不放弃掩蔽效率的能力。在一些实例中,在人白蛋白存在下进行多肽复合物结合以检测人白蛋白占据白蛋白结合结构域是否影响掩蔽效率。所用的人白蛋白的浓度处于预期使多肽复合物白蛋白结合位点饱和的水平。多肽复合物掩蔽效率不受人白蛋白缓冲液饱和度的显著影响,这表明使用牛或人白蛋白缓冲液具有相似结合动力学。

[0479] 通过ELISA测定与同源抗原的多肽复合物平衡结合

[0480] 还表征了多肽复合物在基于ELISA的结合实验中识别同源抗原的能力。在一些实例中,多肽复合物在指示时经蛋白酶处理。简言之,生物素化抗原被捕获在中性亲和素包被的板上,然后在牛或人白蛋白缓冲液中加入滴定的多肽复合物。然后将板孵育短时间,然后洗涤。使用抗人HRP偶联二抗来检测与板结合的多肽复合物。在Graphpad Prism中计算实现半数最大ELISA信号(EC50)所需的多肽复合物浓度。图31至图33A-33D中显示的示例ELISA数据证明了掩蔽多肽复合物结合同源抗原的能力受阻,而与占据SDA结合位点的白蛋白无关。多肽复合物掩蔽效率不受使用牛与人白蛋白缓冲液的显著影响,这由两种缓冲液中的任何一种具有相似EC50表明。预期人白蛋白缓冲液通过人白蛋白使多肽复合物白蛋白结合位点饱和。相反,多肽复合物不结合牛白蛋白,因此预期在使用牛白蛋白缓冲液的实验过程中具有未占据的SDA位点。此外,无论牛或人白蛋白缓冲液,经蛋白酶处理后多肽复合物结合信号均恢复至低纳摩尔水平。

[0481] 通过流式细胞术测定在人T细胞表面上形成多肽复合物的三元复合物

[0482] 进一步表征多肽复合物在人细胞表面上通过细胞CD3或EGFR的结合而形成三元复合物的能力并随后通过使用荧光标记的EGFR或CD3四聚体进行染色 (图34-35)。通过流式细胞术测量的细胞荧光表明细胞和抗原四聚体之间形成复合物,其中多肽复合物充当桥接分子。

[0483] 简言之,将每孔100,000个T细胞分布在96孔板中,冷洗涤,然后与指定浓度的非掩蔽多肽复合物、多肽复合物或蛋白酶处理的多肽复合物一起在人白蛋白缓冲液中孵育。将细胞冷孵育几个小时,然后用冷缓冲液洗涤,然后与使用荧光标记的链霉亲和素形成的冷HER2或EGFR四聚体一起进行短时间孵育。将细胞冷洗涤,重悬于冷缓冲液中,并在Novocyte流式细胞仪上运行。以典型方式对散射信号设门以排除不正确的细胞形状和尺寸的碎片。将平均荧光强度归一化,针对多肽复合物浓度作图,并在Graphpad Prism中计算达到50%最大信号(EC50)所需的多肽复合物浓度。通常,经蛋白酶处理多肽复合物分子能够形成有效的三元复合物,相当于具有低纳摩尔EC50的非掩蔽TCR双特异性对照。相反,通过使用检测的最高浓度的多肽复合物分子可以检测到最少三元复合物形成。数据表明功能性多肽复合物三元复合物的形成需要特定的蛋白酶活性。

#### [0484] 多肽复合物介导的肿瘤细胞毒性和T细胞激活

[0485] 通过使用HER2阳性HCC1569(图36-38)和EGFR阳性HCT116(图39A-39C至图41)肿瘤细胞系,使用补充有牛或人血清的培养基,在功能性体外肿瘤细胞杀伤和相关T细胞激活研究中评价多肽复合物。简言之,将抗原阳性肿瘤细胞系接种到经组织培养处理的96孔平底板上并使其贴壁过夜。第二天,去除培养基和未贴壁细胞并用含有所示浓度的滴定多肽复合物的新鲜培养基进行换液。在一些实例中,多肽复合物在加入靶细胞之前经蛋白酶处理。然后以相对于肿瘤细胞接种密度为2:1的效应细胞:靶细胞比例添加CD8+T细胞。将贴壁的肿瘤细胞、CD8+T细胞和多肽复合物共培养48小时。将板轻轻旋转以收集板底部的细胞并收集澄清的上清液。通过使用Promega LDH-Glo测定试剂盒来测量乳酸脱氢酶(LDH)依赖性细胞毒性。通过使用Invitrogen ELISA试剂盒来测量上清液中由激活的T细胞释放的干扰素- $\gamma$ (IFN $\gamma$ )。对LDH或IFN $\gamma$ 信号相对于多肽复合物的浓度作图,以计算达到50%最大信号所需的多肽复合物浓度(EC50)。EC50通过使用Graphpad Prism来计算。

[0486] 并行地,通过使用来自Acea Biosciences的实时细胞分析仪来测量肿瘤细胞杀伤,该分析仪依赖于传感器阻抗测量值(细胞指数),该测量值随肿瘤细胞在传感器表面上贴壁、扩散和扩增而增加。同样,随着肿瘤细胞被杀死,阻抗降低。在示例测定中(图38和图41),每孔加入25,000个肿瘤细胞并使其贴壁过夜。第二天,将在补充有人血清的培养基中滴定的多肽复合物与75,000个CD8+T细胞一起加入孔中。在另外的96小时内每10min进行细胞指数测量。然后对细胞指数乘以小时数(肿瘤细胞生长动力学)相对于多肽复合物的浓度作图,其中使用Graphpad Prism计算将肿瘤生长减少50%所需的浓度(IC50)。与LDH Glo测定类似,掩蔽多肽复合物分子的肿瘤杀伤效率较差,而非掩蔽和蛋白酶处理的多肽复合物有效,IC50在10pM范围内靶向HER2和1pM范围内靶向EGFR。

#### 实施例5. 多肽复合物构建体的体内安全性和效能

##### [0487] 多肽复合物在Balb/c小鼠中的药代动力学

[0488] 在雄性6-8周龄Balb/c小鼠中测定多肽复合物的药代动力学。简言之,动物在抵达时由兽医工作人员或其他指定人员评估其总体健康状况,并在研究开始前允许动物适应环境至少3天。在适应环境期间和整个研究期间,将动物分组饲养。动物房环境根据设施操作进行控制,温度在20至26°C之间,相对湿度在30至70%之间。照明控制在12小时的明暗循环中。给动物喂食经过认证的颗粒饲料(Certified Rodent Diet#5002, LabDiet)。动物可自由获取纯化水(反渗透)。对水质进行定期分析。

[0489] 将浓缩的供试品在无菌磷酸盐缓冲盐水中稀释至合适的给药体积,并以10mL/kg通过尾静脉进行静脉内施用。给药体积通过对每只动物给药之前立即获得的体重单独确定。

在指定时间点给药之前和之后采集血液样品。对于每个时间点,通过吸入二氧化碳对3只小鼠的子集实施安乐死。确认死亡后,使用注射器通过下腔静脉采集血液样品。将血液样品置于预先标记的EDTA管中并处理成血浆。将血液样品以 $3000 \times g$ 冷离心10min以从血浆中分离细胞。收集血浆上清液并在分析前冷冻储存。

[0490] 通过ELISA测定小鼠血浆样品中多肽复合物的浓度。简言之,将抗his标签捕获抗体直接包被在ELISA板上。使用小鼠血清中多肽复合物的标准稀释液来生成校准曲线,可与动物PK检测样品进行比较。将标准样品和检测样品加入板中并冷孵育过夜。检测样品的几种不同稀释度用于确保信号落在标准曲线的适当动态范围内。将板洗涤并与抗人HRP检测抗体一起孵育一小段时间。通过使用标准ELISA技术将板洗涤、显影和终止。对450nm处吸光度相对于已知多肽复合物浓度作图的标准曲线用于计算每个小鼠PK血浆样品中未知检测物的浓度。对多肽复合物的浓度相对于时间作图并拟合至标准两阶段分布和消除药代动力学模型。图42和表6中显示了来自Balb/c小鼠的PC-8和PC-4的计算药代动力学和参数。

表5-PC-8和PC-4的药代动力学和参数。

PC-8 小鼠 PK (0.5mg/kg IV 推注)			PC-4 小鼠 PK (0.5mg/kg IV 推注)		
T <sub>MAX</sub>	0.0	hr	T <sub>MAX</sub>	0.0	hr
C <sub>MAX</sub>	512.78	nM	C <sub>MAX</sub>	361.78	nM
t <sub>1/2</sub>	1.86	hr	t <sub>1/2</sub>	26.73	hr
Vd	0.38	mL	Vd	0.42	mL
VSS	5.06	mL	VSS	0.80	mL
CL	4.72	mL/hr/kg	CL	0.36	mL/hr/kg
BW	0.03	kg	BW	0.03	kg

[0491] 在NCG小鼠HCT116异种移植模型中多肽复合物的体内效能

[0492] 小鼠

[0493] 雌性NCG小鼠 (NOD-Prkdc<sup>em26Cd52</sup>I12rg<sup>em26Cd22</sup>/NjuCr1, Charles River) 在研究第1天为9周龄,体重 (BW) 范围为20.8至28.3克。动物在研究的活体研究部分期间自由进食水(反渗透,1ppm Cl),和由18.0%粗蛋白、5.0%粗脂肪和5.0%粗纤维组成的NIH 31Modified and Irradiated Lab Diet®,并补充Diet Gel。在20-22°C (68-72°F) 和40-60%湿度下,将小鼠饲养在静态微型隔离器中经过辐照的Enrich-o' cobs™实验动物垫料上,光照周期为12小时。Charles River Discovery Services North Carolina (CR Discovery Services) 特别遵守实验动物护理和使用指南关于约束、饲养、外科手术、饲料和液体调节以及兽医护理的建议。CR Discovery Services的动物护理和使用计划获得了国际实验室动物护理评估和认证协会 (AAALAC) 的认可,确保符合公认的实验室动物护理和使用标准。

[0494] PBMC

[0495] 人外周血单核细胞 (hPBMC) 由 Charles River Discovery Services NC 提供。在肿瘤细胞植入的同一天和之前, 将  $2 \times 10^7$  个 hPBMC 通过尾静脉以 0.2 mL/只动物的固定体积静脉内移植。

[0496] 肿瘤细胞培养

[0497] HCT116 人结肠直肠癌细胞在含有 100 单位/mL 青霉素 G 钠、100  $\mu$ g/mL 硫酸链霉素、25  $\mu$ g/mL 庆大霉素、10% 胎牛血清和 2 mM 谷氨酰胺的 RPMI-1640 培养基中保持指数生长培养。肿瘤细胞在组织培养瓶中于 37°C、5% CO<sub>2</sub> 和 95% 空气的气氛中在加湿培养箱中生长。

[0498] 体内植入和肿瘤测量

[0499] 在肿瘤植入当天, 在指数生长期间收获 HCT116 细胞, 并重悬于磷酸盐缓冲盐水 (PBS) 中的 50% Matrigel™ (BD Biosciences) 中以递送  $5 \times 10^6$  个细胞 (在 0.1 mL 悬浮液中) 以皮下异种移植物在每只检测动物的右侧腋下植入。当肿瘤体积接近 100 至 300 mm<sup>3</sup> 的目标范围时, 对肿瘤进行监测。十四天后, 指定为研究的第 1 天, 将动物按肿瘤体积分为七组 (n = 10), 个体肿瘤体积范围为 172 至 288 mm<sup>3</sup>, 组平均肿瘤体积为 220 至 221 mm<sup>3</sup>。使用卡尺在两个维度上测量肿瘤, 并使用以下公式计算体积:

$$\text{肿瘤体积 (mm}^3\text{)} = \frac{w^2 \times l}{2}$$

其中 w = 肿瘤的宽度和 l = 长度, 以 mm 计。基于 1 mg 相当于 1 mm<sup>3</sup> 肿瘤体积的假设来估计肿瘤重量。

[0500] 治疗剂

[0501] 在给药的每天将含有 PC-4 储备液的小瓶轻轻混合并用无菌 PBS 稀释以获得 0.5、0.15 和 0.05 mg/mL 的给药溶液, 递药量分别为 5、1.5 和 0.5 mg/kg, 当以 10 mL/kg (每 20 g 小鼠 0.2 mL) 的体积给药时, 根据每只动物的体重 (BW) 进行调整。在给药的每天将含有 PC-8 储备液的小瓶轻轻混合并用无菌 PBS 稀释以获得 0.05 mg/mL 的给药溶液, 递药量分别为 0.5 mg/kg, 当以 10 mL/kg (每 20 g 小鼠 0.2 mL) 的体积给药时, 根据每只动物的体重 (BW) 进行调整。当肿瘤达到 >200 mm<sup>3</sup> 时开始给药。治疗剂以每日指示的剂量施用, 每组共给药 10 次。

[0502] 随时间的肿瘤体积和体重如图 43-44 所示。

[0503] 在食蟹猴中多肽复合物的药代动力学和安全性

[0504] 根据图 45 在食蟹猴中给药 PC-1、PC-4 和 PC-10。PC-1 是非掩蔽 T 细胞衔接子, 用于建立毒性和/或细胞因子释放体征的基线读数, 这些体征由已使用双特异性 T 细胞衔接子 (BiTE) 发表数据的其他人员类似地观测到。PC-4 是完全人食蟹猴交叉反应性肿瘤激活的 T 细胞衔接子或多肽复合物, 其在肿瘤结合结构域和 T 细胞结合结构域处均被掩蔽。PC-10 是完全人食蟹猴交叉反应多肽复合物, 仅在 T 细胞结合结构域处被掩蔽。图 45 示出了三种分子。对于所有三种分子, 肿瘤结合结构域识别人和灵长类动物表皮生长因子受体 (EGFR), 而 T 细胞结合结构域识别人和灵长类分化簇 3 (CD3)。虽然 CD3 仅限于 T 细胞, 但 EGFR 在许多健康组织中表达, 包括肝脏、肌肉、肾脏、皮肤、肠道等。与 EGFR 靶向治疗直接相关的典型不良事件包括皮肤、肝脏和肠道相关毒性, 其中 EGFR 很容易表达。

[0505] 根据表 6 对食蟹猴给药。在表 7 中列出的时间点采集血液样品并用于 PK 分析以及标准临床化学、血液学、流式细胞术和细胞因子释放组合 (panel) 作为安全性量度。图 46 和表 8 显示了安全数据的总结。

表6-剂量总结。

研究/报告	供试品	剂量	给药体积	给药途径
JT1902	PC-1	3 ug/kg	1 mL/kg	IV 推注
JT1902	PC-1	10 ug/kg	1 mL/kg	IV 推注
JT1902	PC-4	100 ug/kg	1 mL/kg	IV 推注
JT1903	PC-4	300 ug/kg	1 mL/kg	IV 推注
JT1903	PC-4	600 ug/kg	1 mL/kg	IV 推注
JT2001	PC-10	100ug/kg	1 mL/kg	IV 推注

表7-时间点总结。

研究动物	初治雄性食蟹猴 (Macaca fascicularis)	
供试品	PC-1、PC-4 和 PC-10	
研究设计	<b>第 1 组</b> PC-1 10ug/kg @ 0.01mg/mL IV 推注 (n=2) 给药体积: 1 mL/kg	<b>时间点</b> <b>PK:</b> 给药前, 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 12hr, 24hr, 48hr. <b>ALT / AST:</b> 给药前, 24hr, 48hr
	<b>第 2 组</b> PC-1 3ug/kg @ 0.003mg/mL IV 推注 (n=2) 给药体积: 1 mL/kg	<b>时间点</b> <b>PK:</b> 给药前, 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 12hr, 24hr, 48hr. <b>ALT / AST:</b> 给药前, 24hr, 48hr
	<b>第 3 组</b> PC-4 100 ug/kg @ 0.1mg/mL IV 推注 (n=2) 给药体积: 1 mL/kg	<b>时间点</b> <b>PK:</b> 给药前, 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 12hr, 24hr, 48hr, 96hr, 168hr, 336hr. <b>AST/ALT:</b> 给药前, 24hr, 48hr, 96hr, 168hr
	<b>第 4 组</b> PC-4 300 ug/kg @ 0.3 mg/mL IV 推注 (n=2) 给药体积: 1 mL/kg	<b>时间点</b> <b>PK:</b> 给药前, 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 12hr, 24hr, 48hr, 72hr, 96hr, 168hr, 336hr. <b>血液学/临床化学:</b> 给药前, 24hr, 48hr, 72hr, 168hr <b>流式细胞术:</b> 2 组合- 给药前, 24hr, 48hr, 72hr 和 168hr.
	<b>第 5 组</b> PC-4 600 ug/kg @ 0.6 mg/mL IV 推注 (n=2) 给药体积: 1 mL/kg	<b>时间点</b> <b>PK:</b> 给药前, 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 12hr, 24hr, 48hr, 72hr, 96hr, 168hr, 336hr. <b>血液学/临床化学:</b> 给药前, 24hr, 48hr, 72hr, 168hr <b>流式细胞术:</b> 2 组合- 给药前, 24hr, 48hr, 72hr 和 168hr.
	<b>第 6 组</b> PC-10 100 ug/kg @ 0.1 mg/mL IV 推注 (n=2) 给药体积: 1 mL/kg	<b>时间点</b> <b>PK:</b> 给药前, 15 min, 30 min, 1hr, 2hr, 4hr, 8hr, 12hr, 24hr, 48hr, 72hr, 96hr, 168hr, 336hr. <b>血液学/临床化学:</b> 给药前, 24hr, 48hr, 72hr, 168hr <b>流式细胞术:</b> 2 组合- 给药前, 24hr, 48hr, 72hr 和 168hr.

<b>终点</b>	每天观察两次 血液学/临床化学 流式细胞术：2组合 使用 K2 EDTA 将血液处理成血浆
-----------	--

表8-安全数据总结。

食蟹猴 PK IV 推注	PC-4 300ug/kg	PC-4 100ug/kg	PC-10 100ug/kg	PC-1 10ug/kg	PC-1 3ug/kg	单位
T <sub>MAX</sub>	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	hr
C <sub>MAX</sub>	153.23	51.27	35.64	1.66	0.17	nM
t <sub>1/2</sub>	108.90	110.86	132.77	1.30	0.32	hr
Vd	0.06	0.06	0.09	0.24	0.68	L
VSS	0.10	0.13	1.28	1.08	0.63	L
CL	0.13	0.12	0.16	41.72	500.62	mL/hr/kg
BW	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	kg

表9-食蟹猴中每个多肽复合物剂量组的细胞因子释放、临床观察、临床化学、血液学和流式细胞术分析的总结。

供试品	剂量	IL-6 激增	临床观察	临床化学	临床病理学	流式细胞术
PC-1	3 ug/kg	1933 pg/mL	无	无	未检测	未检测
PC-1	10 ug/kg	5902 pg/mL	无	无	未检测	未检测
PC-4	100 ug/kg	14 pg/mL	无	无	未检测	未检测
PC-4	300 ug/kg	587 pg/mL	无	暂时或无	无	无
PC-4	600 ug/kg	516 pg/mL	轻度腹泻 1天	暂时或无	无	无
PC-10	100ug/kg	628 pg/mL	腹泻 4天	ALT 持久 & 低白蛋白血症	淋巴细胞减少	CD3 减少 & Ki-67 持久

## [0506] 食蟹猴

[0507] 将年轻初治雄性食蟹猴按组配对饲养,并通过特有的身体纹身标识。所有动物在研究开始前适应饲养条件3天。在开始之前,所有动物均经过研究兽医的体格检查。只有研究兽医认为健康并且在其他方面符合标准的动物才被允许进入研究。在给药前禁食过夜。Purina5049每天以适合动物大小的量提供。自来水通过自动供水装置自由获取。

## [0508] 药代动力学

[0509] 在体重2-3kg的初治雄性食蟹猴中测定多肽复合物的药代动力学。简言之,每个给药组使用两组饲养的猴,并在给药前使其适应周围环境。在给药和取血之前,将动物用盐酸氯胺酮10-20mg/kg IM镇静。将浓缩供试品在无菌磷酸盐缓冲盐水中稀释,并以相对于动物体重的kg的量向动物施用。每个供试品的剂量以1mL/kg给药体积静脉内施用。为了给药,将左肢和右肢夹住并用酒精备皮。识别隐静脉,并置入标准导管用于IV推注(在左肢或右肢)。供试品给药溶液通过注射器连接至导管上,通过手动压缩注射器进行推注输注。

[0510] 对于血液采集,使用氯胺酮对动物进行镇静,备出股骨三角,并使用22G 1.5英寸针、真空采血管和采集管从股静脉采集血液。静脉穿刺后,手动压迫静脉直至达到止血。血液采集基于动物的体重并且不超过IACUC规定的AGI最大采血量。将血液采集在EDTA管中并处理成血浆。将血液样品以3000×g冷离心10min以从血浆中分离细胞。采集血浆上清液并

在分析前冷冻储存。

[0511] 通过ELISA测定食蟹猴血浆样品中多肽复合物的浓度。简言之,将抗his标签捕获抗体直接包被在ELISA板上。使用食蟹猴血清中多肽复合物的标准稀释液来生成可以与动物PK检测样品进行比较的校准曲线。将标准品和检测样品加入板中并冷孵育过夜。检测样品的几种不同稀释度用于确保信号落在标准曲线的适当动态范围内。将板洗涤并与抗人HRP检测抗体一起孵育一小段时间。通过使用标准ELISA技术将板洗涤、显影和终止。对450nm处吸光度相对于已知多肽复合物浓度作图的标准曲线用于计算每个小鼠PK血浆样品中未知检测物的浓度。对多肽复合物的浓度相对于时间作图并拟合至标准两阶段分布和消除药代动力学模型。图46和表8中显示了来自食蟹猴的PC-1和PC-4的计算药代动力学和参数。

[0512] 细胞因子释放

[0513] 通过使用来自BD Biosciences (货号557800) 的非人灵长类动物Th1/Th2细胞计数珠阵列测定试剂盒,根据生产商的说明测量血浆后处理中存在的细胞因子。数据显示在图47A-47F中。

[0514] 流式细胞术

[0515] 将血液样品处理成PBMC,染色并通过流式细胞术分析。对细胞进行CD45、CD3、CD4、CD8、CD69和KI-67染色。数据显示在图48A-48C中。

[0516] 临床化学和血液学

[0517] 将血液样品按标准临床化学和血液学组合运行。示例数据显示在图49A-49D中。

[0518] 临床观察

[0519] 每天观察动物两次,以将任何潜在的临床或行为观察确定为毒性体征。

[0520] PC-1药代动力学和安全性观察

[0521] 在食蟹猴中IV推注施用后,PC-1被快速清除,半衰期为1小时。即使快速清除,检测的低剂量PC-1也明显导致急性细胞因子释放激增,测量结果为IL-6、TNF $\alpha$ 、IFN  $\gamma$  和IL-2增加,类似于先前发表的几种BiTE。已发表的使用BiTE的数据清楚地表明,细胞因子的释放是由于正常健康组织中的药物靶标参与和活动。PC-1既没有测量到也没有观察到其他毒性体征,推测是由于该分子的快速清除。已发表连续输注抗EGFR BiTE导致肝脏和胃肠道毒性。

[0522] PC-4药代动力学和安全性观察

[0523] 在食蟹猴中,IV推注后暴露于PC-4表现出长半衰期,约110小时。观察到的PC-4的药代动力学特性与已发表的抗白蛋白单域抗体一致。即使相对于PC-1,PC-4的C<sub>MAX</sub>、AUC和半衰期大幅升高,PC-4显然未引起急性细胞因子释放。尽管PC-4的施用剂量比PC-1高200倍,但观察到的IL-6升高最小,这是与细胞因子释放综合征相关的临床并发症的关键驱动因素。与PC-1不同,在PC-4施用后,TNF $\alpha$ 、IFN  $\gamma$  和IL-2水平保持与背景相同。此外,所有施用PC-4的动物的临床化学、血液学和流式细胞术组合均符合预期并被视为正常,其中没有测量符合定义明确不良事件的标准。临床化学和血液学中的一些早期时间点测量值超出历史正常范围,但被认为是轻度且暂时的,其在短时间内进展至正常水平。在较高PC-4剂量组中未观察到100ug/kg PC-4组中极轻度下眼睑肿胀的临床观察。眼睑肿胀归因于与成对饲养的雄性食蟹猴在粗制笼中玩耍。最高剂量组600ug/kg的PC-4在第2天表现出轻度腹泻体征,并于次日消失。未发现PC-4的其他观察结果。重要的是,PC-4处理动物的临床化学、血液学、

流式细胞术以及临床和行为观察的任何变化均为轻度且不依赖于剂量。鉴于这些结果,很明显,尽管检测高达600ug/kg的IV推注,但仍未达到PC-4的最大耐受剂量(MTD)。

[0524] PC-10药代动力学和安全性观察

[0525] 在食蟹猴中,IV推注后暴露于PC-10表现出约130小时的长半衰期,与PC-4和已发表的抗白蛋白单域抗体一致。然而,PC-10的PK $\alpha$ 相清楚地证明了一些靶标介导的药物处置(TMDD),这表明相对于PC-4早期血浆浓度的下降幅度更大。TMDD意味着PC-10被分配在血液隔室外并在可能表达EGFR的健康组织中蓄积。当比较100ug/kg剂量组时,PC-10还具有相对于PC-4更高的细胞因子释放水平。此外,PC-10导致淋巴细胞和CD3+T细胞在24小时内显著耗竭和着边,并在研究过程中缓慢恢复正常。在PC-10给药后,T细胞似乎持续增殖,由CD3+细胞中升高的Ki-67标记表明,持续超过一周时间。此外,PC-10似乎在72小时的持续时间内使ALT水平升高至超出正常范围。据推测,这是由于PC-10在肝脏或肌肉中蓄积,在其中导致一些健康组织炎症和ALT释放。PC-10还在72小时内引起显著的低白蛋白血症。血清白蛋白的显著降低通常表明全身炎症以及肠、肝、肾或心脏毒性。白蛋白的肠道和肾脏损失也可能导致低白蛋白血症,通常分别伴有蛋白尿和腹泻。PC-10导致一只动物腹泻持续4天时间。与另一只动物相比,这只持续性腹泻的动物表现出更严重的低白蛋白血症。根据临床化学、血液学、流式细胞术以及临床和行为观察,PC-10似乎开始显示出明显的毒性体征,而更高剂量和暴露的PC-4似乎仍然安全。

[0526] 虽然本公开内容的优选实施方案已经在本文中示出和描述,但是对于本领域技术人员来说显而易见,这些实施方案仅作为示例提供。在不背离本公开内容的情况下,本领域技术人员现将想到许多变化、改变和替换。应当理解,在实践本公开内容时,可以采用本文描述的本公开内容的实施方案的各种替代方案。以下权利要求旨在限定本公开内容的范围,并且由此涵盖落在这些权利要求范围内的方法和结构及其等同方案。

## 序列表

<110> 佳努克斯治疗公司

<120> 与肿瘤激活的T细胞衔接子相关的组合物和方法

<130> 52426-716.601

<140>

<141>

<150> 62/978,662

<151> 2020-02-19

<150> 62/858,254

<151> 2019-06-06

<160> 113

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 1

Gly	Gly	Asp	Trp	Cys	Arg	Ser	Leu	Met	Ser	Tyr	Thr	Asp	Leu	Cys	Pro
1				5					10					15	

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 2

Gly	Gly	Thr	Ser	Cys	Ala	Asp	Ala	His	Leu	Ile	Ala	Pro	Ser	Cys	Ser
1				5					10					15	

<210> 3

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 3

Gly Gly Asn Cys Gln Trp Asp Arg Val Glu His Thr Tyr Ala Cys Ser

1                    5                    10                    15

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 4

Gly Gly Trp Val Ser Cys His Asp Gly Ser His Met Thr Cys Phe His

1                    5                    10                    15

<210> 5

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 5

Gly Gly Met Asn Cys Leu Asn Arg Leu Trp Val Glu Tyr Cys Leu Val

1                    5                    10                    15

<210> 6

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 6

Gly Gly Tyr Cys Gly Gln Asp Asn Thr Trp Val Arg Glu Gly Cys Phe

1                    5                    10                    15

<210> 7

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 7

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Leu Ser Cys Glu Gly Trp Ala Met Asn Arg

1                               5                               10                               15

Glu Gln Cys Arg Ala

20

<210> 8

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 8

Gly Gly Pro Leu Cys Ser Asp Leu Asp His Ile Thr Arg Leu Cys Asp

1                               5                               10                               15

<210> 9

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 9

Gly Gly Ile Asp Cys Ala Ser Leu Asp His Tyr Thr Glu Ser Cys Tyr

1                               5                               10                               15

<210> 10

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 10

Gly Gly Asn Pro Val Cys Thr Leu Gly Asp Pro Tyr Glu Cys Ser His

1                               5                               10                               15

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 11

Gly	Gly	Thr	Phe	Cys	Gln	Leu	Asn	Ala	Asp	Pro	Tyr	Glu	Cys	Gln	Ser
1				5					10					15	

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 12

Gly	Gly	Gly	Tyr	Cys	Glu	Leu	Ile	Gly	Asp	Tyr	Val	Val	Cys	Ser	Pro
1				5					10					15	

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 13

Gly	Gly	Leu	Cys	Asp	Arg	Trp	Gly	Trp	Ile	Asp	Ala	Pro	Tyr	Cys	His
1				5					10					15	

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 14

Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Thr	Glu	Gly	His	Trp	His	Trp	Gly	Thr	Cys	Ser
1				5					10					15	

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 15

Gly Gly Asn Ile Cys Met Asp Tyr Ser Trp Arg Ser Gly Cys Ala Val  
1                   5                   10                   15

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 16

Gly Gly His Ser Cys Thr Phe Gly Asp Trp Ser Leu Gly Thr Cys Ala  
1                   5                   10                   15

<210> 17

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 17

Gly Gly Phe Ile Cys Thr Leu Gly Asn Trp Trp Asp Gly Ser Cys Glu  
1                   5                   10                   15

<210> 18

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 18

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Gly Tyr Leu Trp Gly Cys Glu Trp Asn Cys  
1                   5                   10                   15

Gly Gly Ile Thr Thr

20

<210> 19

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 19

Gly Gly Asp Ser Val Cys Ala Asp Pro Glu Val Pro Ile Cys Glu Ile

1

5

10

15

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 20

Gly Gly Met Ser Asp Cys Gly Asp Pro Gly Val Glu Ile Cys Thr His

1

5

10

15

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 21

Gly Gly Ile Gln Cys His Asp Pro Asp Leu Pro Ser Pro Cys Tyr Ile

1

5

10

15

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 22

Gly Gly Glu Trp Cys Leu Phe Asp Pro Asp Val Pro Thr Cys Gln Asp  
1                   5                   10                   15

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 23

Gly Gly Leu Gly Cys Asn Asp Ile Asp Pro Gly Glu Gln Cys Ile Val  
1                   5                   10                   15

<210> 24

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 24

Gly Gly Leu Glu Cys Phe Asp Pro Glu Ile Pro Glu Ala Phe Cys Ile  
1                   5                   10                   15

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 25

Gly Gly Gln Gly Cys Gly Thr Ile Ala Asp Pro Glu Pro His Cys Trp  
1                   5                   10                   15

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 26

Gly Gly Asn Cys His Asp Pro Asp Ile Pro Ala Tyr Val Leu Cys Ser

1                    5                    10                    15

<210> 27

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 27

Gly Gly Leu Cys Pro Ile Asn Asp Trp Glu Pro Gln Asp Ile Cys Trp

1                    5                    10                    15

<210> 28

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 28

Gly Gly Leu Cys Met Ile Gly Asp Trp Leu Pro Gly Asp Val Cys Leu

1                    5                    10                    15

<210> 29

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<220>

<221> MISC\_特征

<222> (1) ..9)

<223> 该序列可能包含 1-3 个“Gly Gly Ser”

repeating units

<400> 29

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser

1                    5





<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 36

Ala Ser Gly Arg Ser Asp Asn His

1                   5

<210> 37

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 37

Leu Ala Gly Arg Ser Asp Asn His

1                   5

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 38

Ile Ser Ser Gly Leu Ala Ser Gly Arg Ser Asp Asn His

1                   5                   10

<210> 39

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 39

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ala Gly Arg Ser Asp Asn His

1                   5                   10

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 40

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His

1 5

<210> 41

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 41

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn Pro

1 5 10

<210> 42

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 42

Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His

1 5 10

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 43

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Ser Pro Leu Gly Leu Ala Gly Ser

1 5 10 15

<210> 44

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 44

Ser Pro Leu Gly Leu Ala Gly Ser Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His  
1                   5                   10                   15

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 45

Ser Pro Leu Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His  
1                   5                   10

<210> 46

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 46

Leu Ala Gly Arg Ser Asp Asn His Ser Pro Leu Gly Leu Ala Gly Ser  
1                   5                   10                   15

<210> 47

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 47

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Val Pro Leu Ser Leu Lys Met Gly  
1                   5                   10                   15

<210> 48

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 48

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Val Pro Leu Ser Leu Ser Met Gly

1

5

10

15

<210> 49

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

多肽

<400> 49

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ile Ser Ser

1

5

10

15

Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Ser Ser Gly Thr

20

25

30

<210> 50

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 50

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ile Ser Ser Gly Leu

1

5

10

15

Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser

20

25

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 51

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser  
1 5

<210> 52

<211> 115

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

<400> 52

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn  
1 5 10 15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe  
20 25 30  
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
35 40 45  
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60  
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr  
65 70 75 80  
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95  
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr  
100 105 110  
Val Ser Ser  
115

<210> 53

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 53

Gln Gly Gln Ser Gly Ser Gly Tyr Leu Trp Gly Cys Glu Trp Asn Cys  
1 5 10 15

Gly Gly Ile Thr Thr  
20

<210> 54

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 54

Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Ser Ser Gly Ala  
1                   5                   10                   15  
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
                  20                   25

<210> 55

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

<400> 55

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ile Ser Ser Gly  
1                   5                   10                   15  
Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Ser Ser Gly Thr  
                  20                   25                   30

<210> 56

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

<400> 56

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly  
1                   5                   10                   15  
Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn  
                  20                   25                   30  
Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile





	85	90	95
Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly			
	100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
	115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
	130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
	210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
	245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
	260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
	275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
	290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
	325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 405 410 415  
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 420 425 430  
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 435 440 445  
 Lys  
 <210> 59  
 <211> 222  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 多肽  
 <400> 59  
 Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr  
 20 25 30  
 Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu  
 35 40 45  
 Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
 50 55 60  
 Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe  
 65 70 75 80  
 Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe  
 115 120 125  
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu  
 130 135 140  
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp  
 145 150 155 160  
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu  
 165 170 175  
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser  
 180 185 190

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

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

<210> 60  
 <211> 222  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 多肽  
 <400> 60

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

Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr  
 20 25 30

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

Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr  
 50 55 60

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

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Gln Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210	215	220
<210> 61		
<211> 214		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的多肽		
<400> 61		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1                   5                   10                   15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala		
20                   25                   30		
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35                   40                   45		
Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
50                   55                   60		
Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65                   70                   75                   80		
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro		
85                   90                   95		
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
100                   105                   110		
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
115                   120                   125		
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
130                   135                   140		
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145                   150                   155                   160		
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165                   170                   175		
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
180                   185                   190		
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195                   200                   205		
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 62		
<211> 450		

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

<400> 62

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Lys	Asp	Thr	20	25	30	
Tyr	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ala	Arg	Ile	Tyr	Pro	Thr	Asn	Gly	Tyr	Thr	Arg	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ala	Asp	Thr	Ser	Lys	Asn	Thr	Ala	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Ser	Arg	Trp	Gly	Gly	Asp	Gly	Phe	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	100	105	110	
Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	115	120	125	
Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	130	135	140	
Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	145	150	155	160
Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	165	170	175	
Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	180	185	190	
Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	195	200	205	
Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	210	215	220	
Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	225	230	235	240
Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	245	250	255	
Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu				

260	265	270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His		
275	280	285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg		
290	295	300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys		
305	310	315
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu		
325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr		
340	345	350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu		
355	360	365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp		
370	375	380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val		
385	390	395
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp		
405	410	415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His		
420	425	430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	445
Gly Lys		
450		
<210> 63		
<211> 223		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的多肽		
<400> 63		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr		
20	25	30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45

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

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

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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 64  
<211> 214  
<212> PRT  
<213> 人工序列  
<220>  
<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽  
<400> 64

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

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

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly  
35 40 45

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

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala

65	70	75	80
Gln Thr Glu Asp	Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn		
	85	90	95
Leu Trp Val Phe	Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gln Pro Lys		
	100	105	110
Ser Ser Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Glu			
	115	120	125
Thr Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp Phe Tyr Pro Gly			
	130	135	140
Val Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro Val Thr Gln Gly			
145	150	155	160
Met Glu Thr Thr Gln Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Met Ala			
	165	170	175
Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu Arg His Ser Ser			
	180	185	190
Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val Glu Lys Ser Leu			
	195	200	205
Ser Arg Ala Asp Cys Ser			
210			

<210> 65

<211> 449

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Lys Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr			
	20	25	30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
	35	40	45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp			
	50	55	60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Ile			
65	70	75	80
Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Met Tyr			
	85	90	95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe																			
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr																			
Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr																			
Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr Phe Pro Glu																			
Pro Val Thr Val Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser Gly Val His																			
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser																			
Val Thr Val Pro Ser Ser Pro Arg Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn																			
Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro																			
Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser																			
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr																			
Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp																			
Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu Val His Thr																			
Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser																			
Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu																			
Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys																			
Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Arg Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr																			
Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr																			
Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln																			
Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met																			
Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val Tyr Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys																			

	405	410	415
Ser Asn Trp	Glu Ala Gly Asn Thr Phe	Thr Cys Ser Val	Leu His Glu
	420	425	430
Gly Leu His	Asn His His Thr Glu Lys Ser	Leu Ser His Ser	Pro Gly
	435	440	445
Lys			
<210>	66		
<211>	249		
<212>	PRT		
<213>	人工序列		
<220>			
<223>	人工序列的描述:合成的多肽		
<400>	66		
Glu Val Gln	Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly	Leu Val Gln Pro Gly Gly	
1	5	10	15
Ser Leu Lys	Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe	Thr Phe Asn Lys Tyr	
	20	25	30
Ala Met Asn	Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly	Leu Glu Trp Val	
	35	40	45
Ala Arg Ile	Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr	Ala Asp	
50	55	60	
Ser Val Lys	Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp	Ser Lys Asn Thr	
65	70	75	80
Ala Tyr Leu	Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr	Ala Val Tyr	
	85	90	95
Tyr Cys Val	Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp		
	100	105	110
Ala Tyr Trp	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
	115	120	125
Gly Ser Gly	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val		
130	135	140	
Thr Gln Glu	Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu		
145	150	155	160
Thr Cys Gly	Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn		
	165	170	175
Trp Val Gln	Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly		
	180	185	190
Thr Lys Phe	Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu		

195	200	205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala	Leu Thr Leu Ser Gly Val	Gln Pro Glu Asp
210	215	220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val	Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val	Phe
225	230	235
240		
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu		
	245	
<210> 67		
<211> 249		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的多肽		
<400> 67		
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly		
1	5	10
15		
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser		
	20	25
		30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly		
	35	40
		45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Asp Arg Phe		
	50	55
		60
Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala		
65	70	75
		80
Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn		
	85	90
		95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly		
	100	105
		110
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu		
	115	120
		125
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu		
	130	135
		140
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp		
145	150	155
		160
Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg		
	165	170
		175
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp		
	180	185
		190

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
 195 200 205  
 Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg  
 210 215 220  
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 245  
 <210> 68  
 <211> 249  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 多肽  
 <400> 68  
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser  
 20 25 30  
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly  
 35 40 45  
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val  
 65 70 75 80  
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn  
 85 90 95  
 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly  
 100 105 110  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu  
 115 120 125  
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu  
 130 135 140  
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp  
 145 150 155 160  
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg  
 165 170 175  
 Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp

	180		185		190
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln					
	195		200		205
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg					
	210		215		220
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly					
225		230		235	240
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser					
	245				
<210> 69					
<211> 503					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 人工序列的描述:合成的					
多肽					
<400> 69					
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly					
1	5		10		15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser					
	20		25		30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly					
	35		40		45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe					
50		55		60	
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val					
65		70		75	80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn					
	85		90		95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly					
	100		105		110
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu					
	115		120		125
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu					
	130		135		140
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp					
145		150		155	160
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg					
	165		170		175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp  
 180 185 190  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
 195 200 205  
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg  
 210 215 220  
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val  
 245 250 255  
 Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu  
 260 265 270  
 Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val  
 275 280 285  
 His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val  
 290 295 300  
 Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met  
 325 330 335  
 Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala  
 340 345 350  
 Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 355 360 365  
 Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 370 375 380  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 385 390 395 400  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 405 410 415  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 420 425 430  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 435 440 445  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 450 455 460  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly His His  
 465 470 475 480  
 His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala

	485	490	495
Gln Lys Ile Glu Trp His Glu			
500			
<210> 70			
<211> 266			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成的多肽			
<400> 70			
Gln Gly Gln Ser Gly Gln Leu Ser Cys Glu Gly Trp Ala Met Asn Arg			
1	5	10	15
Glu Gln Cys Arg Ala Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly			
	20	25	30
Ser Gly Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly			
	35	40	45
Ser Ser Gly Thr Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser			
	50	55	60
Val Ser Pro Gly Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser			
65	70	75	80
Ile Gly Thr Asn Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro			
	85	90	95
Arg Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser			
	100	105	110
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn			
	115	120	125
Ser Val Glu Ser Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn			
	130	135	140
Asn Trp Pro Thr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg			
145	150	155	160
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln			
	165	170	175
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr			
	180	185	190
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser			
	195	200	205
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr			
	210	215	220

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys  
 225 230 235 240  
 His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro  
 245 250 255  
 Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 260 265  
 <210> 71  
 <211> 552  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 多肽  
 <400> 71  
 Gln Gly Gln Ser Gly Gln Gly Tyr Leu Trp Gly Cys Glu Trp Asn Cys  
 1 5 10 15  
 Gly Gly Ile Thr Thr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly  
 20 25 30  
 Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly  
 35 40 45  
 Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly  
 50 55 60  
 Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr  
 65 70 75 80  
 Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg  
 85 90 95  
 Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg  
 100 105 110  
 Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly  
 115 120 125  
 Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser  
 130 135 140  
 Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly  
 145 150 155 160  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln  
 165 170 175  
 Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys  
 180 185 190  
 Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn

195	200	205
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile		
210	215	220
Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
225	230	235
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu		
245	250	255
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val		
260	265	270
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp		
275	280	285
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln		
290	295	300
Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser		
305	310	315
Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly		
325	330	335
Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly		
340	345	350
Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser		
355	360	365
Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys		
370	375	380
Met Asn Ser Leu Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg		
385	390	395
Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
405	410	415
Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
420	425	430
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly		
435	440	445
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn		
450	455	460
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln		
465	470	475
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser		
485	490	495
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser		
500	505	510

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly His  
 515 520 525  
 His His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu  
 530 535 540  
 Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
 545 550  
 <210> 72  
 <211> 390  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 多肽  
 <400> 72  
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Gly Gln Ser  
 115 120 125  
 Gly Gln Leu Ser Cys Glu Gly Trp Ala Met Asn Arg Glu Gln Cys Arg  
 130 135 140  
 Ala Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ile Ser  
 145 150 155 160  
 Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Ser Ser Gly Thr  
 165 170 175  
 Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Val Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly  
 180 185 190  
 Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn

195	200	205
Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile		
210	215	220
Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
225	230	235
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Ser Ile Asn Ser Val Glu Ser		
245	250	255
Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr		
260	265	270
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala		
275	280	285
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
290	295	300
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
305	310	315
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
325	330	335
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
340	345	350
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
355	360	365
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
370	375	380
Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
385	390	
<210> 73		
<211> 676		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的 多肽		
<400> 73		
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe		
20	25	30
Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Gly Gln Ser  
 115 120 125  
 Gly Gln Gly Tyr Leu Trp Gly Cys Glu Trp Asn Cys Gly Gly Ile Thr  
 130 135 140  
 Thr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ile Ser Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val  
 165 170 175  
 Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr  
 180 185 190  
 Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala  
 195 200 205  
 Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly  
 210 215 220  
 Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser  
 225 230 235 240  
 Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu  
 245 250 255  
 Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val  
 260 265 270  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 275 280 285  
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser  
 290 295 300  
 Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala  
 305 310 315 320  
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln  
 325 330 335  
 Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr  
 340 345 350  
 Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr

355	Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn	360		365	
370		375		380	
385	Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn	390		395	400
		405		410	415
	Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Lys	420		425	430
		435		440	445
	Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr	440		445	
		450		455	460
	Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val	455		460	
		465		470	475
	Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser	470		475	480
		485		490	495
	Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile	485		490	495
		500		505	510
	Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu	500		505	510
		515		520	525
	Gln Ser Asn Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr	515		520	525
		530		535	540
	Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val	530		535	540
		545		550	555
	Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser	545		550	555
		565		570	575
	Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys	565		570	575
		580		585	590
	Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu	580		585	590
		595		600	605
	Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu	595		600	605
		610		615	620
	Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr	610		615	620
		625		630	635
	Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val	625		630	635
		645		650	655
	Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly His His His His His	645		650	655
		660		665	670
	His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile	660		665	670



225	230	235	240
Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu			
	245	250	255
Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe			
	260	265	270
Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu			
	275	280	285
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly			
	290	295	300
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val			
305	310	315	320
Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala			
	325	330	335
Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln			
	340	345	350
Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr			
	355	360	365
Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr			
	370	375	380
Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu			
385	390	395	400
Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val			
	405	410	415
Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly			
	420	425	430
Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly			
	435	440	445
Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly			
	450	455	460
Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp			
465	470	475	480
Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser			
	485	490	495
Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Gln Asp Thr			
	500	505	510
Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe			
	515	520	525
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr			
	530	535	540

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
 545 550 555 560  
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 565 570 575  
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 580 585 590  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
 595 600 605  
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys  
 610 615 620  
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu  
 625 630 635 640  
 Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly His His His His His His His  
 645 650 655

<210> 75

<211> 654

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
 多肽

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val  
 50 55 60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr  
 65 70 75 80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 100 105 110  
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Gly  
 115 120 125  
 Cys Gly Thr Ile Ala Asp Pro Glu Pro His Cys Trp Gly Ser Ser Gly

130	135	140
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ala Ser Ser Gly Ala Gly Gly Ser Gly		
145	150	155
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly		
165	170	175
Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala		
180	185	190
Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala		
195	200	205
Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn		
210	215	220
Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile		
225	230	235
Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu		
245	250	255
Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe		
260	265	270
Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
275	280	285
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
290	295	300
Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val		
305	310	315
Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala		
325	330	335
Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln		
340	345	350
Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr		
355	360	365
Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr		
370	375	380
Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu		
385	390	395
Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val		
405	410	415
Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly		
420	425	430
Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly		
435	440	445

Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly  
 450 455 460  
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp  
 465 470 475 480  
 Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser  
 485 490 495  
 Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Gln Asp Thr  
 500 505 510  
 Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe  
 515 520 525  
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr  
 530 535 540  
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
 545 550 555 560  
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 565 570 575  
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 580 585 590  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
 595 600 605  
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys  
 610 615 620  
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu  
 625 630 635 640  
 Pro Lys Ser Cys Gly Gly His His His His His His His His  
 645 650

<210> 76

<211> 655

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

<400> 76

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe  
 20 25 30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35	40	45
Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val		
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr		
100	105	110
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gln Gly		
115	120	125
Cys Gly Thr Ile Ala Asp Pro Glu Pro His Cys Trp Gly Ser Ser Gly		
130	135	140
Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ile Ser Ser Gly Leu Leu Ser Gly Arg		
145	150	155
Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro		
165	170	175
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser		
180	185	190
Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln		
195	200	205
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg		
210	215	220
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys		
225	230	235
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr		
245	250	255
Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr		
260	265	270
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
275	280	285
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val		
290	295	300
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr		
305	310	315
Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly		
325	330	335
Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr		
340	345	350

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp  
 355 360 365  
 Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp  
 370 375 380  
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr  
 385 390 395 400  
 Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser  
 405 410 415  
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly  
 420 425 430  
 Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly  
 435 440 445  
 Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly  
 450 455 460  
 Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp  
 465 470 475 480  
 Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser  
 485 490 495  
 Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu Gln Ser Gln Asp Thr  
 500 505 510  
 Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe  
 515 520 525  
 Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr  
 530 535 540  
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser  
 545 550 555 560  
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu  
 565 570 575  
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His  
 580 585 590  
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser  
 595 600 605  
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys  
 610 615 620  
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu  
 625 630 635 640  
 Pro Lys Ser Cys Gly Gly Gly His His His His His His His  
 645 650 655

<210> 77

<211> 503  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的多肽  
 <400> 77  
 Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly  
 1                                    5                                    10                                    15  
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser  
                                   20                                    25                                    30  
 Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly  
                                   35                                    40                                    45  
 Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe  
                                   50                                    55                                    60  
 Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val  
 65                                    70                                    75                                    80  
 Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn  
                                   85                                    90                                    95  
 Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly  
                                   100                                    105                                    110  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu  
                                   115                                    120                                    125  
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu  
                                   130                                    135                                    140  
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp  
 145                                    150                                    155                                    160  
 Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg  
                                   165                                    170                                    175  
 Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp  
                                   180                                    185                                    190  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
                                   195                                    200                                    205  
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg  
                                   210                                    215                                    220  
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
 225                                    230                                    235                                    240  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val  
                                   245                                    250                                    255

Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu  
 260 265 270  
 Ser Ile Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val  
 275 280 285  
 His Trp Val Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val  
 290 295 300  
 Ile Trp Ser Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met  
 325 330 335  
 Asn Ser Leu Gln Ser Gln Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala  
 340 345 350  
 Leu Thr Tyr Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 355 360 365  
 Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu  
 370 375 380  
 Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys  
 385 390 395 400  
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser  
 405 410 415  
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser  
 420 425 430  
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser  
 435 440 445  
 Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn  
 450 455 460  
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly His His  
 465 470 475 480  
 His His His His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala  
 485 490 495  
 Gln Lys Ile Glu Trp His Glu  
 500

<210> 78

<211> 676

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

&lt;400&gt; 78

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Phe  
                   20                   25                   30  
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                   40                   45  
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Arg Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val  
                   50                   55                   60  
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr  
 65                   70                   75                   80  
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
                   85                   90                   95  
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Val Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr  
                   100                   105                   110  
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gln Gly Gln Ser  
                   115                   120                   125  
 Gly Ser Gly Tyr Leu Trp Gly Cys Glu Trp Asn Cys Gly Gly Ile Thr  
 130                   135                   140  
 Thr Gly Ser Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ile Ser Ser Gly  
 145                   150                   155                   160  
 Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val  
                   165                   170                   175  
 Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr  
                   180                   185                   190  
 Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala  
                   195                   200                   205  
 Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly  
                   210                   215                   220  
 Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
 225                   230                   235                   240  
 Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Asp  
                   245                   250                   255  
 Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val  
                   260                   265                   270  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
                   275                   280                   285  
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser  
                   290                   295                   300

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala  
 305 310 315 320  
 Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln  
 325 330 335  
 Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr  
 340 345 350  
 Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr  
 355 360 365  
 Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser  
 370 375 380  
 Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Arg His Gly Asn  
 385 390 395 400  
 Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 405 410 415  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Lys  
 420 425 430  
 Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln Ser Leu Ser Ile Thr  
 435 440 445  
 Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Asn Tyr Gly Val His Trp Val  
 450 455 460  
 Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly Val Ile Trp Ser  
 465 470 475 480  
 Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Asn Thr Pro Phe Thr Ser Arg Leu Ser Ile  
 485 490 495  
 Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe Lys Met Asn Ser Leu  
 500 505 510  
 Gln Ser Gln Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Leu Thr Tyr  
 515 520 525  
 Tyr Asp Tyr Glu Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
 530 535 540  
 Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
 545 550 555 560  
 Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 565 570 575  
 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
 580 585 590  
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
 595 600 605  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

610	615	620
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val		
625	630	635
Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Gly Gly His His His His His		640
	645	650
His His His Gly Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile		655
	660	670
Glu Trp His Glu		
675		
<210> 79		
<211> 488		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成的		
多肽		
<400> 79		
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly		
1	5	10
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser		
	20	25
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly		
	35	40
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe		
	50	55
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val		
65	70	75
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn		
	85	90
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly		
	100	105
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu		
	115	120
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu		
	130	135
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp		
145	150	155
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg		
	165	170
		175

Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp  
 180 185 190  
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
 195 200 205  
 Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg  
 210 215 220  
 His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly  
 225 230 235 240  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val  
 245 250 255  
 Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu  
 260 265 270  
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile  
 275 280 285  
 His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg  
 290 295 300  
 Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 305 310 315 320  
 Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln  
 325 330 335  
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg  
 340 345 350  
 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 355 360 365  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro  
 370 375 380  
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly  
 385 390 395 400  
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn  
 405 410 415  
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln  
 420 425 430  
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser  
 435 440 445  
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser  
 450 455 460  
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala  
 465 470 475 480  
 His His His His His His His His

485

&lt;210&gt; 80

&lt;211&gt; 260

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
多肽

&lt;400&gt; 80

Gly	Gly	Thr	Gly	Cys	Thr	Glu	Gly	His	Trp	His	Trp	Gly	Thr	Cys	Ser	1	5	10	15
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ile	Ser	Ser	Gly	20	25	30	
Leu	Leu	Ser	Gly	Arg	Ser	Asp	Asn	His	Gly	Ser	Ser	Gly	Thr	Asp	Ile	35	40	45	
Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	50	55	60	
Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Val	Asn	Thr	Ala	Val	Ala	65	70	75	80
Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Ser	85	90	95	
Ala	Ser	Phe	Leu	Tyr	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg	100	105	110	
Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	115	120	125	
Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	His	Tyr	Thr	Thr	Pro	Pro	Thr	Phe	130	135	140	
Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	145	150	155	160
Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	165	170	175	
Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	180	185	190	
Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	195	200	205	
Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	210	215	220	
Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	225	230	235	240



210	215	220
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser		
225	230	235
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu		
245	250	255
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val		
260	265	270
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly		
275	280	285
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser		
290	295	300
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala		
305	310	315
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln		
325	330	335
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr		
340	345	350
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr		
355	360	365
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn		
370	375	380
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn		
385	390	395
Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
405	410	415
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val		
420	425	430
Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser		
435	440	445
Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val		
450	455	460
Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro		
465	470	475
Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr		
485	490	495
Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser		
500	505	510
Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly		
515	520	525

Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr  
 530 535 540  
 Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro  
 545 550 555 560  
 Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val  
 565 570 575  
 Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala  
 580 585 590  
 Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly  
 595 600 605  
 Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly  
 610 615 620  
 Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys  
 625 630 635 640  
 Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ala Ala Ala His His His  
 645 650 655  
 His His His His His  
 660

<210> 82

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 82

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 83

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 83

Gly Gly Pro Leu Cys Ser Asp Leu Asp His Ile Thr Arg Leu Cys Asp

1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 84

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 84

Gly Gly Ile Asp Cys Ala Ser Leu Asp His Tyr Thr Glu Ser Cys Tyr

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 85

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 85

Gly Gly Asn Pro Val Cys Thr Leu Gly Asp Pro Tyr Glu Cys Ser His

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 86

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 86

Gly Gly Thr Phe Cys Gln Leu Asn Ala Asp Pro Tyr Glu Cys Gln Ser

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 87

&lt;211&gt; 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 87

Gly Gly Gly Tyr Cys Glu Leu Ile Gly Asp Tyr Val Val Cys Ser Pro

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

<210> 88

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 88

Gly Gly Leu Cys Asp Arg Trp Gly Trp Ile Asp Ala Pro Tyr Cys His

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

<210> 89

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 89

Gly Gly Thr Gly Cys Thr Glu Gly His Trp His Trp Gly Thr Cys Ser

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

<210> 90

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 90

Gly Gly Asn Ile Cys Met Asp Tyr Ser Trp Arg Ser Gly Cys Ala Val  
1                   5                   10                   15

Gly Asp Gly Gly Ser  
                  20

<210> 91

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 91

Gly Gly His Ser Cys Thr Phe Gly Asp Trp Ser Leu Gly Thr Cys Ala  
1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser  
                  20

<210> 92

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 92

Gly Gly Phe Ile Cys Thr Leu Gly Asn Trp Trp Asp Gly Ser Cys Glu  
1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser  
                  20

<210> 93

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 93

Gly Gly Asp Trp Cys Arg Ser Leu Met Ser Tyr Thr Asp Leu Cys Pro  
 1                           5                           10                           15  
 Gly Gly Gly Gly Ser  
                           20  
 <210> 94  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 肽  
 <400> 94  
 Gly Gly Thr Ser Cys Ala Asp Ala His Leu Ile Ala Pro Ser Cys Ser  
 1                           5                           10                           15  
 Gly Gly Gly Gly Ser  
                           20  
 <210> 95  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 肽  
 <400> 95  
 Gly Gly Asn Cys Gln Trp Asp Arg Val Glu His Thr Tyr Ala Cys Ser  
 1                           5                           10                           15  
 Gly Gly Gly Gly Ser  
                           20  
 <210> 96  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 人工序列的描述:合成的  
 肽  
 <400> 96  
 Gly Gly Trp Val Ser Cys His Asp Gly Ser His Met Thr Cys Phe His  
 1                           5                           10                           15  
 Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 97

Gly Gly Met Asn Cys Leu Asn Arg Leu Trp Val Glu Tyr Cys Leu Val

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 98

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 98

Gly Gly Tyr Cys Gly Gln Asp Asn Thr Trp Val Arg Glu Gly Cys Phe

1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 99

&lt;211&gt; 26

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 99

Gln Gly Gln Ser Gly Gln Leu Ser Cys Glu Gly Trp Ala Met Asn Arg

1                   5                   10                   15

Glu Gln Cys Arg Ala Gly Gly Gly Gly Ser

20

25

&lt;210&gt; 100

&lt;211&gt; 26





Gly Gly Leu Glu Cys Phe Asp Pro Glu Ile Pro Glu Ala Phe Cys Ile  
 1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser  
                   20

<210> 107

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 107

Gly Gly Gln Gly Cys Gly Thr Ile Ala Asp Pro Glu Pro His Cys Trp  
 1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser  
                   20

<210> 108

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 108

Gly Gly Asn Cys His Asp Pro Asp Ile Pro Ala Tyr Val Leu Cys Ser  
 1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser  
                   20

<210> 109

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述:合成的

肽

<400> 109

Gly Gly Leu Cys Pro Ile Asn Asp Trp Glu Pro Gln Asp Ile Cys Trp  
 1                   5                   10                   15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 110

&lt;211&gt; 21

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 110

Gly Gly Leu Cys Met Ile Gly Asp Trp Leu Pro Gly Asp Val Cys Leu

1                    5                    10                    15

Gly Gly Gly Gly Ser

20

&lt;210&gt; 111

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

&lt;400&gt; 111

Ile Gly Gly Leu Leu Ser Gly Arg Ser Asp Asn His

1                    5                    10

&lt;210&gt; 112

&lt;211&gt; 12

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
oligonucleotide

&lt;400&gt; 112

cgcttggcat ta 12

&lt;210&gt; 113

&lt;211&gt; 4

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

<223> 人工序列的描述:合成的  
肽

<400> 113

Arg Leu Ala Leu

1

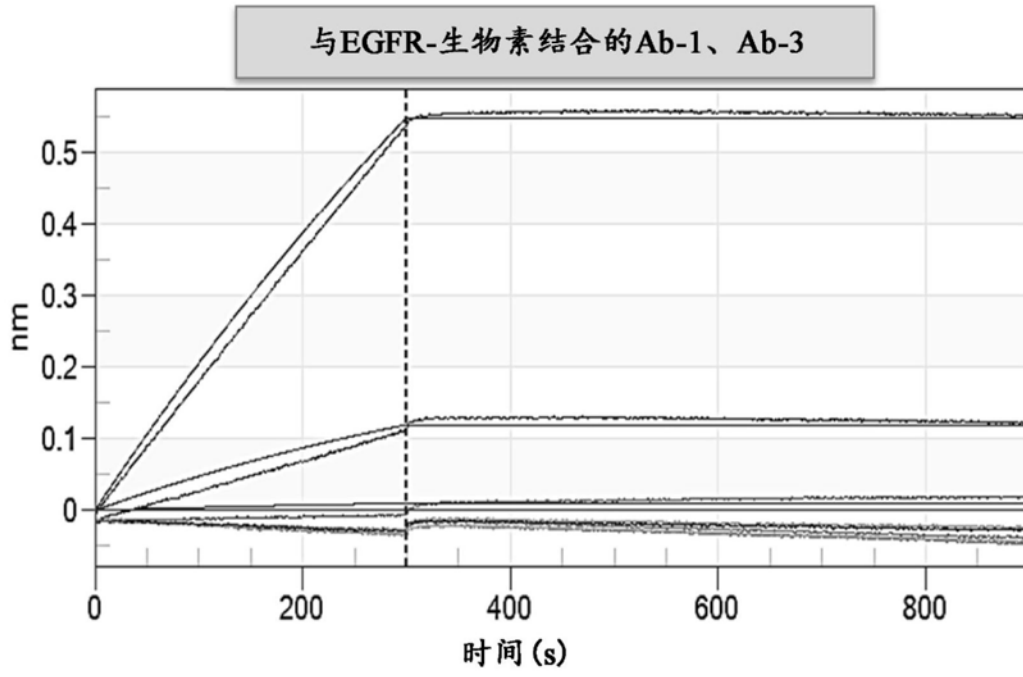


图1A

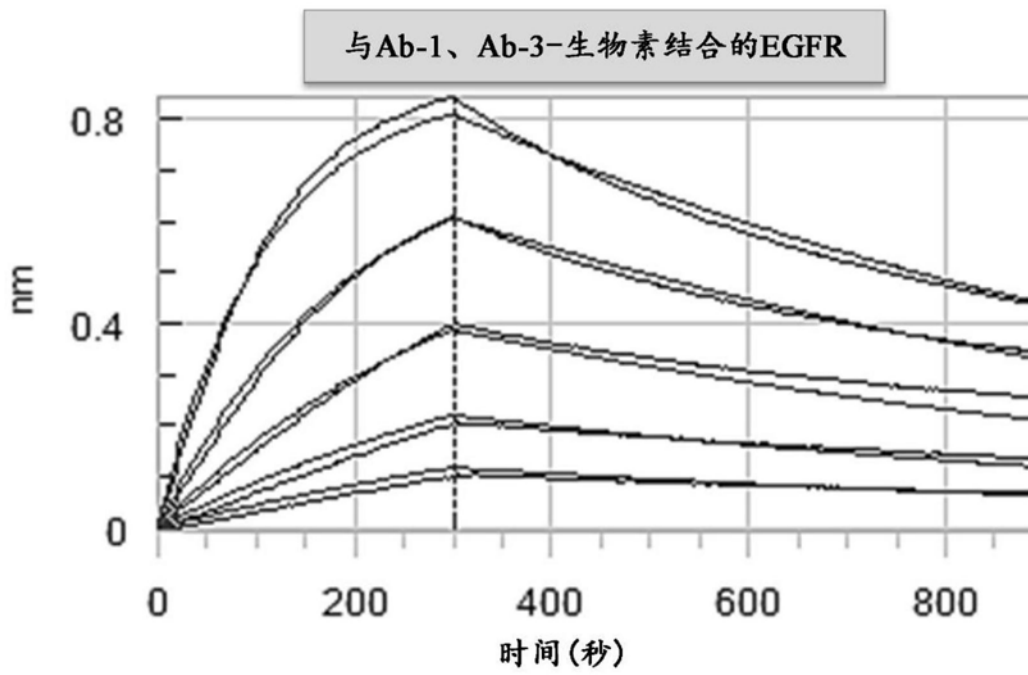


图1B

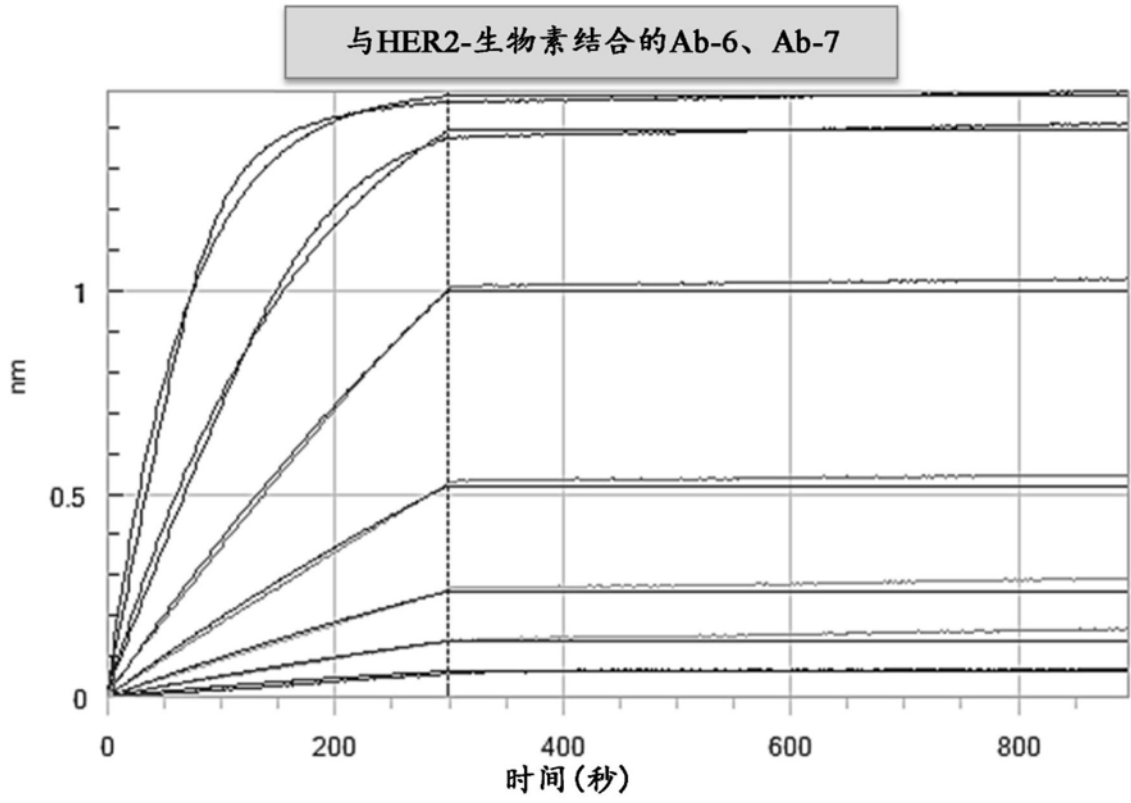


图1C

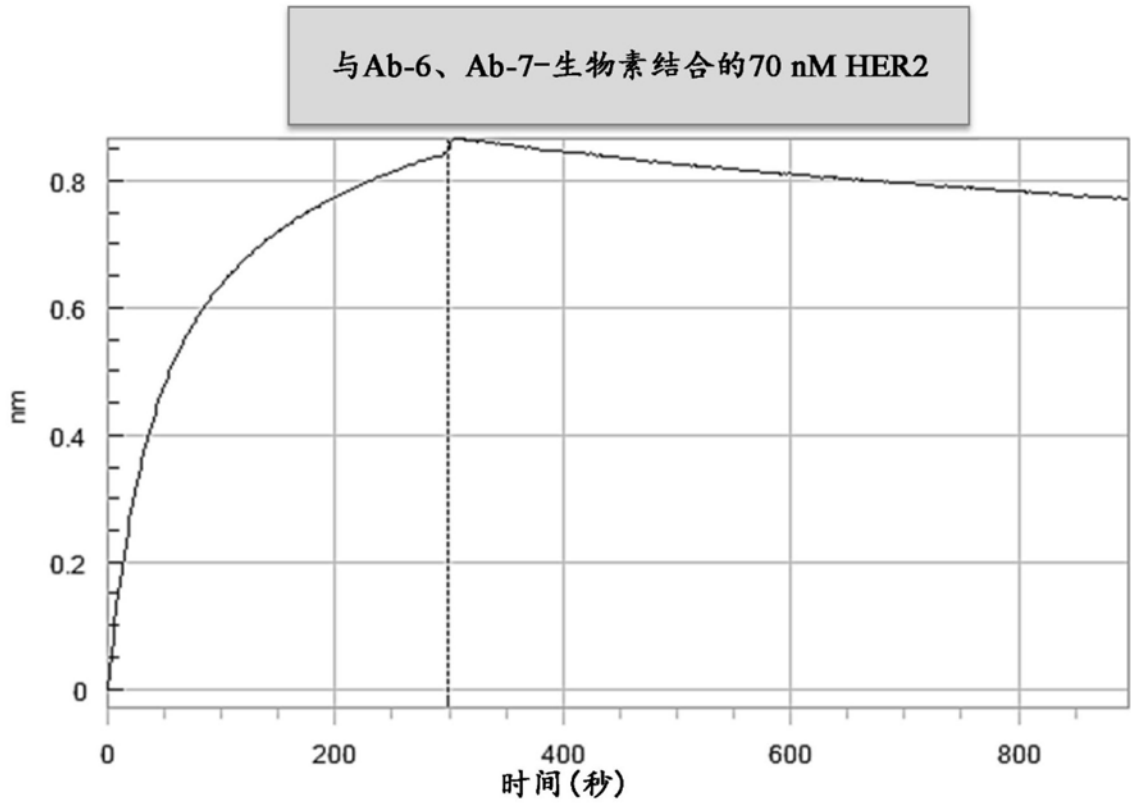


图1D

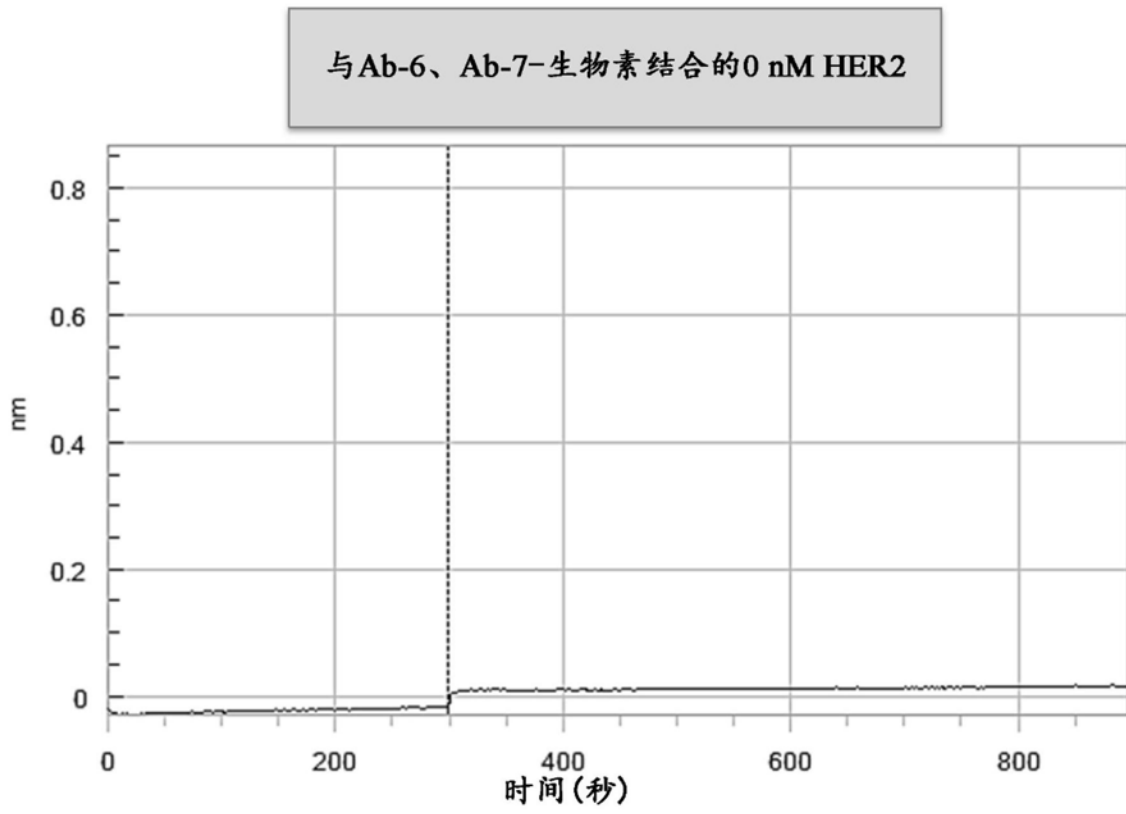


图1E

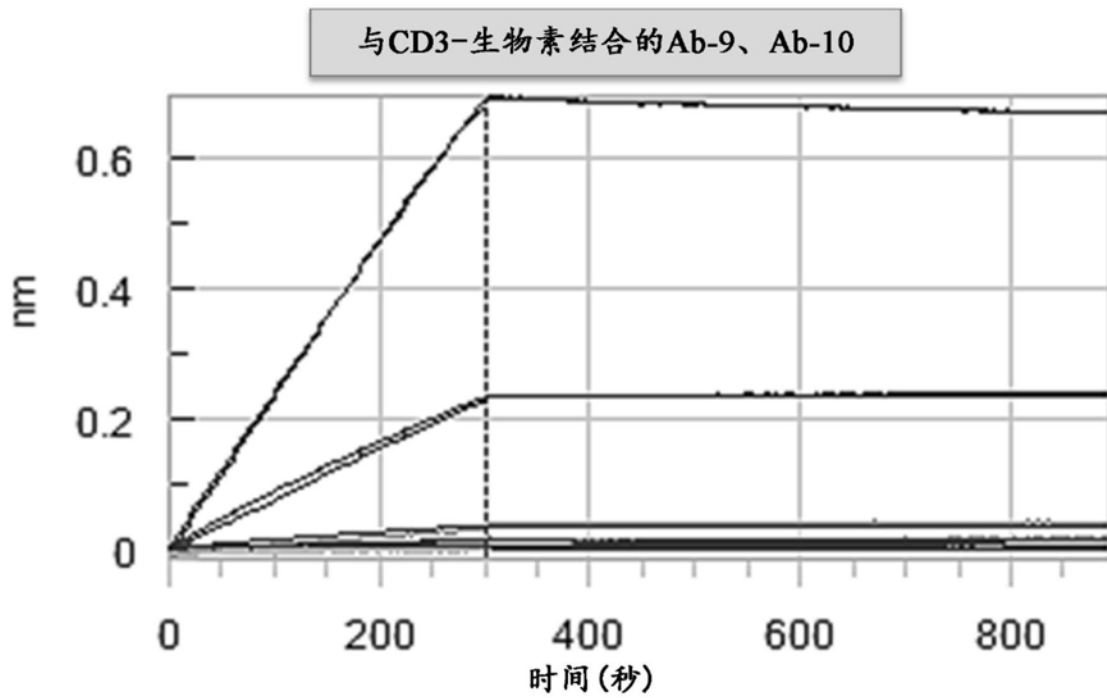


图1F

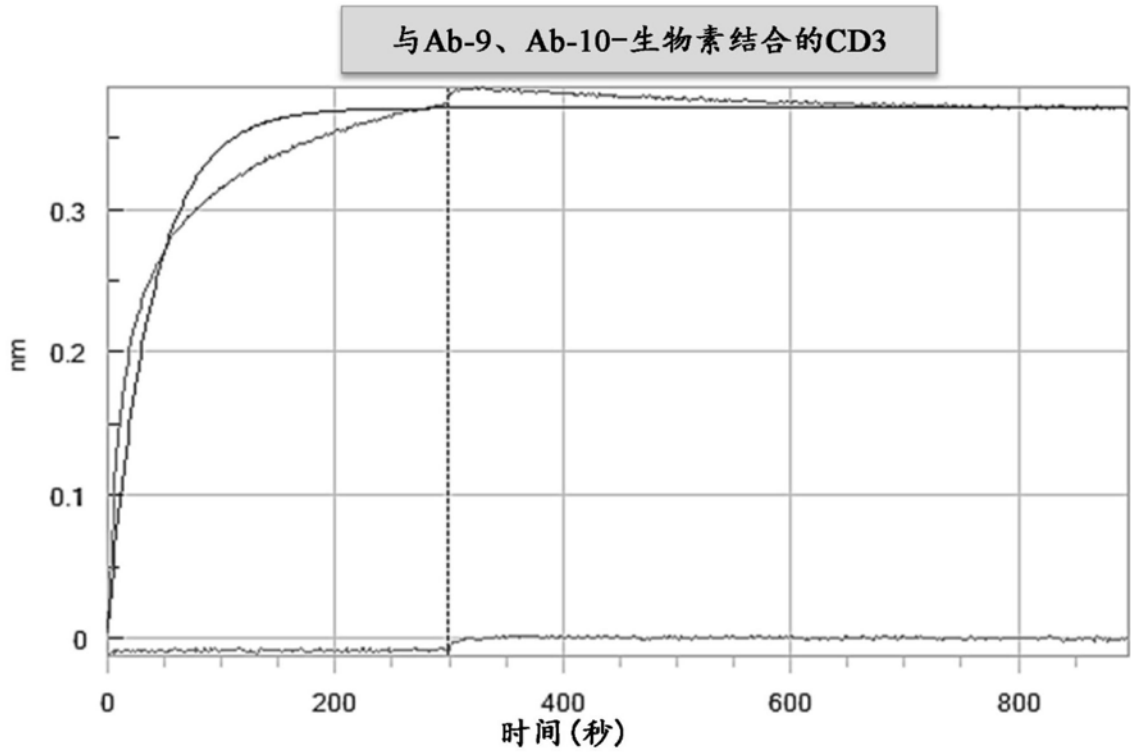


图1G

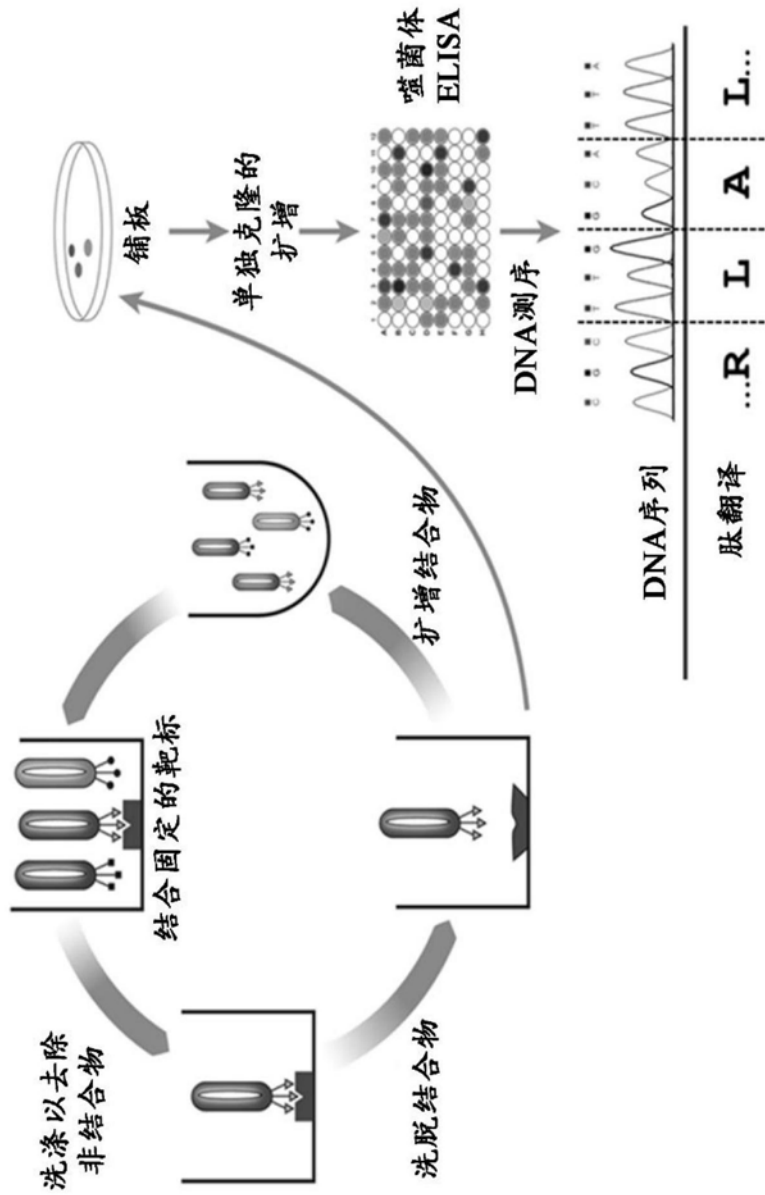


图2A

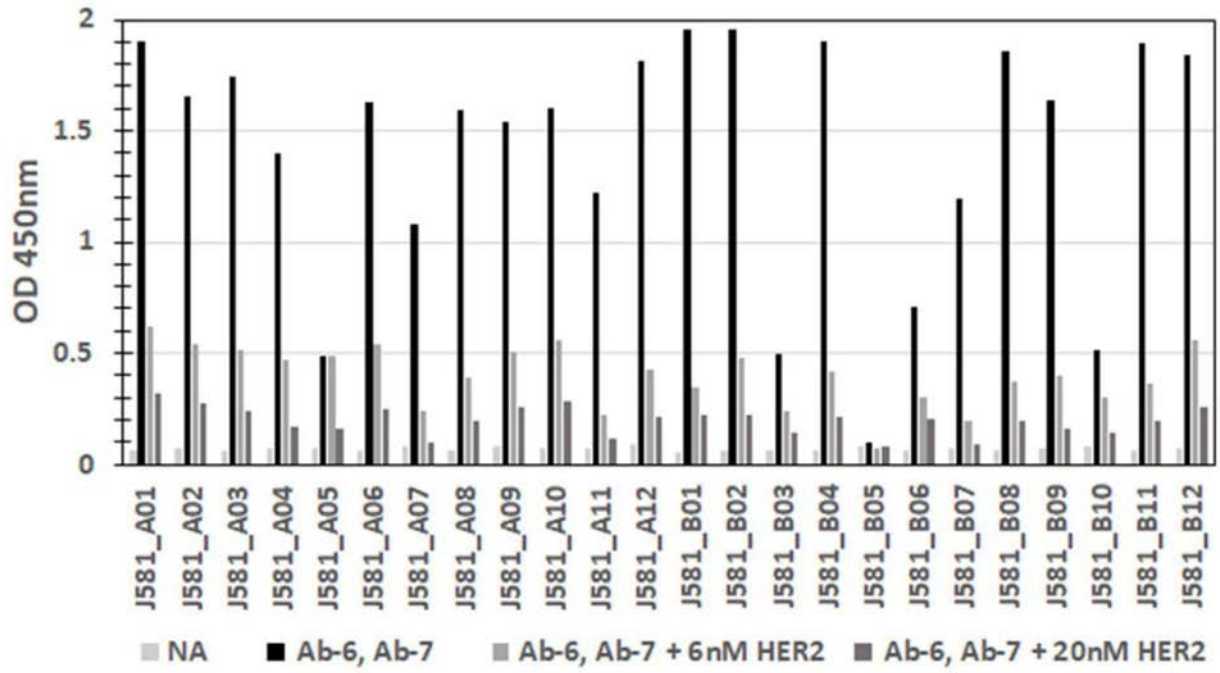


图2B

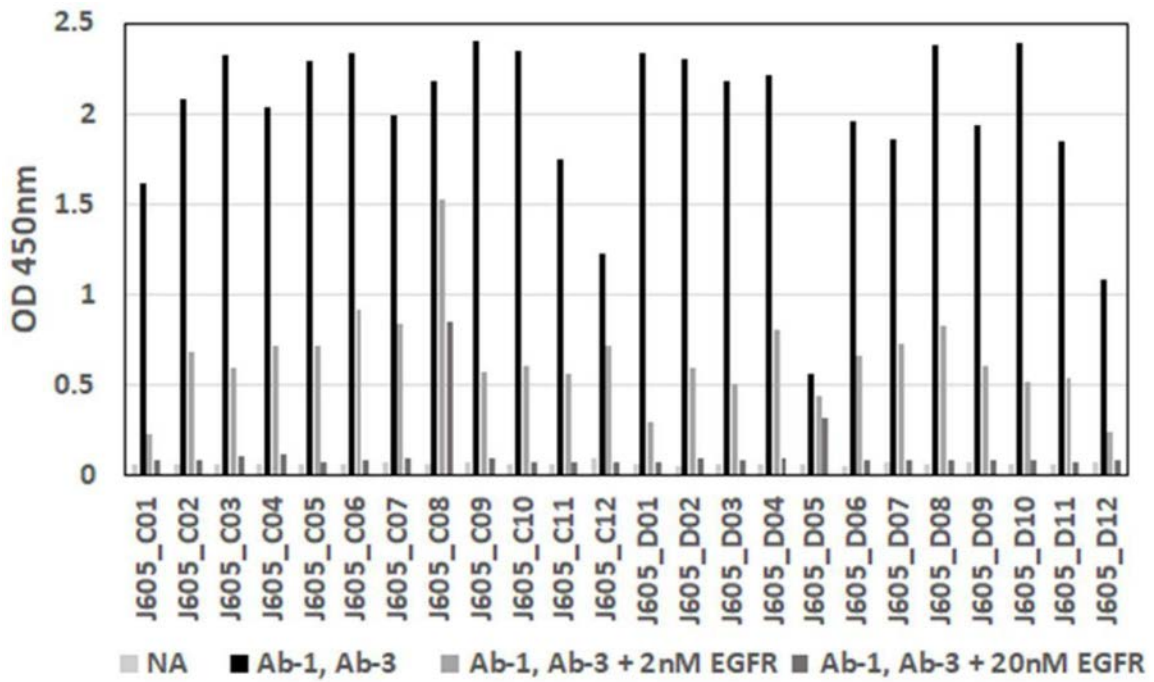


图2C

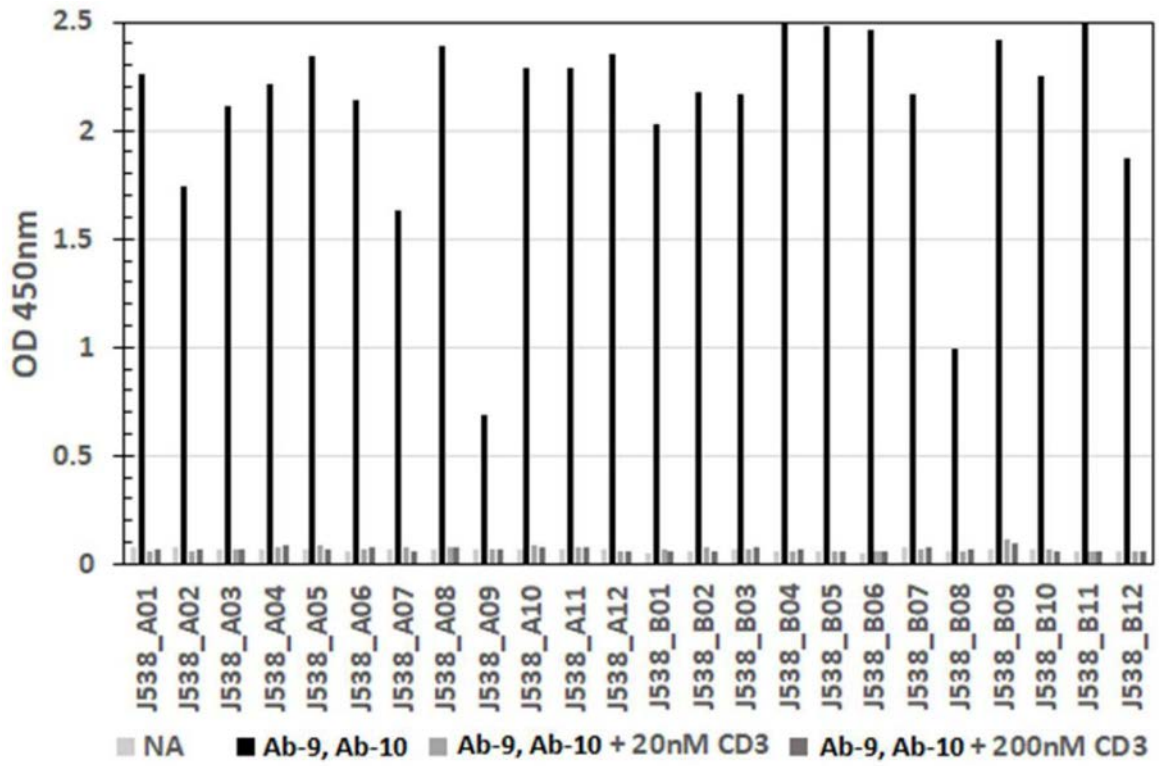


图2D

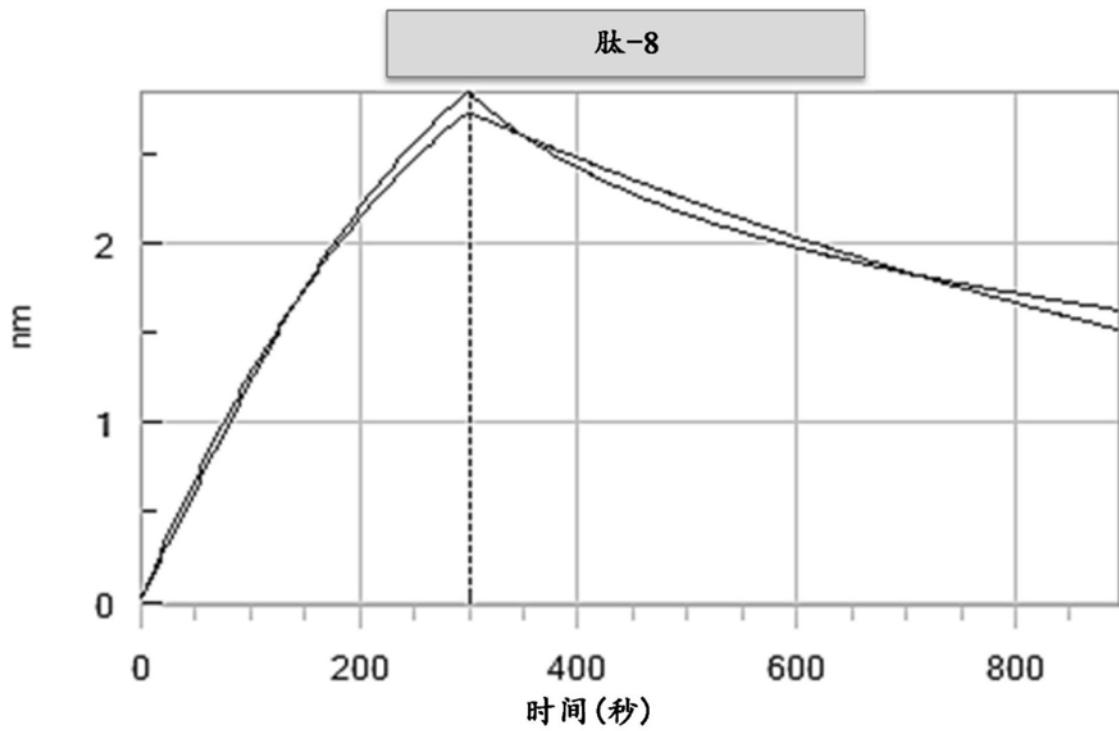


图3A

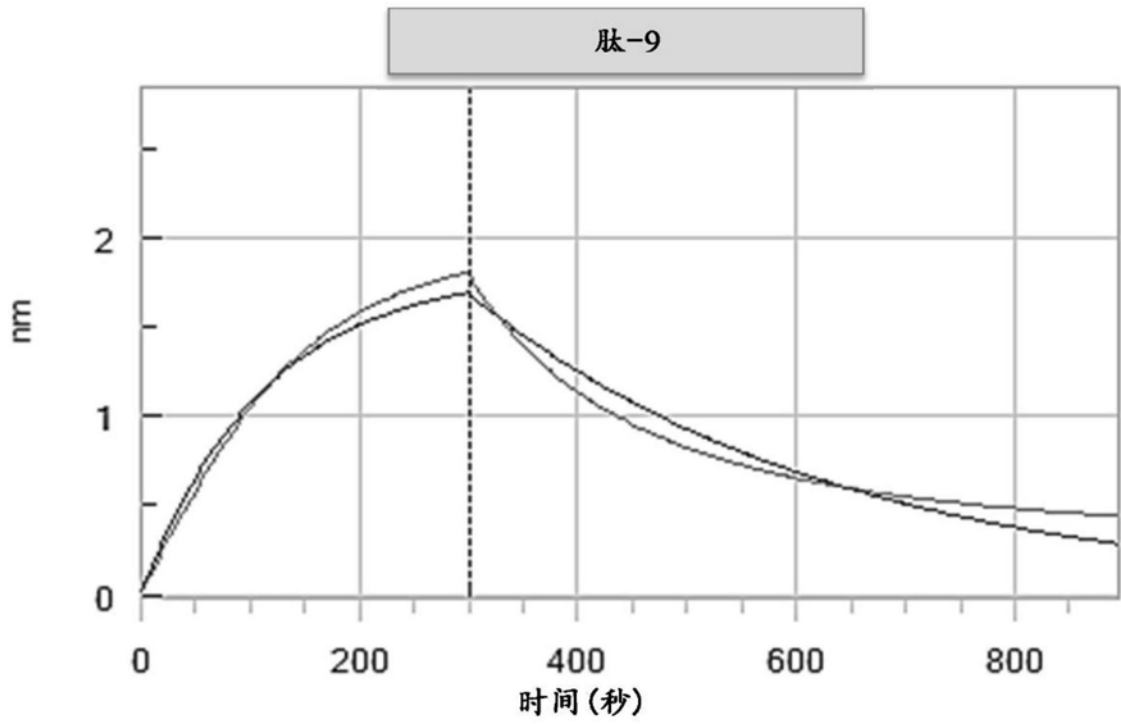


图3B

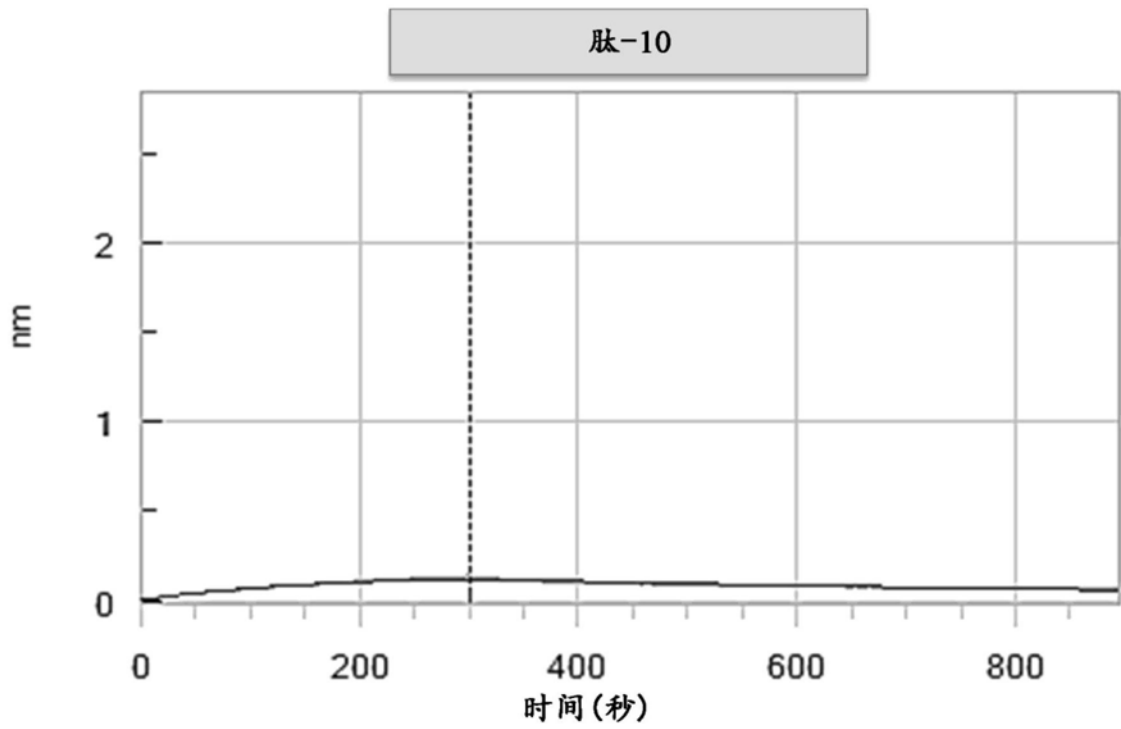


图3C

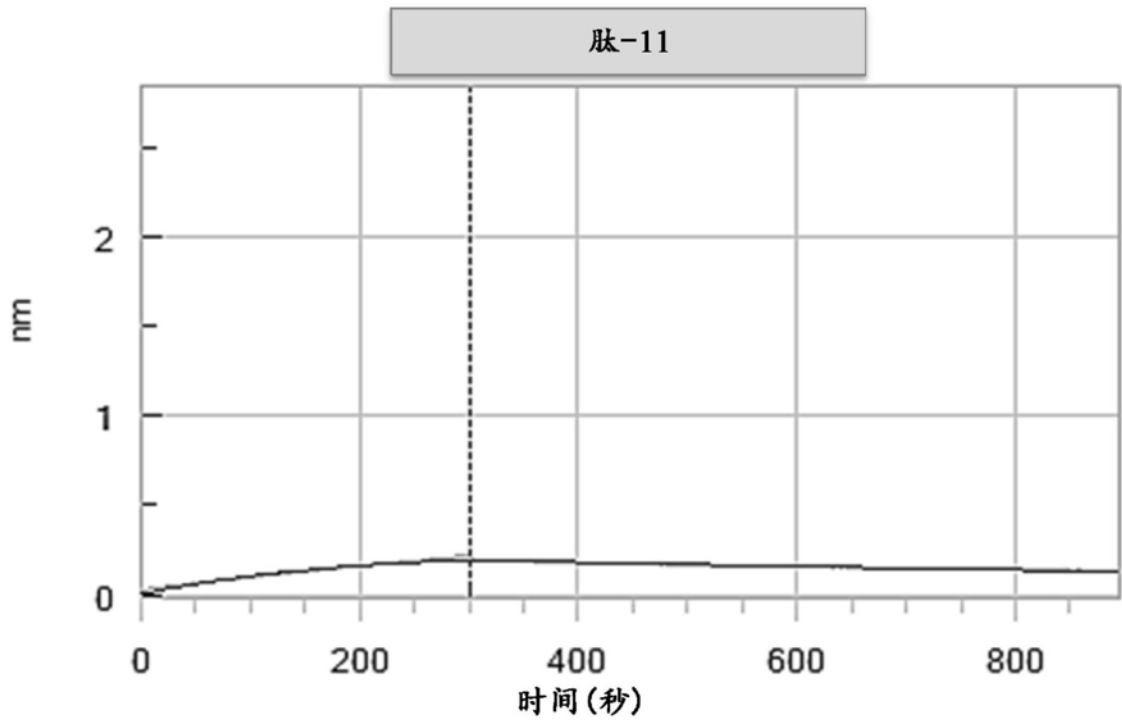


图3D

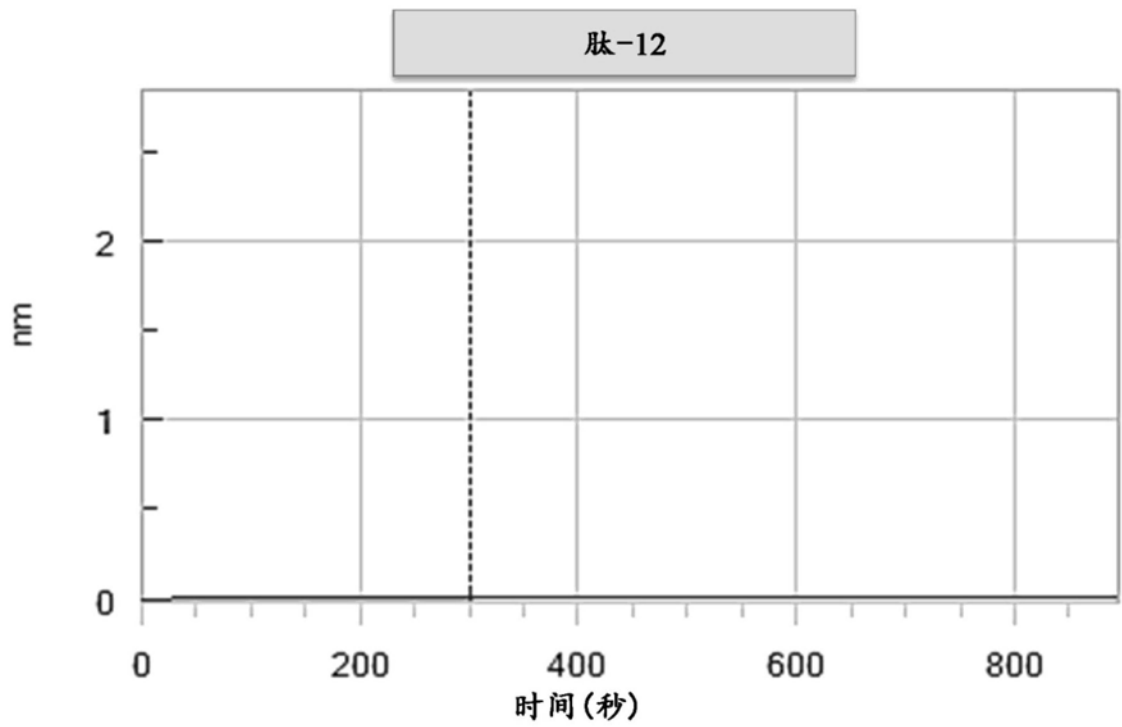


图3E

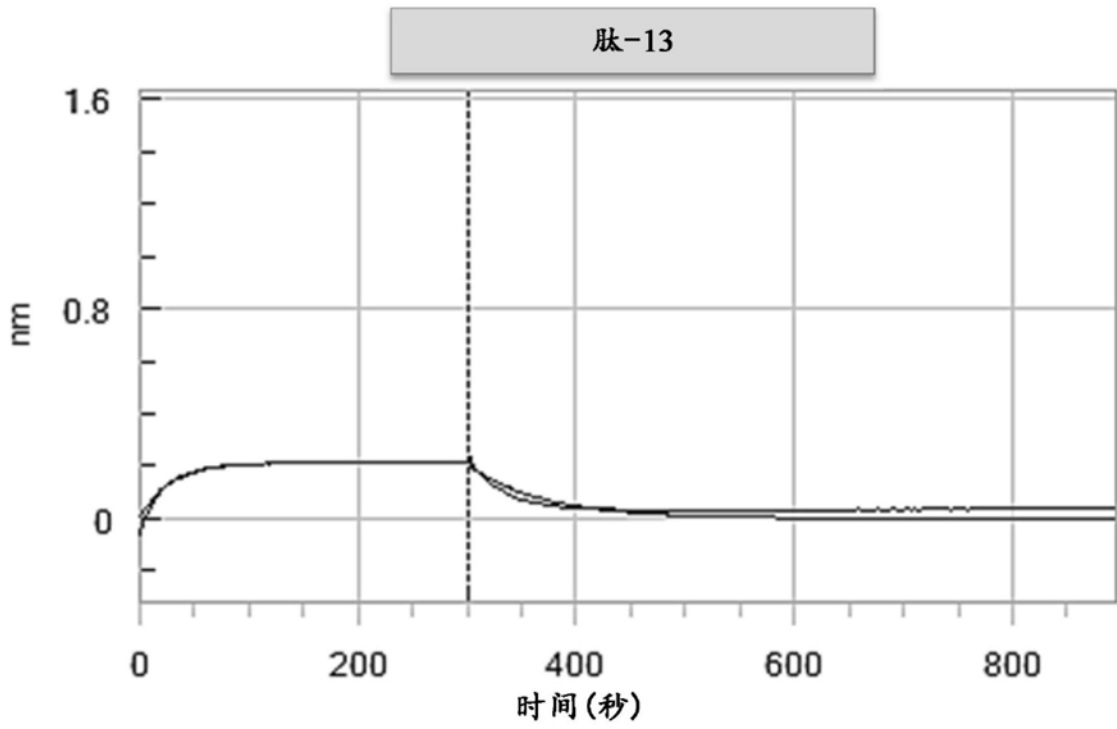


图3F

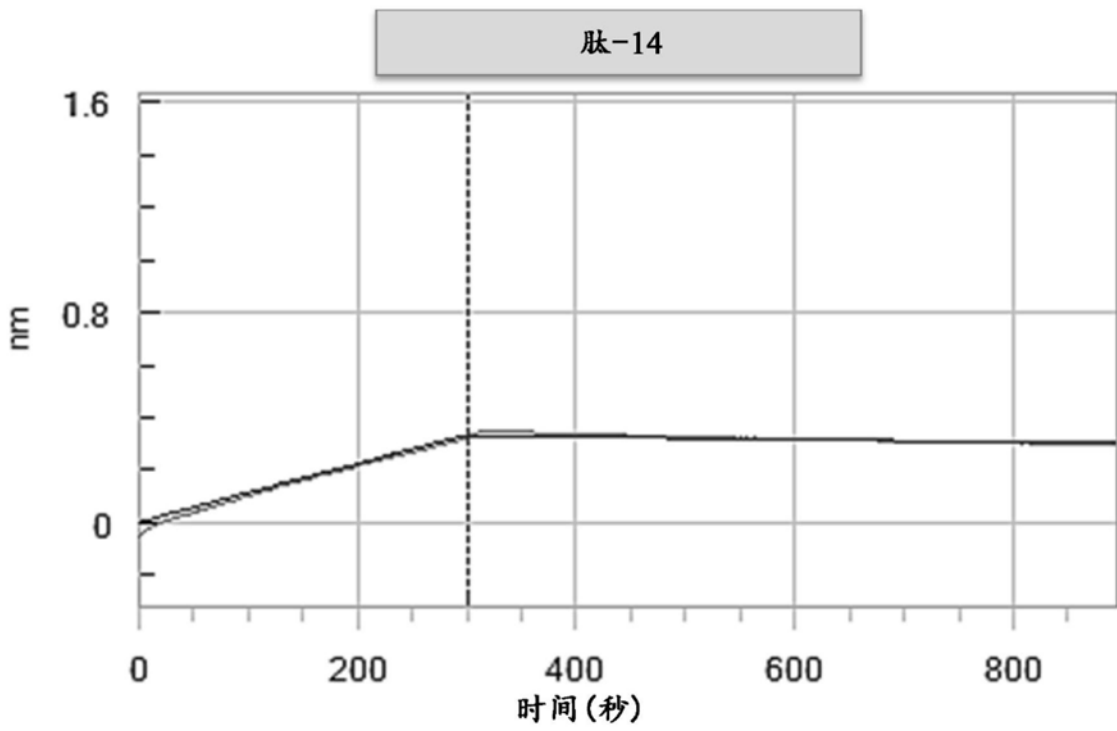


图3G

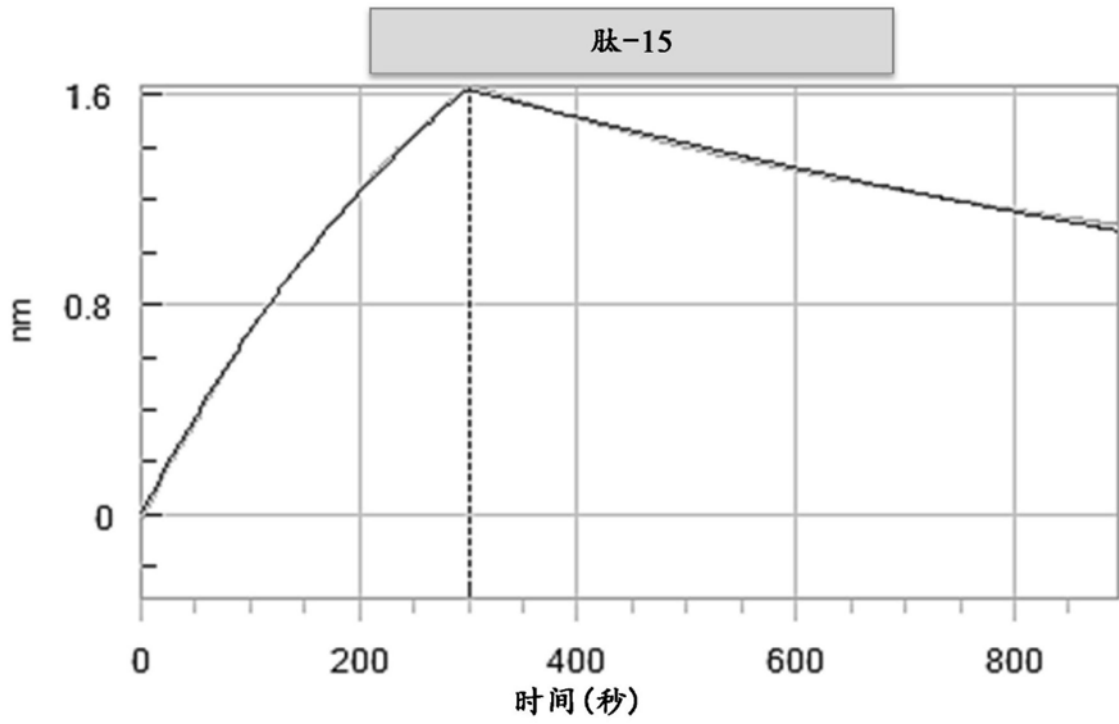


图3H

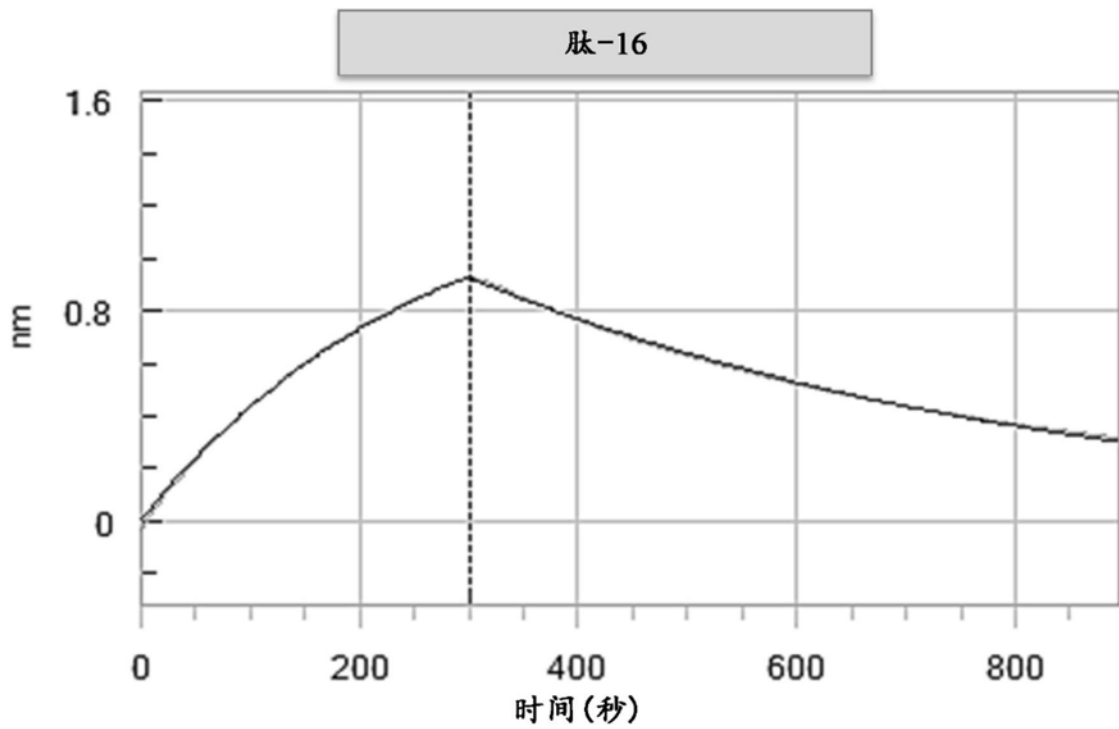


图3I

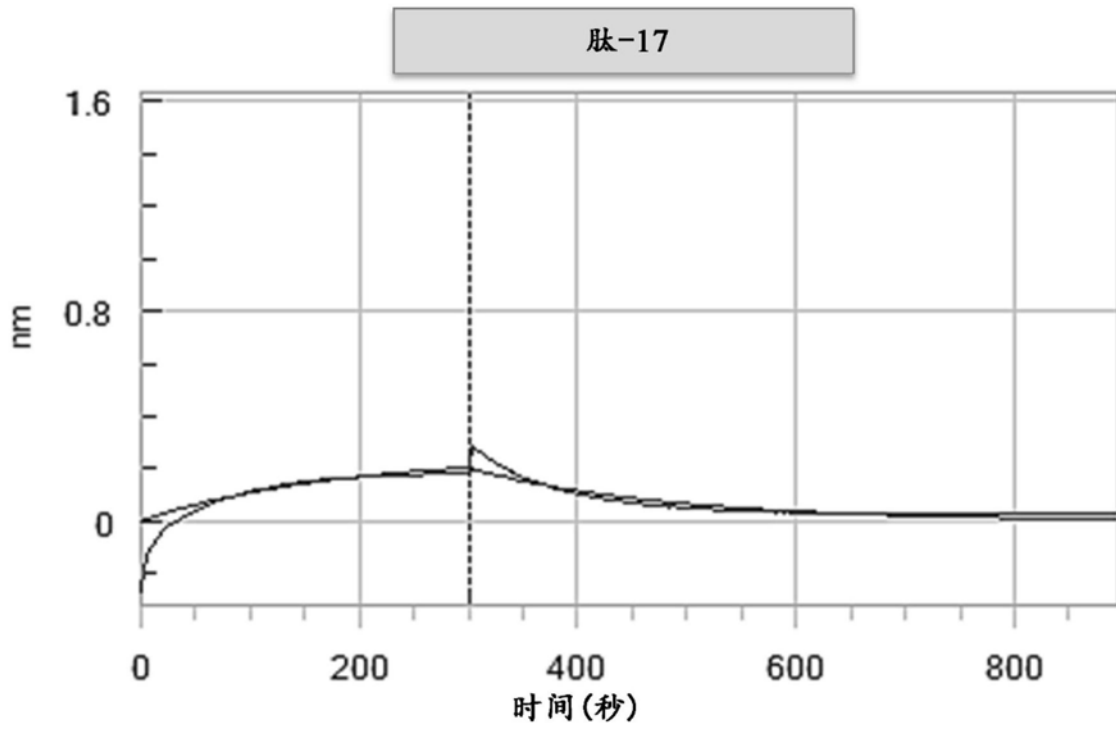


图3J

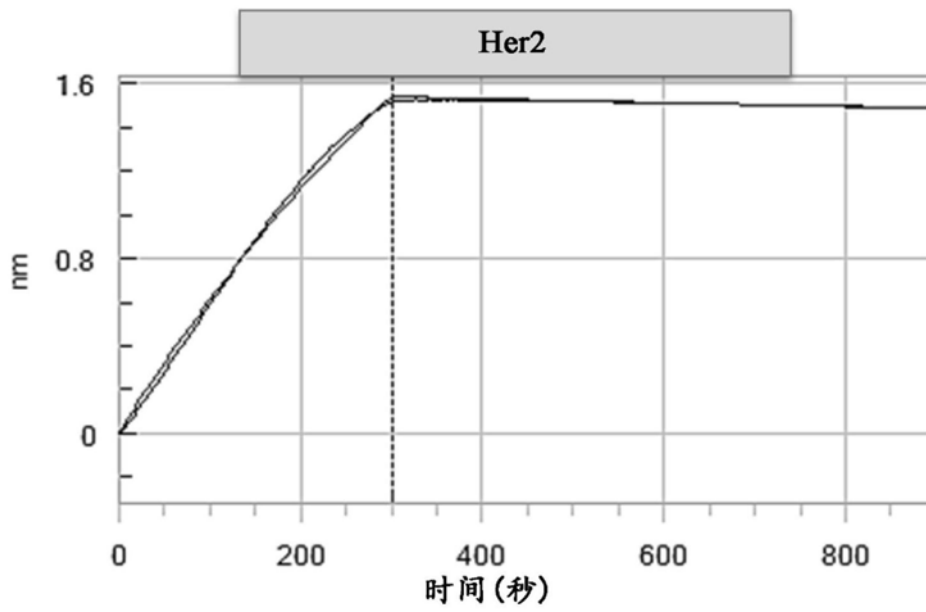


图3K

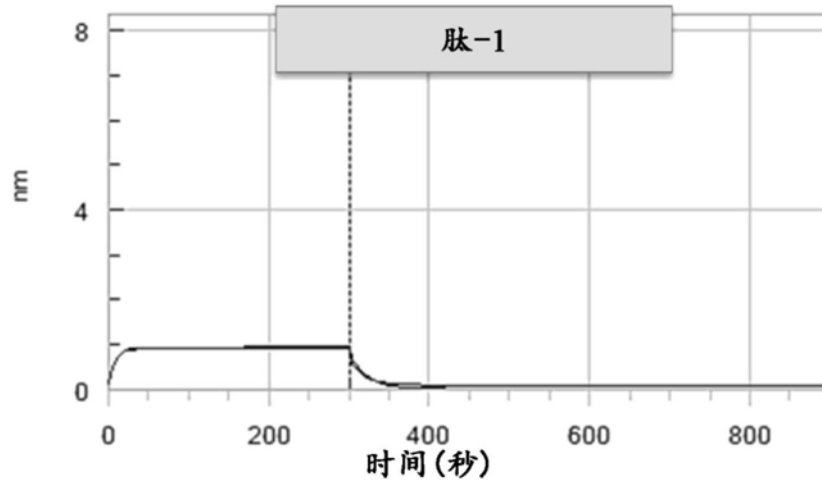


图4A

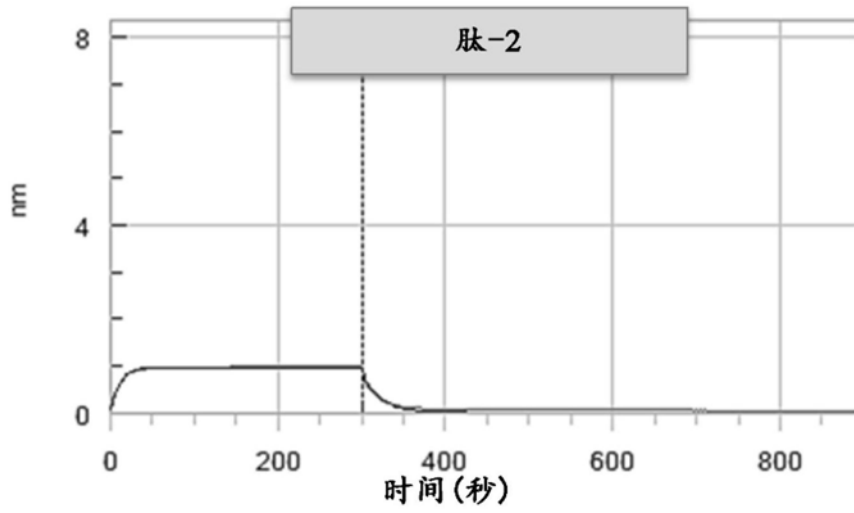


图4B

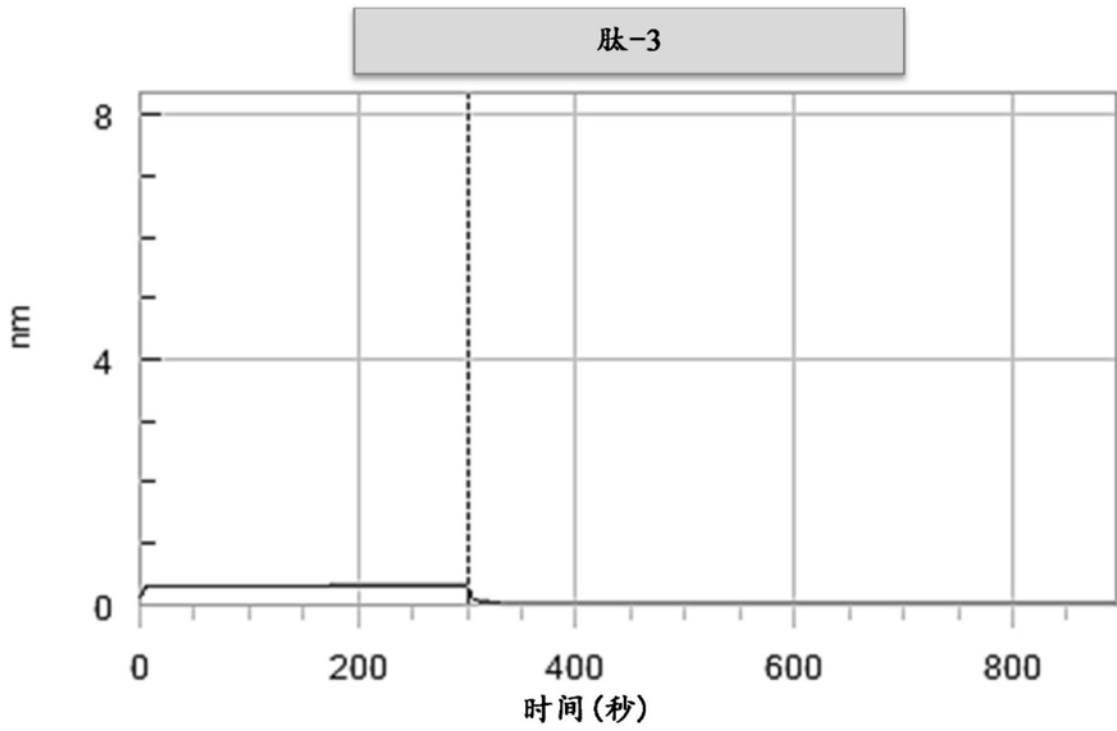


图4C

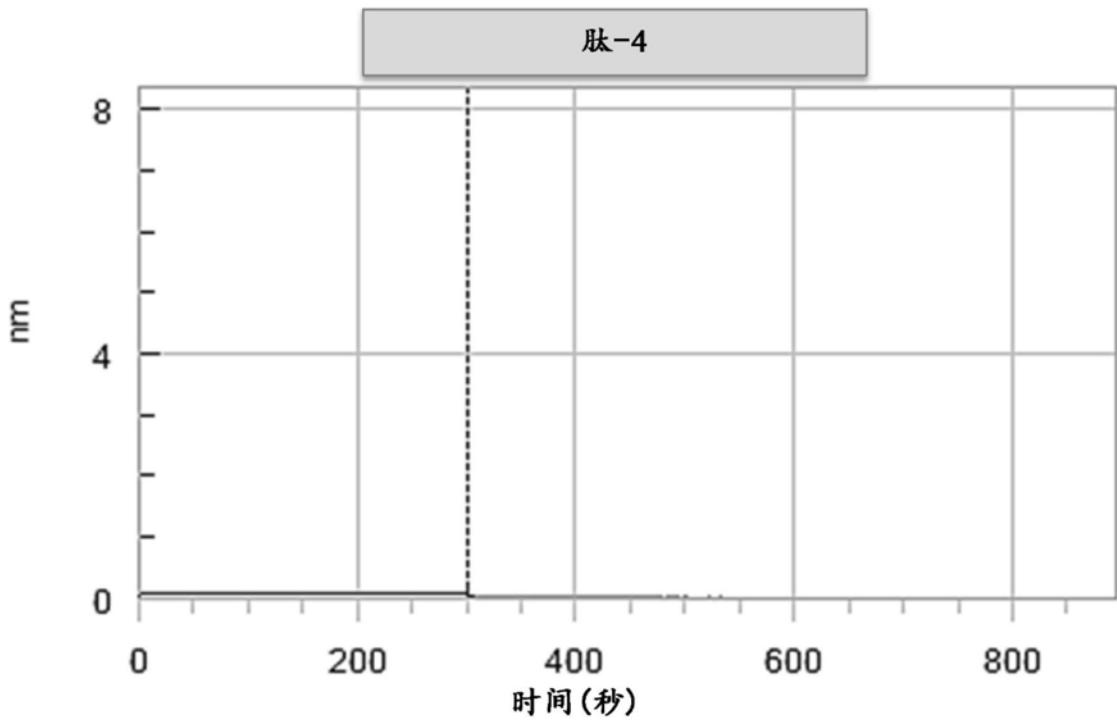


图4D

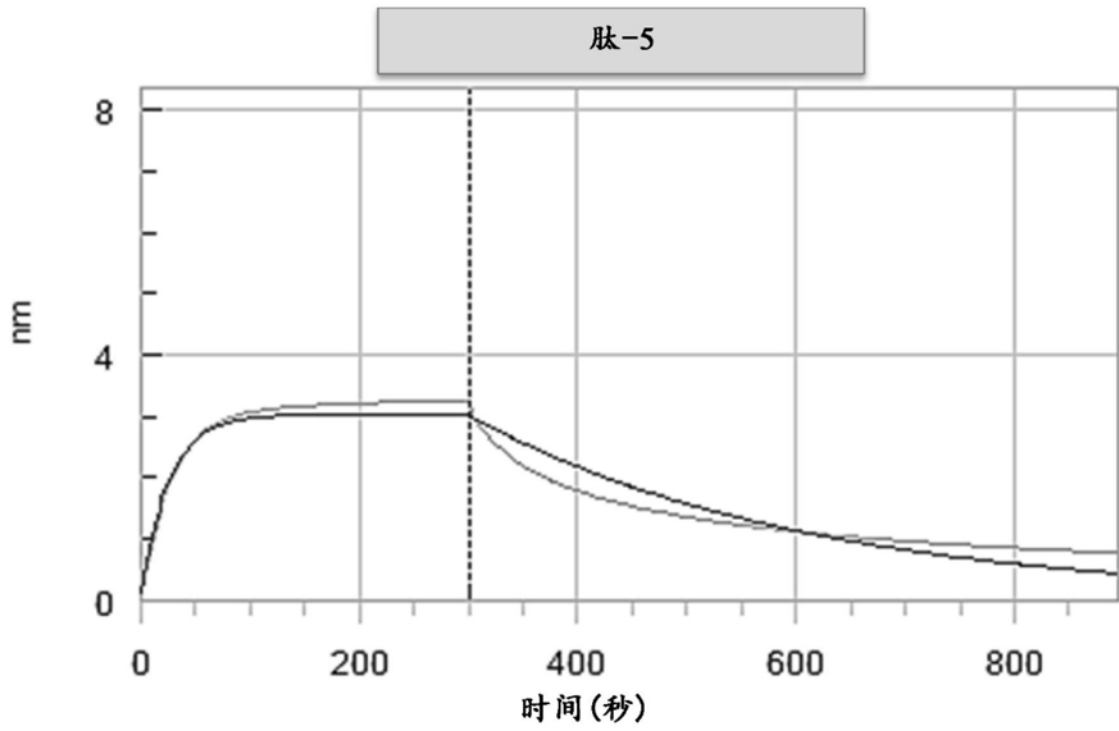


图4E

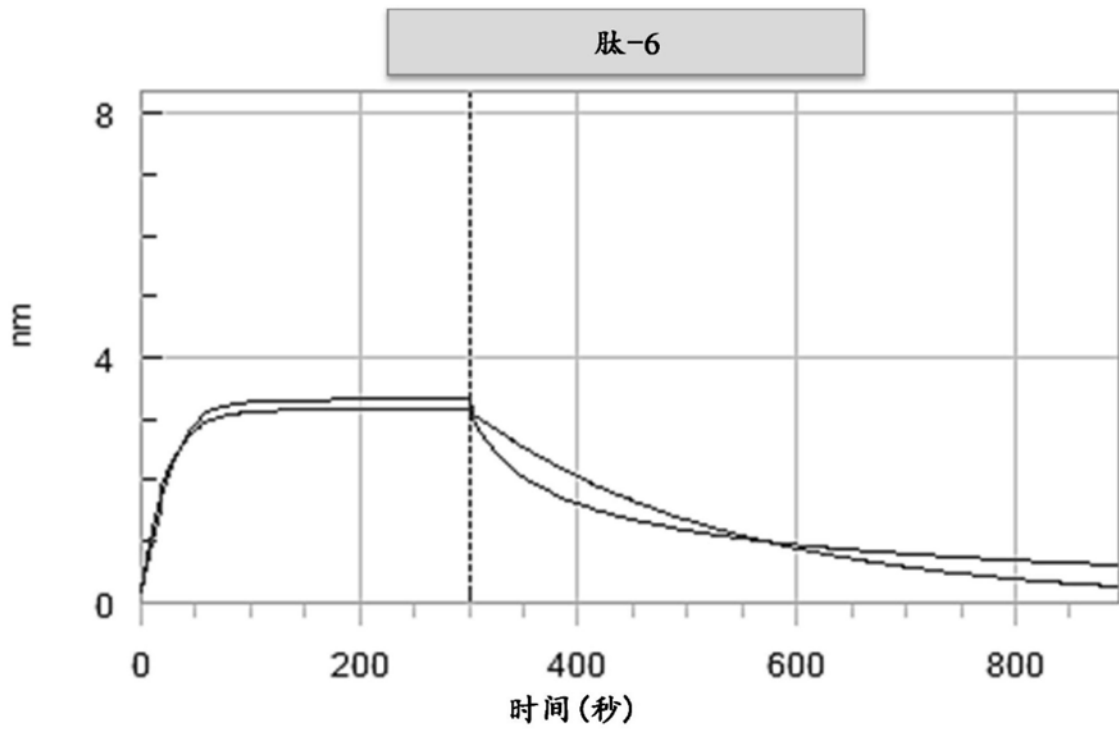


图4F

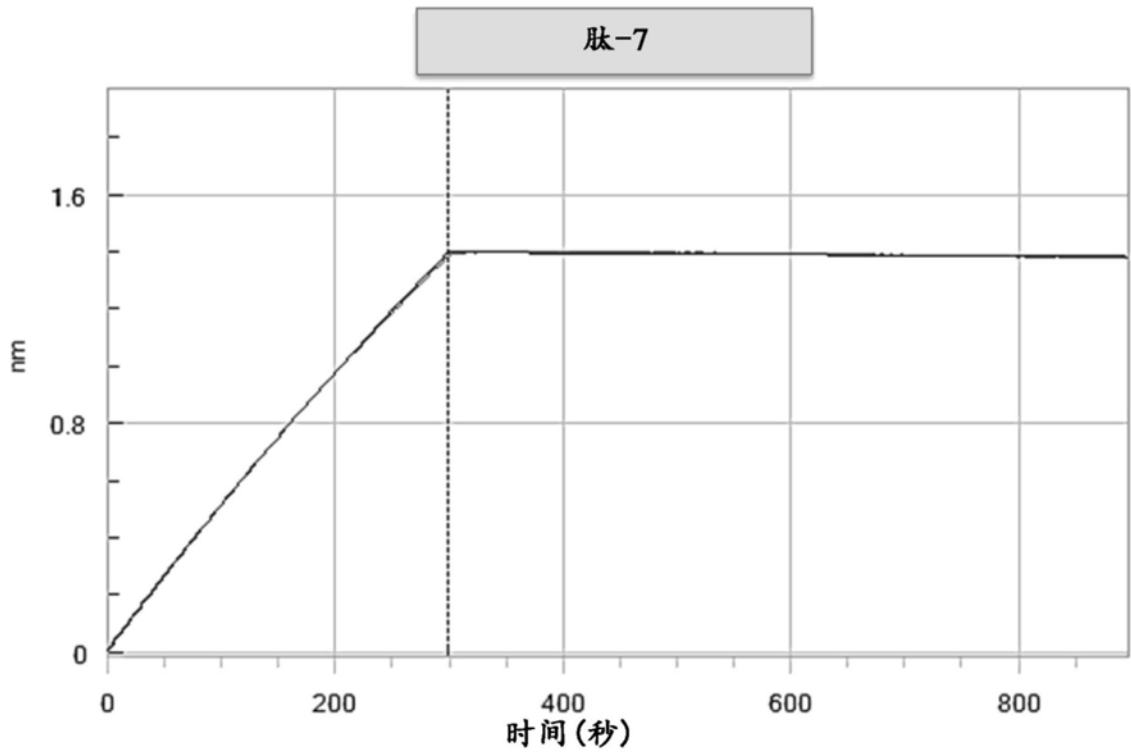


图4G

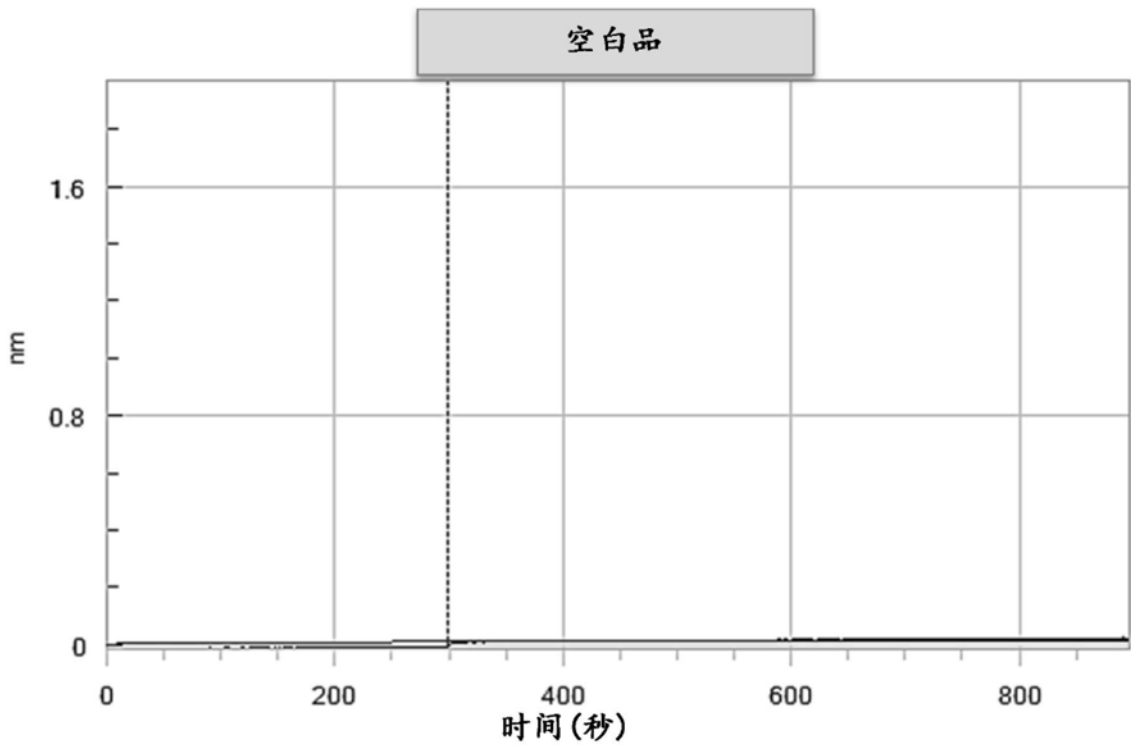


图4H

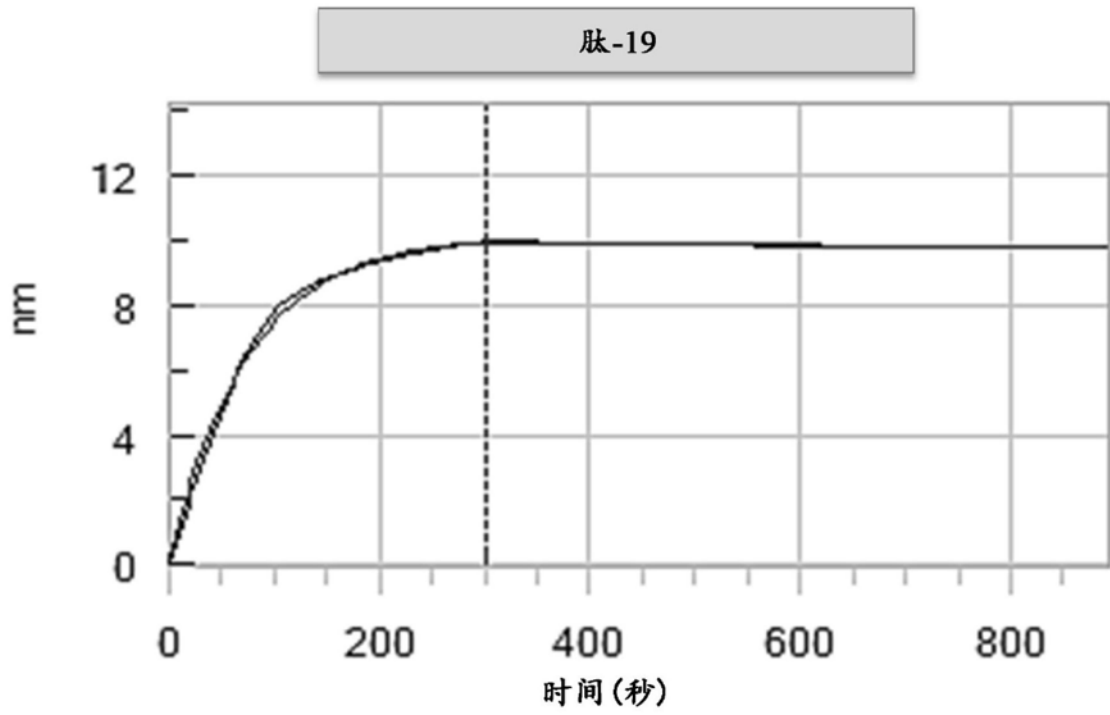


图5A

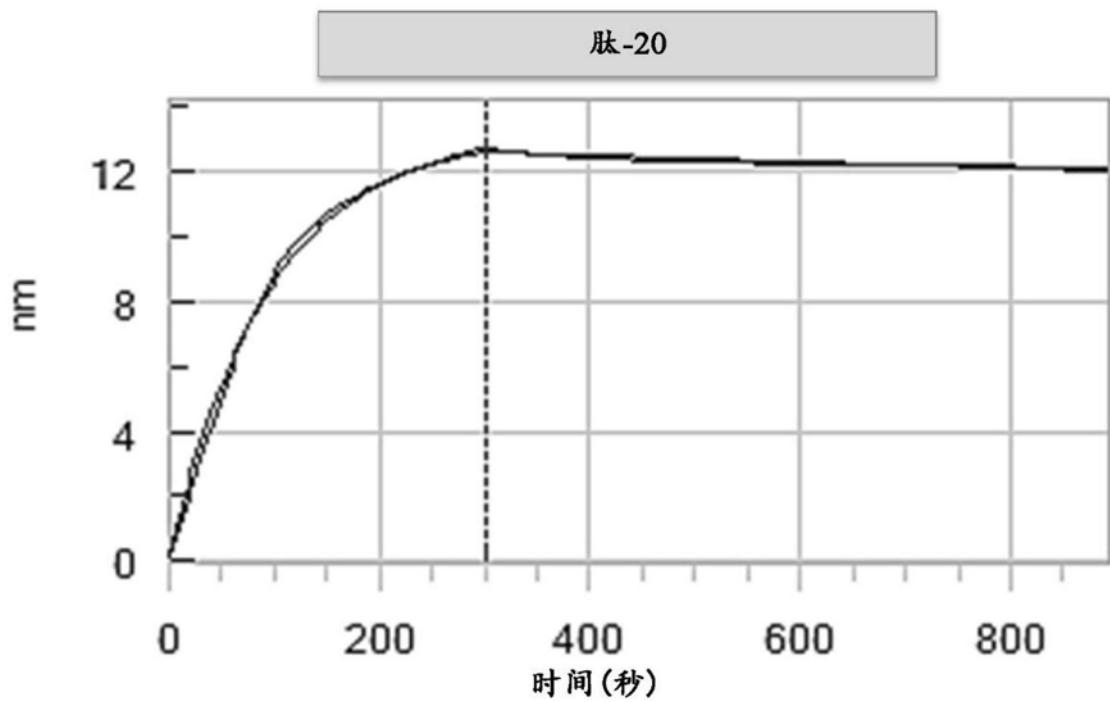


图5B

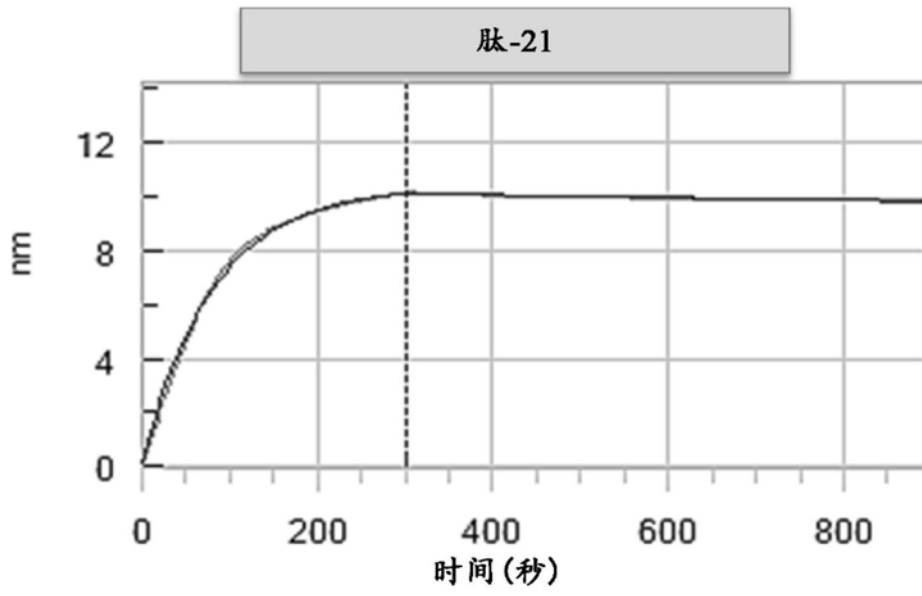


图5C

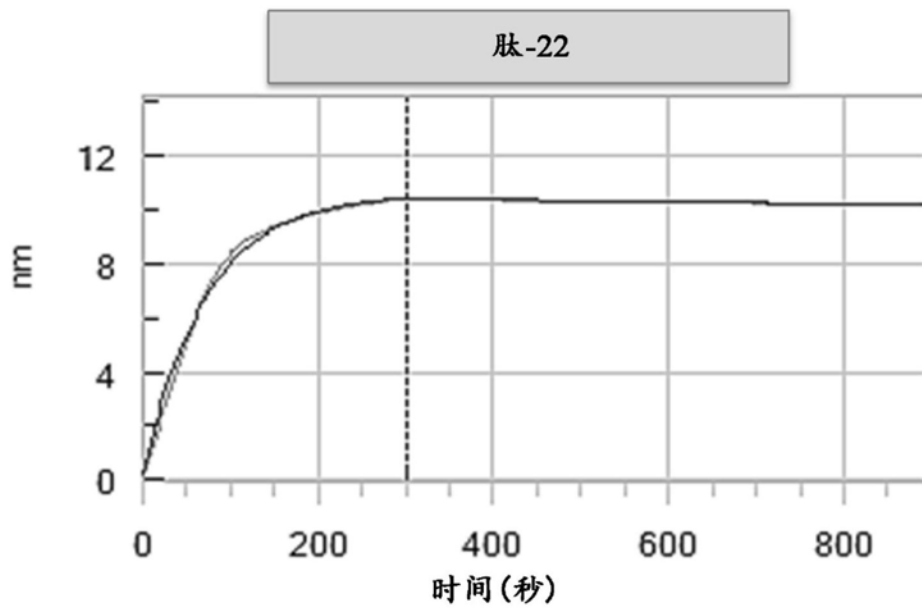


图5D

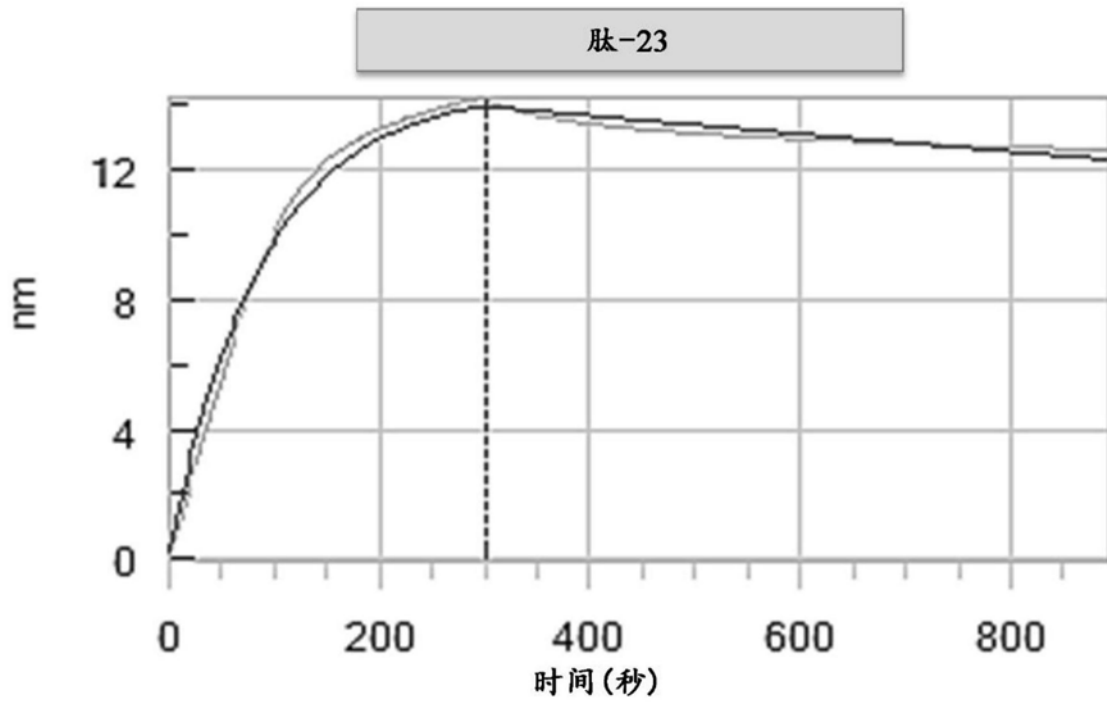


图5E

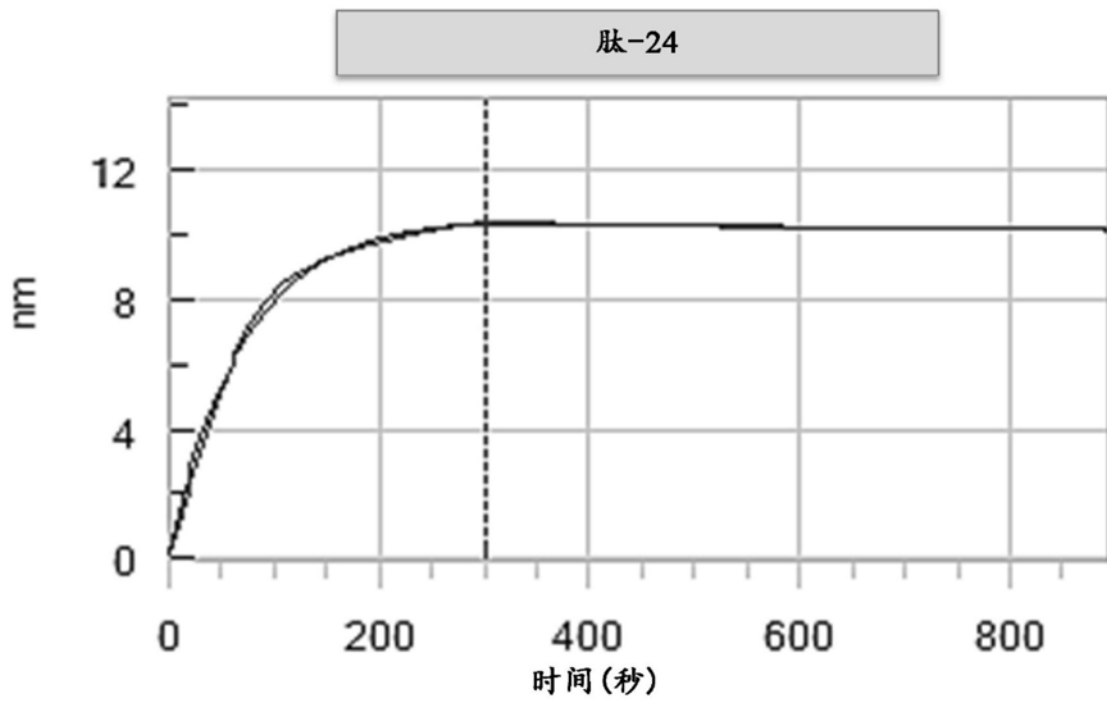


图5F

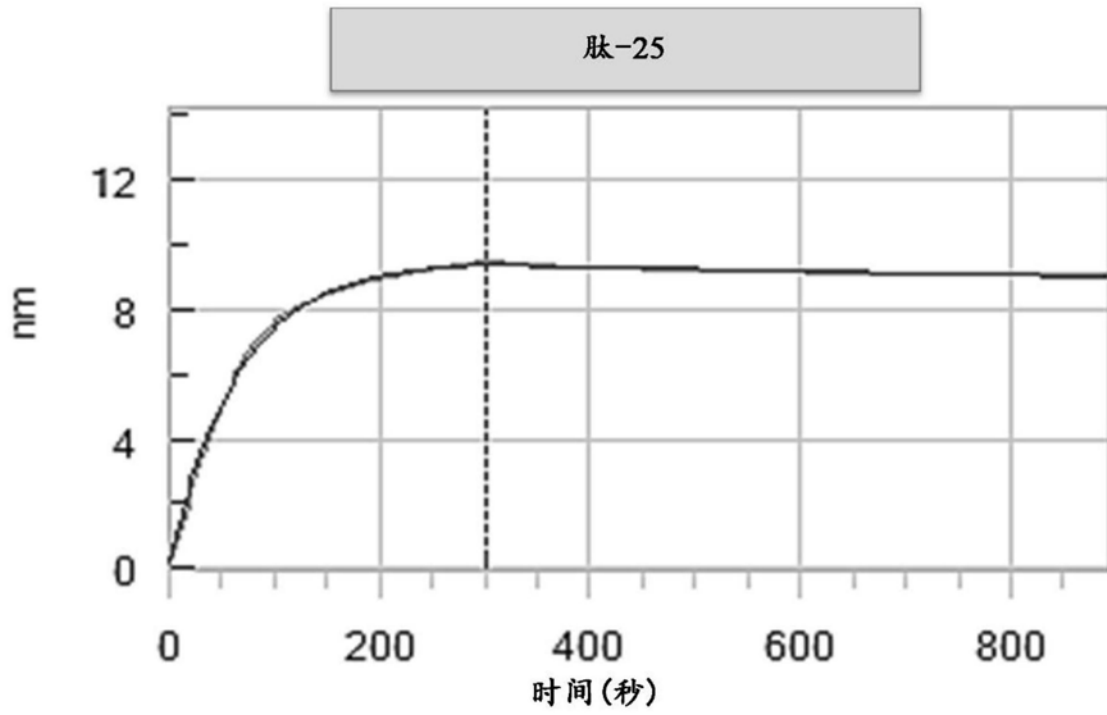


图5G

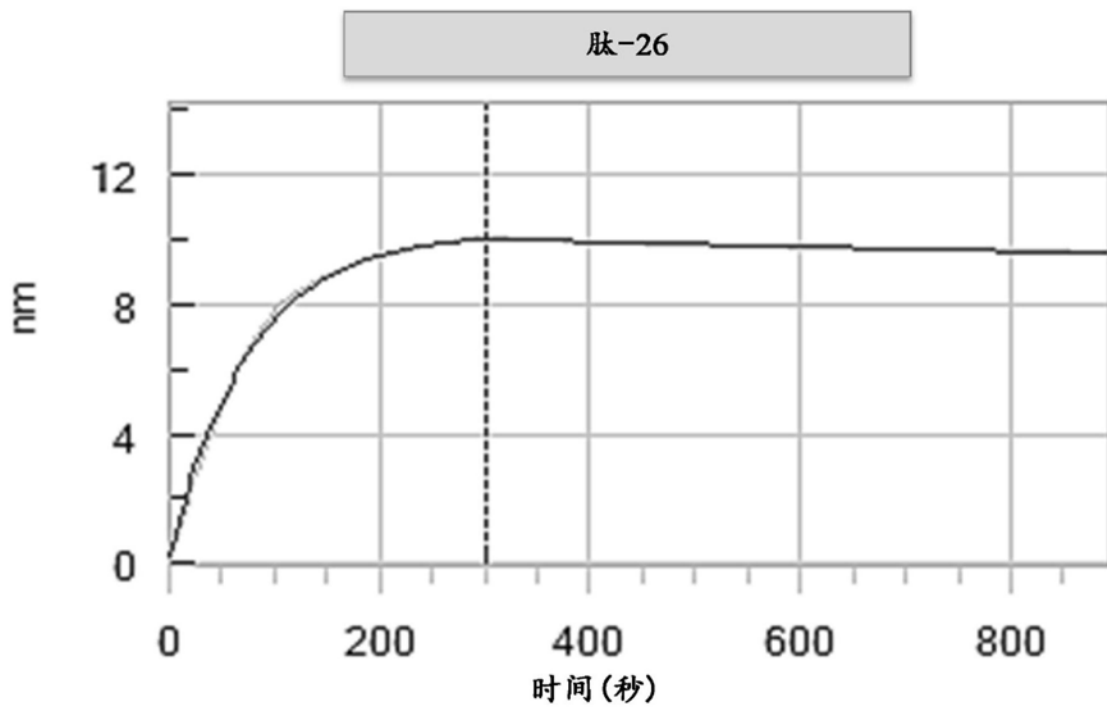


图5H

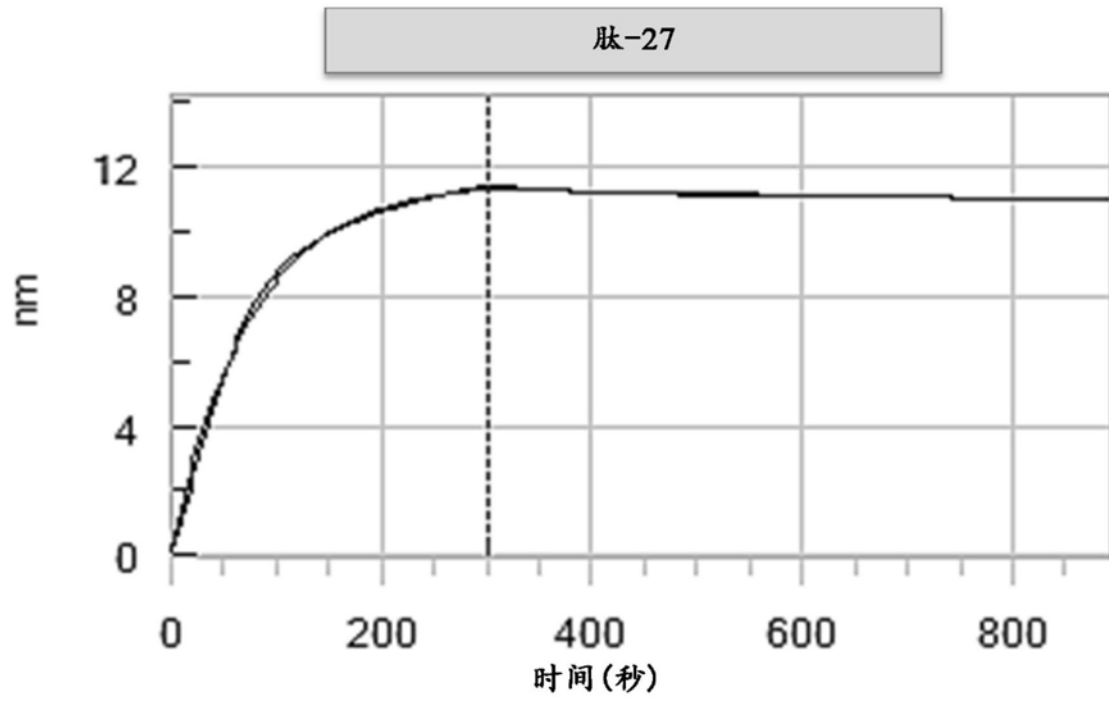


图5I

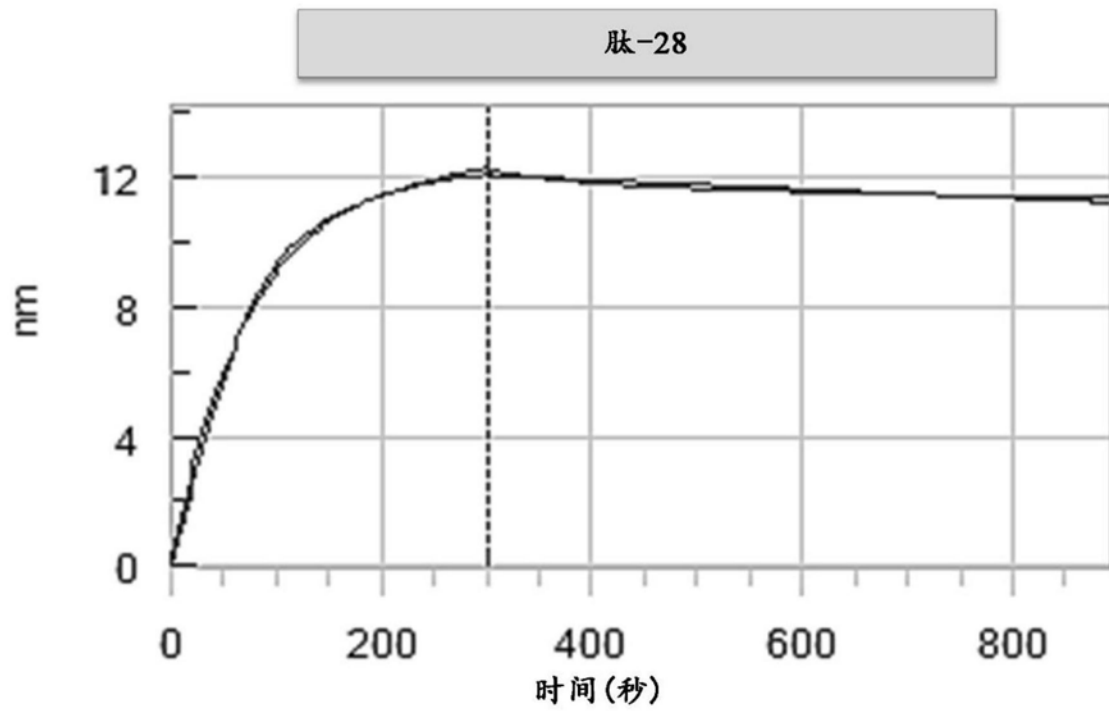


图5J

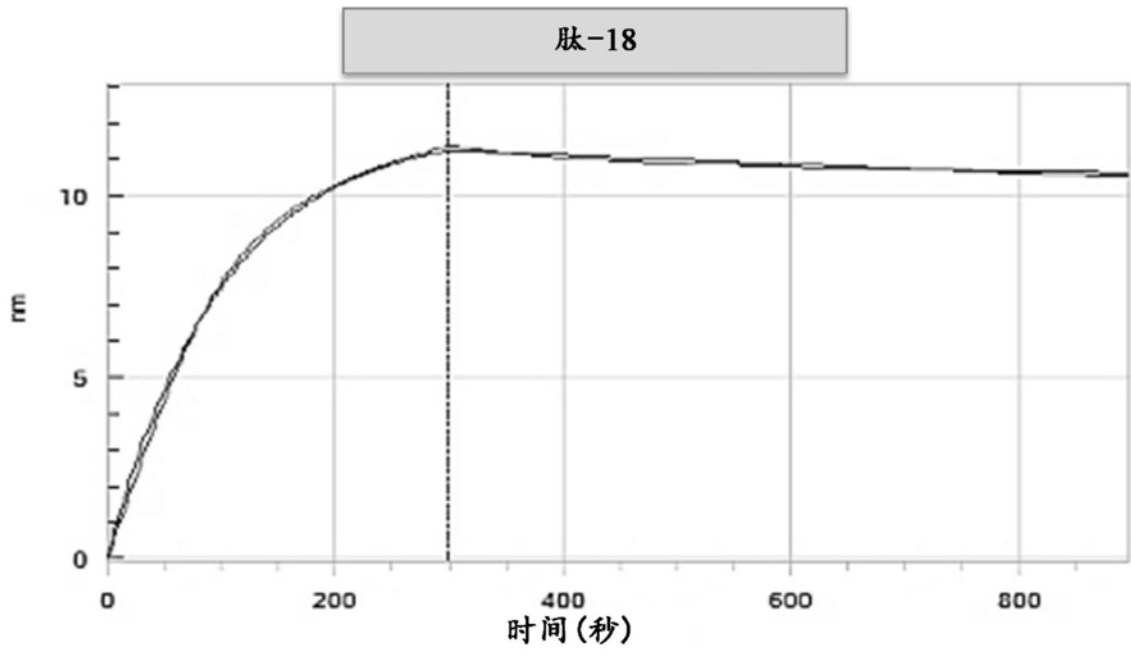


图5K

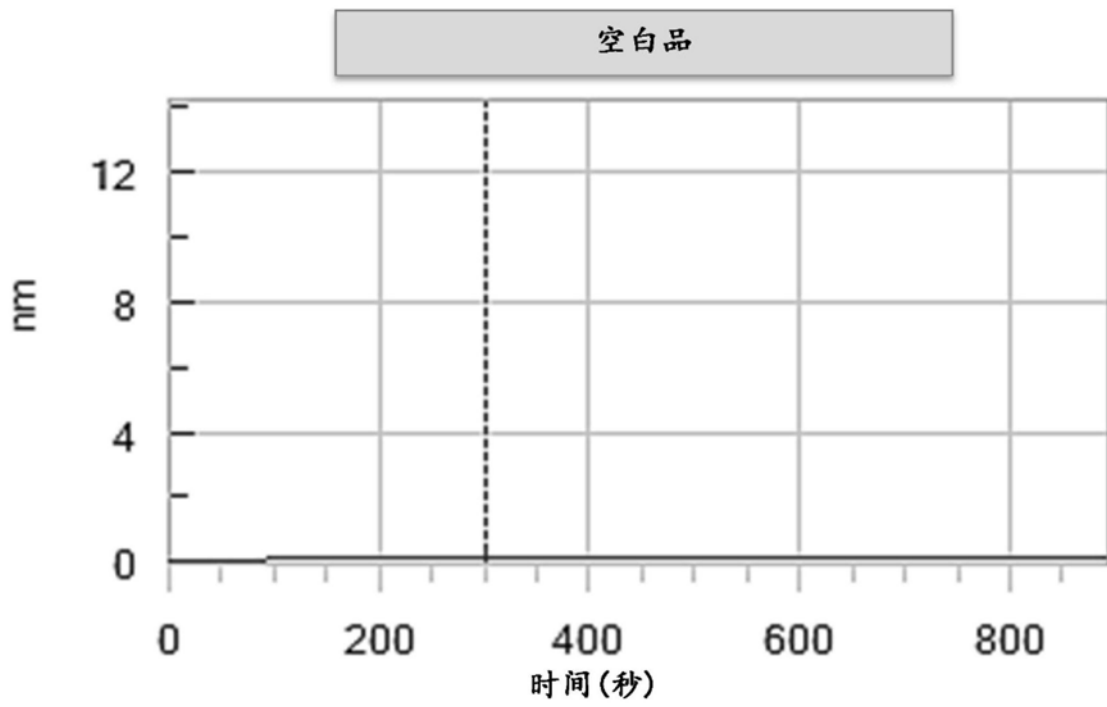


图5L

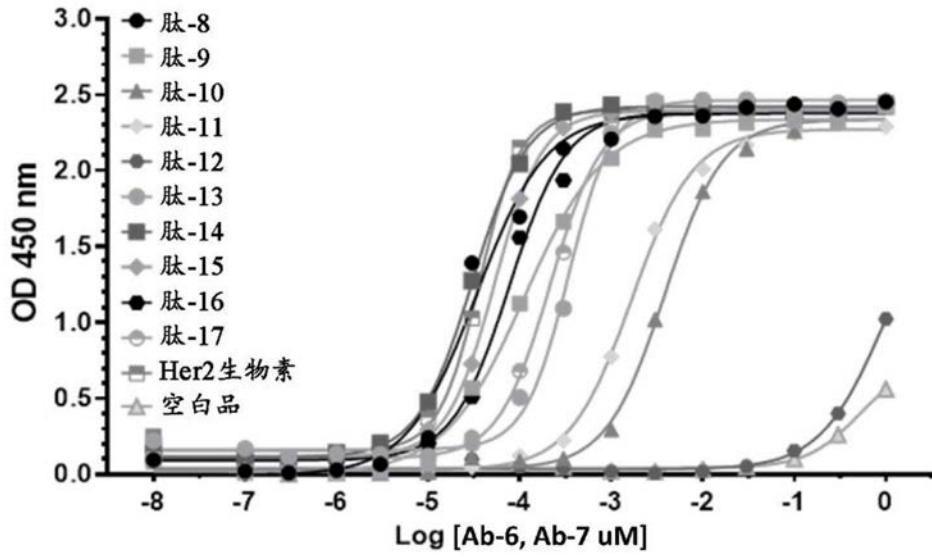


图6A

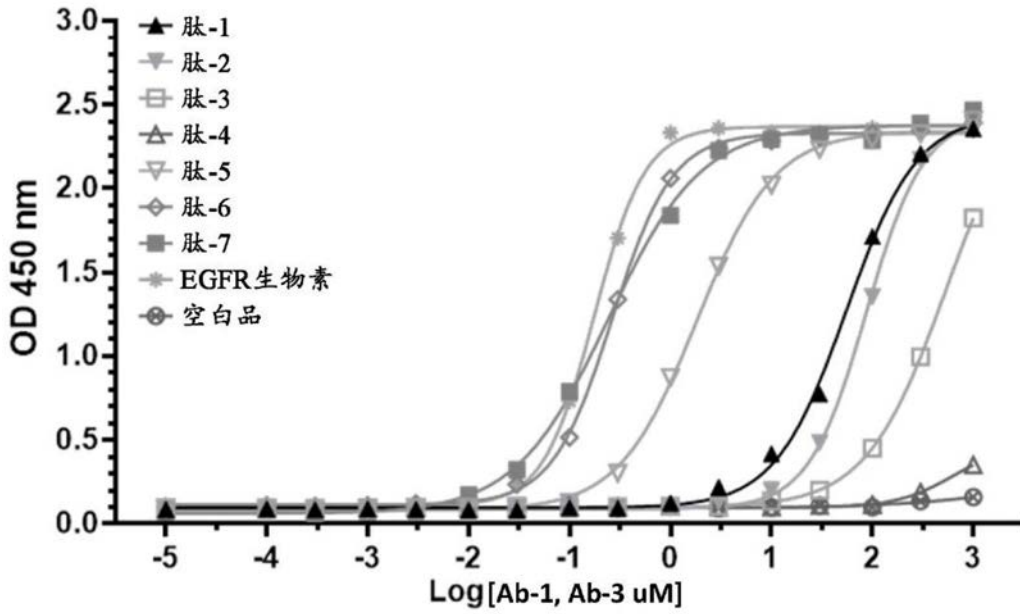


图6B

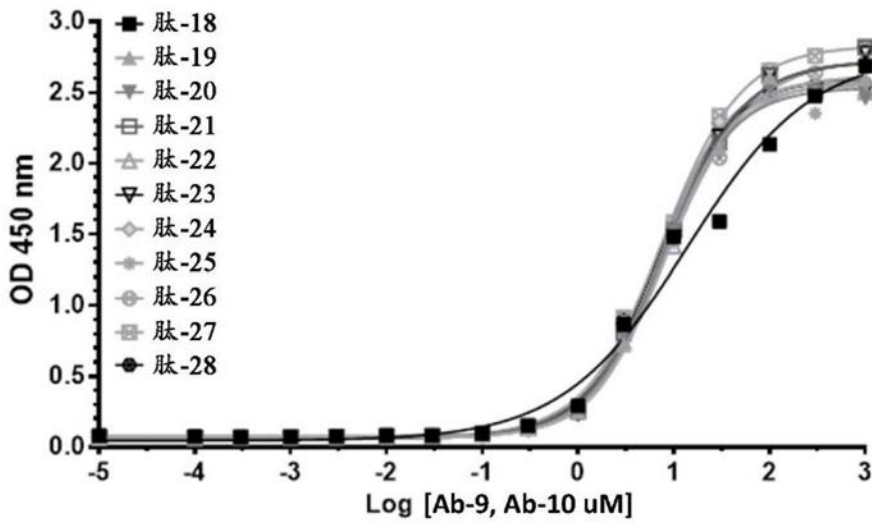


图6C

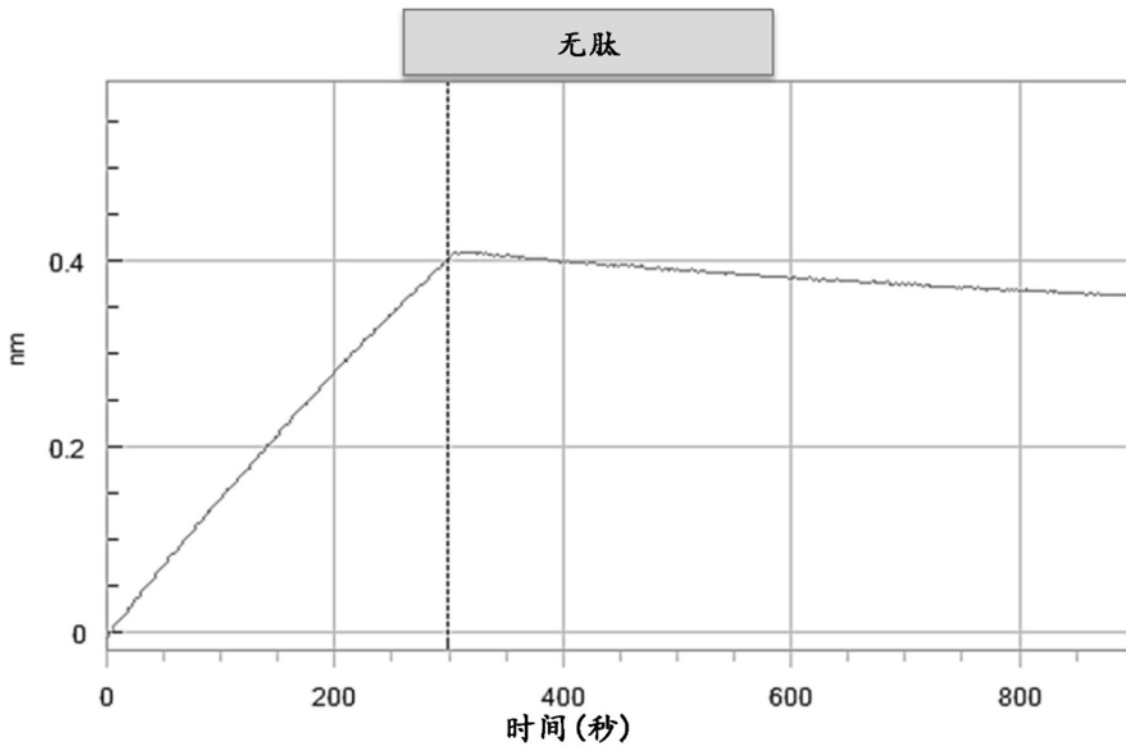


图7A

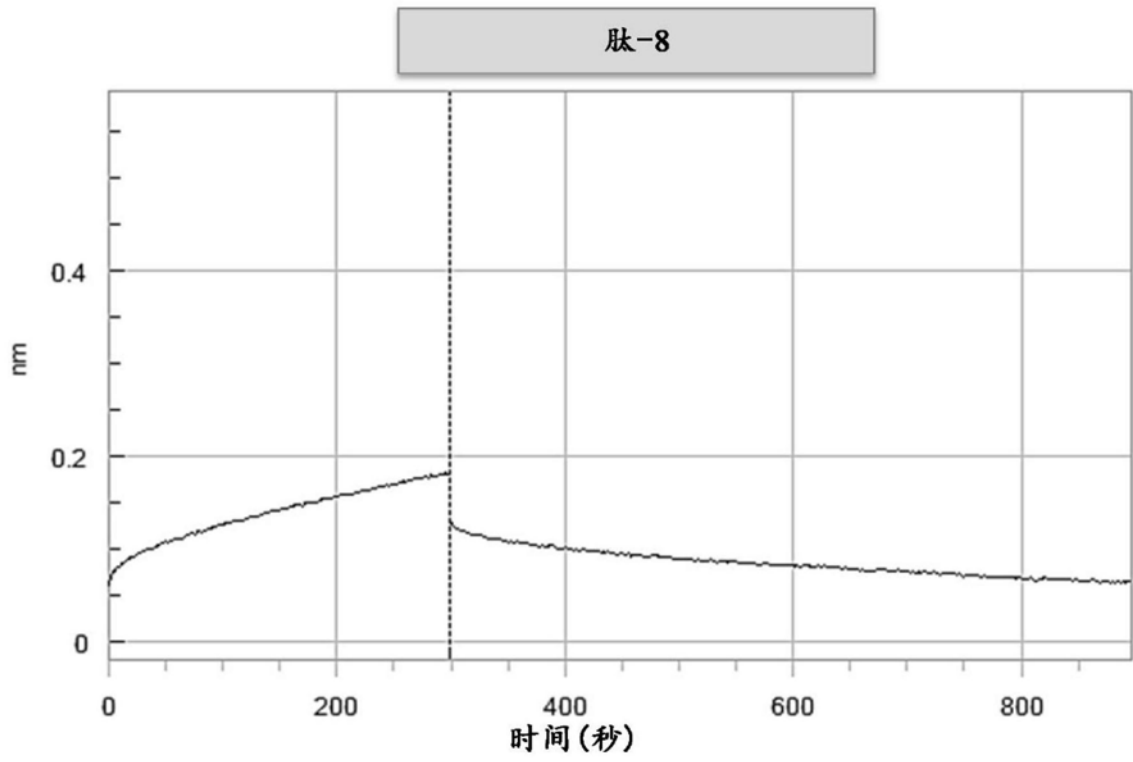


图7B

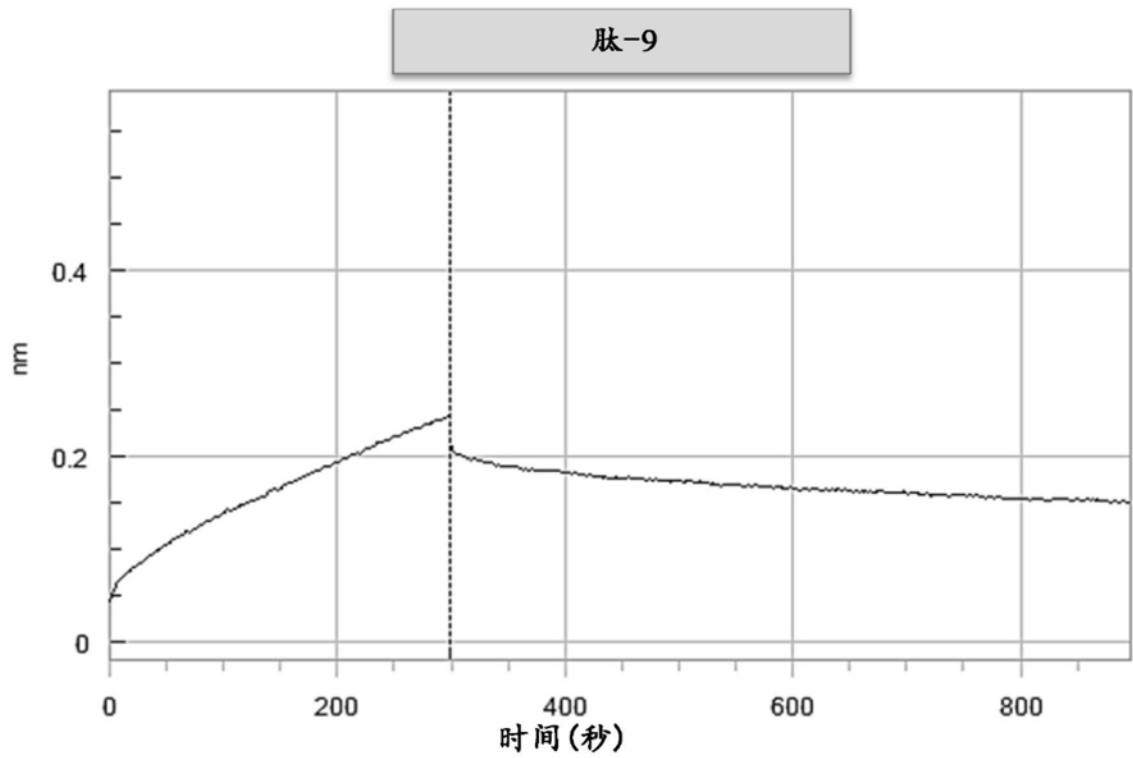


图7C

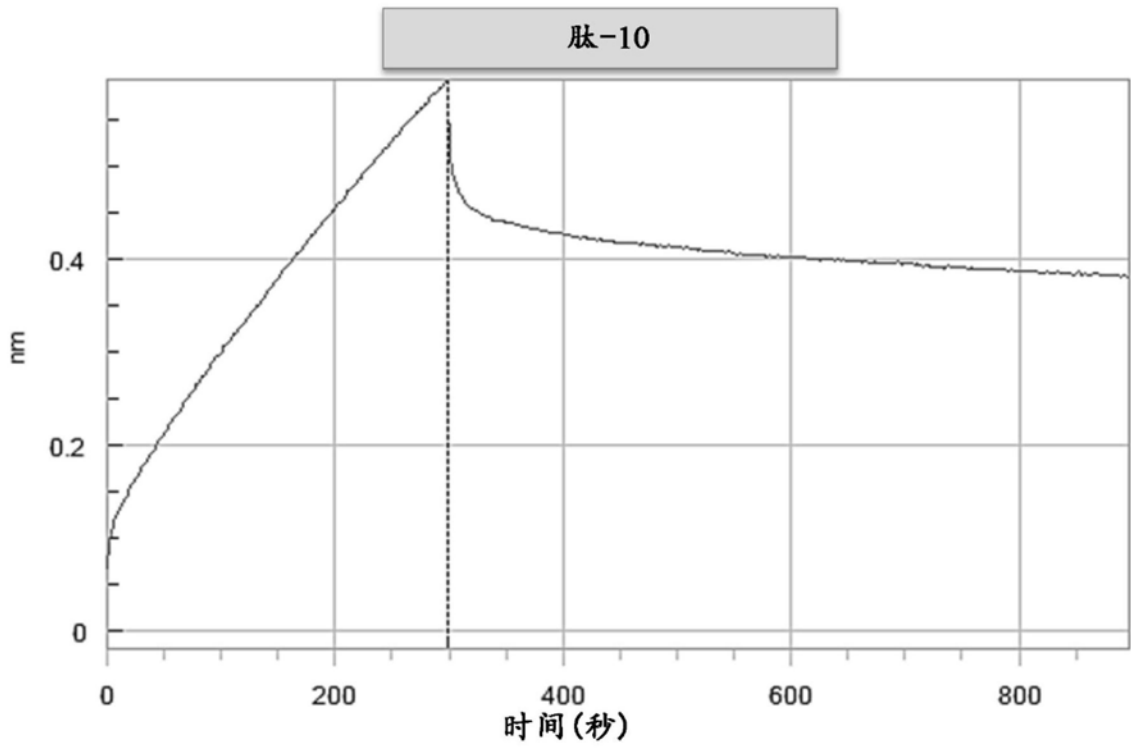


图7D

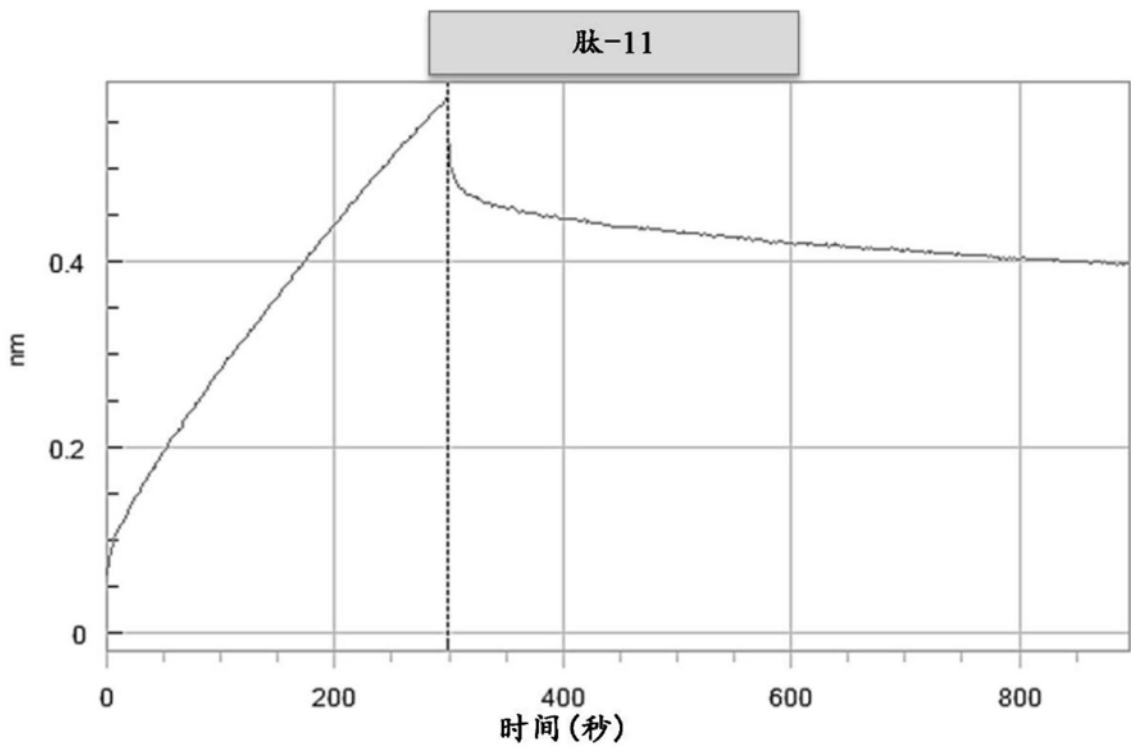


图7E

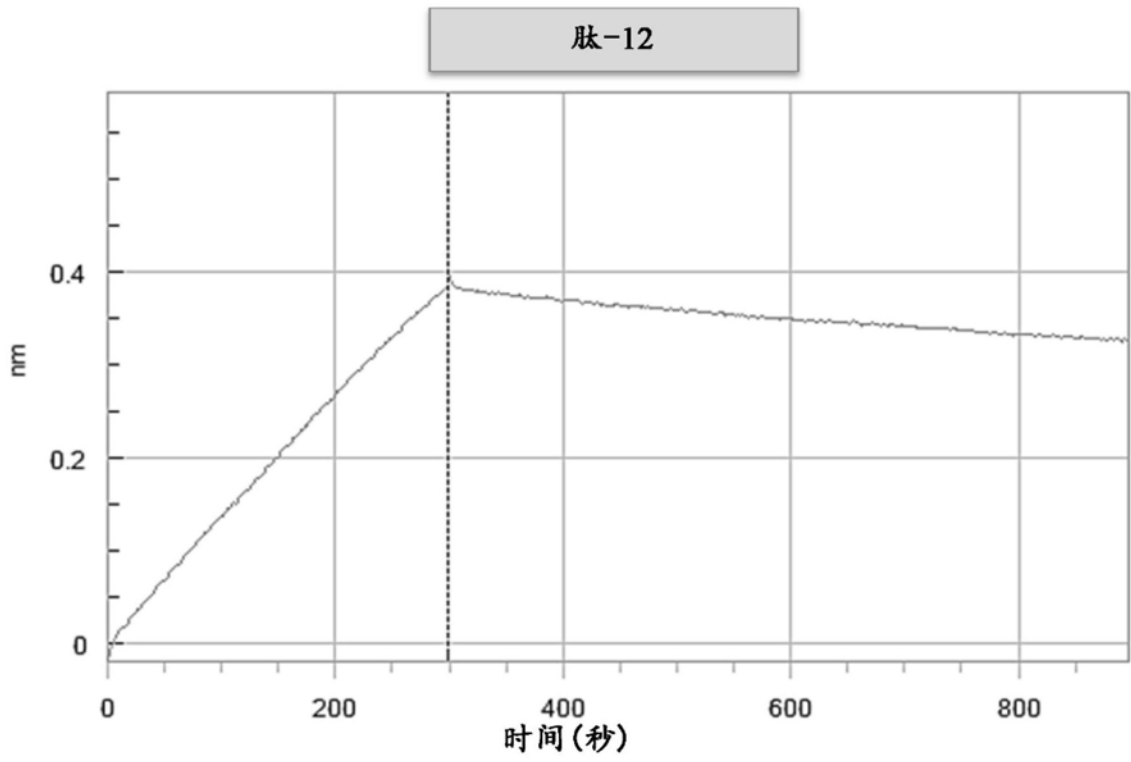


图7F

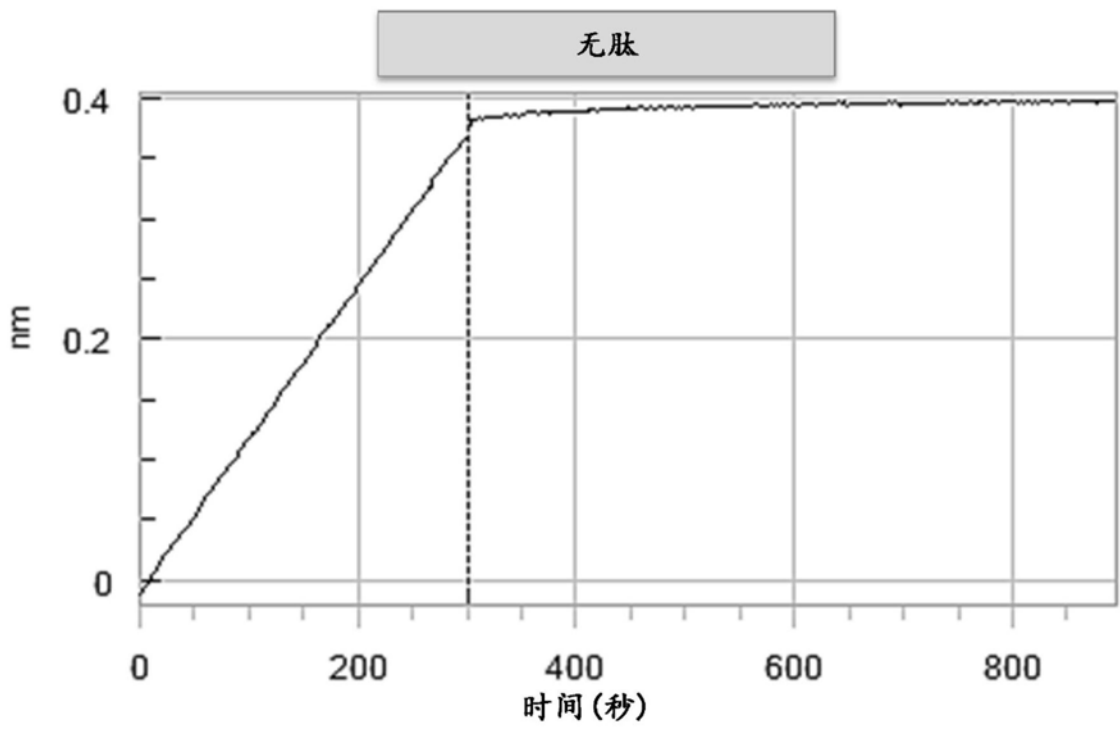


图8A

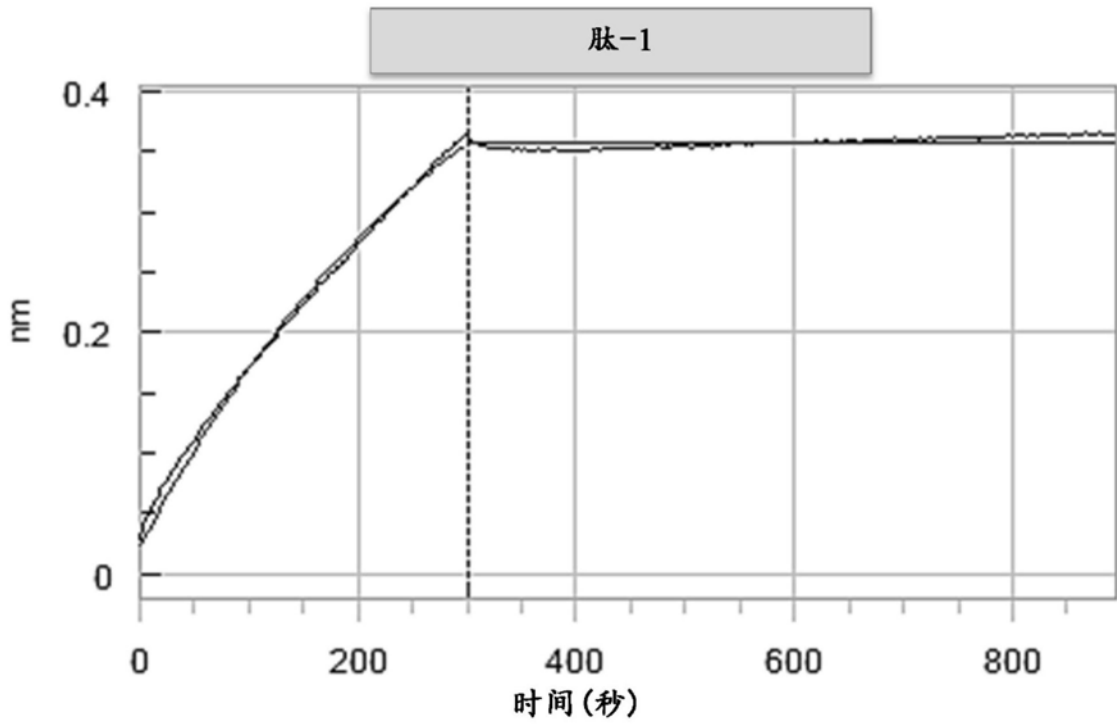


图8B

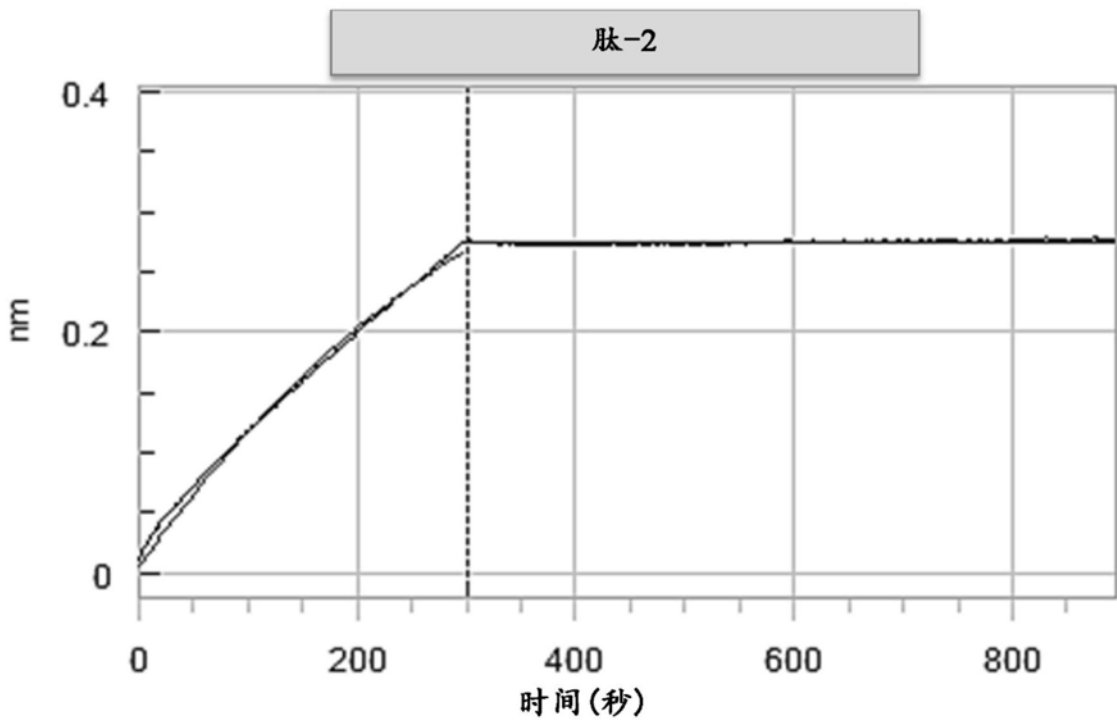


图8C

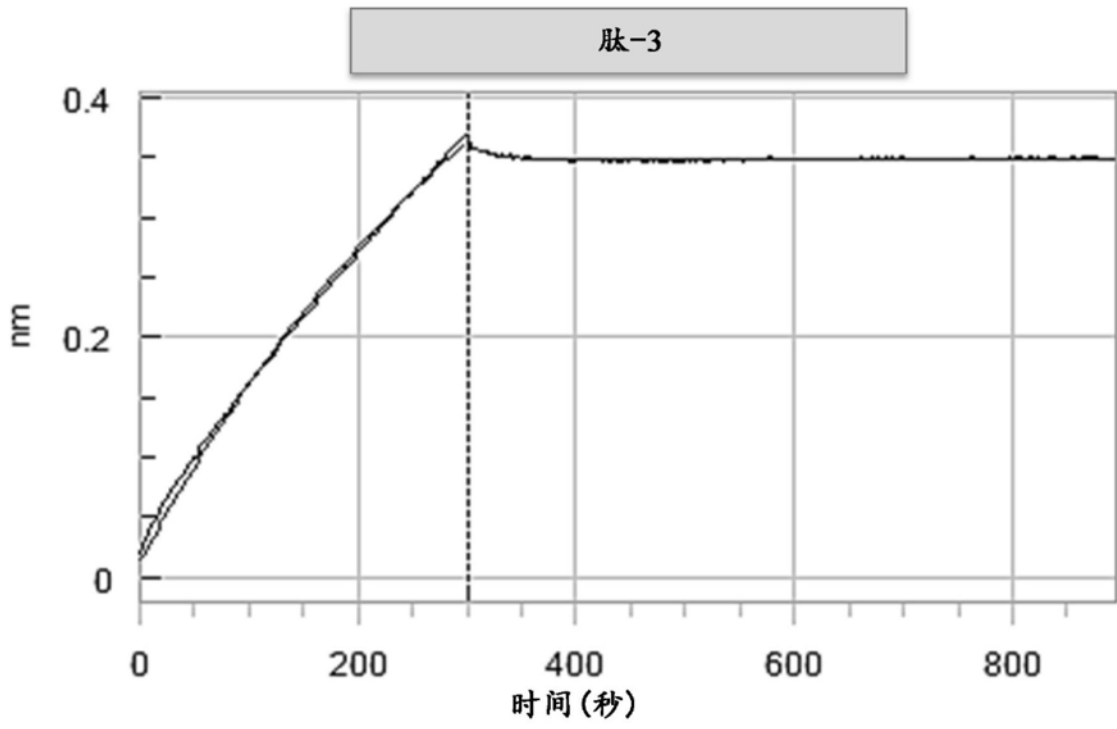


图8D

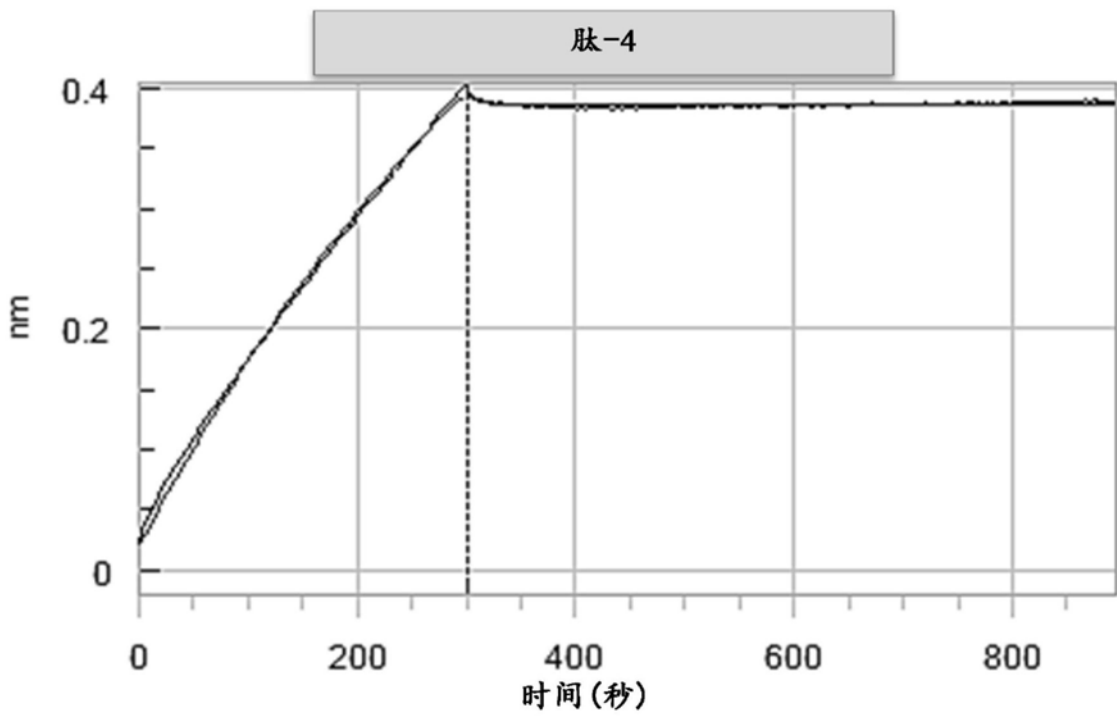


图8E

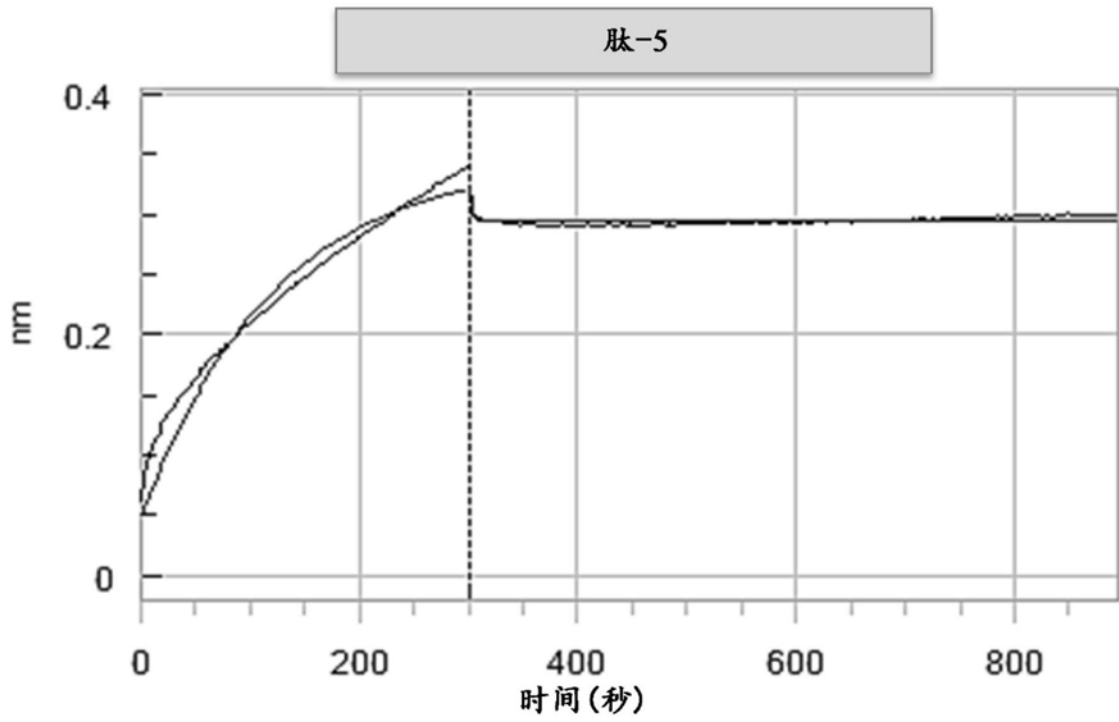


图8F

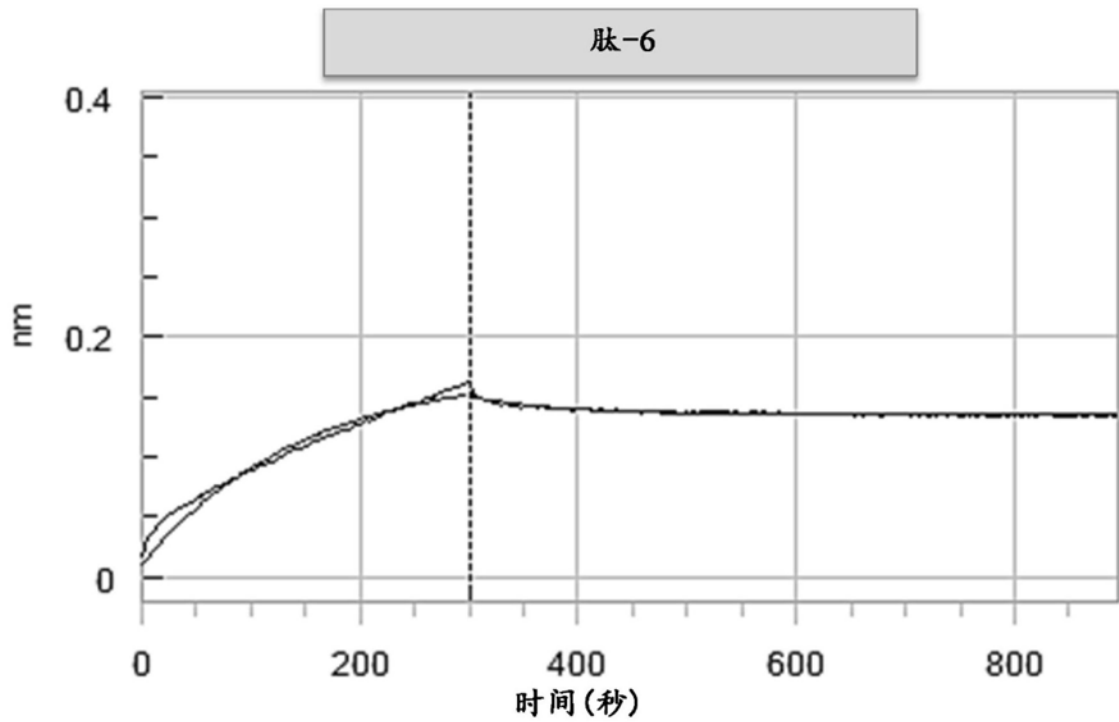


图8G

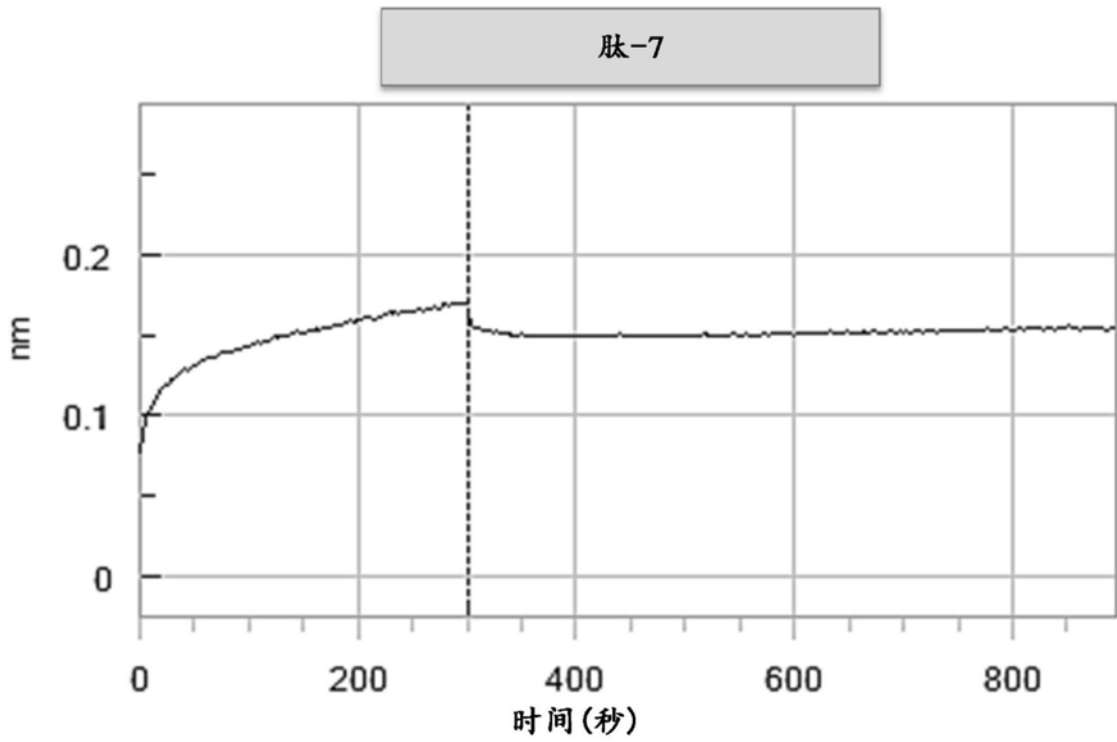


图8H

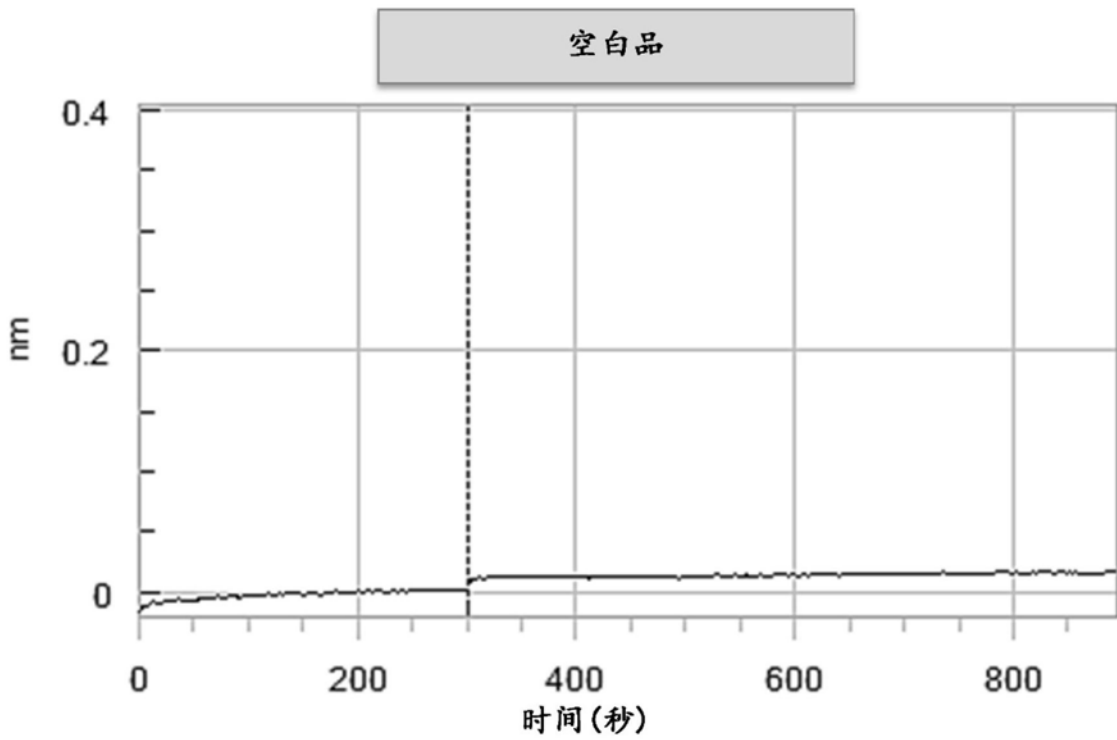


图8I

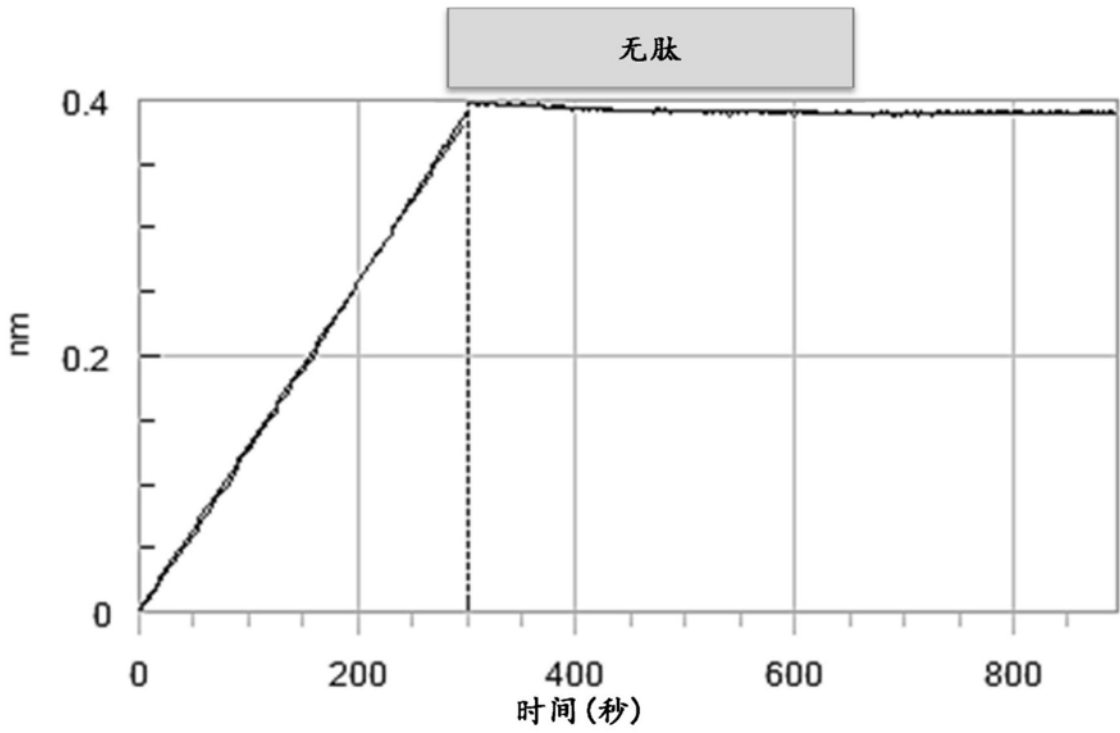


图9A

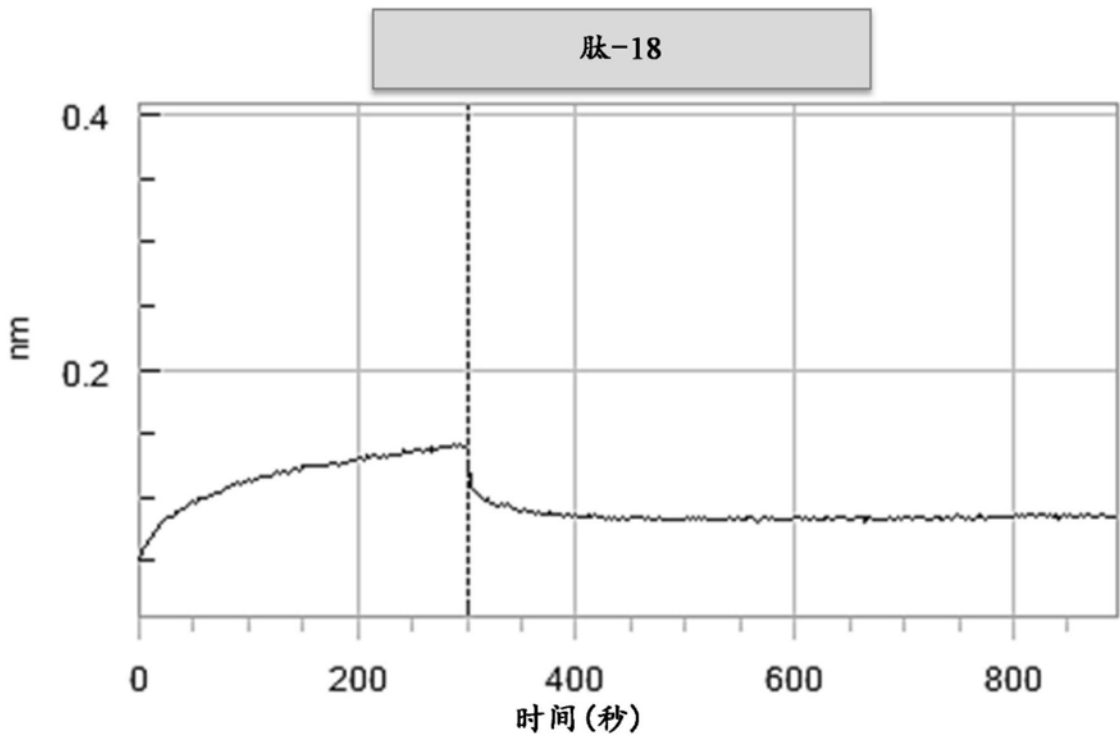


图9B

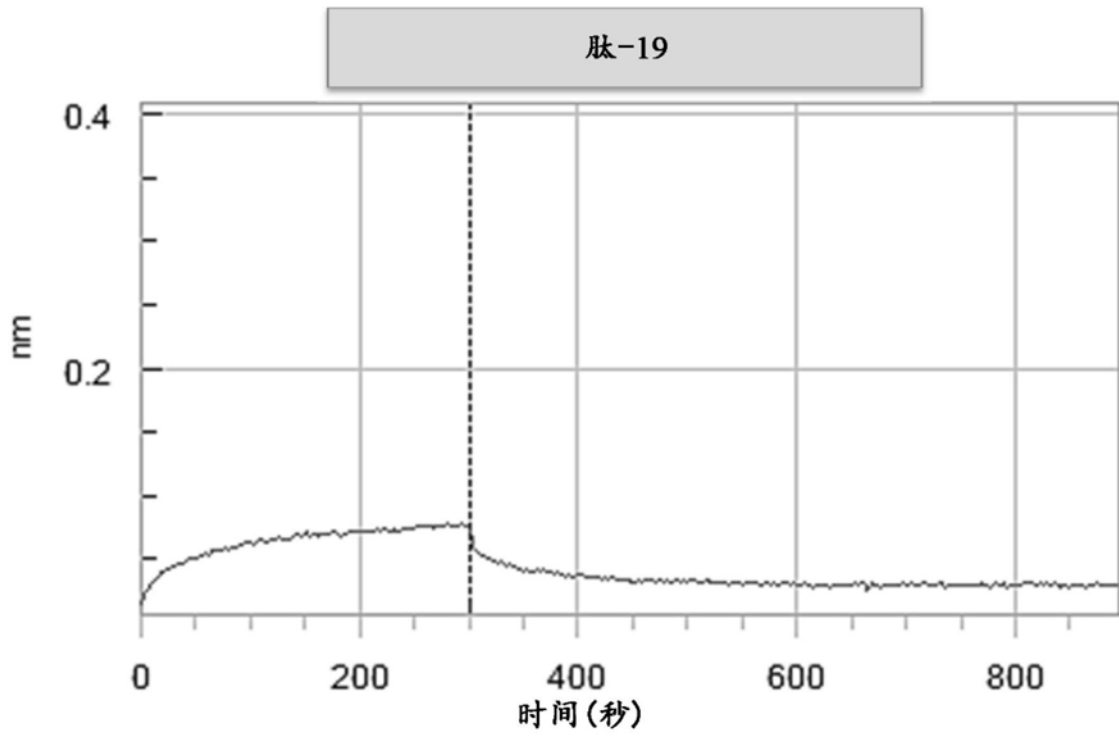


图9C

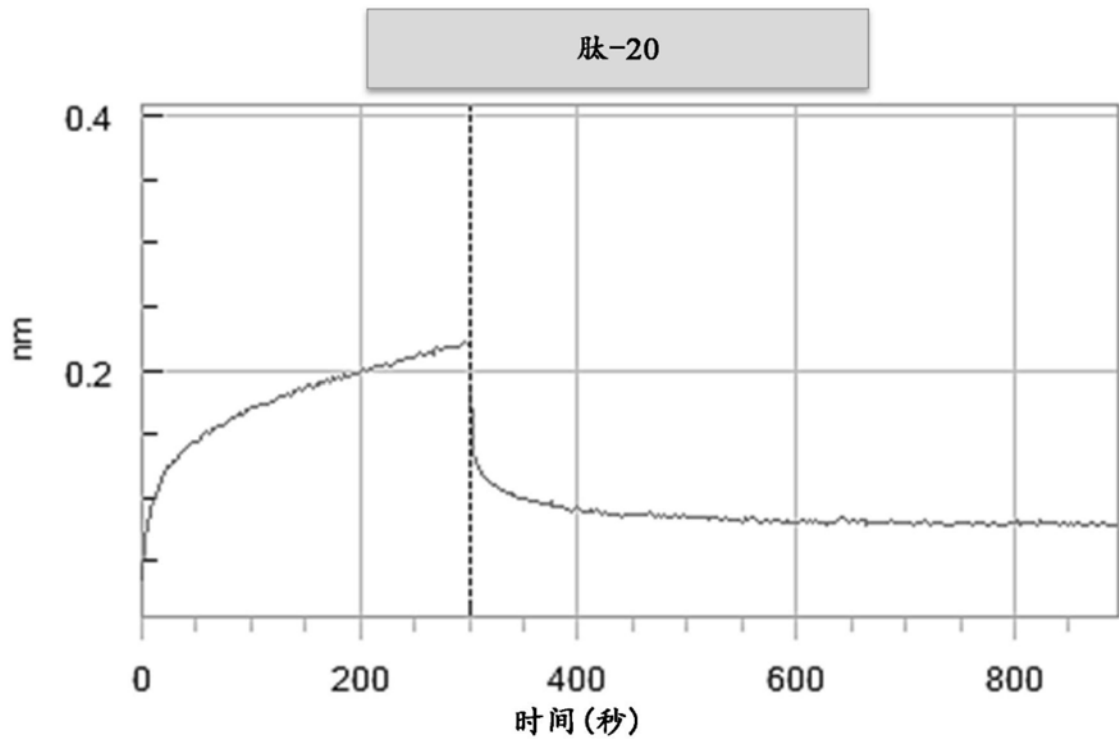


图9D

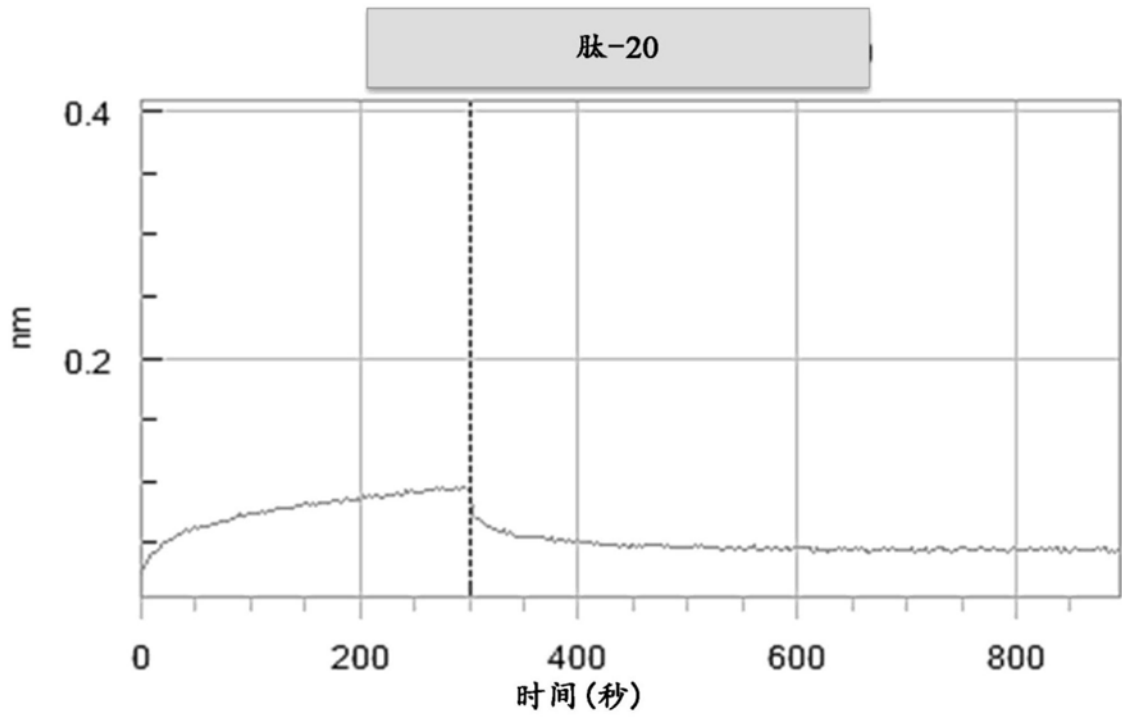


图9E

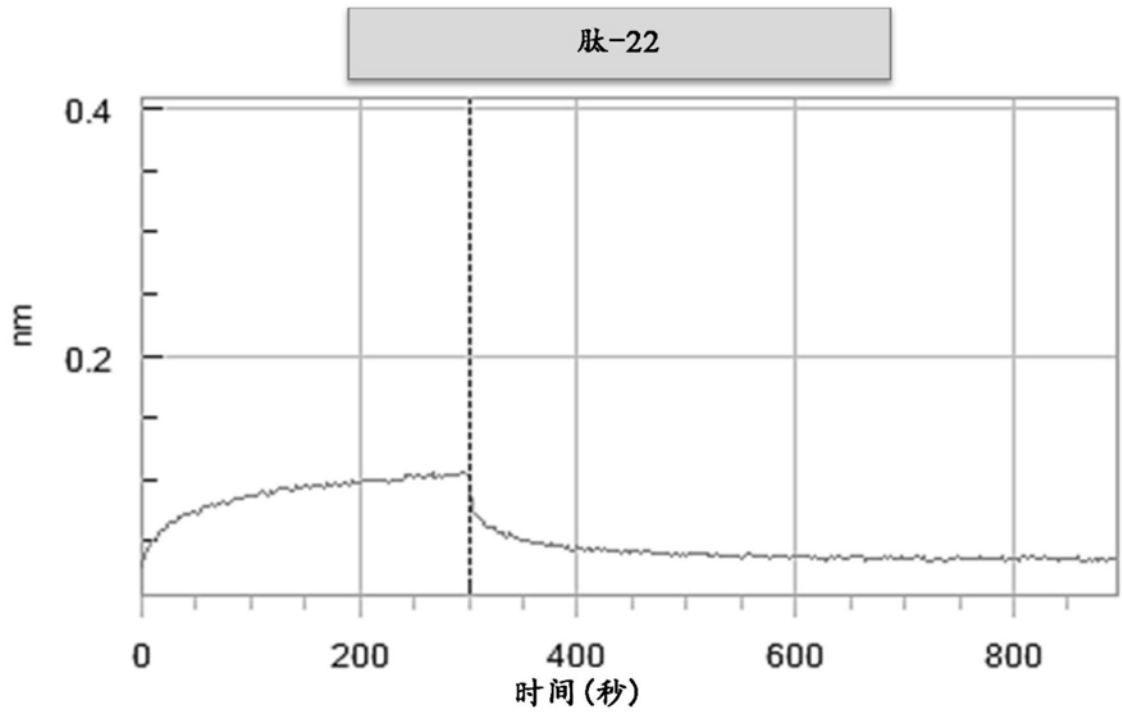


图9F

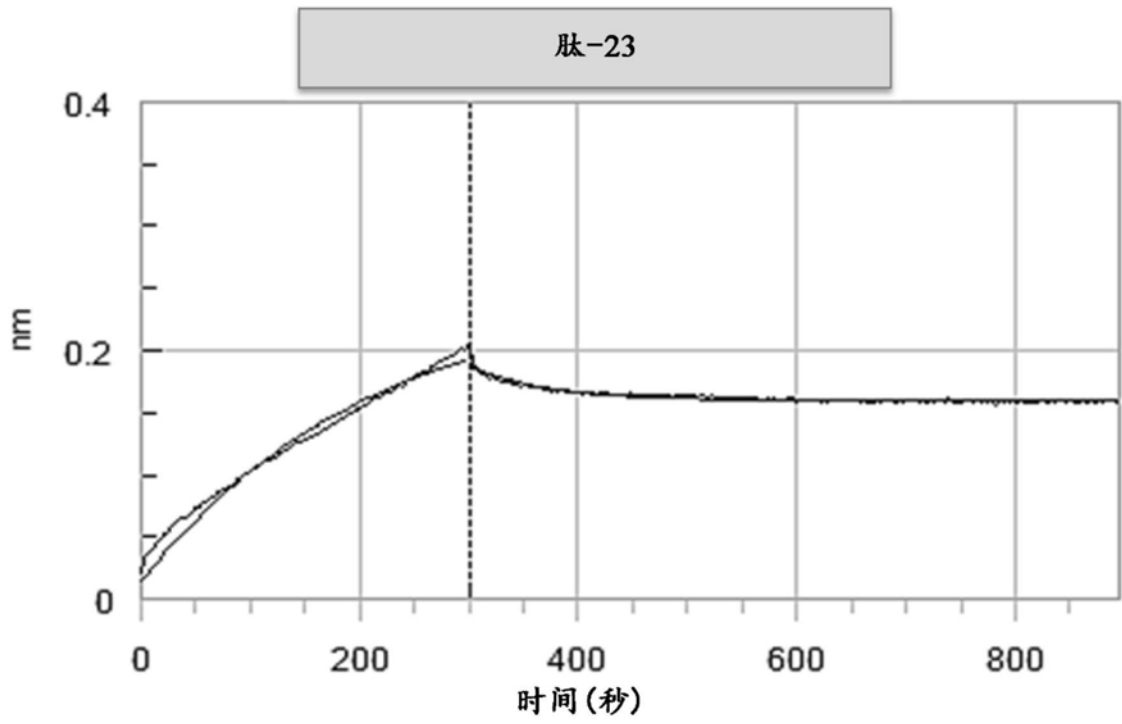


图9G

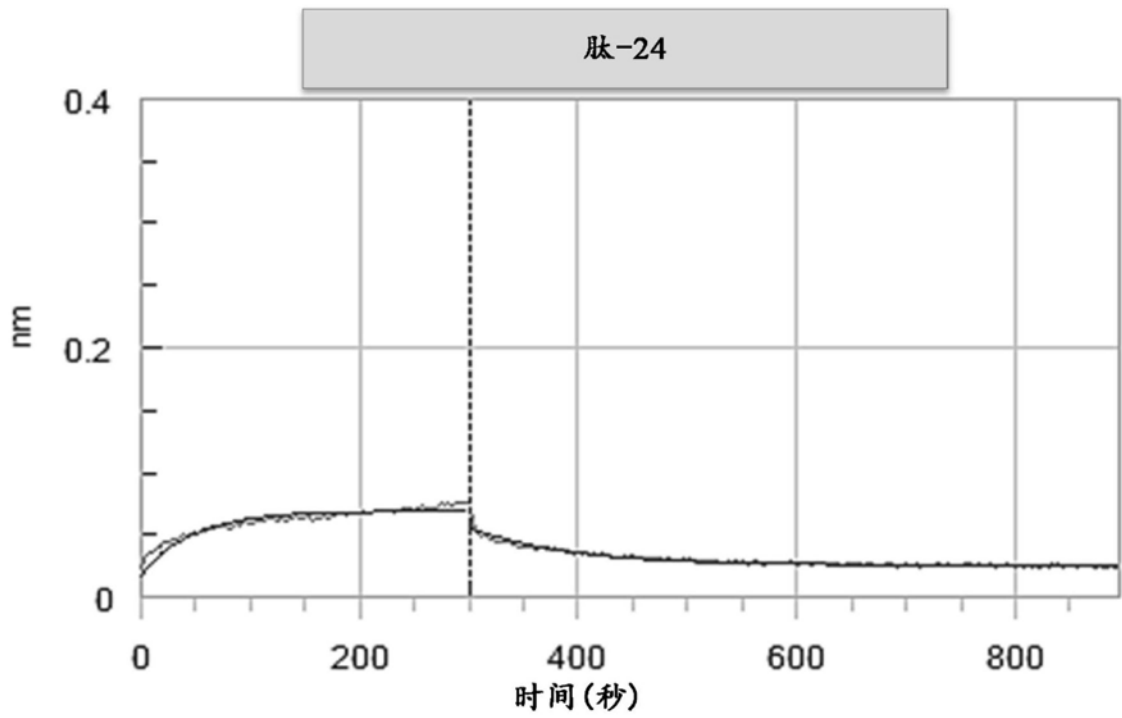


图9H

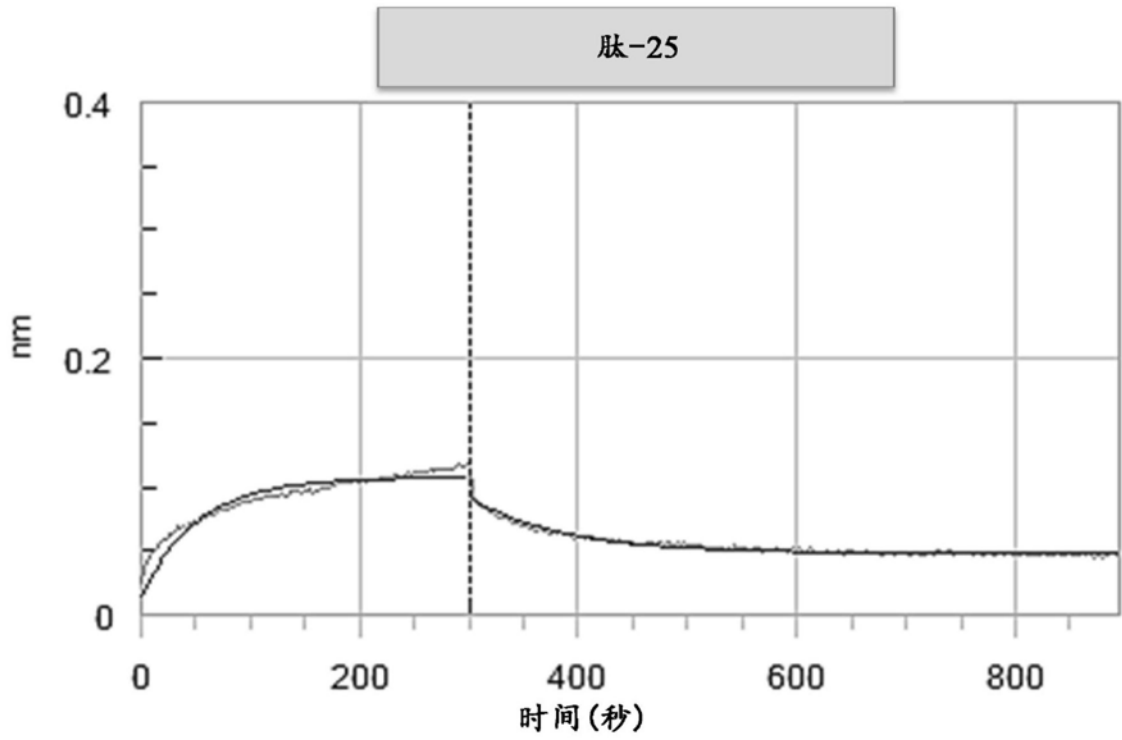


图9I

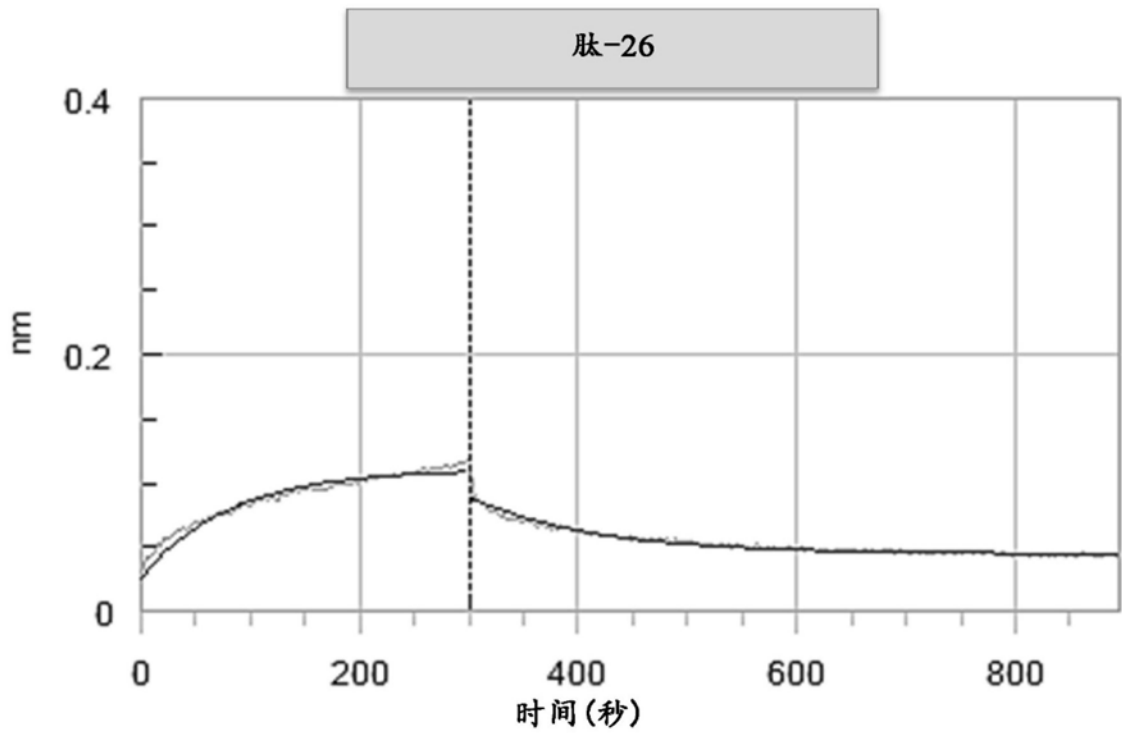


图9J

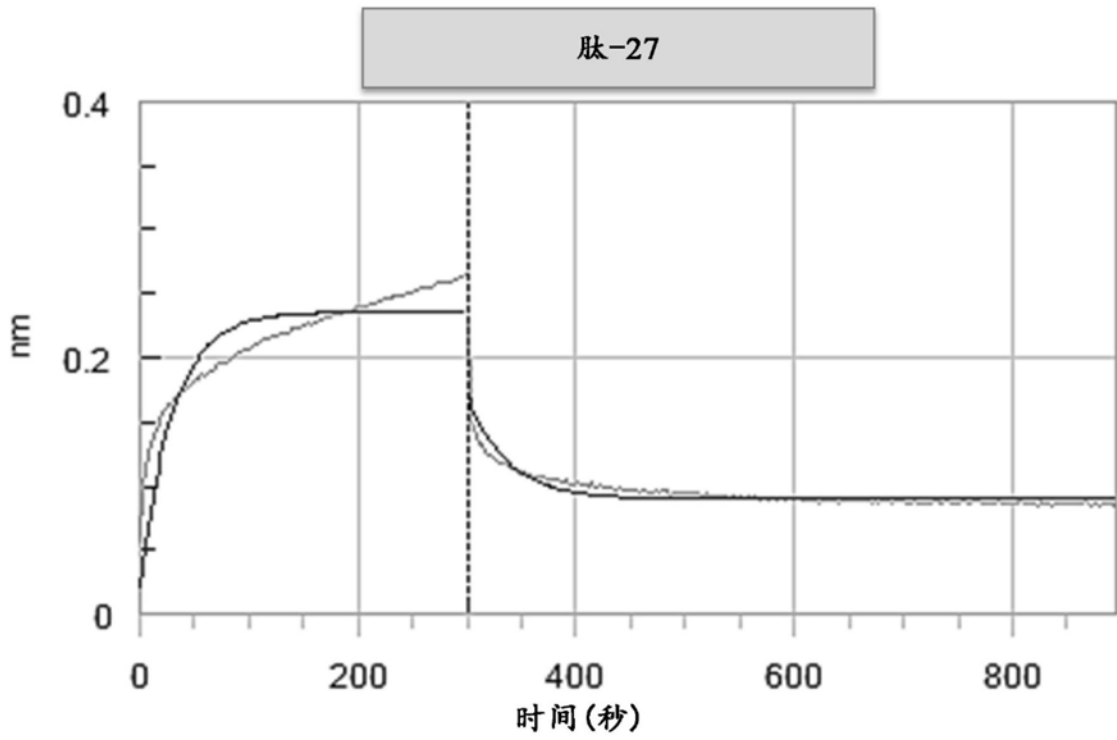


图9K

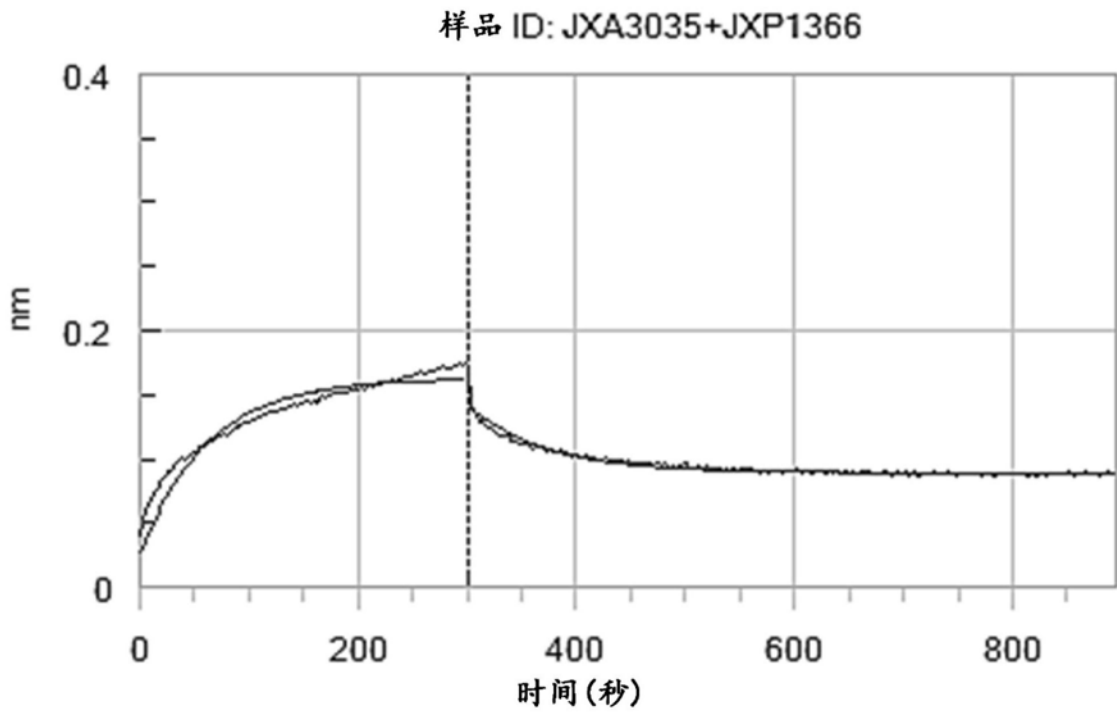


图9L

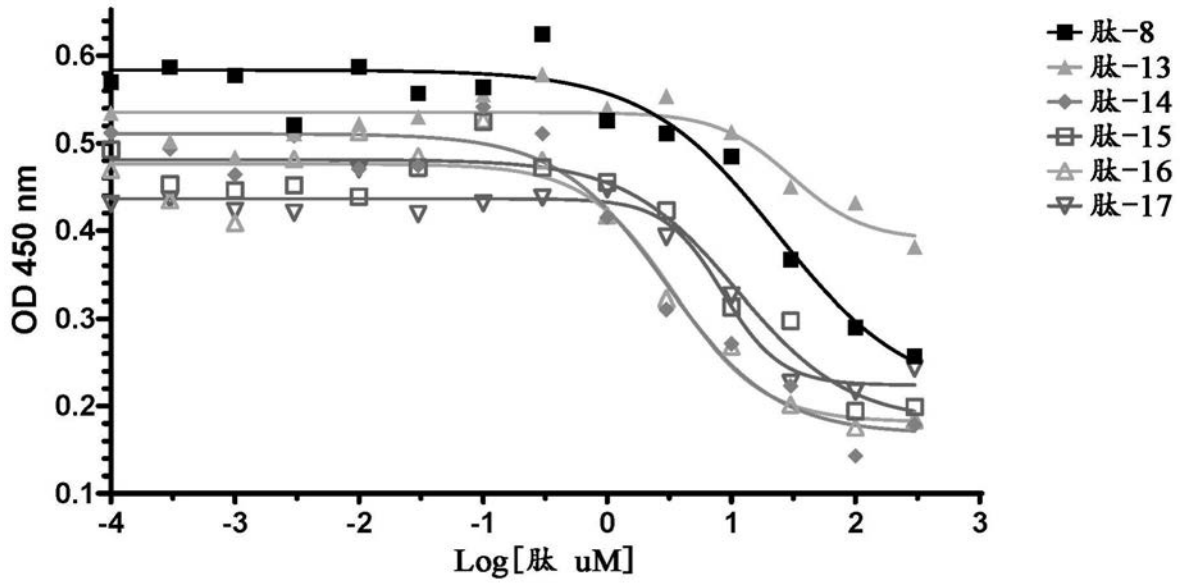


图10A

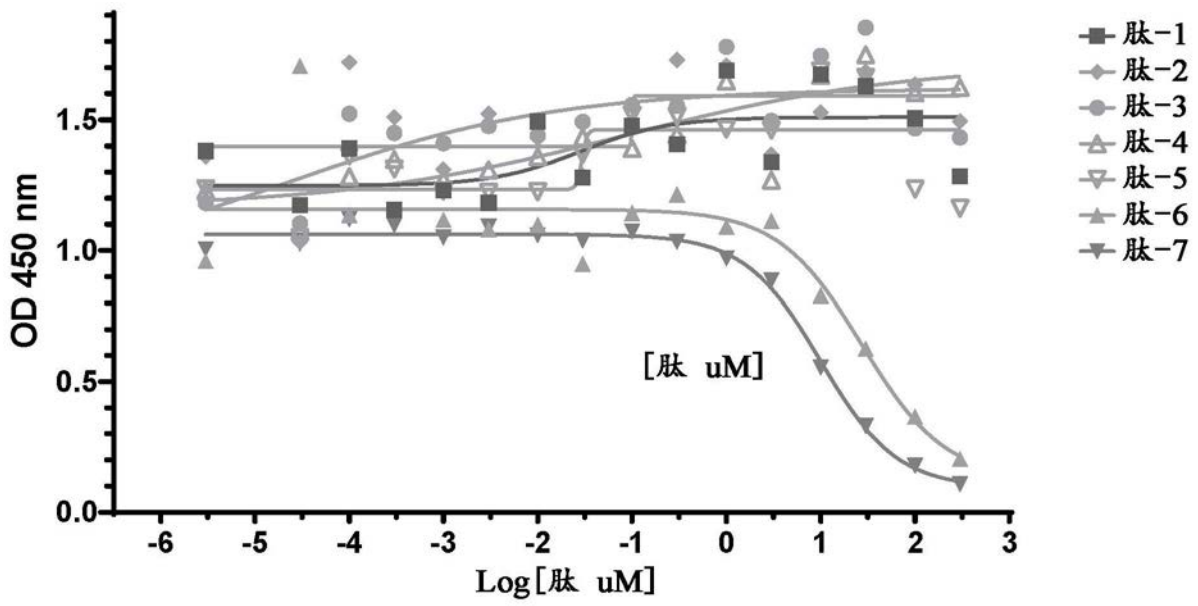


图10B

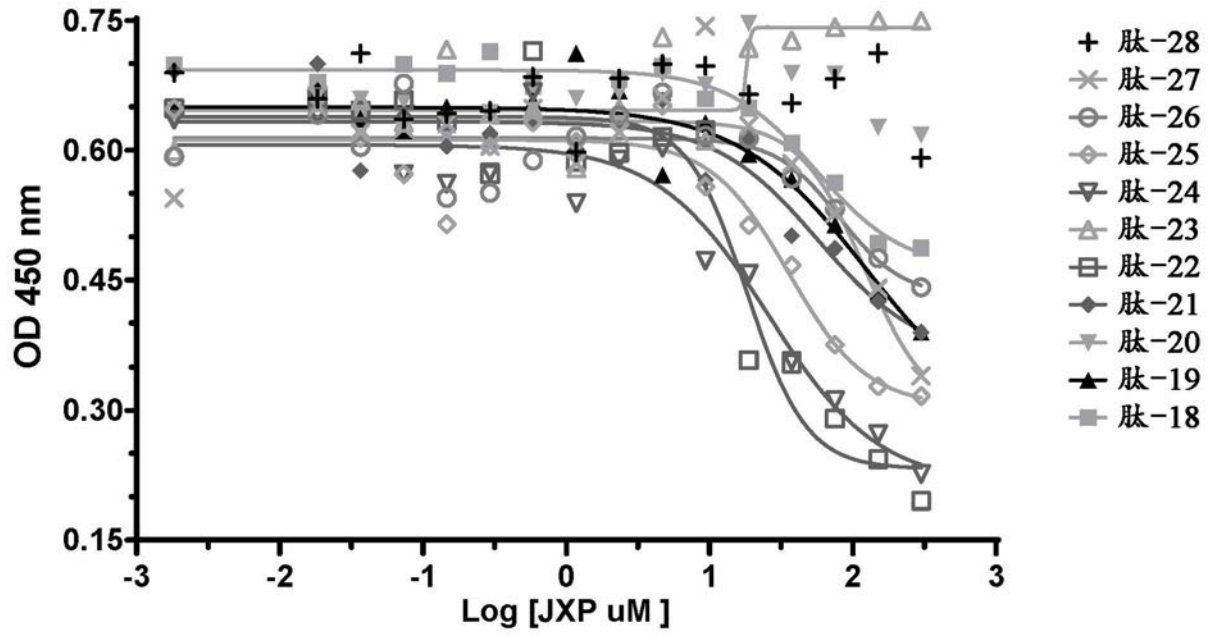


图10C

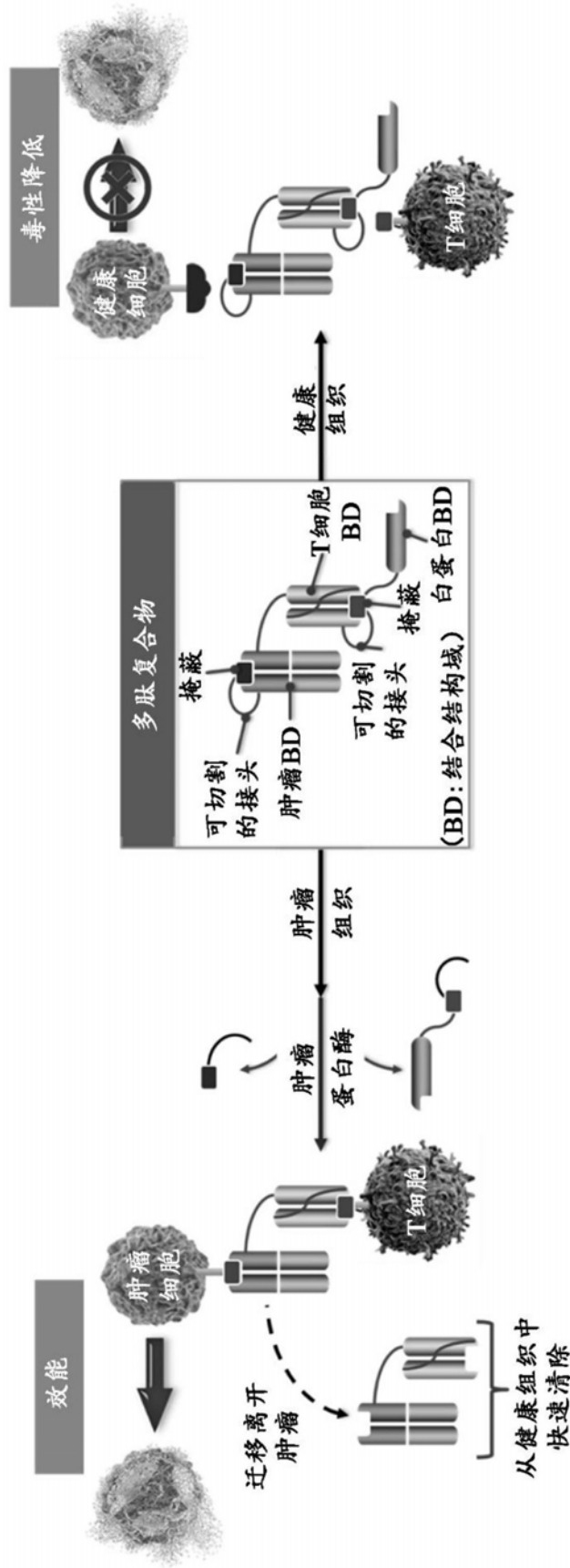


图11

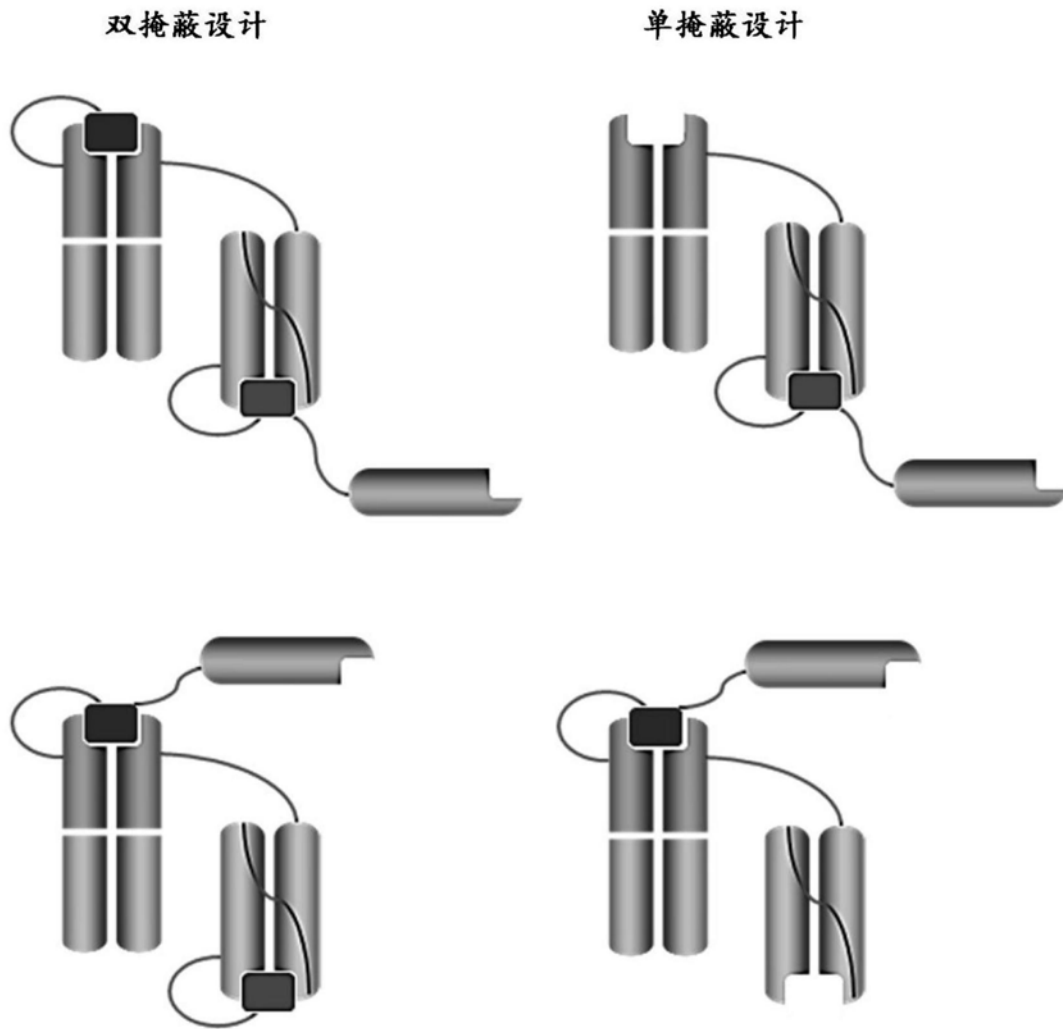


图12

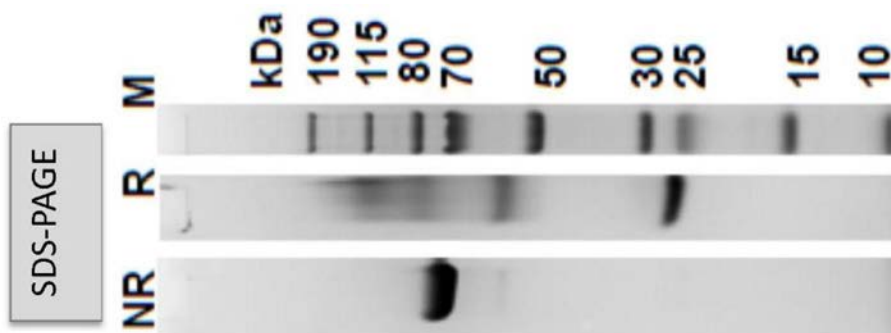


图13A

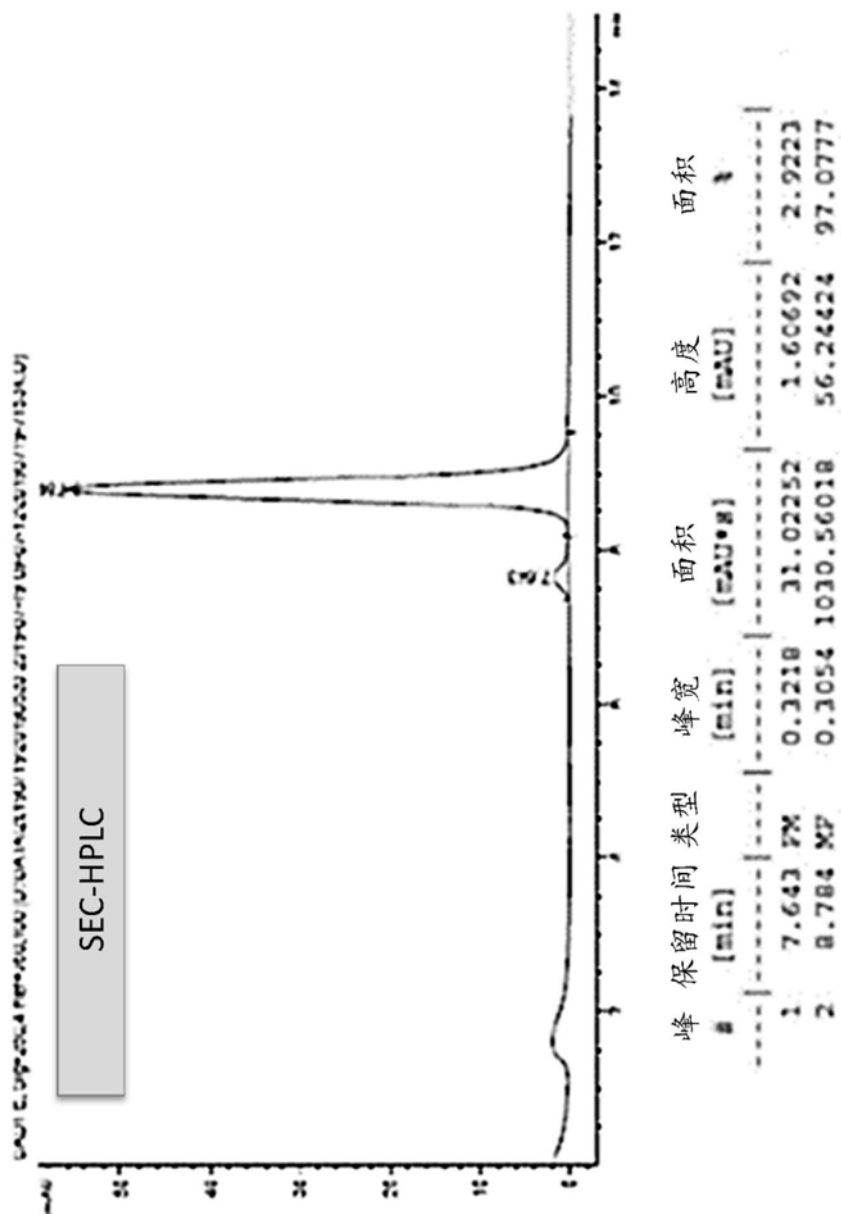


图13B

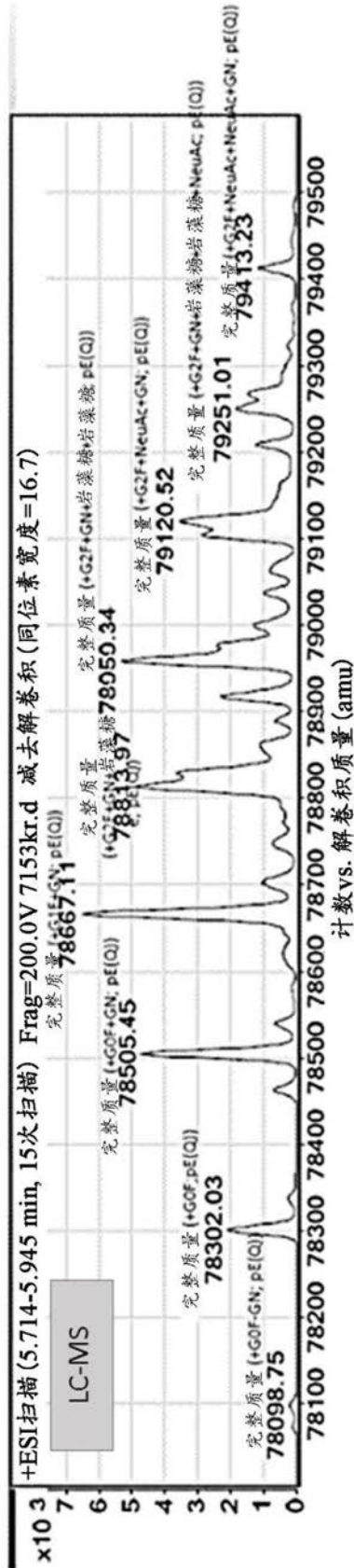


图13C

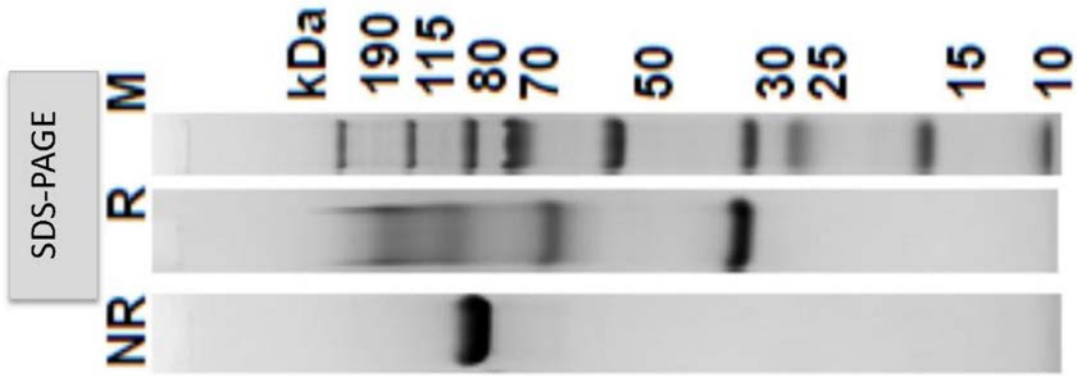


图14A

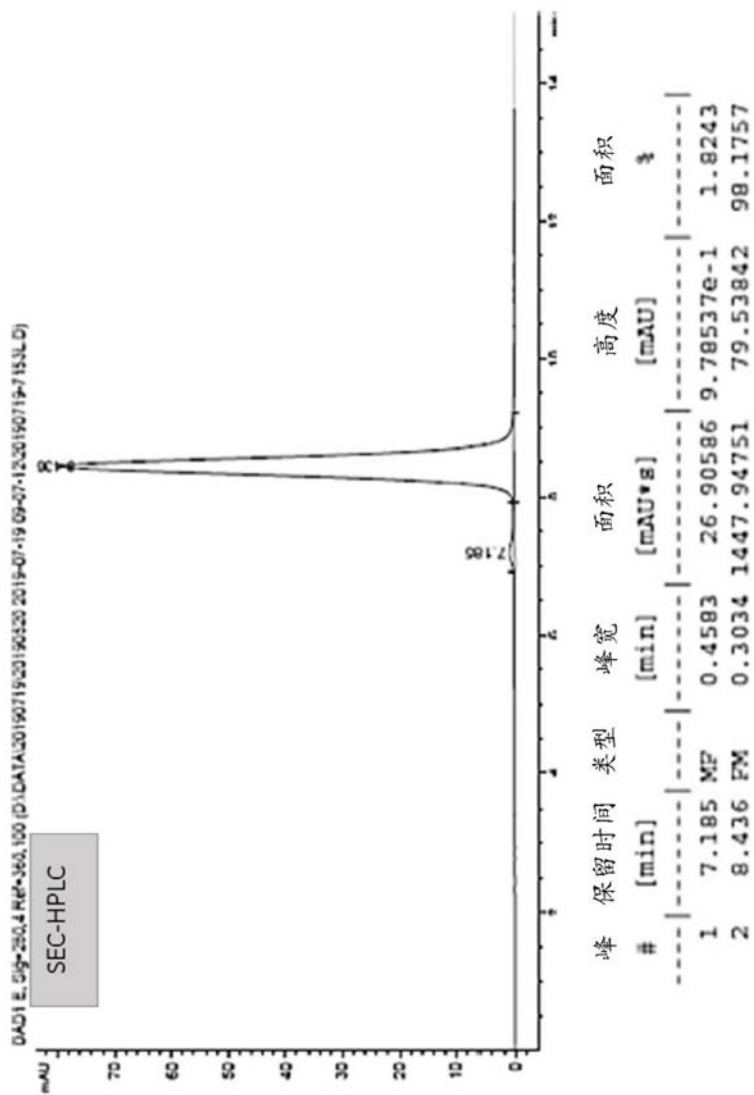


图14B

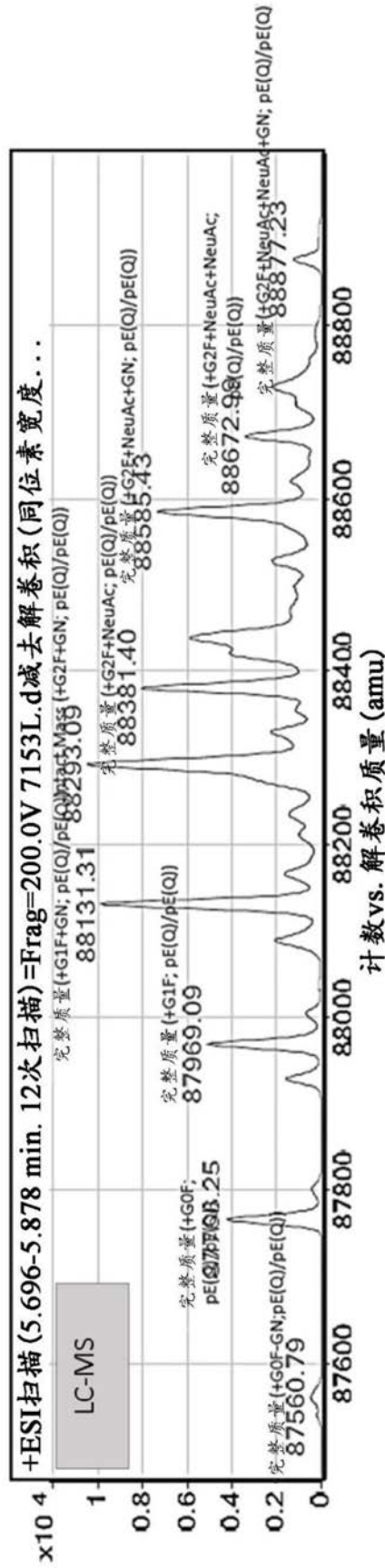


图14C

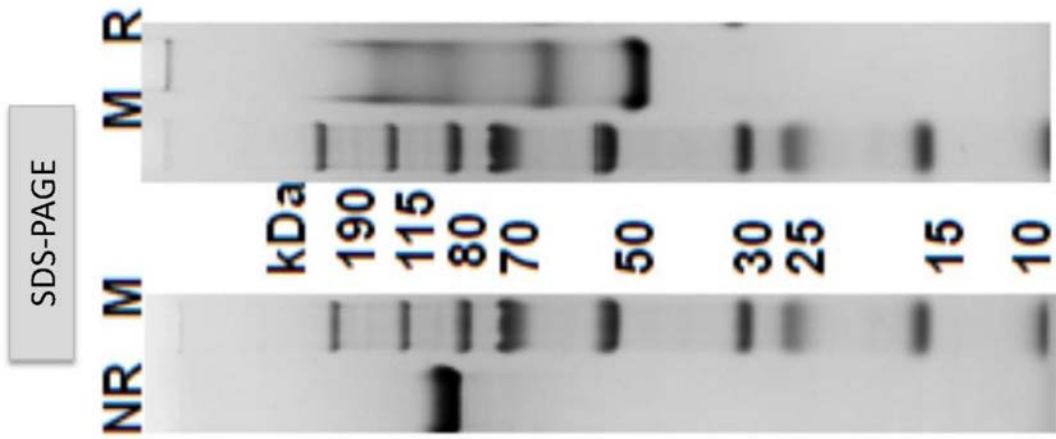


图15A

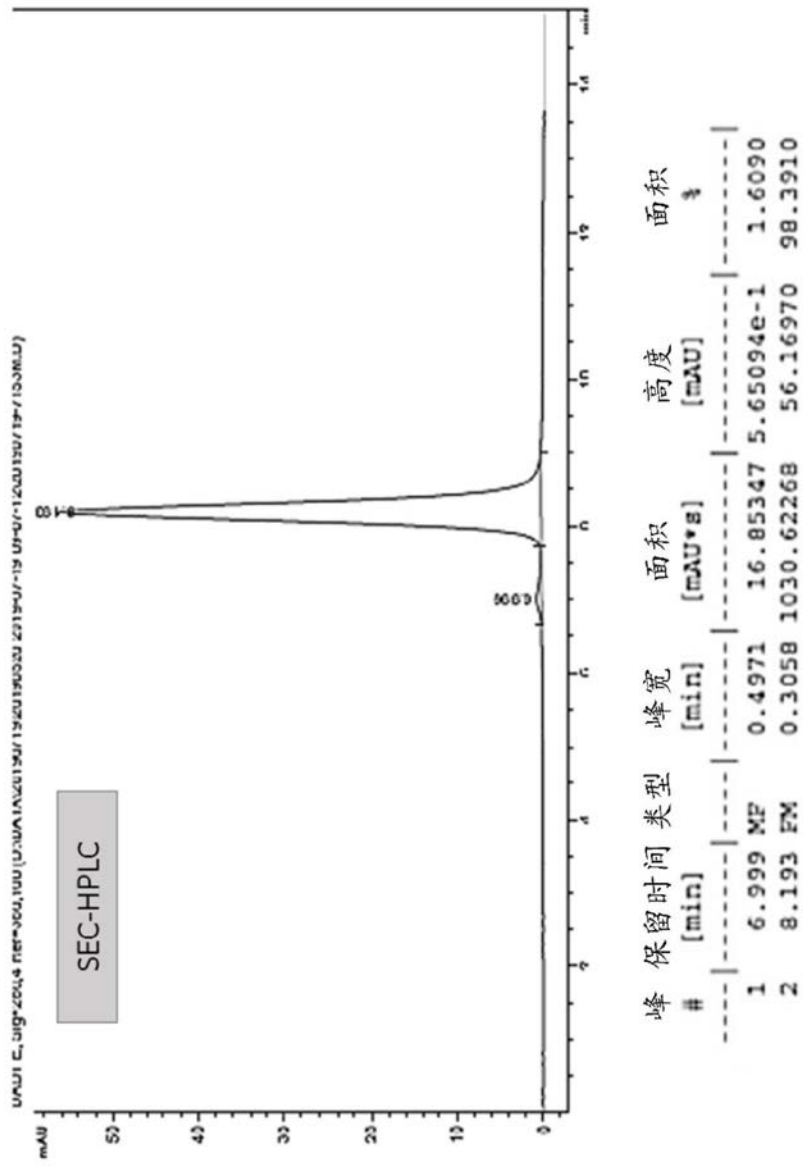


图15B

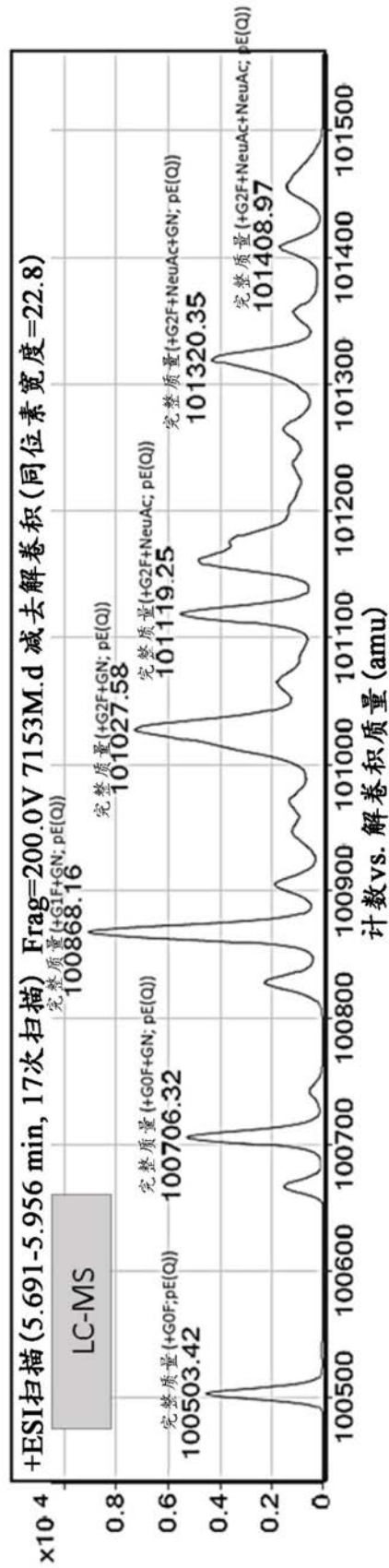


图15C

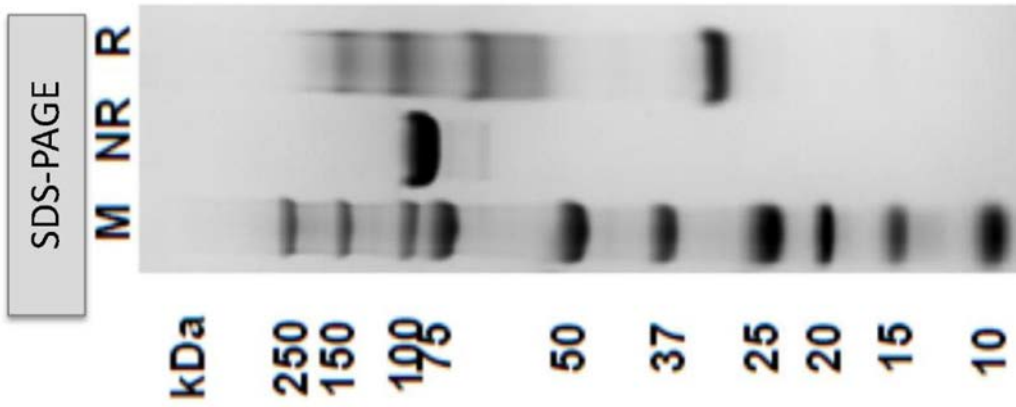


图16A

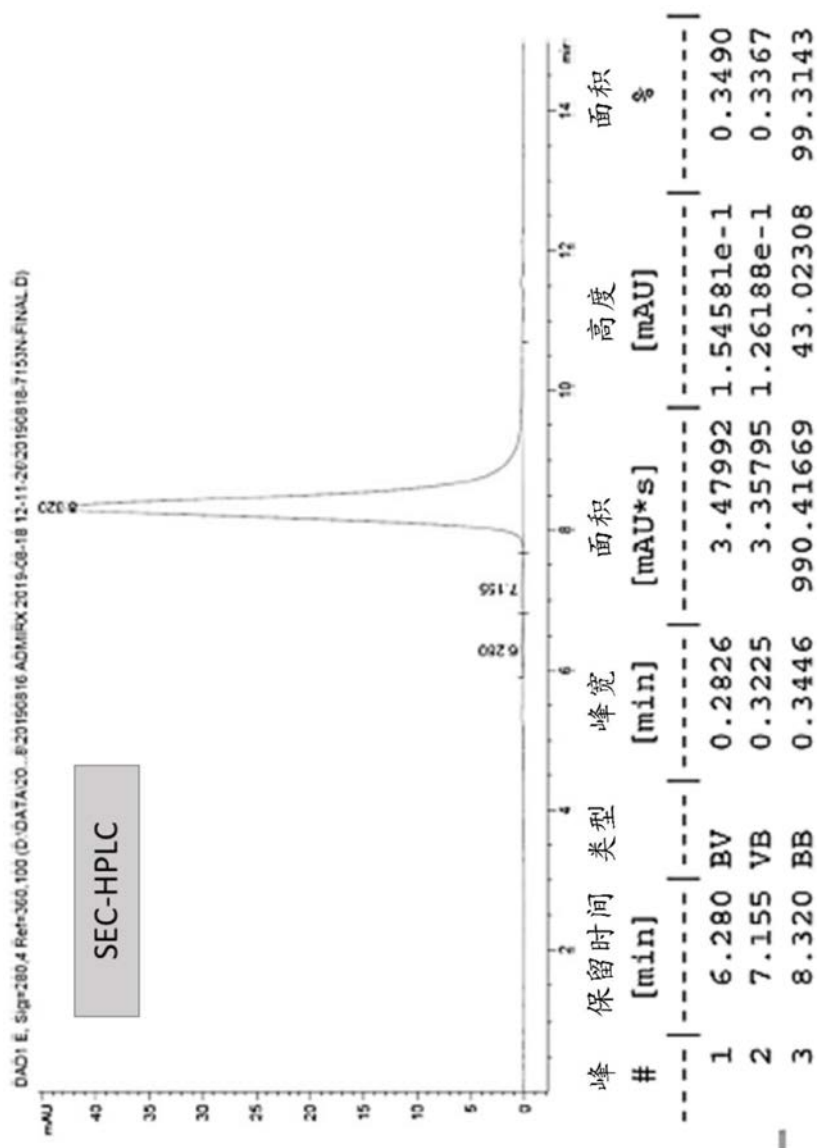


图16B

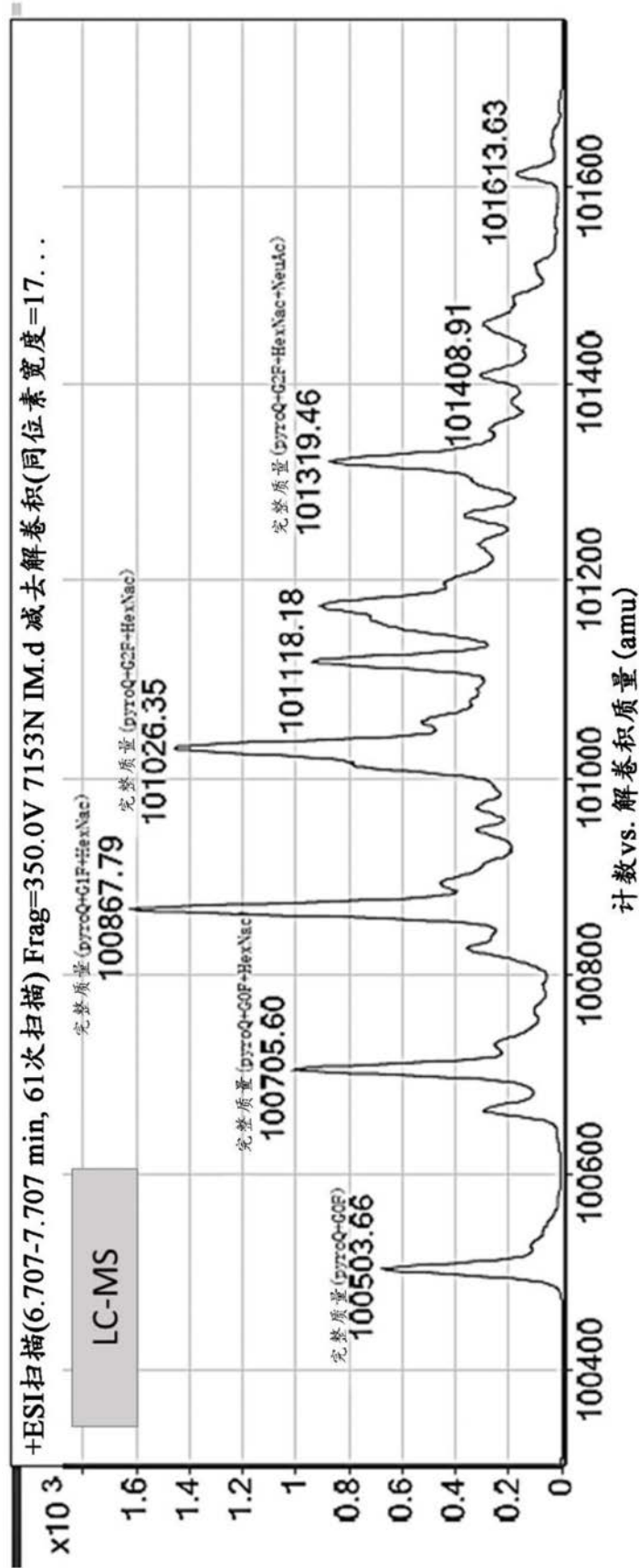


图16C

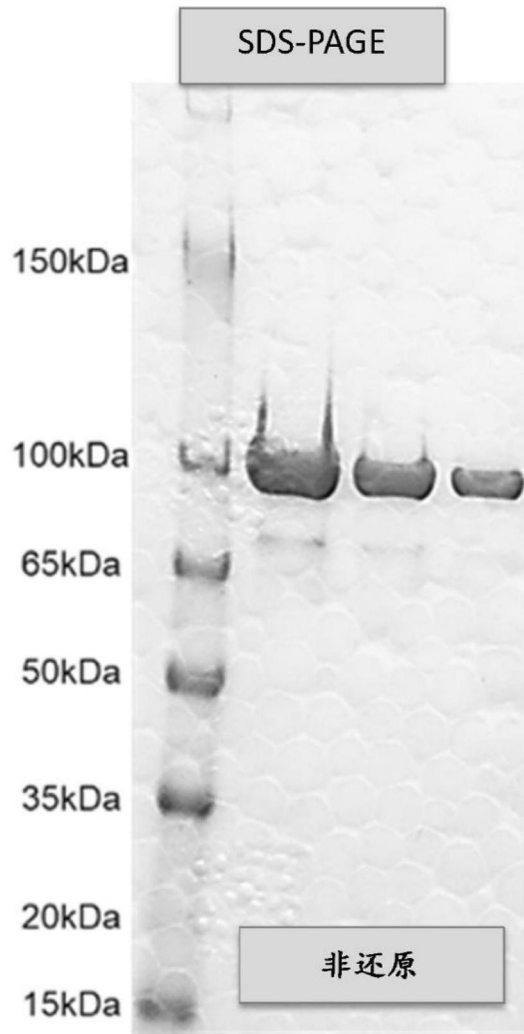


图17A

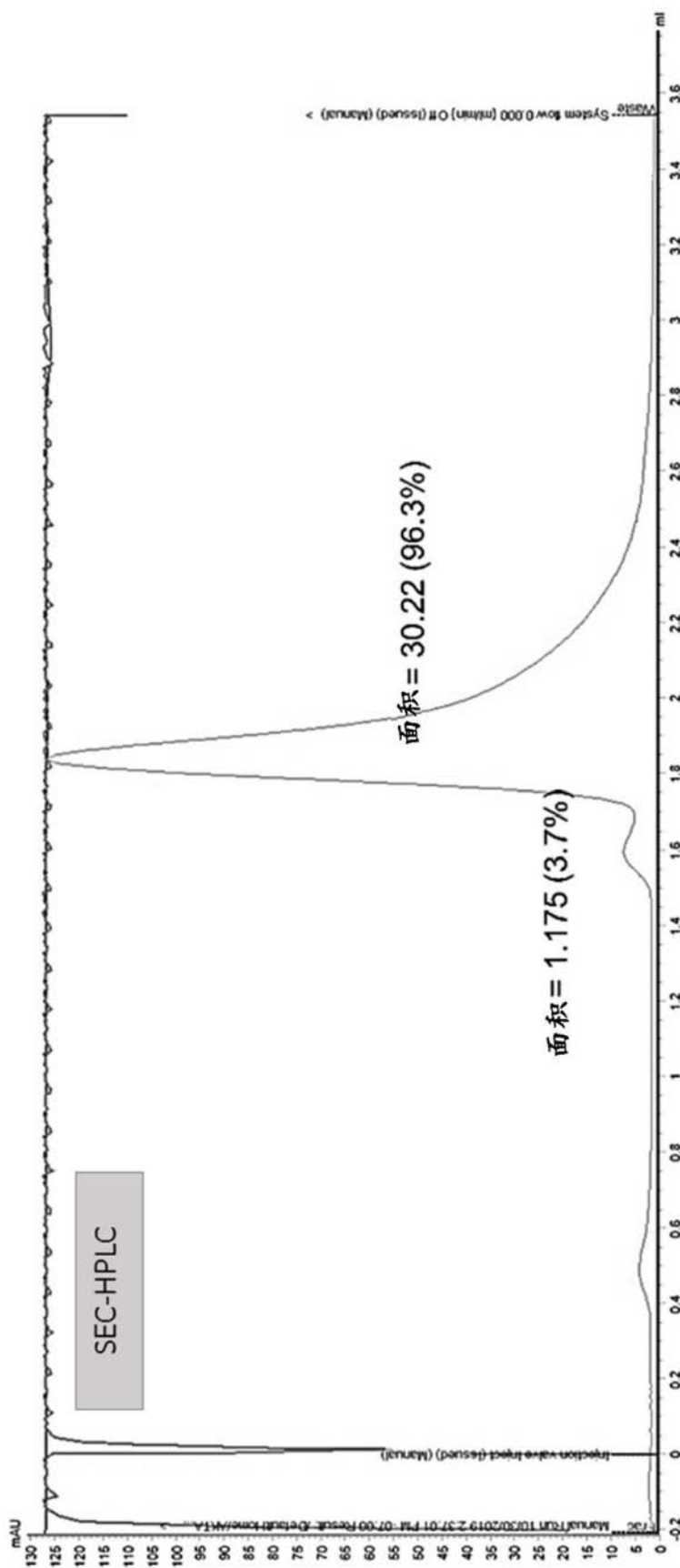


图17B

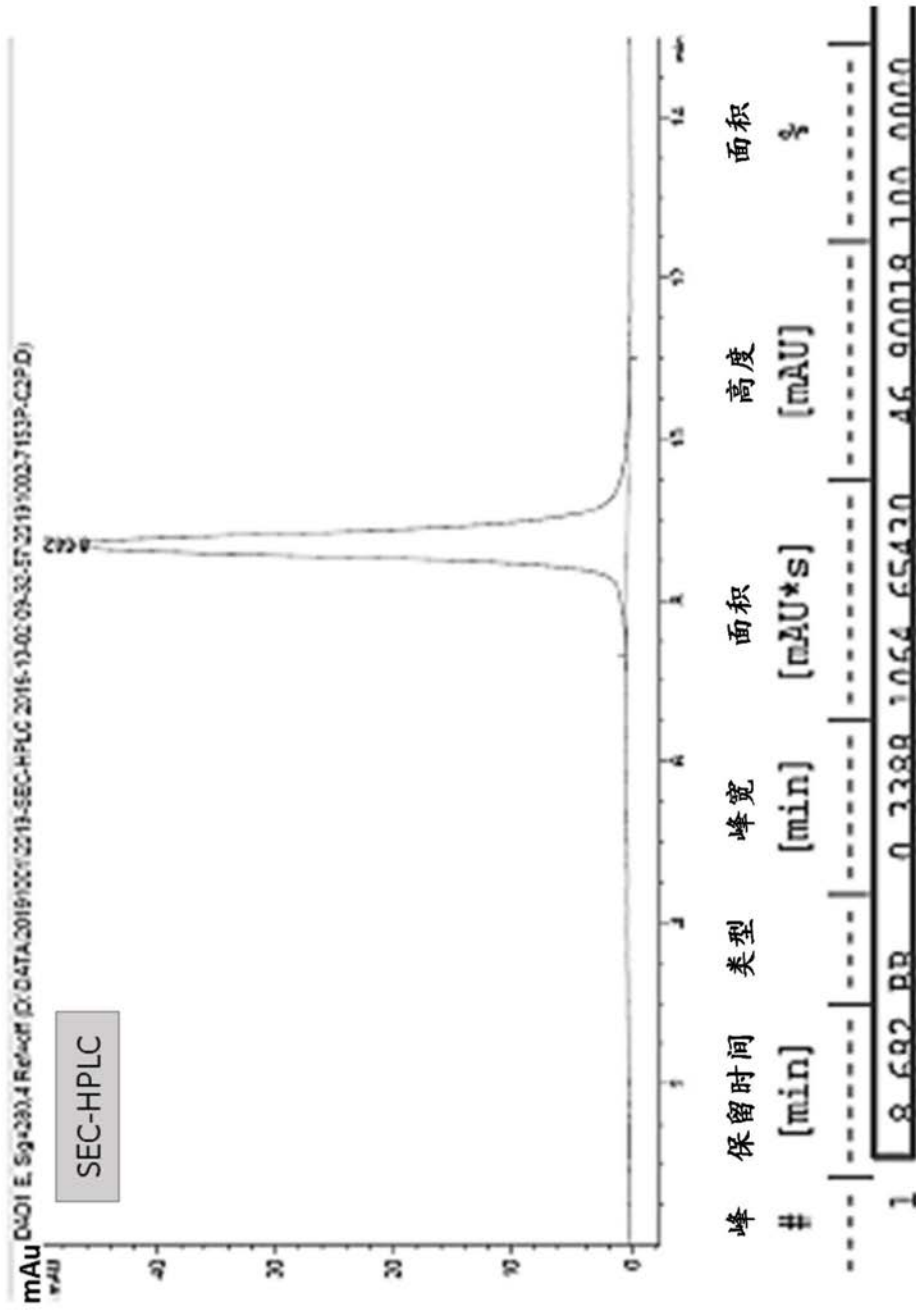


图18B

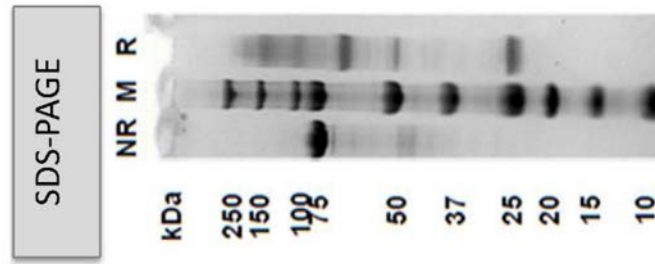


图18A



图18C

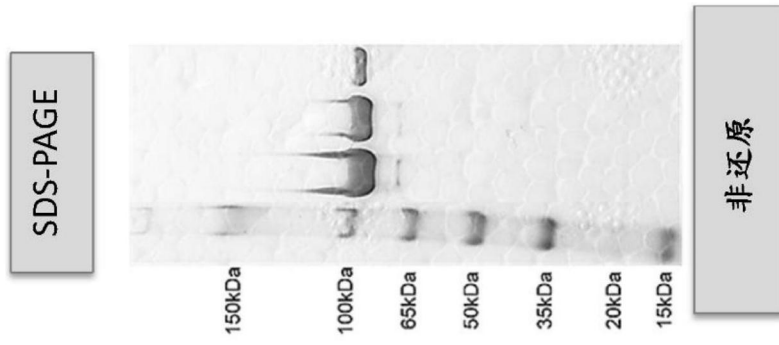


图19A

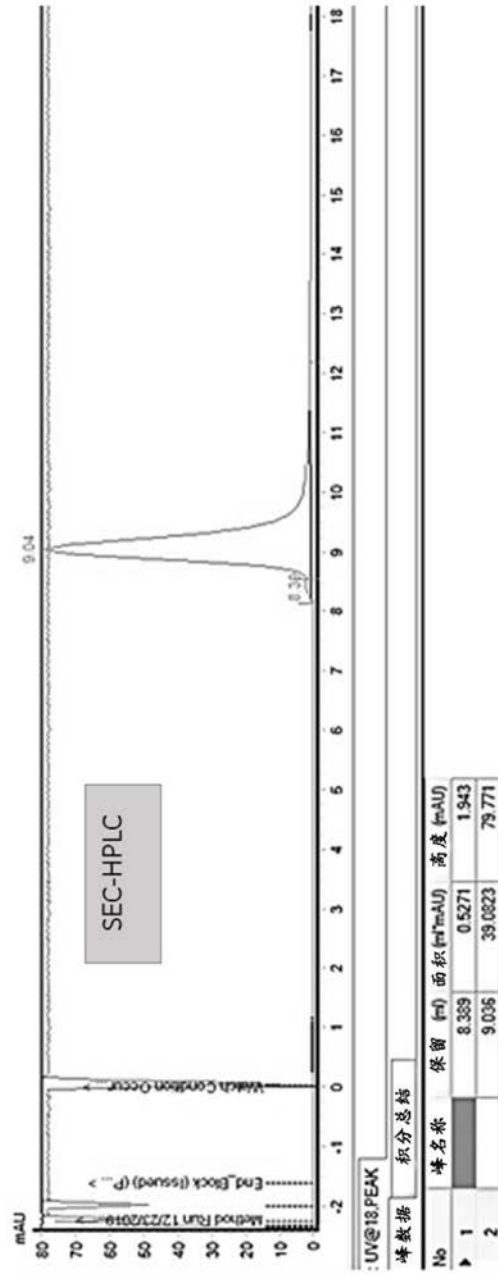


图19B

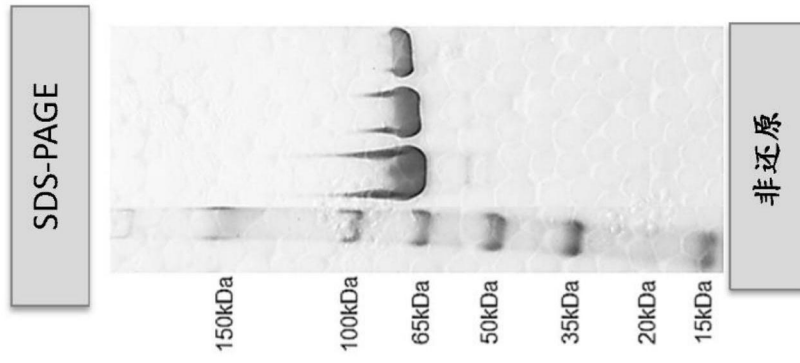


图20A

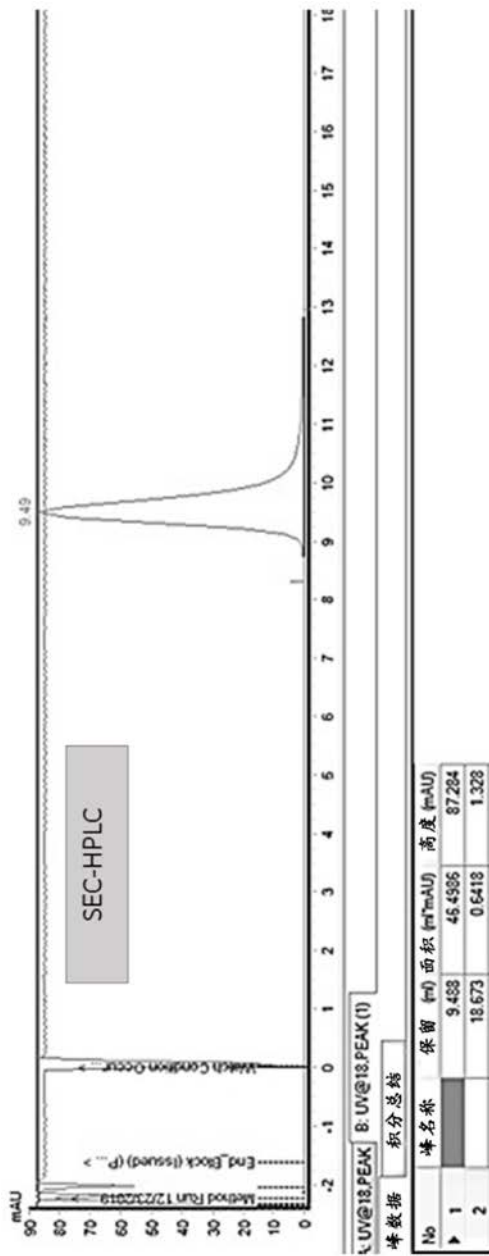


图20B

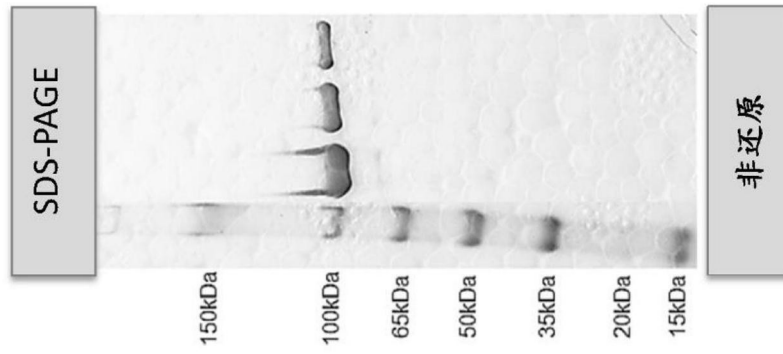


图21A

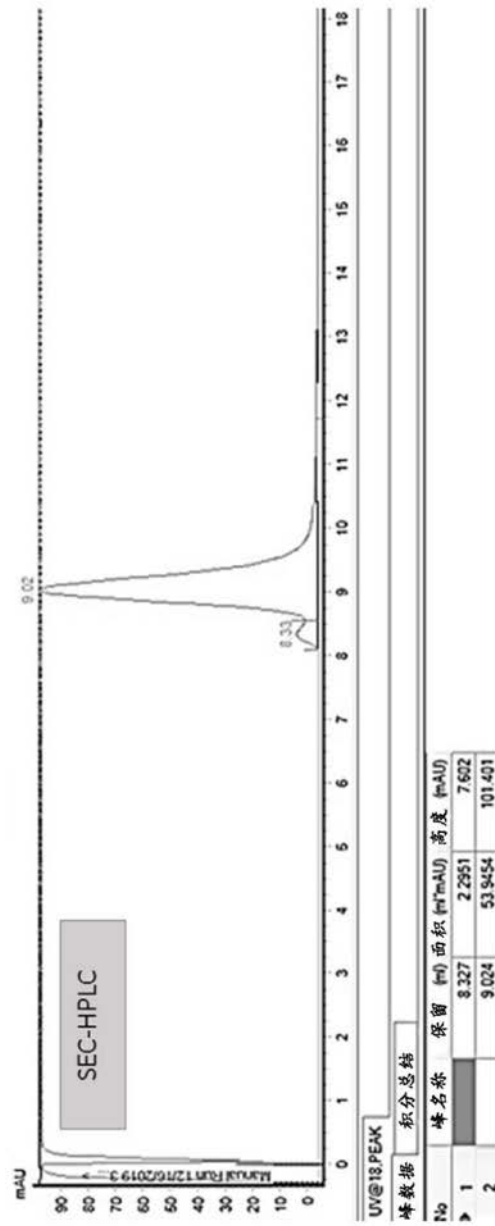


图21B

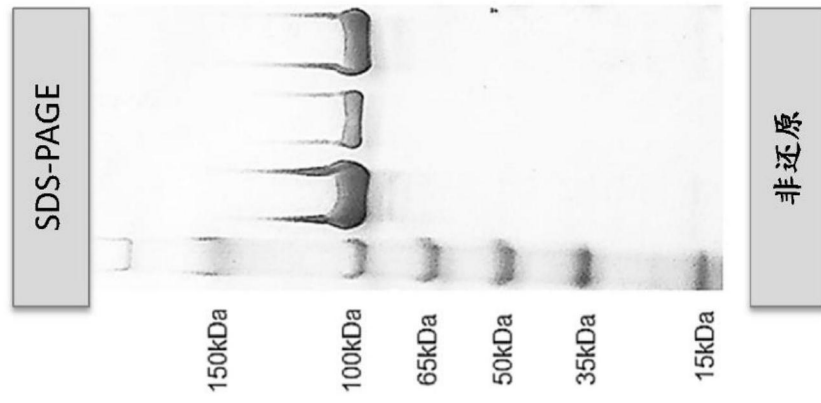


图22A

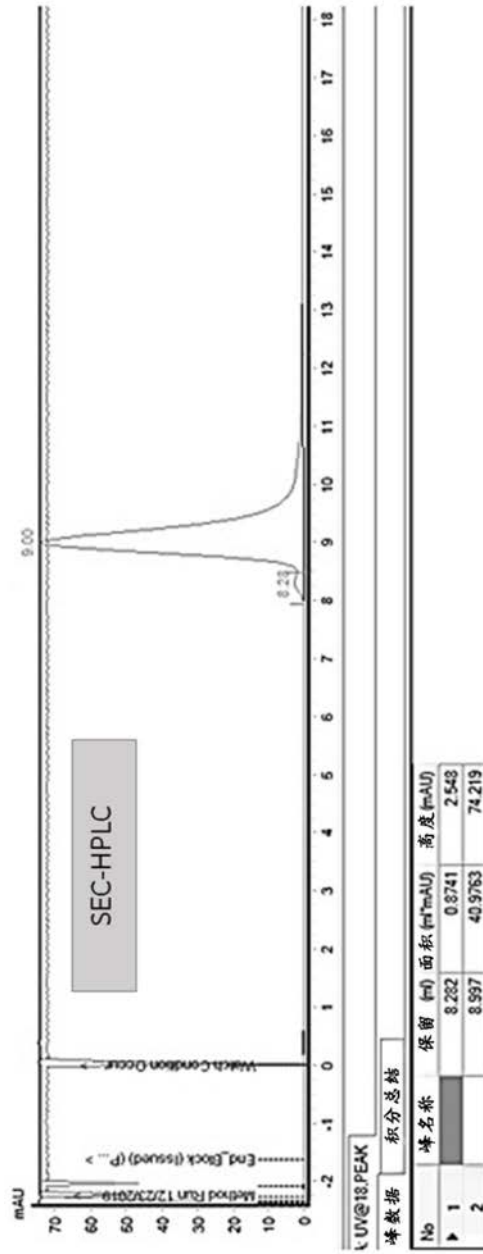


图22B



图23A

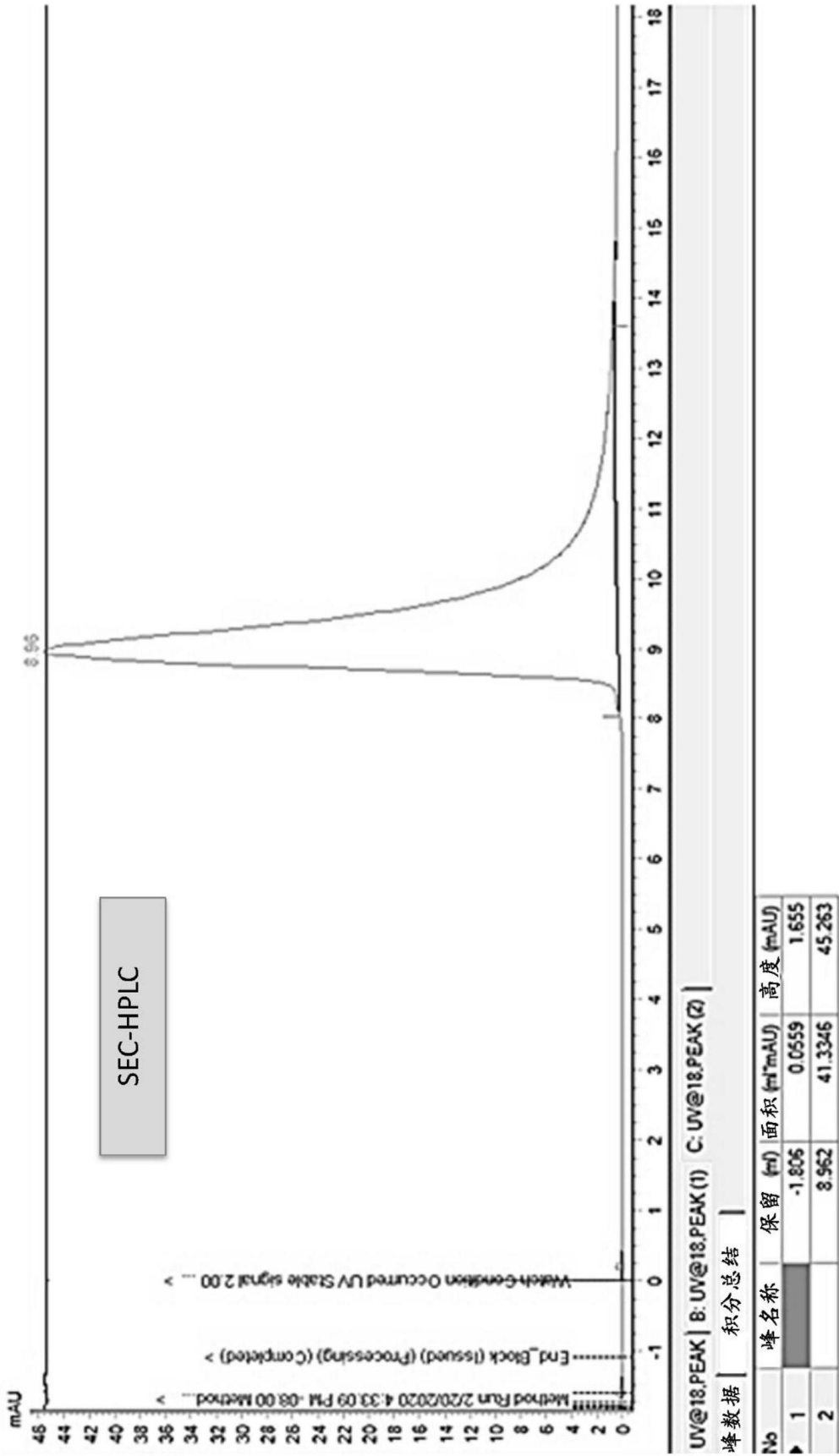


图23B



图24A

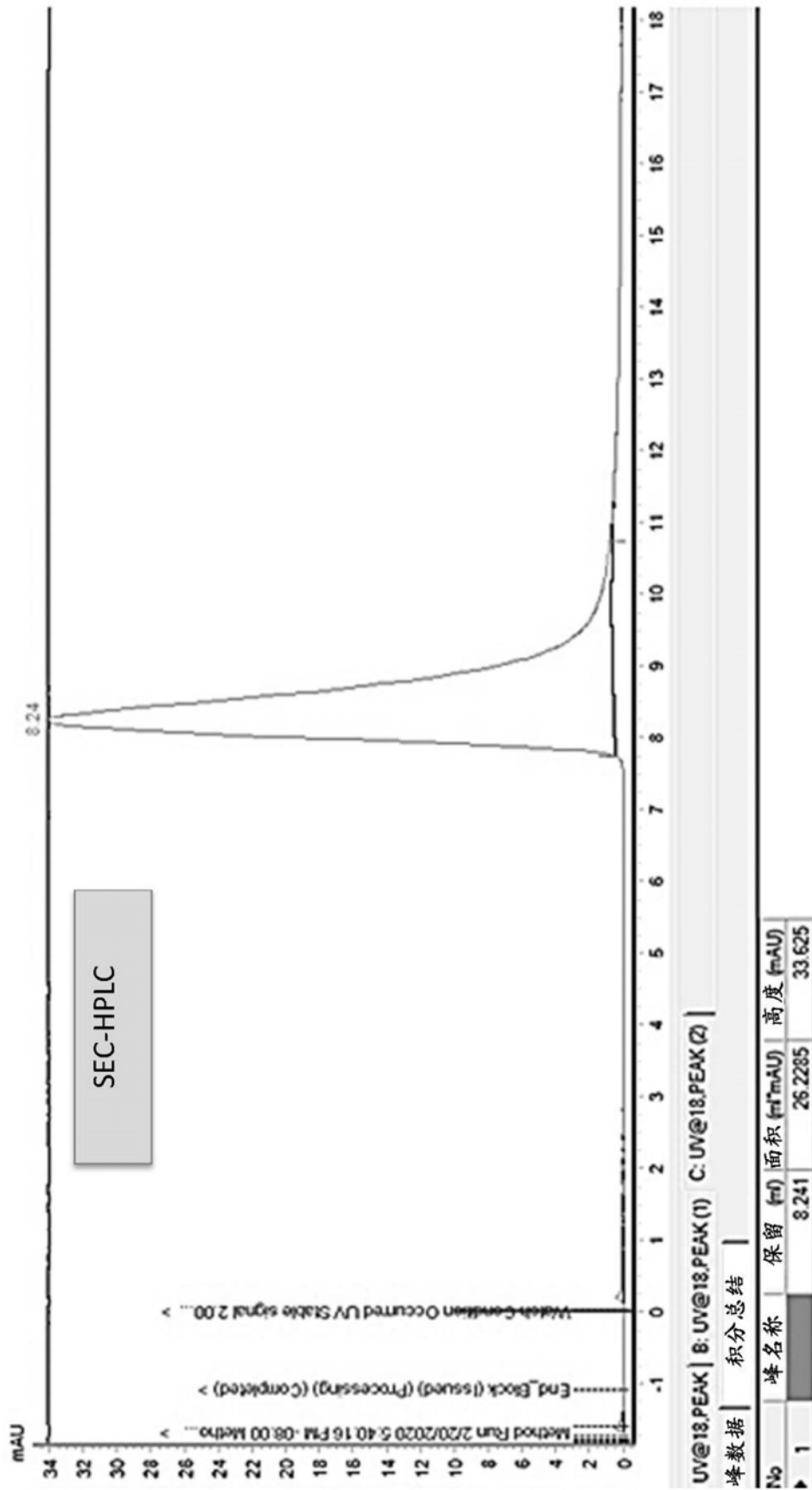


图24B

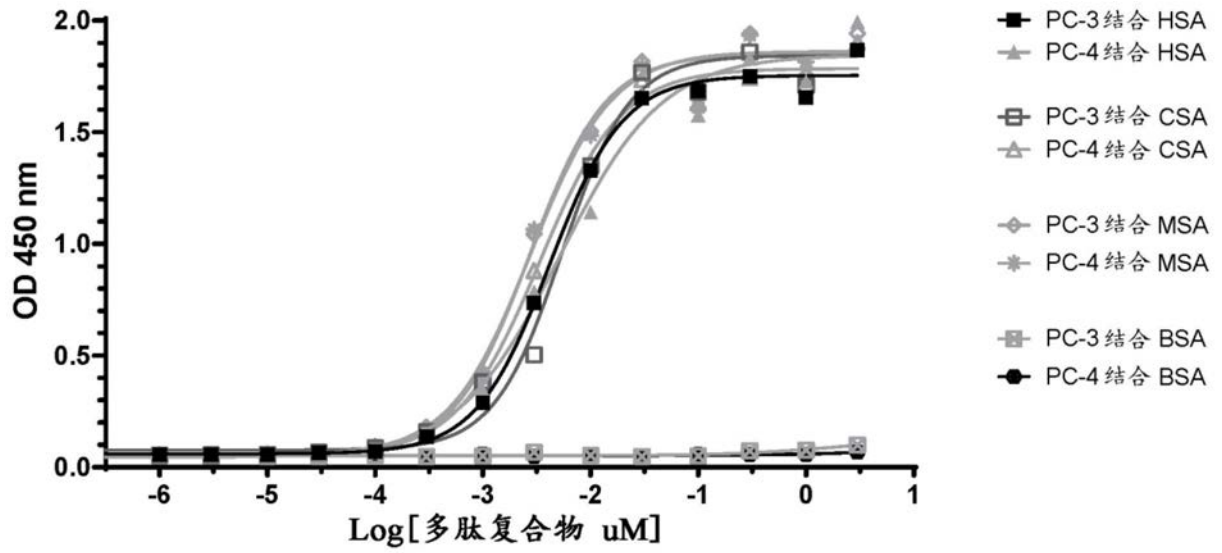


图25

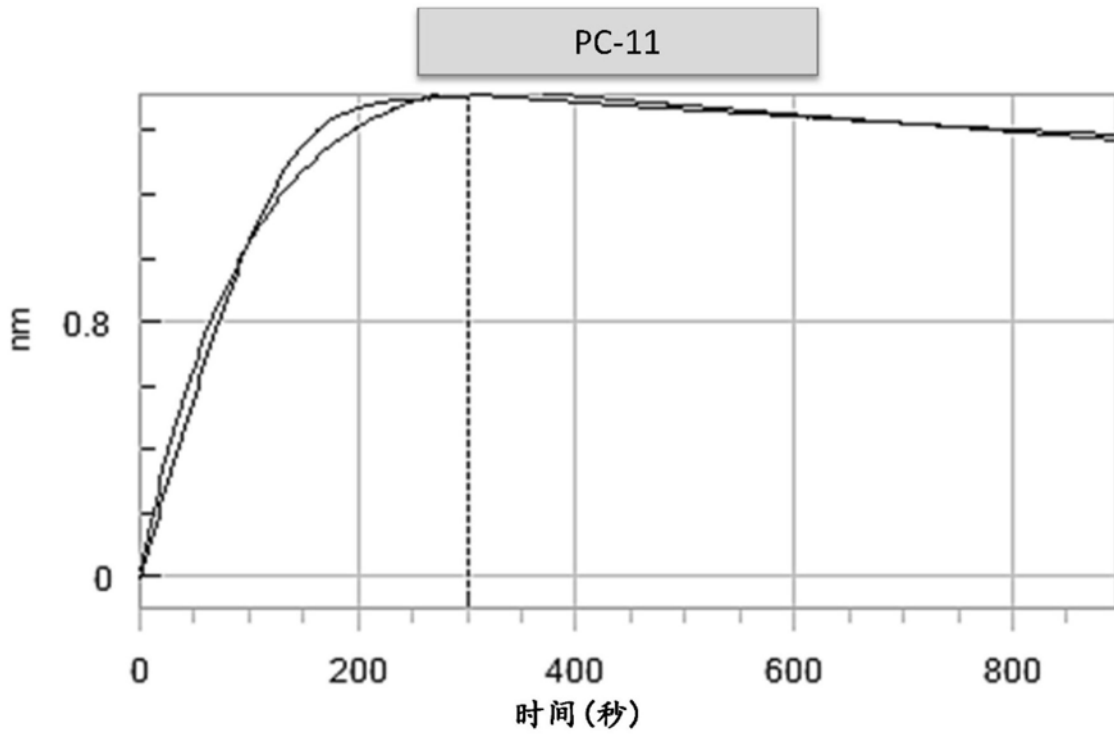


图26A

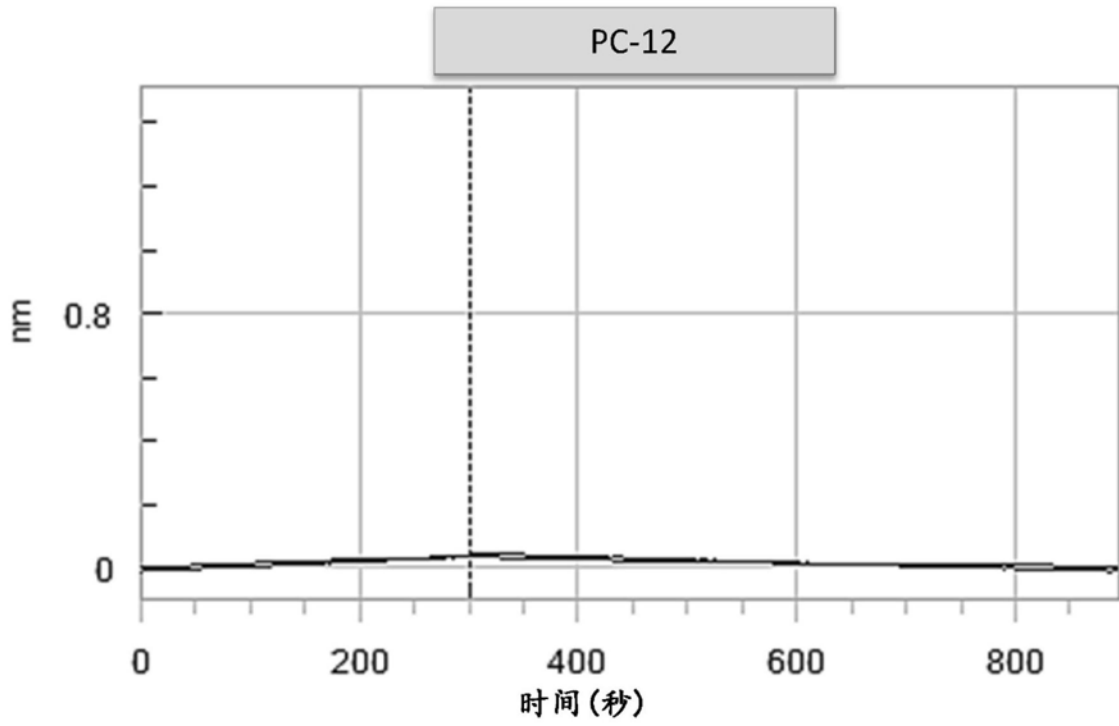


图26B

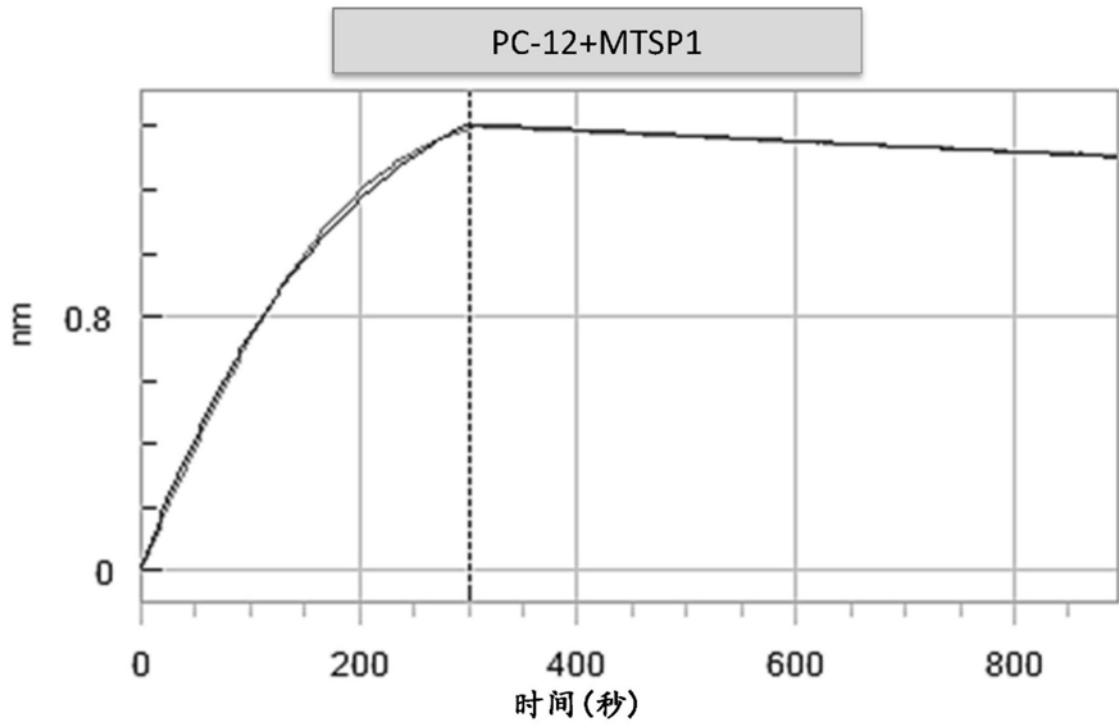


图26C

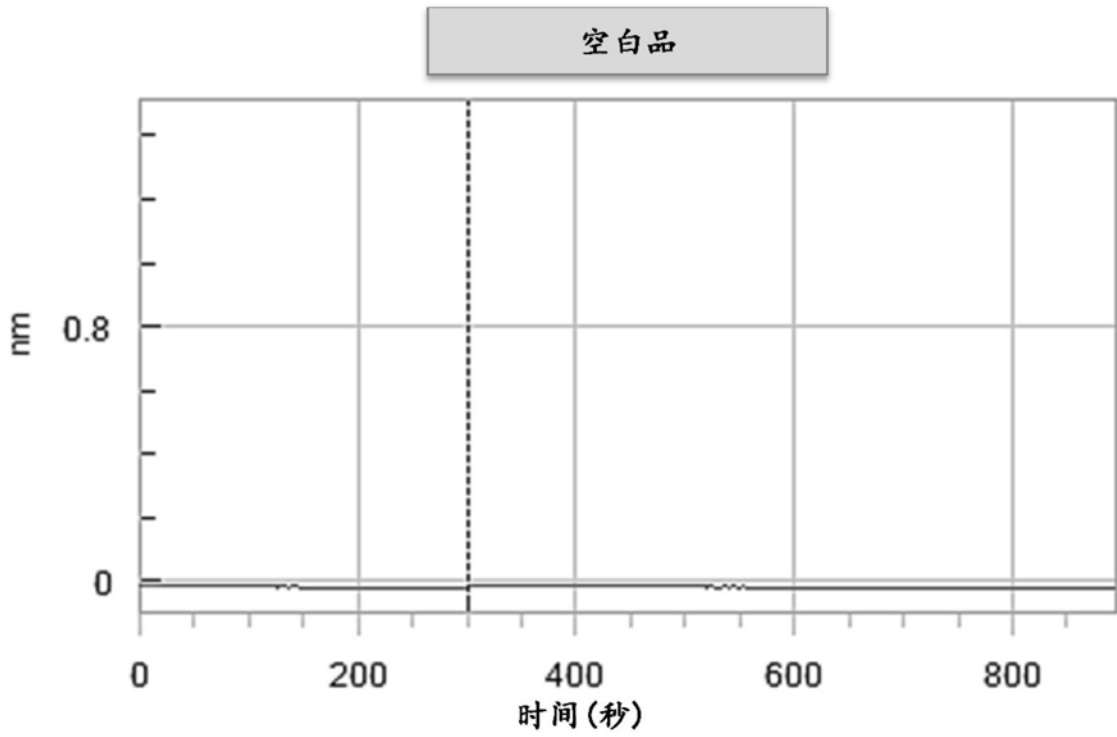


图26D

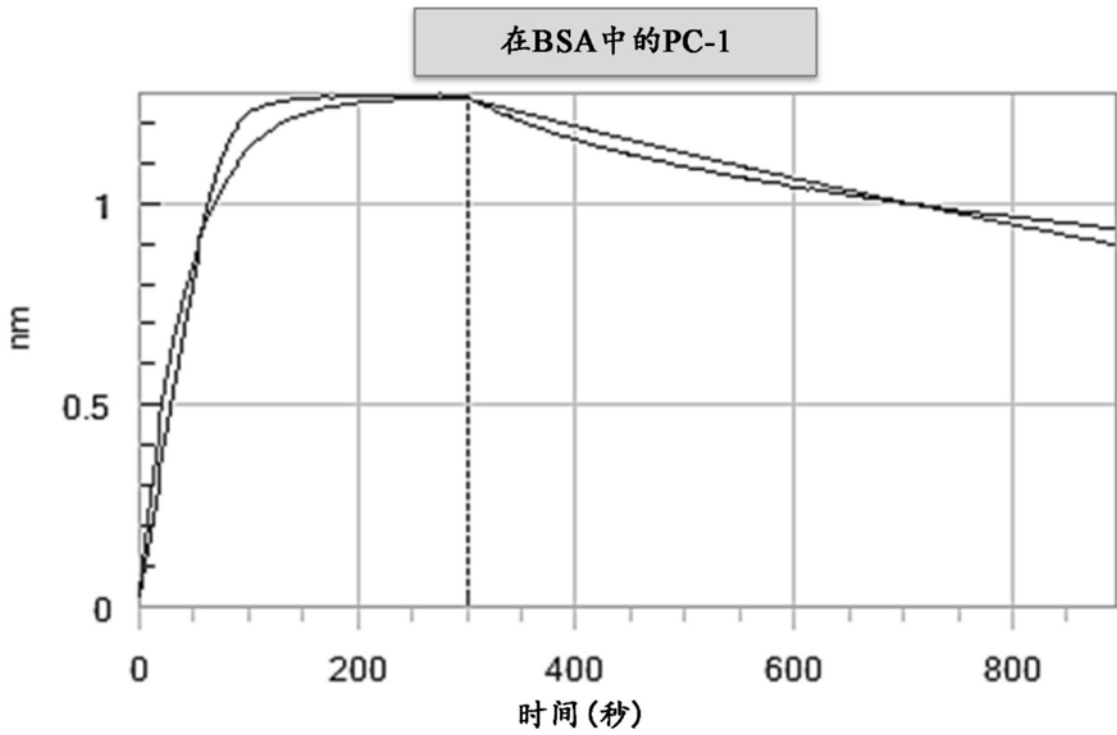


图27A

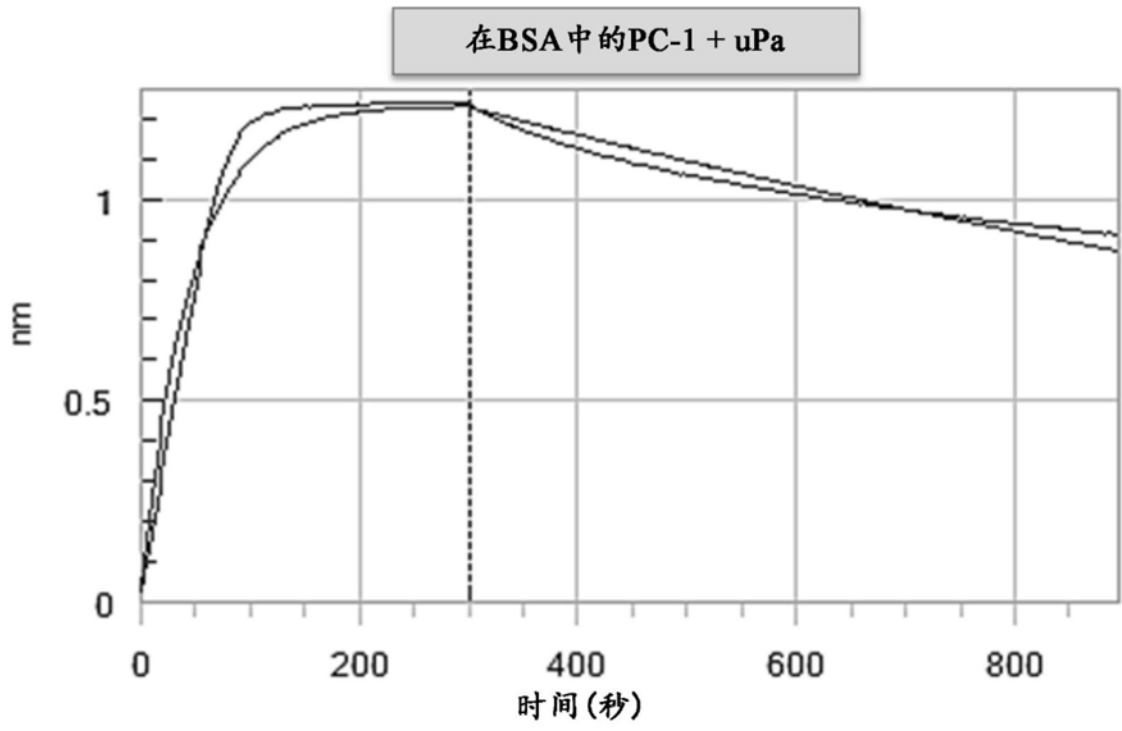


图27B

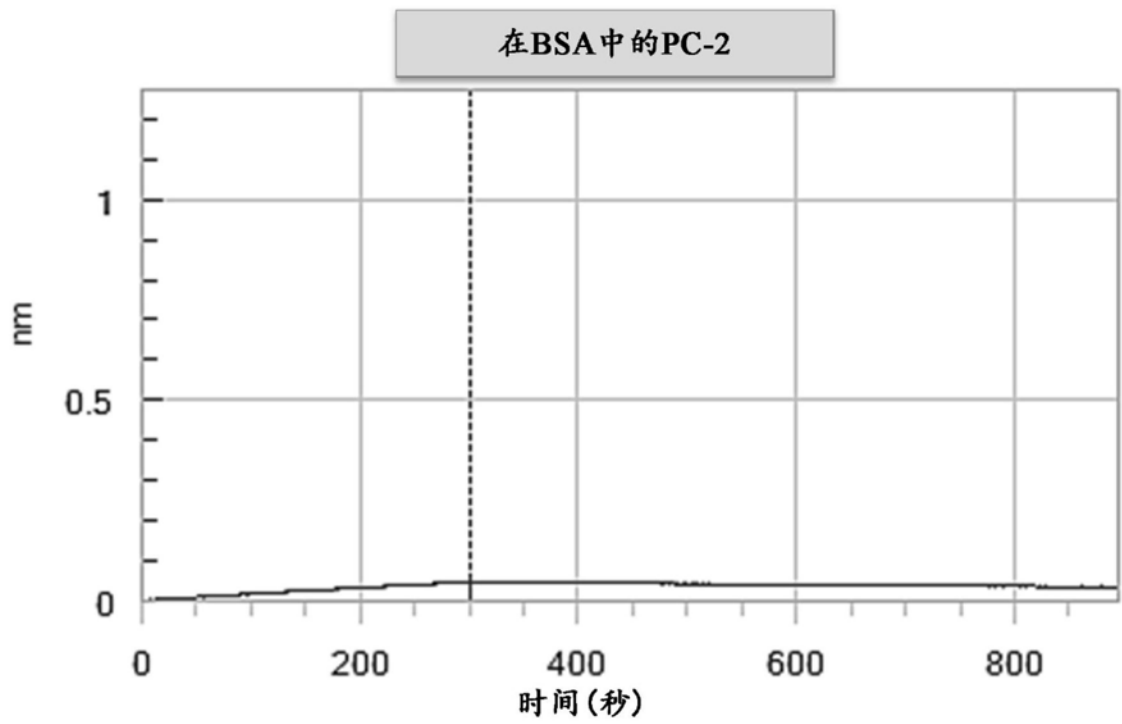


图27C

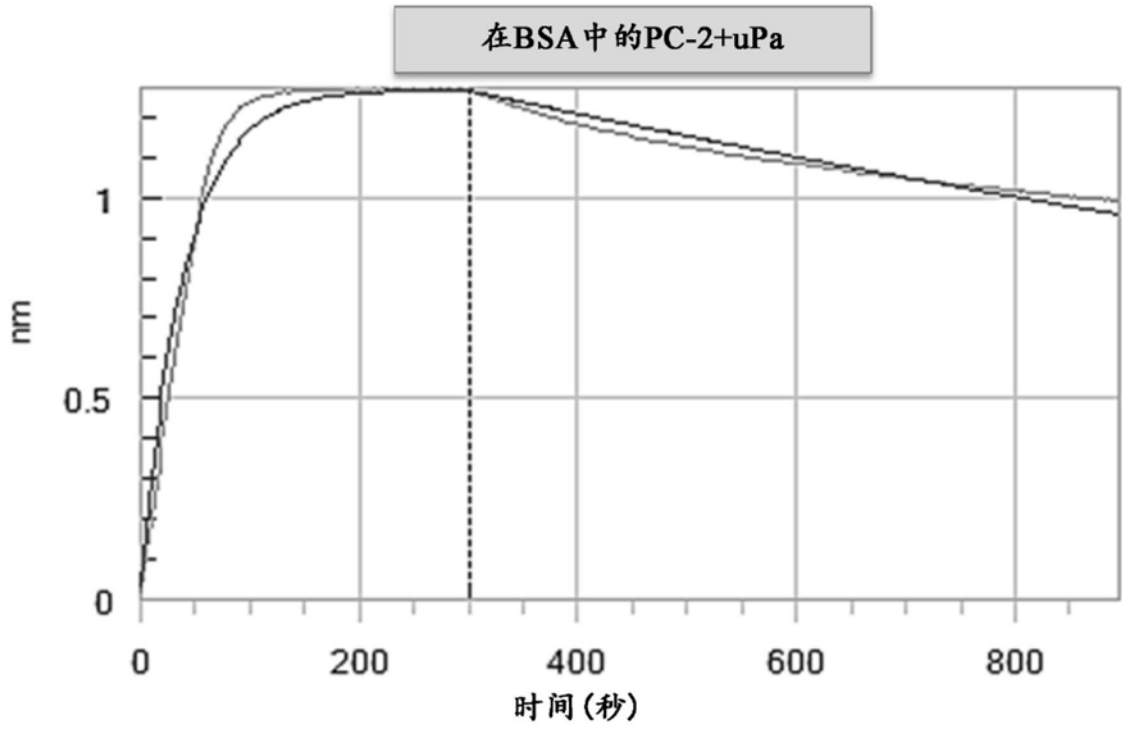


图27D

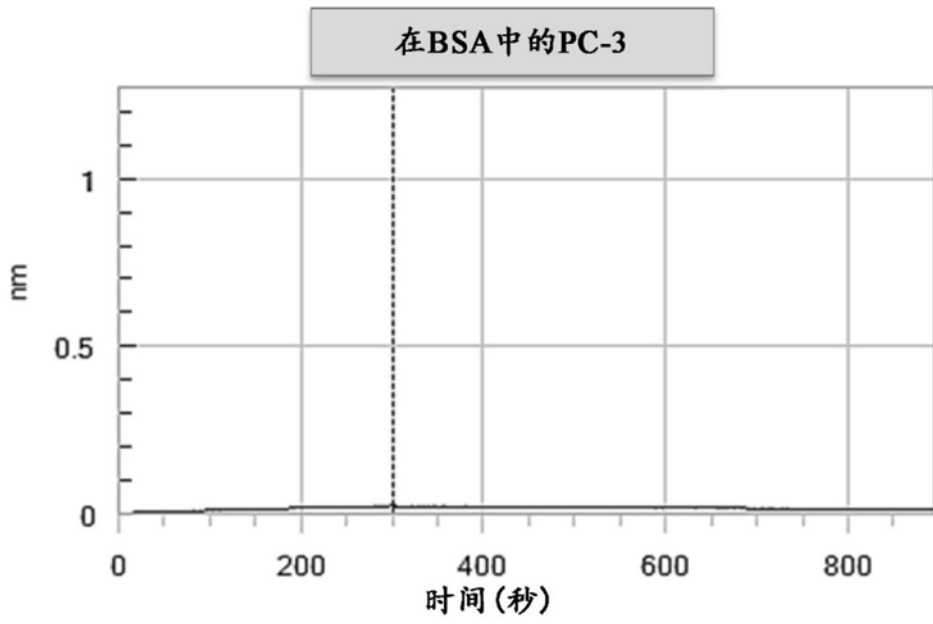


图27E

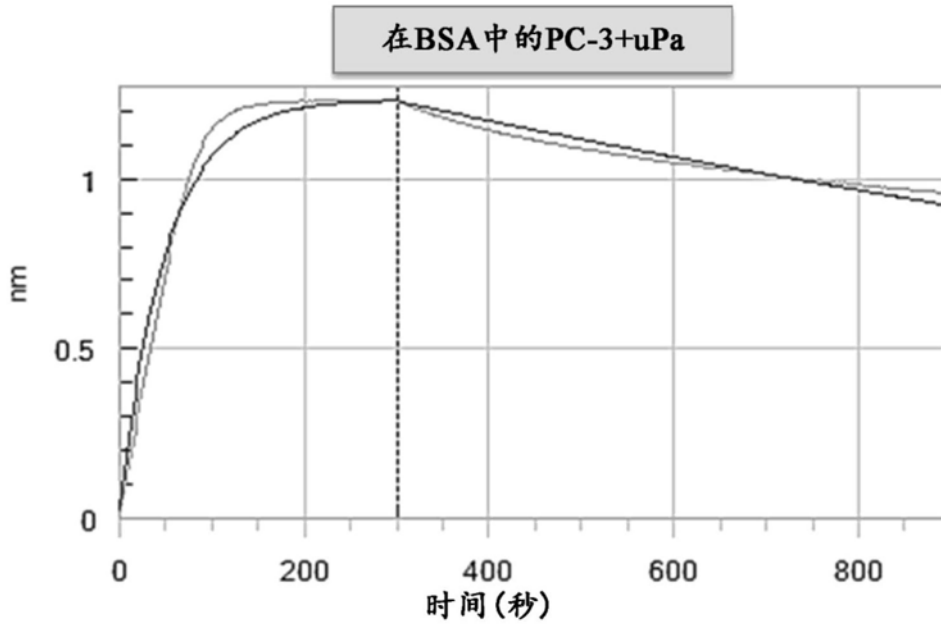


图27F

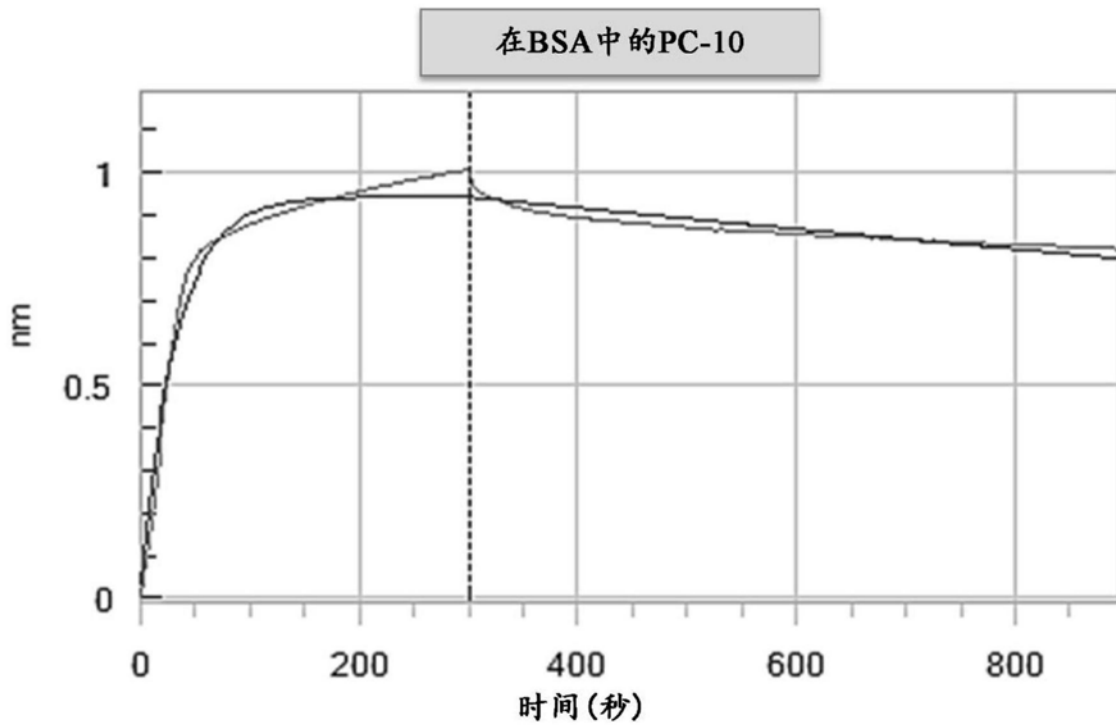


图27G

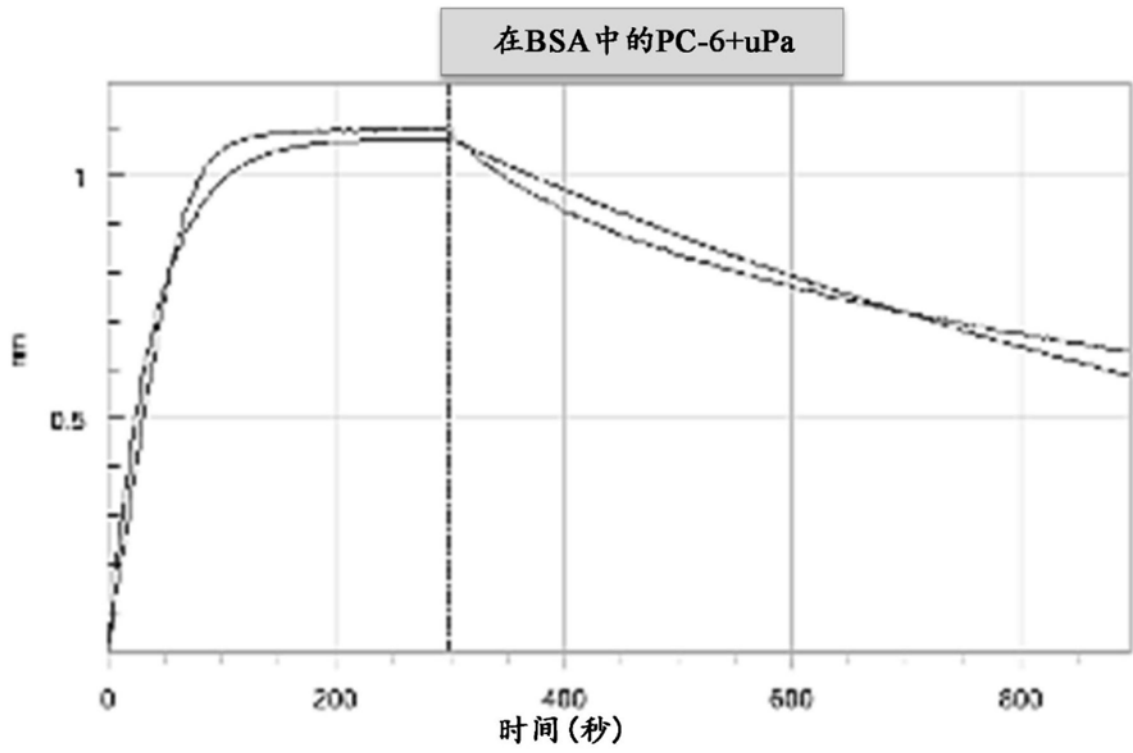


图27H

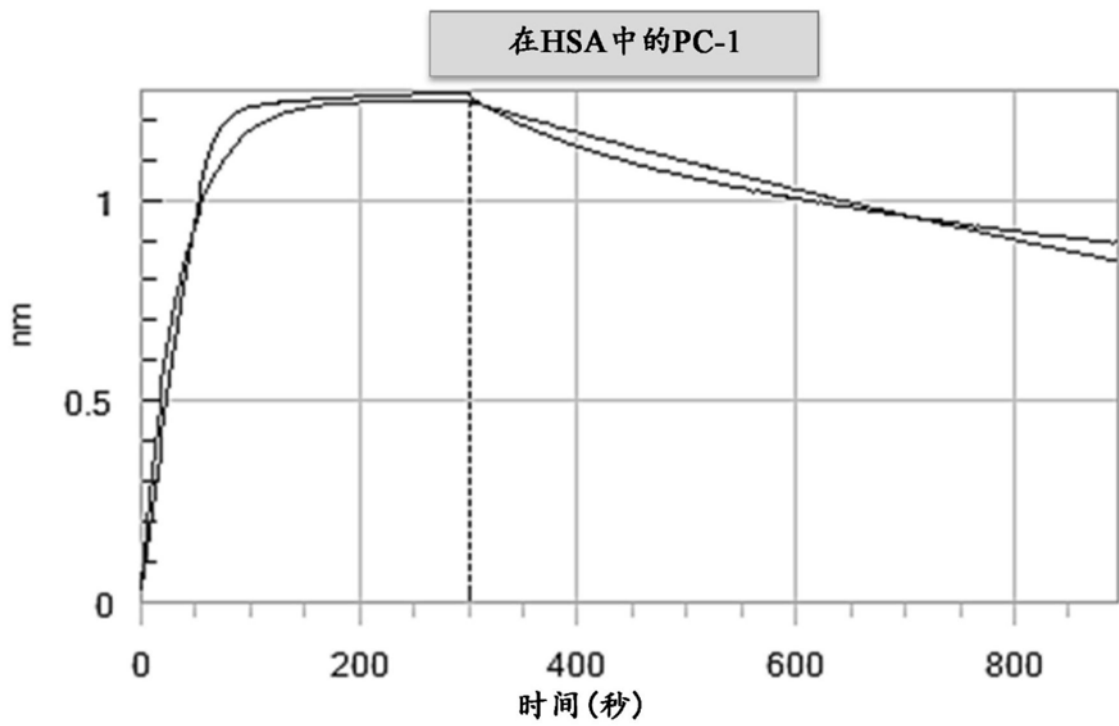


图28A

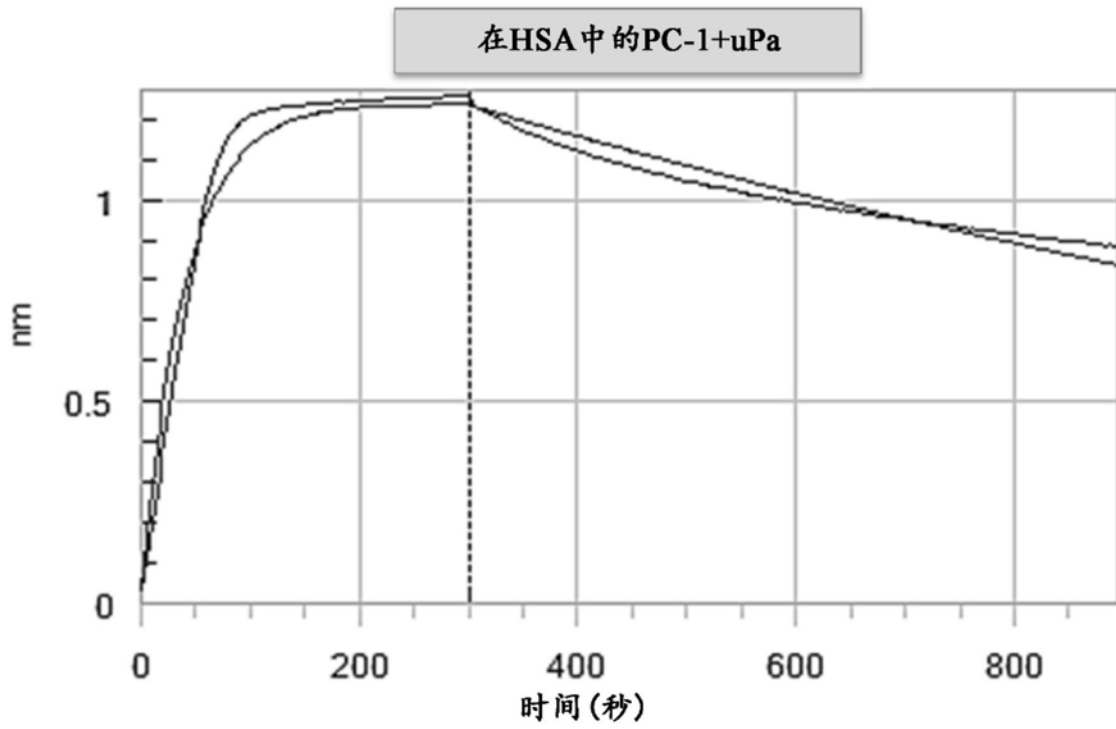


图28B

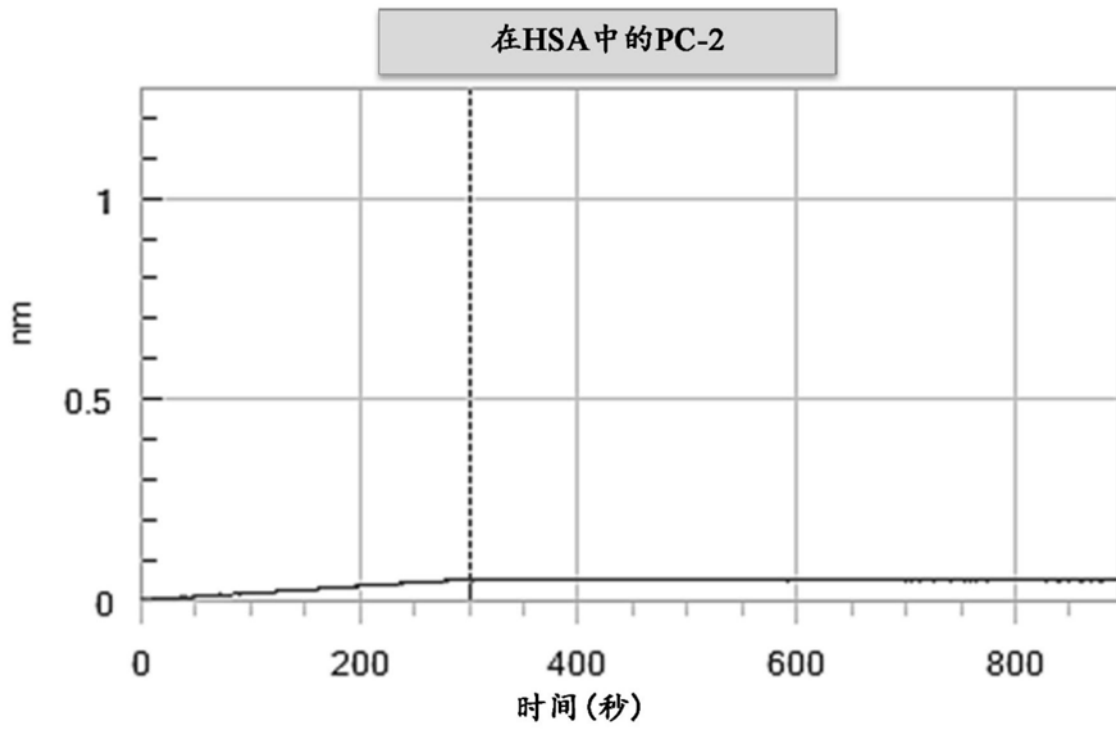


图28C

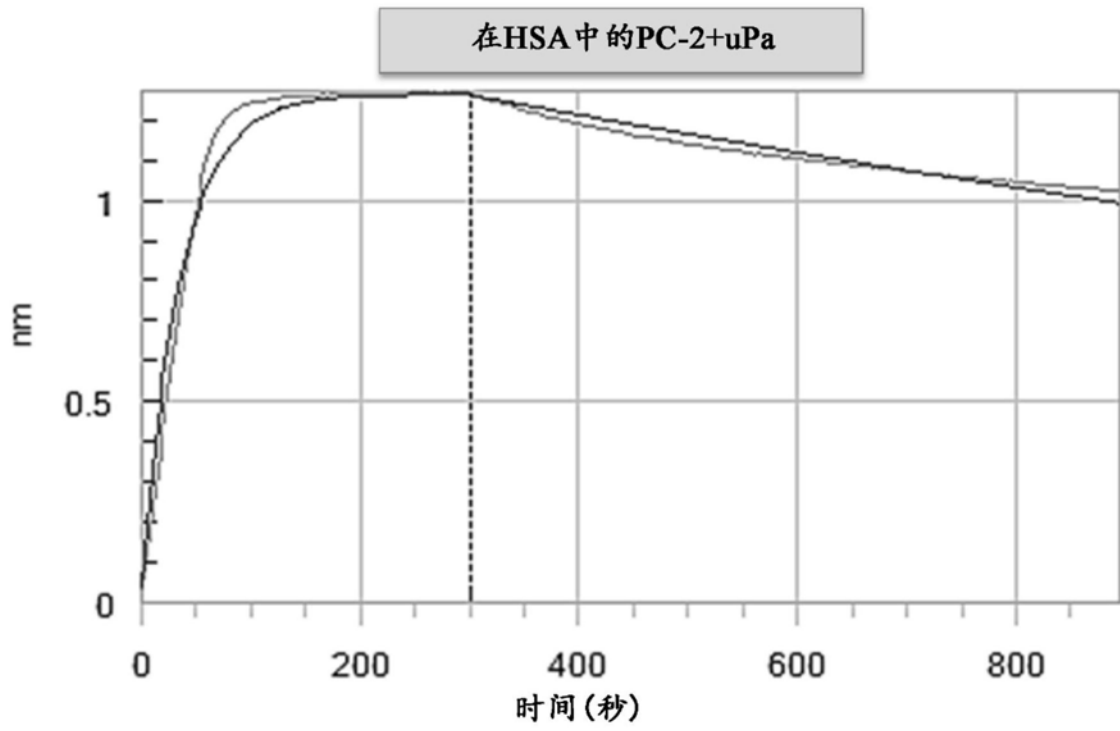


图28D

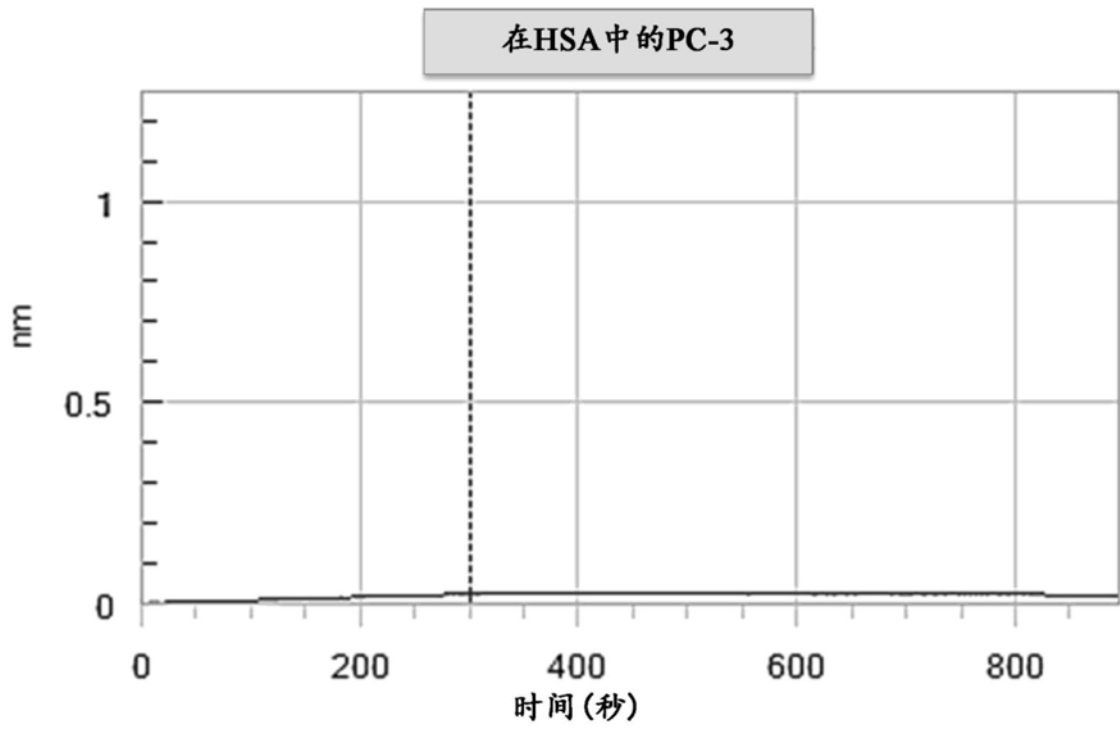


图28E

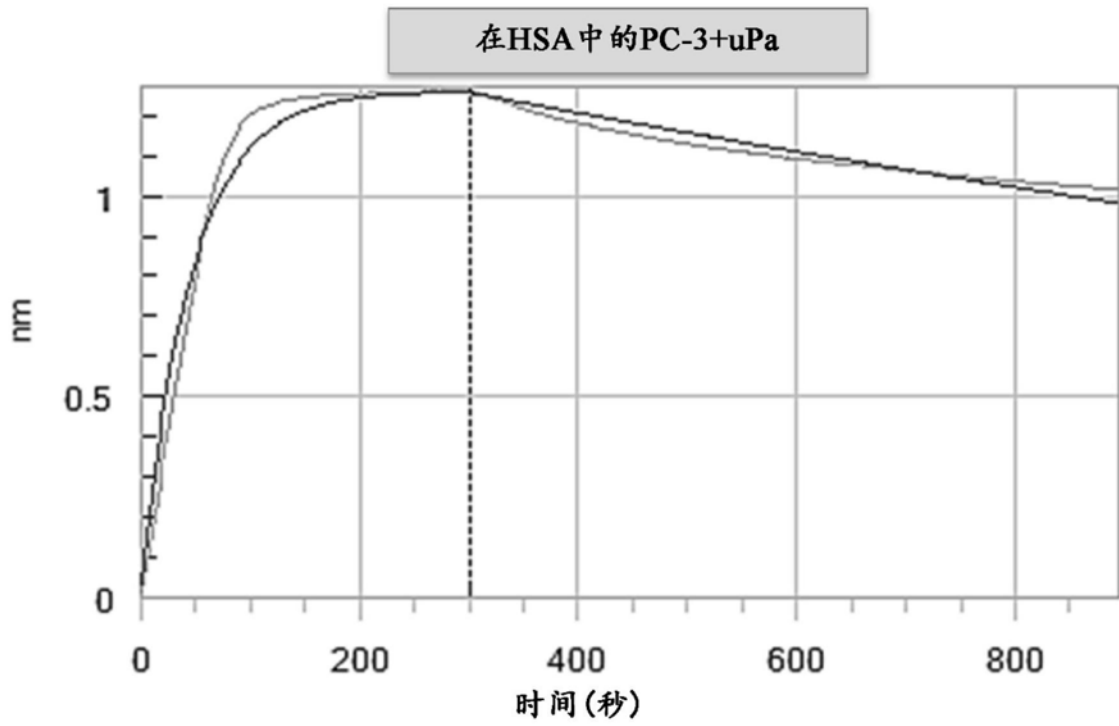


图28F

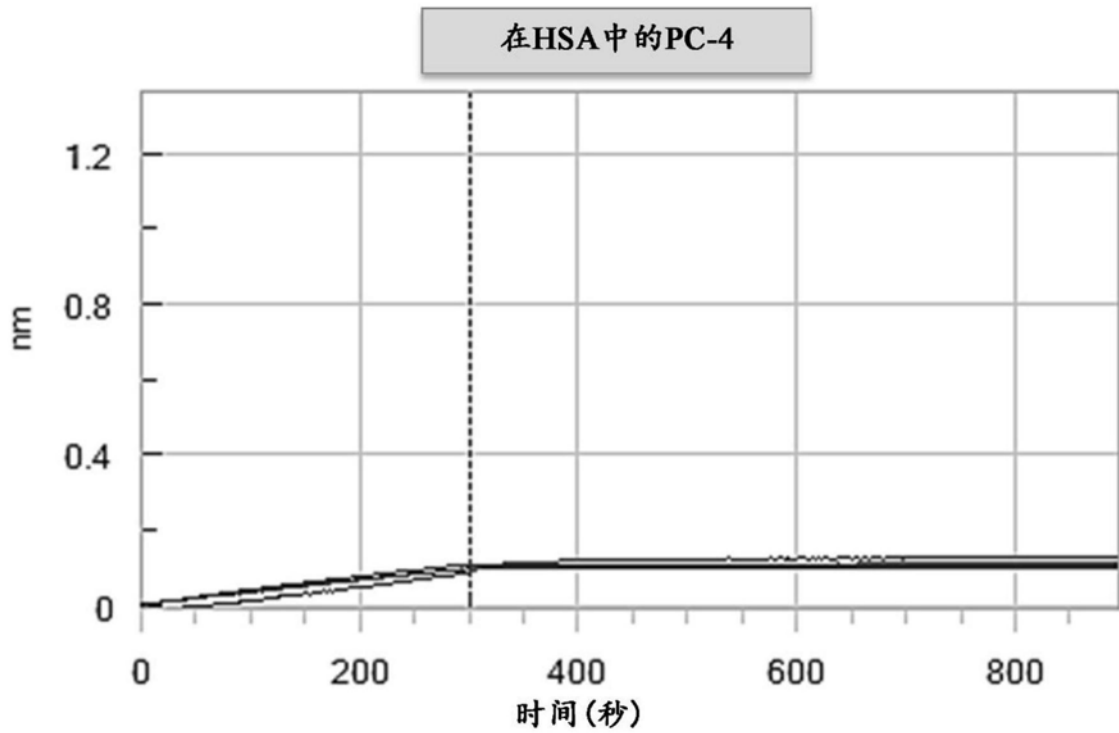


图28G

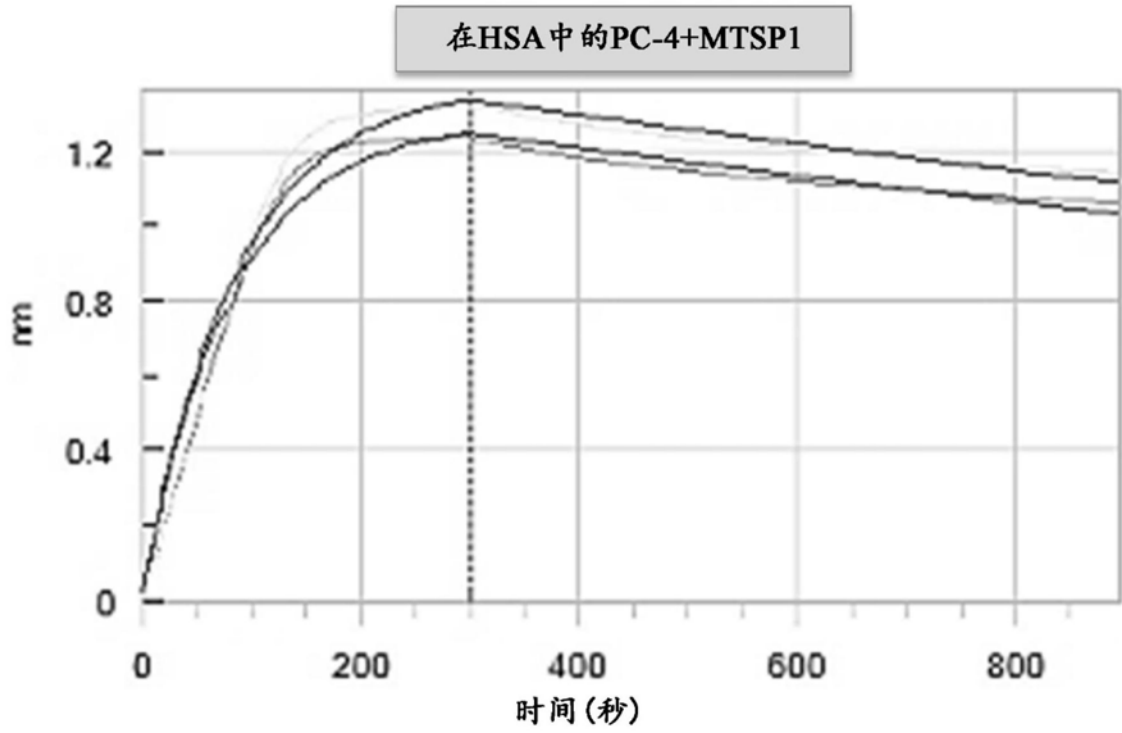


图28H

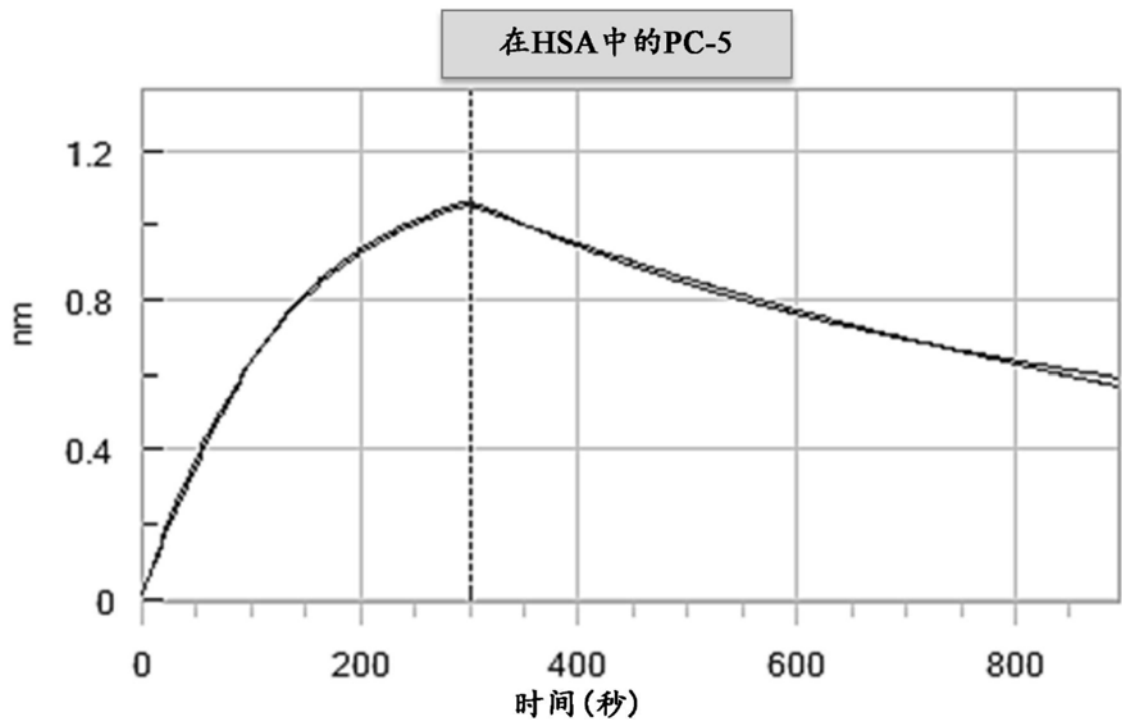


图28I

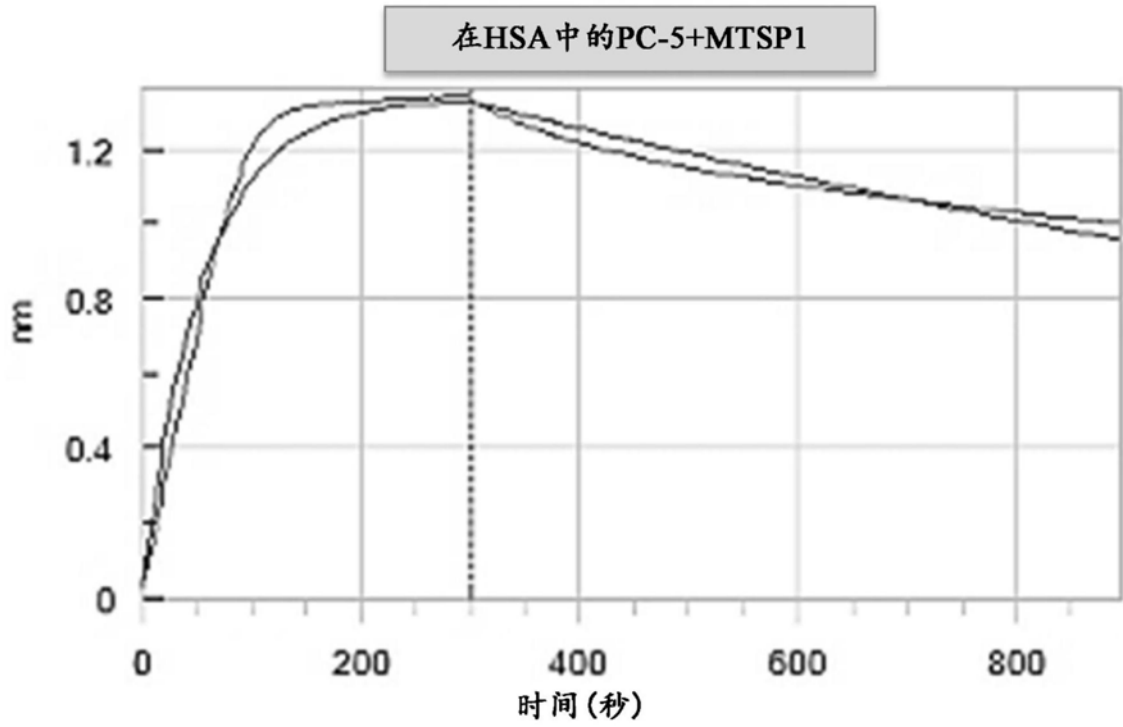


图28J

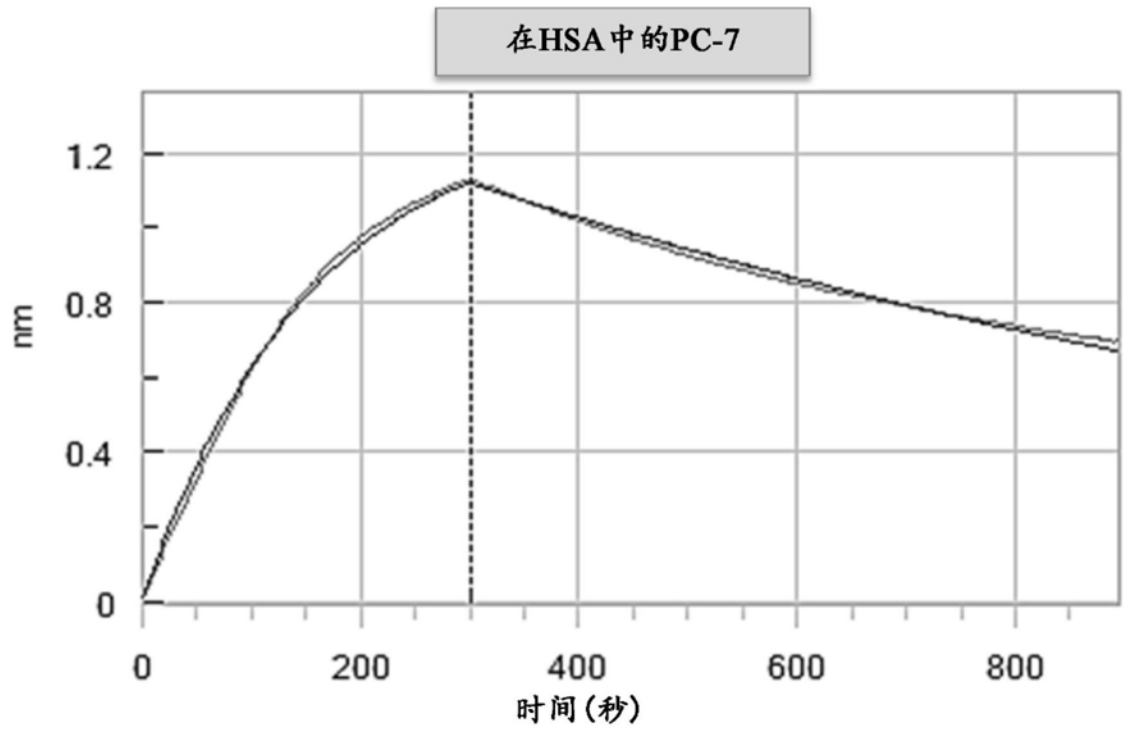


图28K

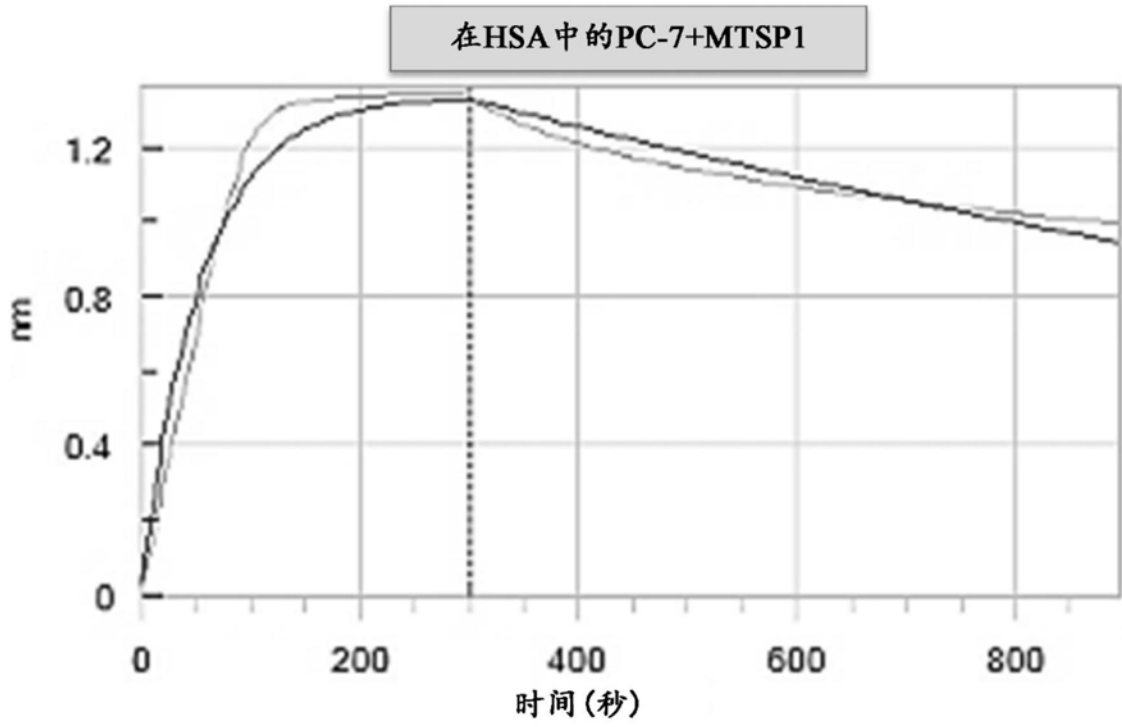


图28L

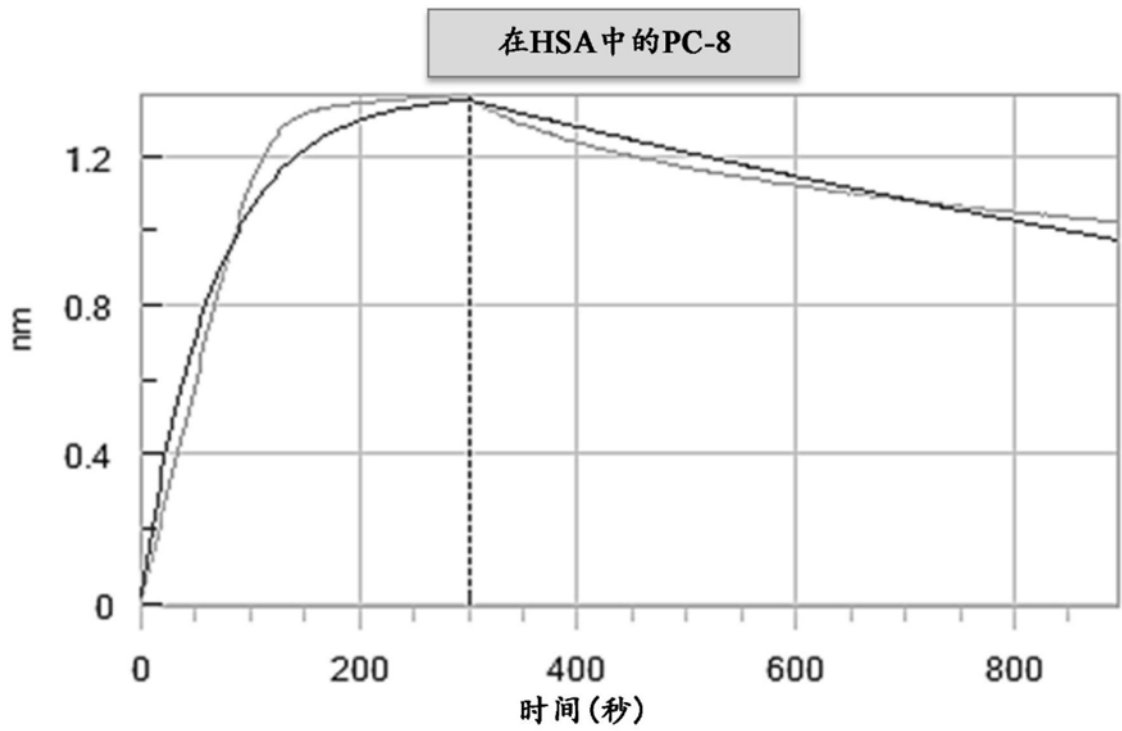


图28M

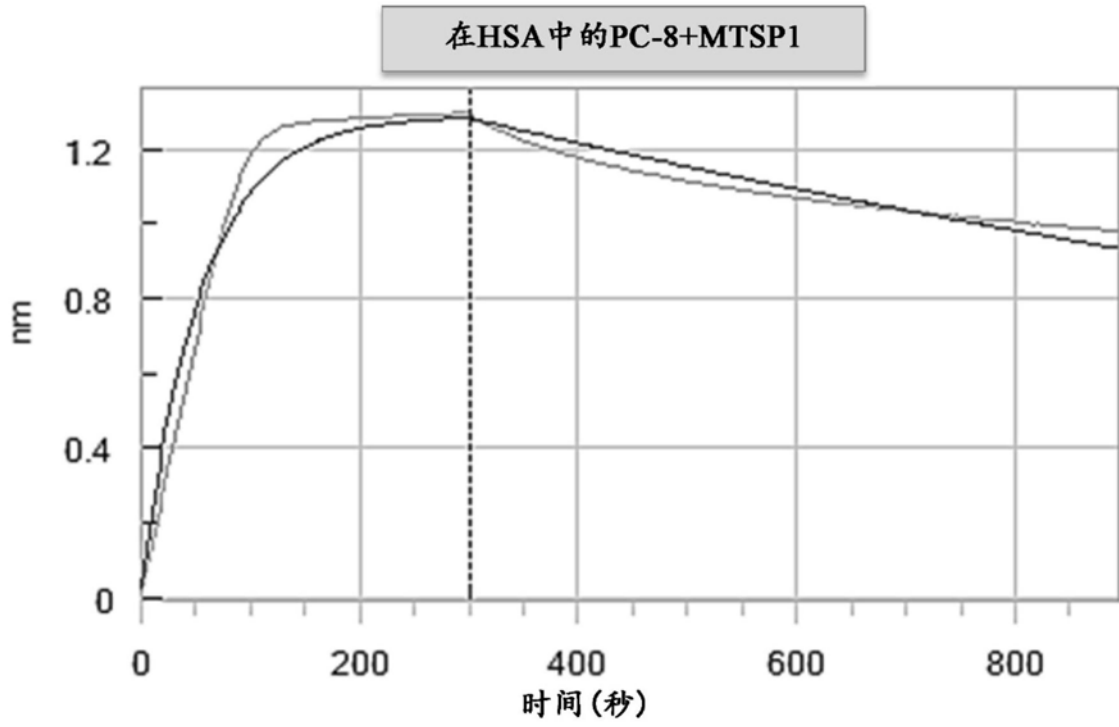


图28N

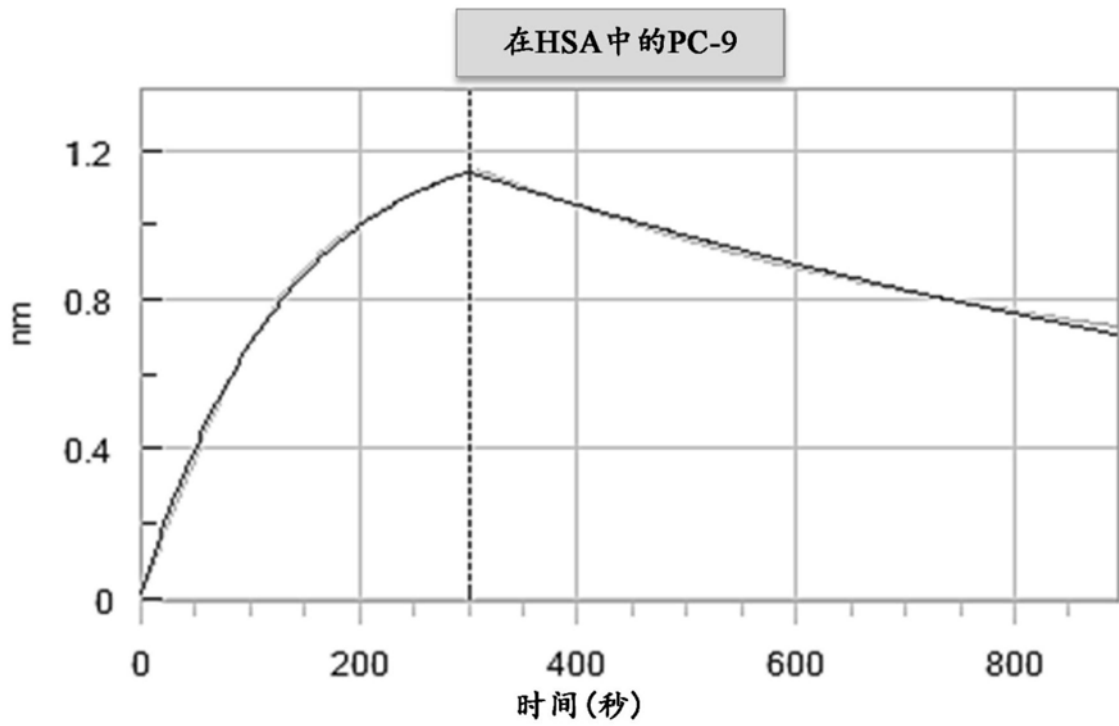


图280

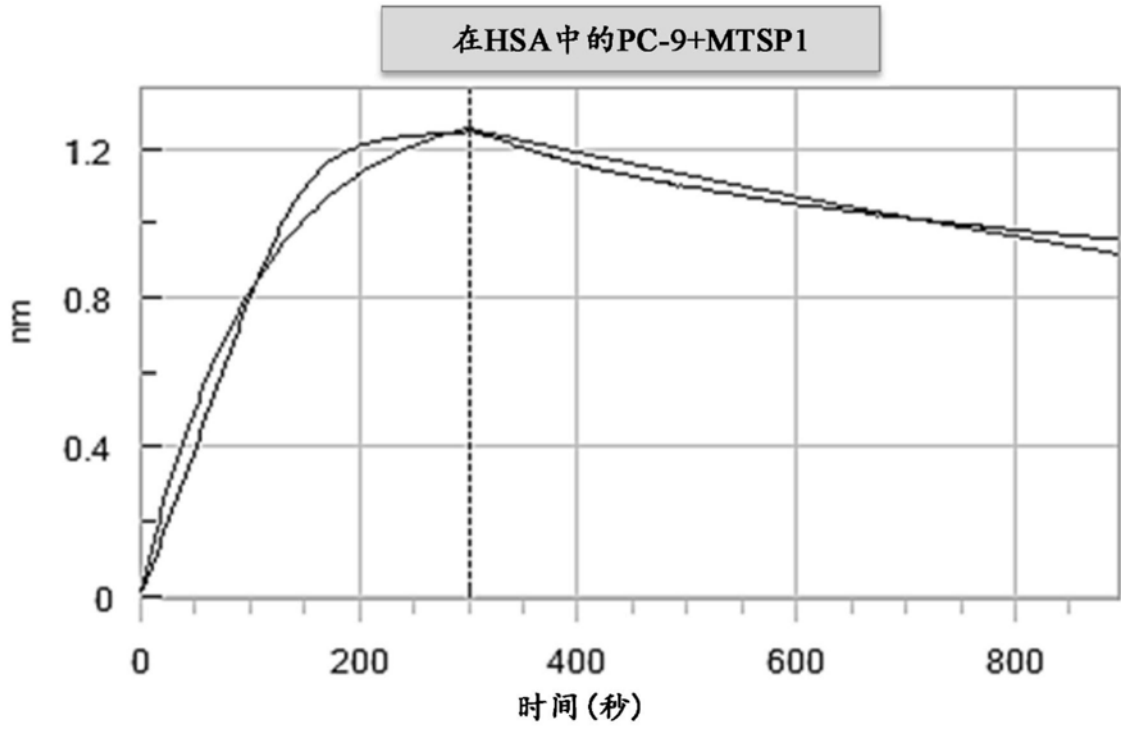


图28P

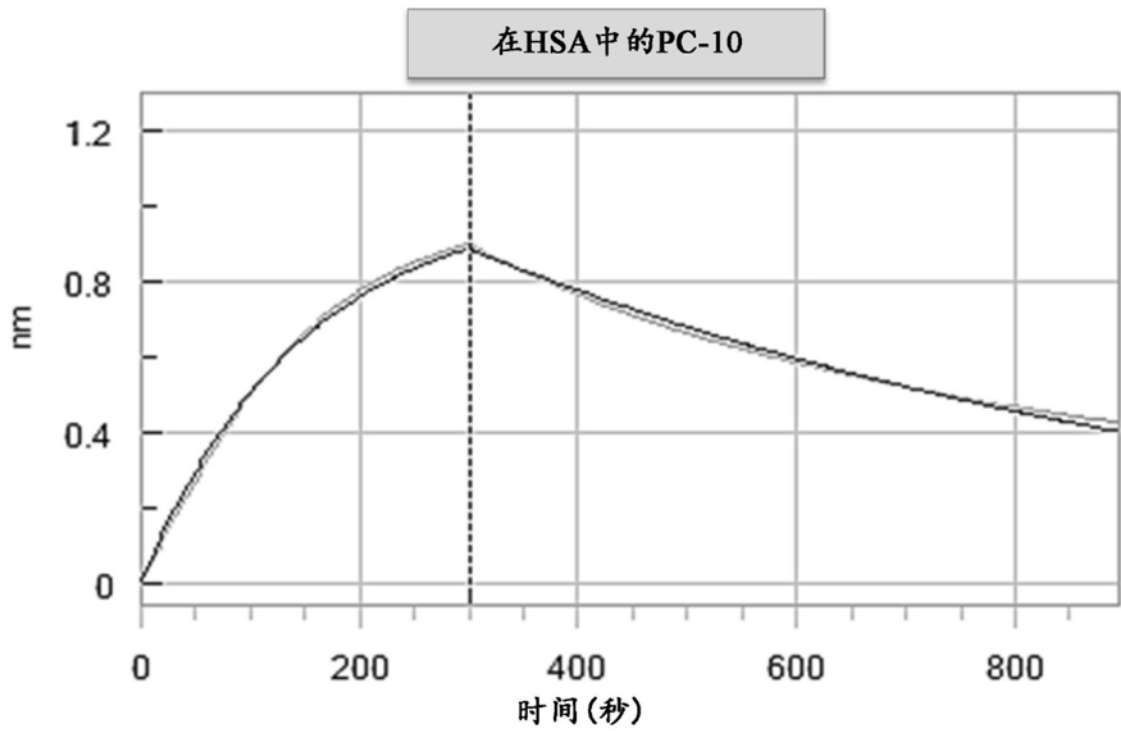


图28Q

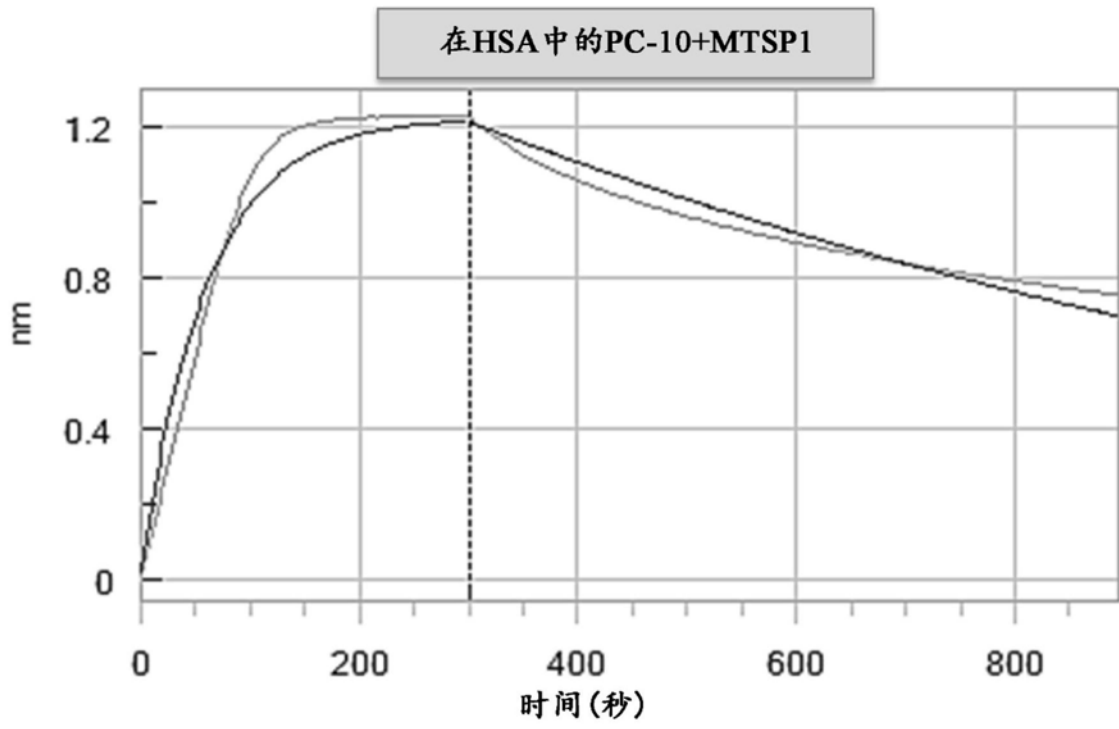


图28R

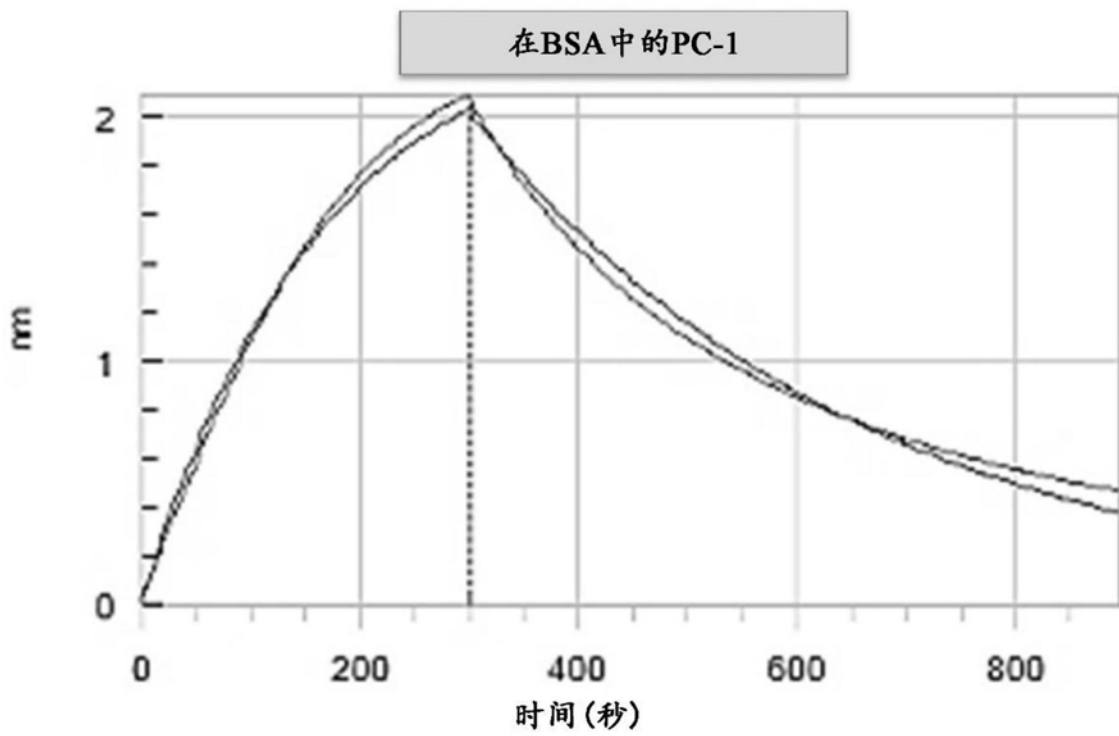


图29A

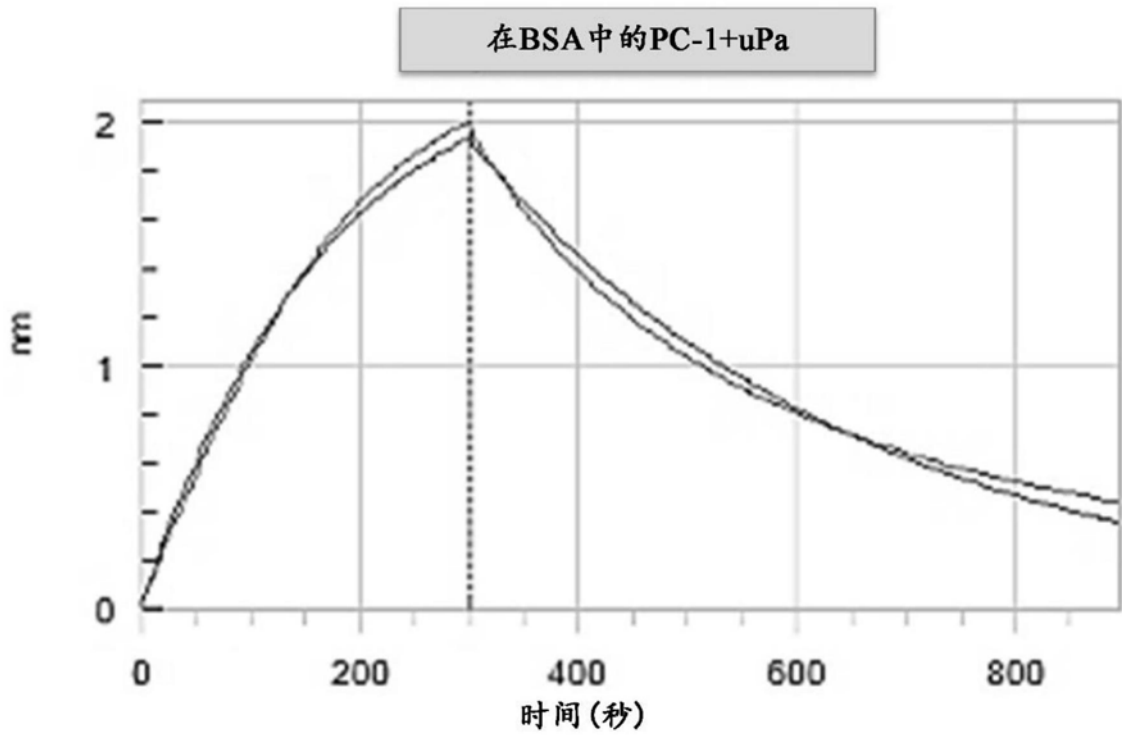


图29B

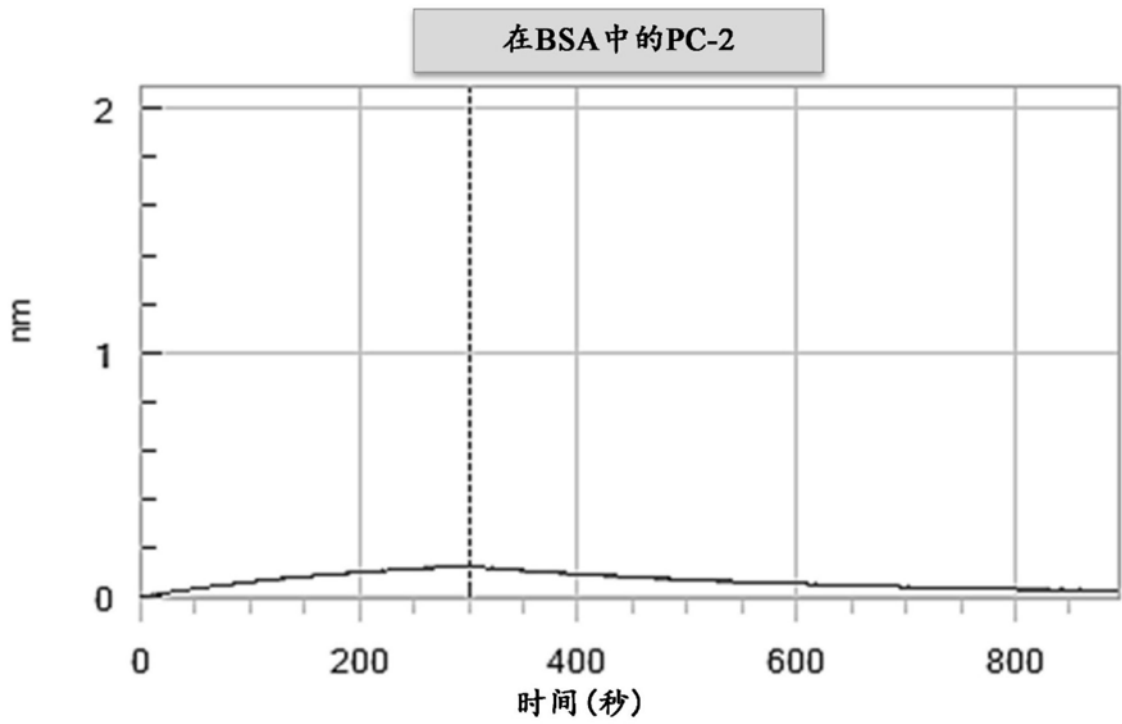


图29C

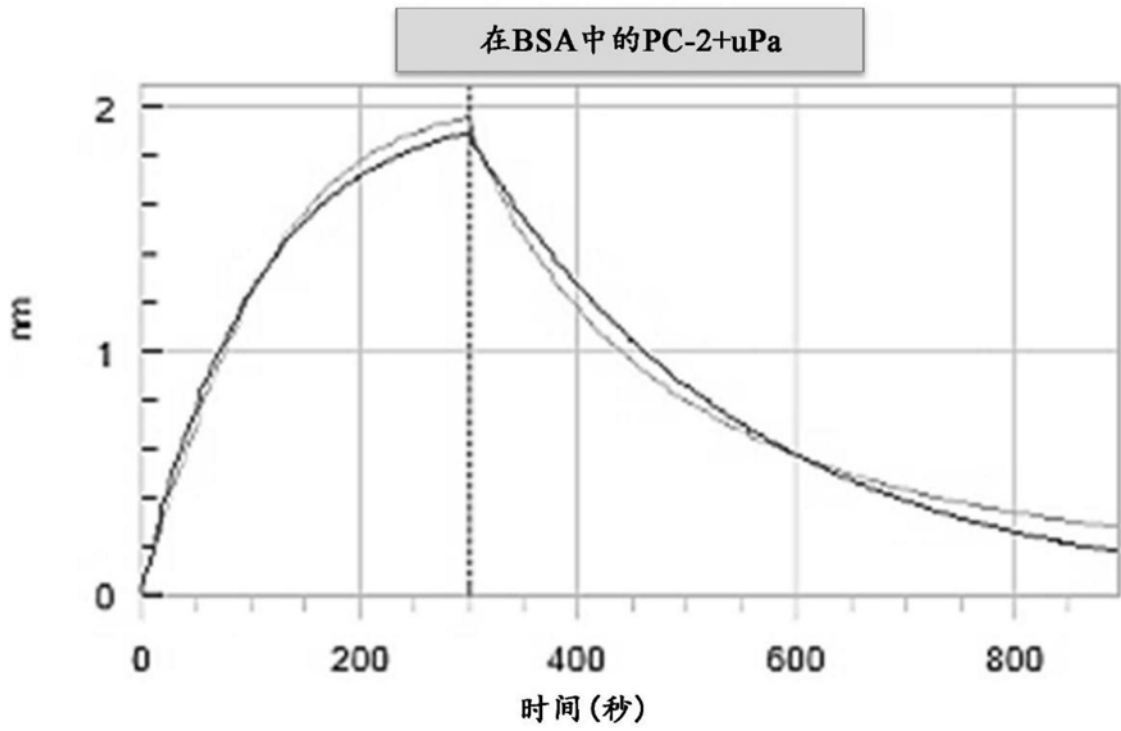


图29D

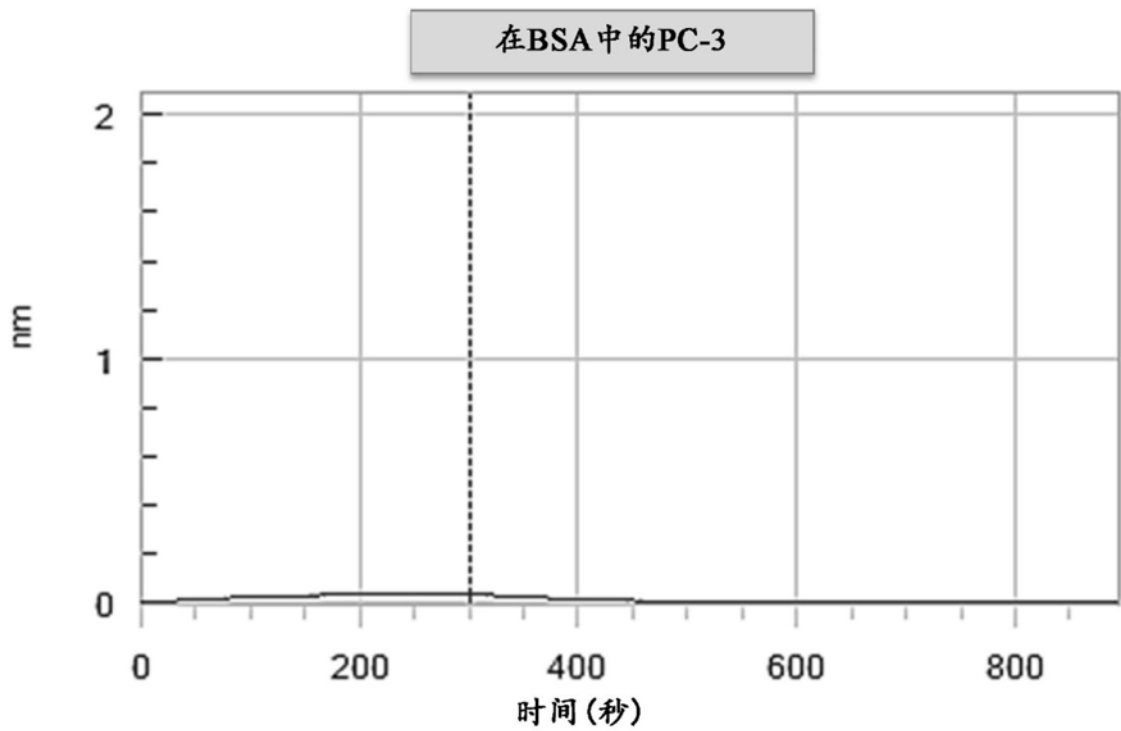


图29E

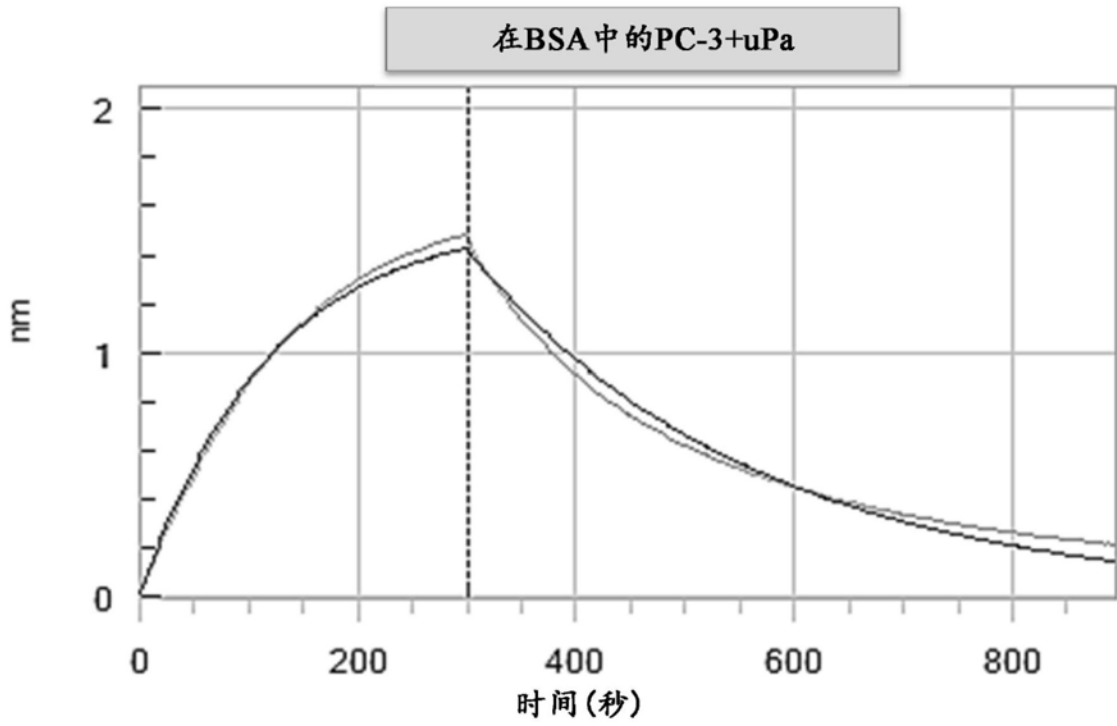


图29F

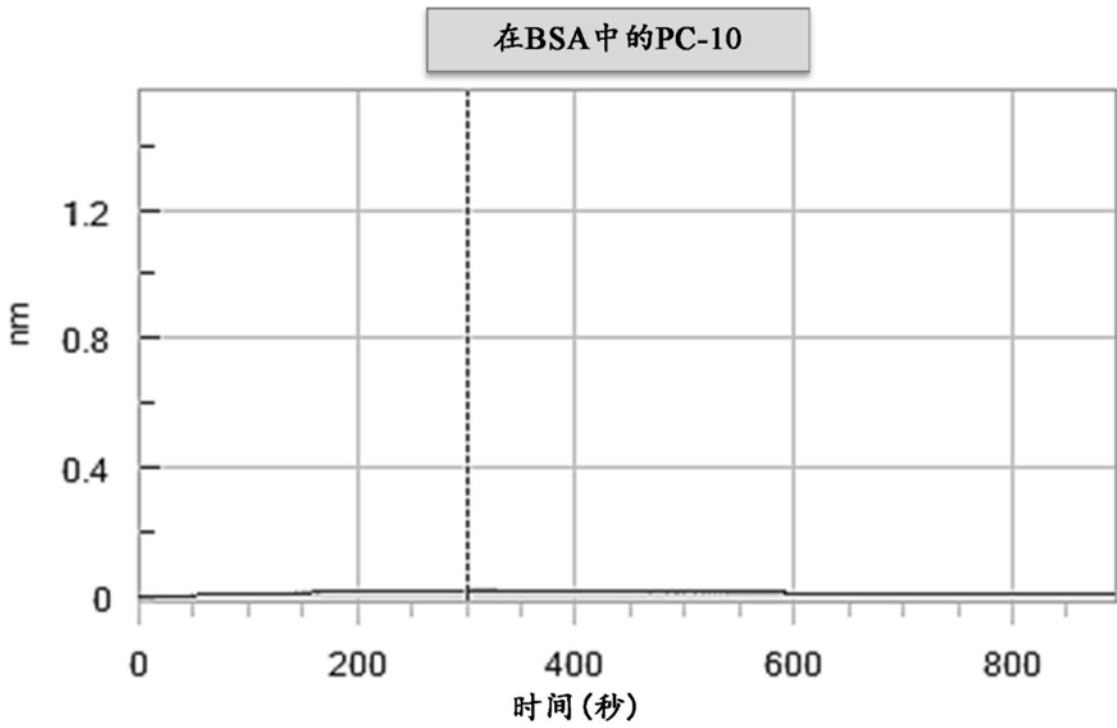


图29G

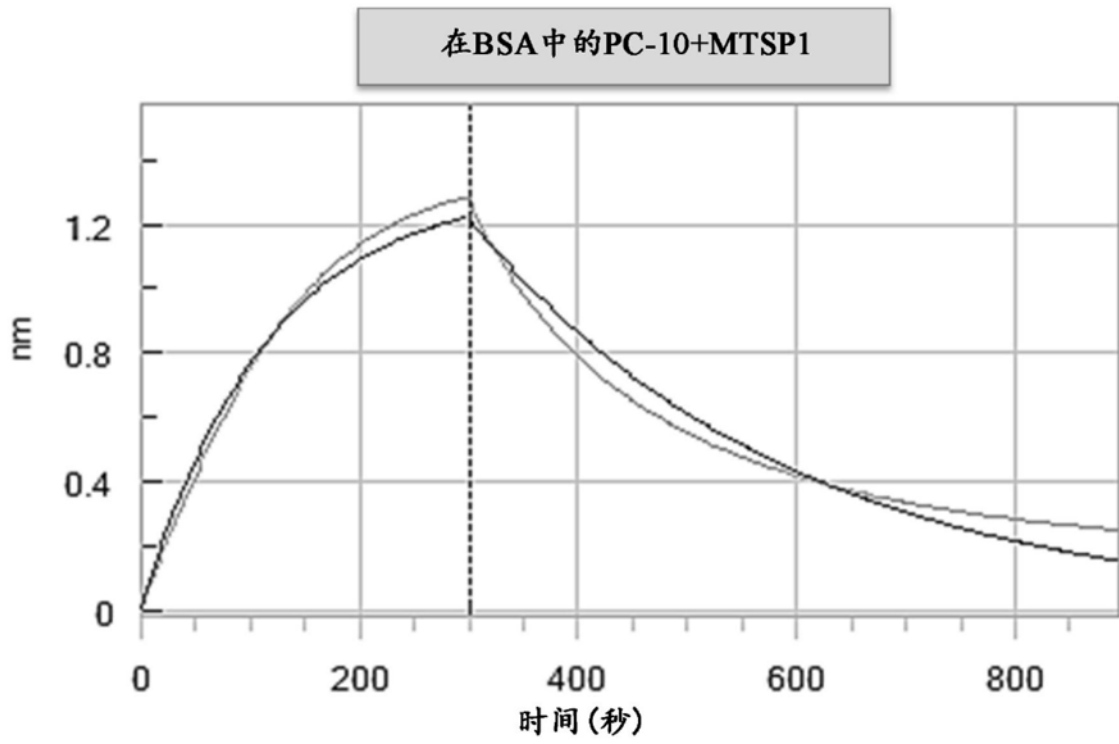


图29H

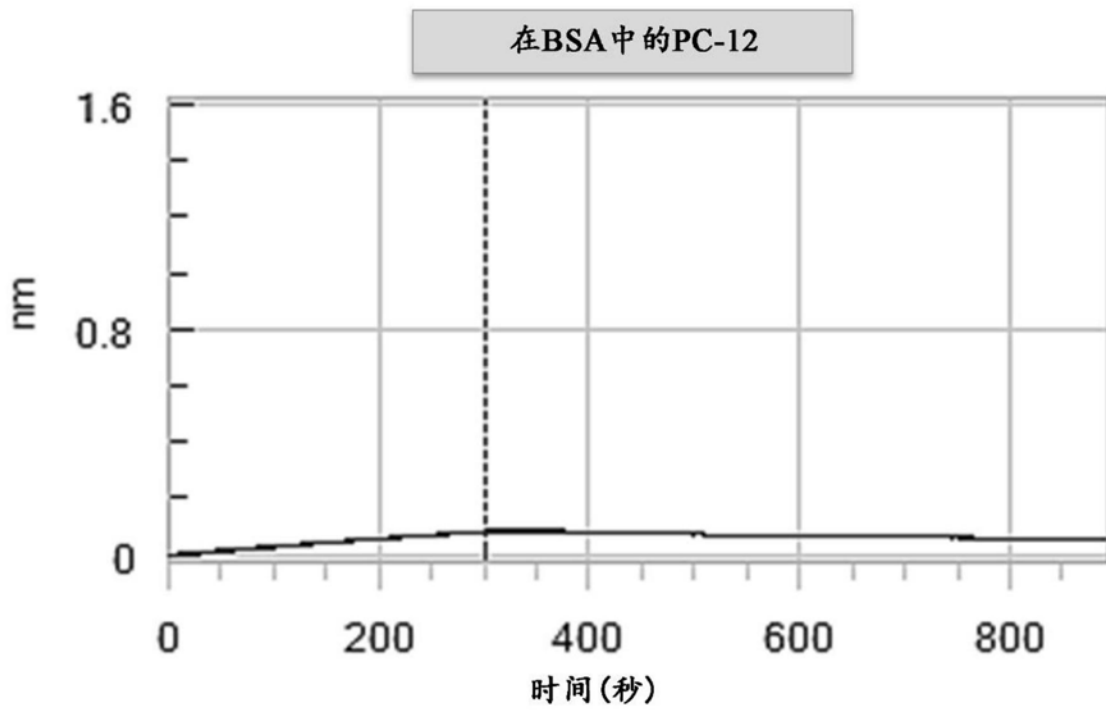


图29I

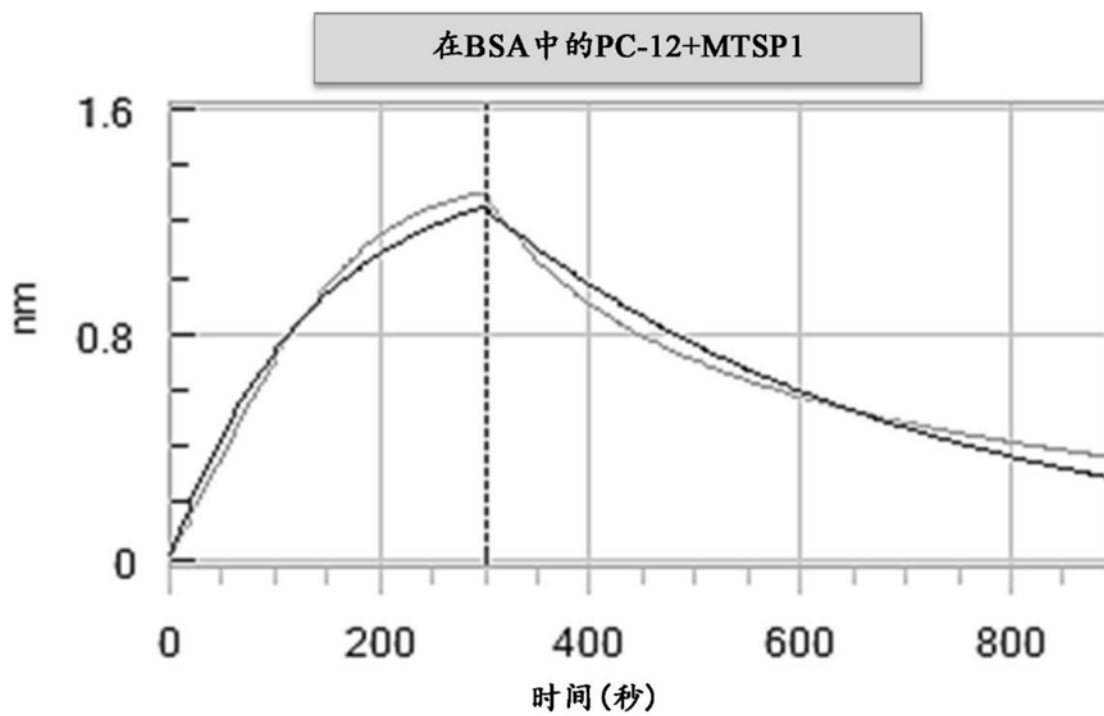


图29J

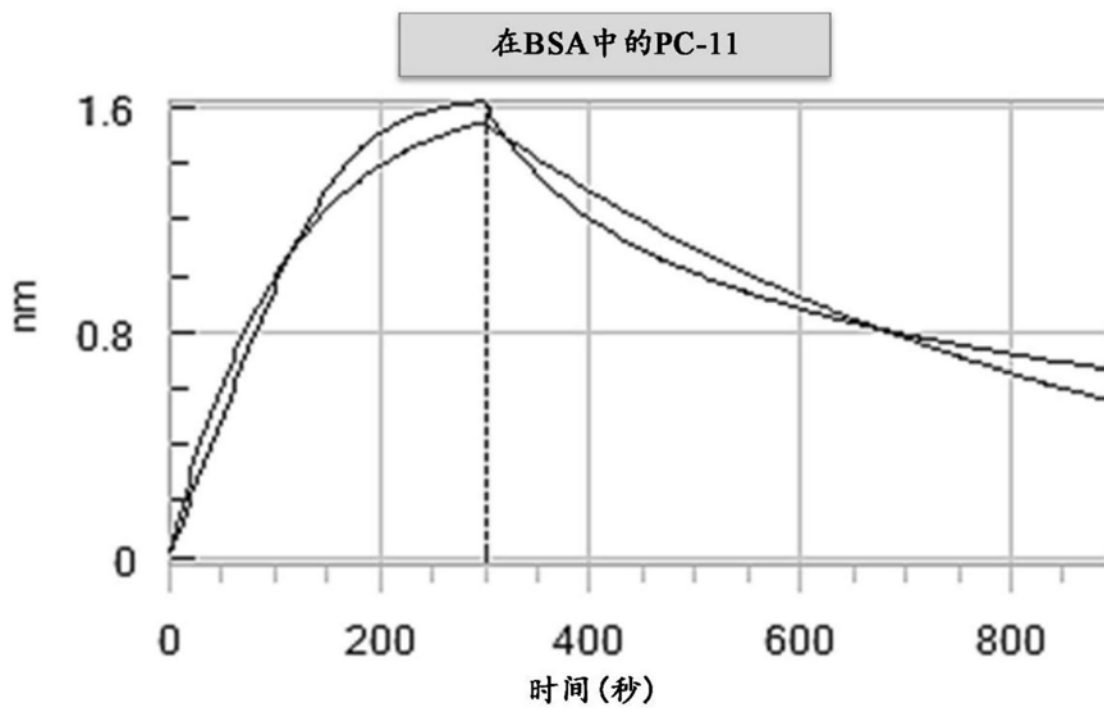


图29K

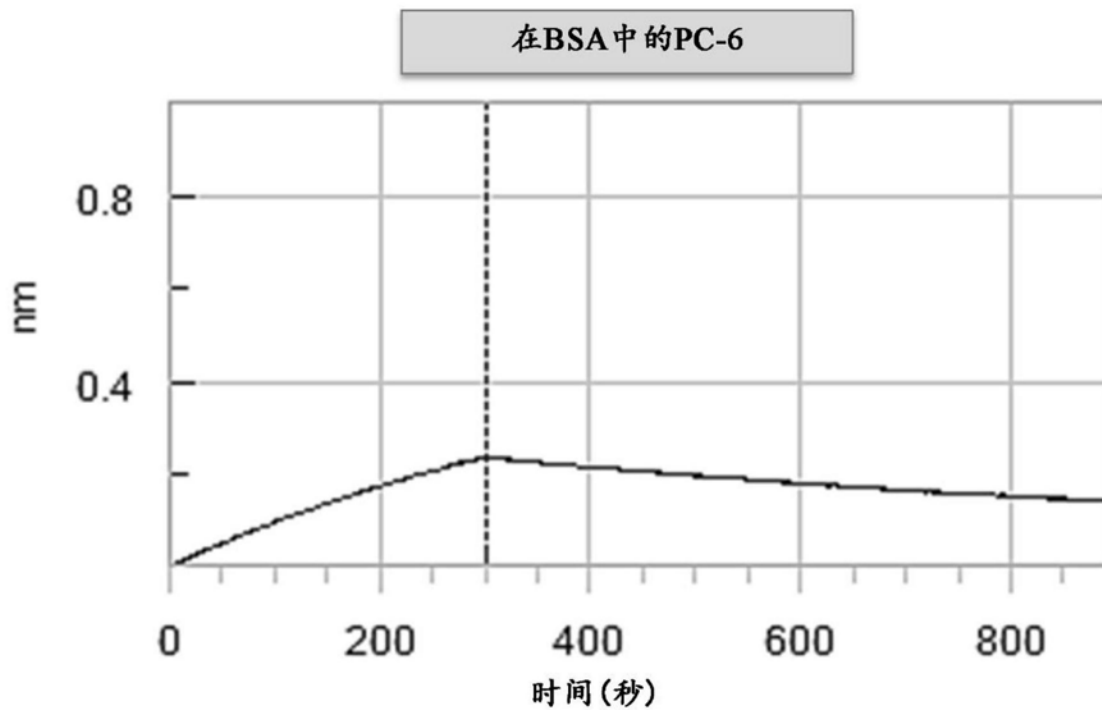


图29L

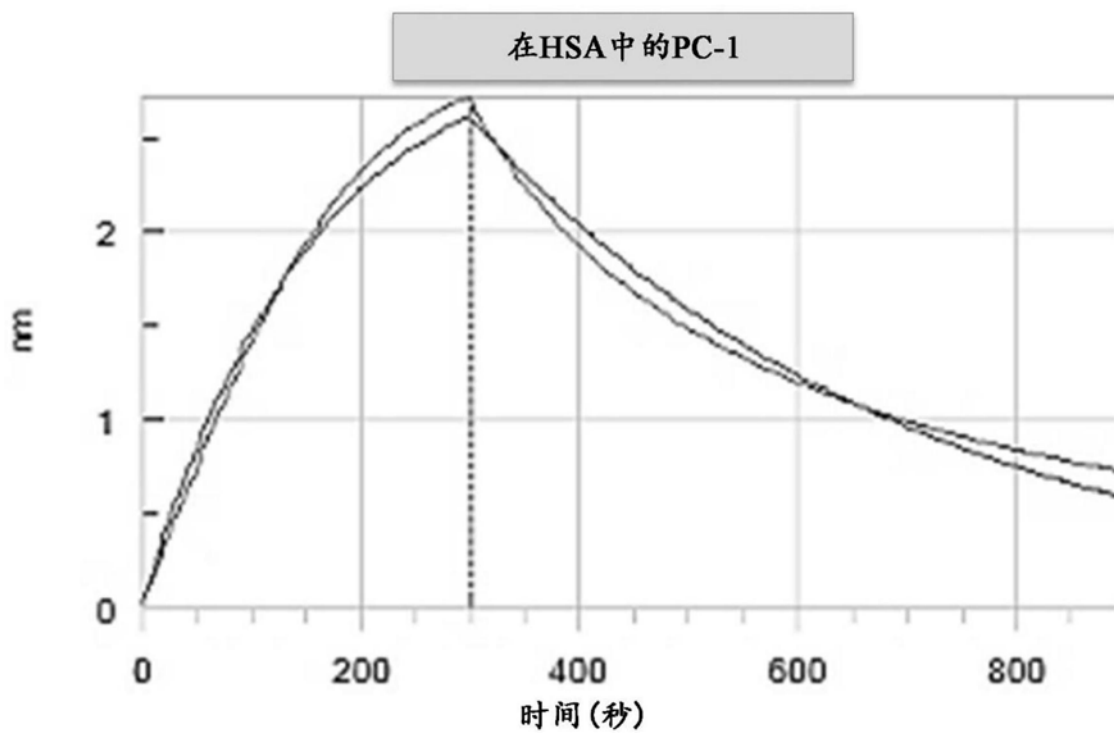


图30A

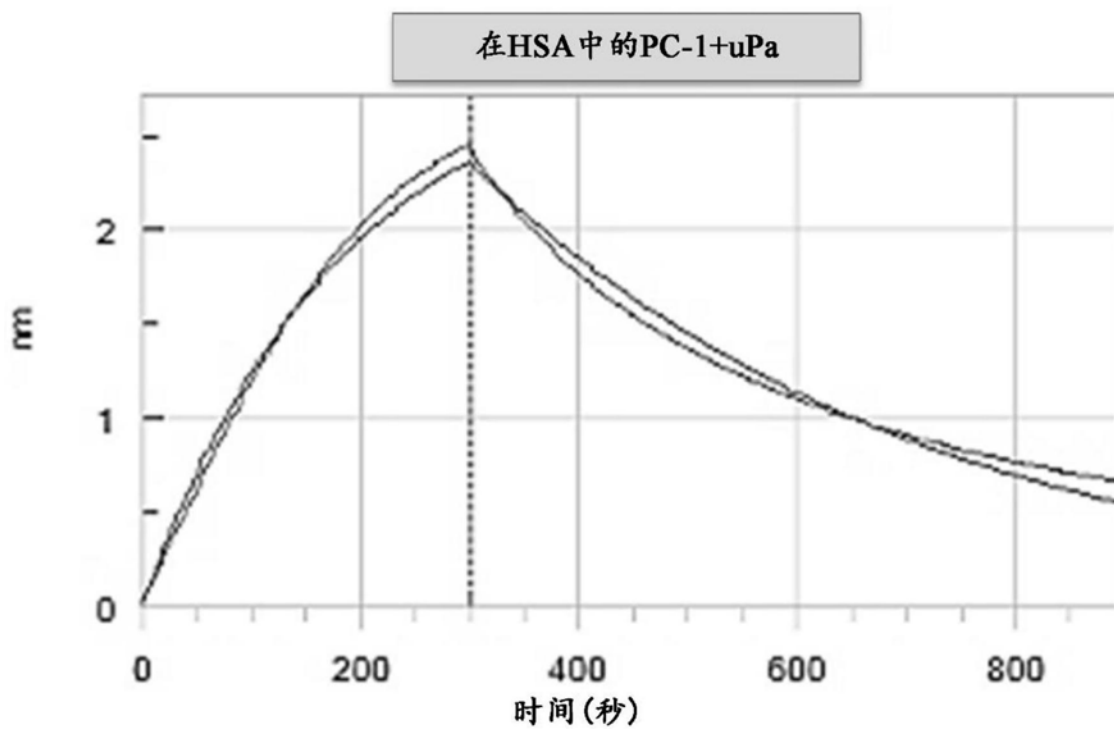


图30B

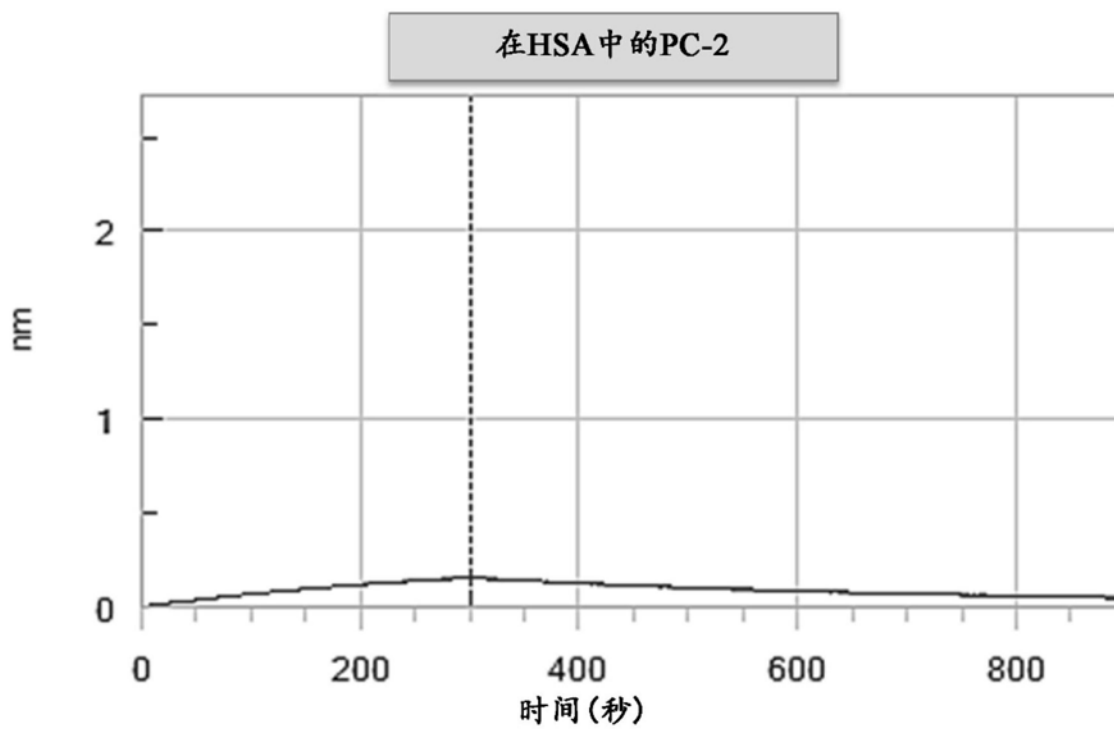


图30C

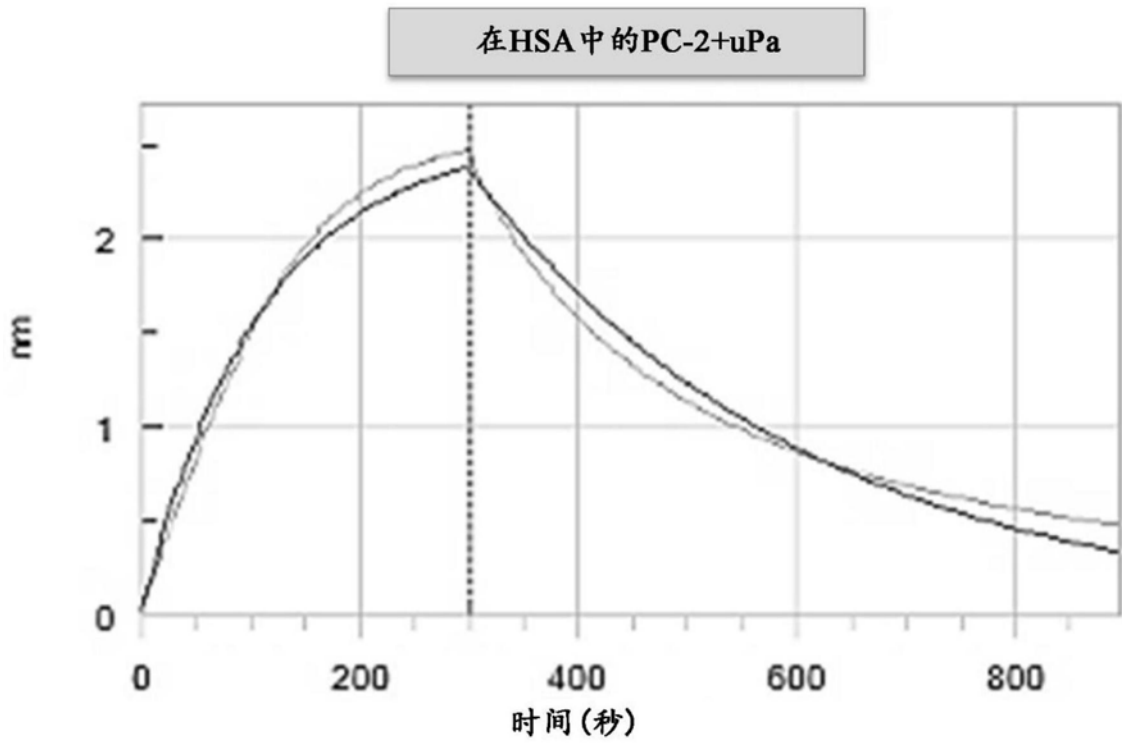


图30D

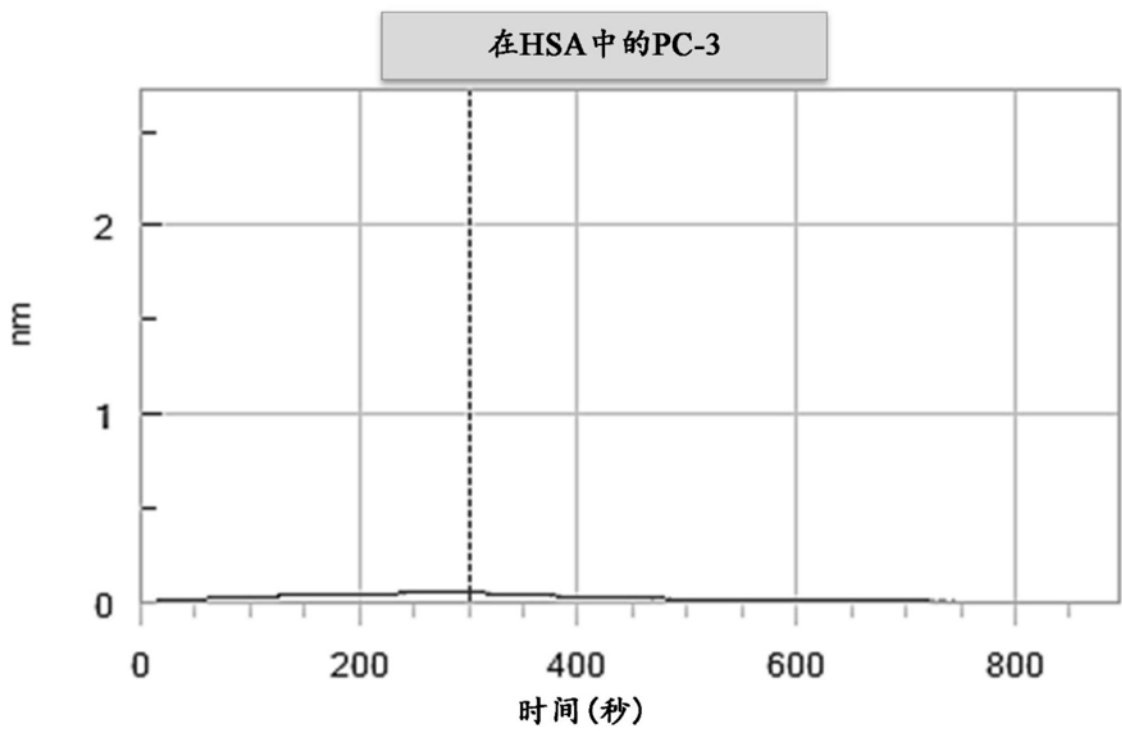


图30E

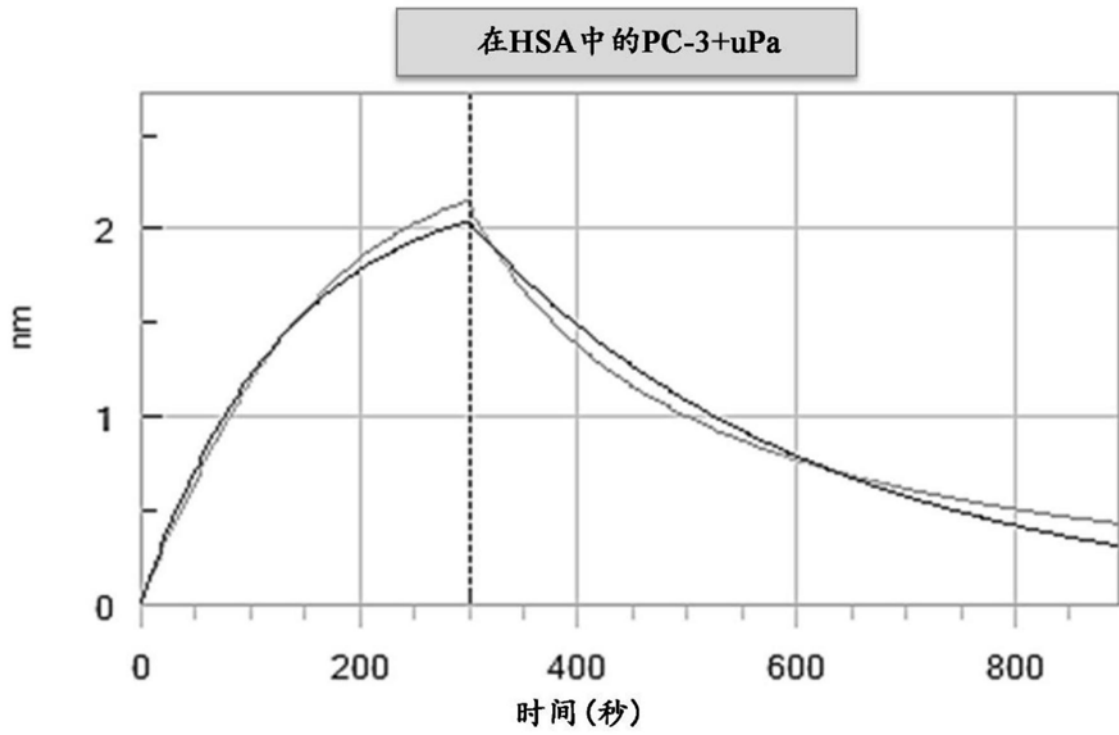


图30F

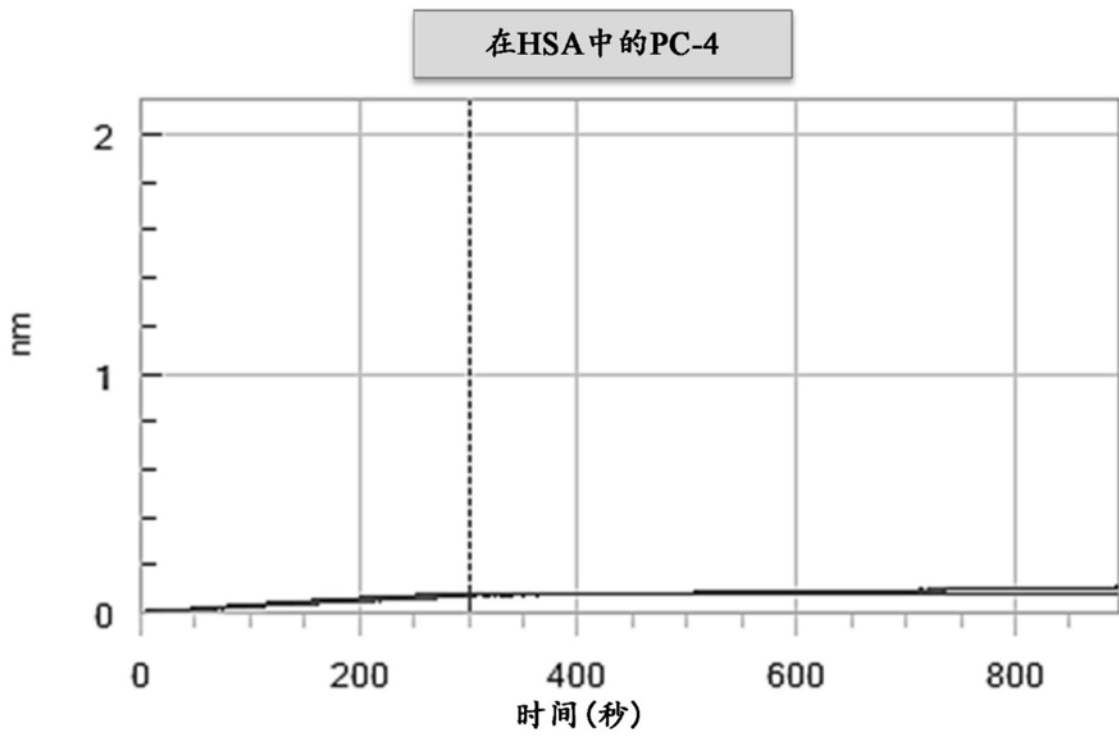


图30G

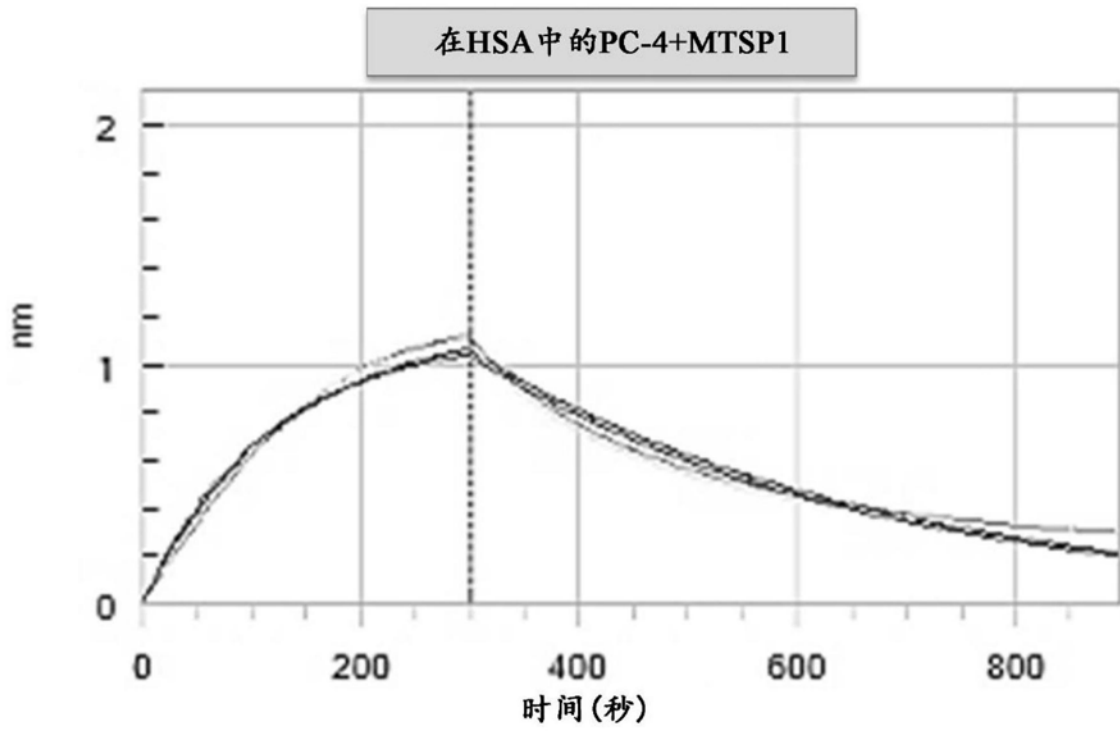


图30H

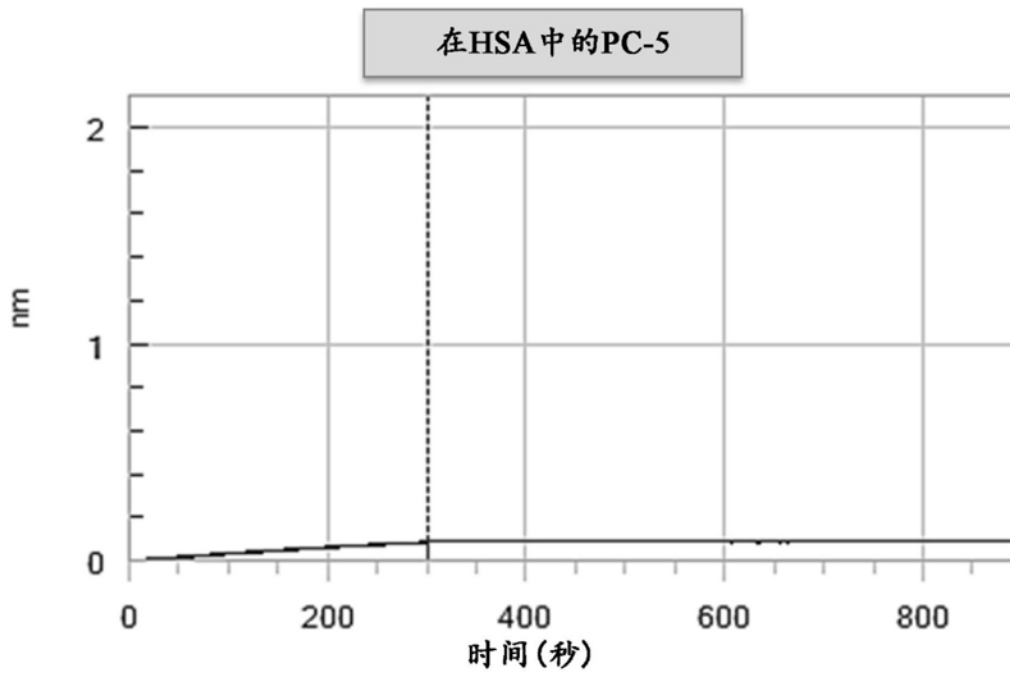


图30I

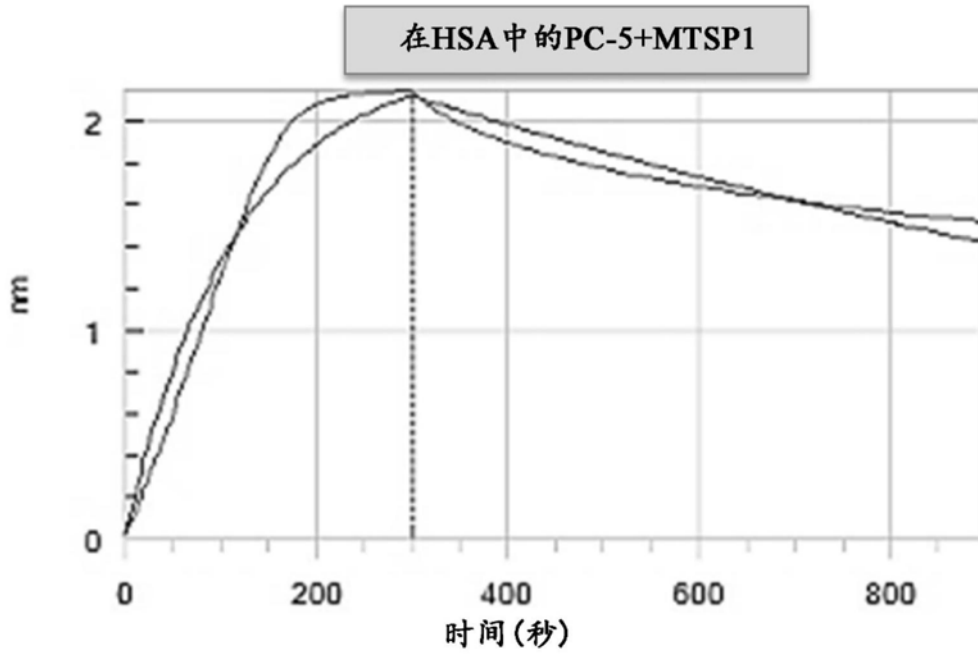


图30J

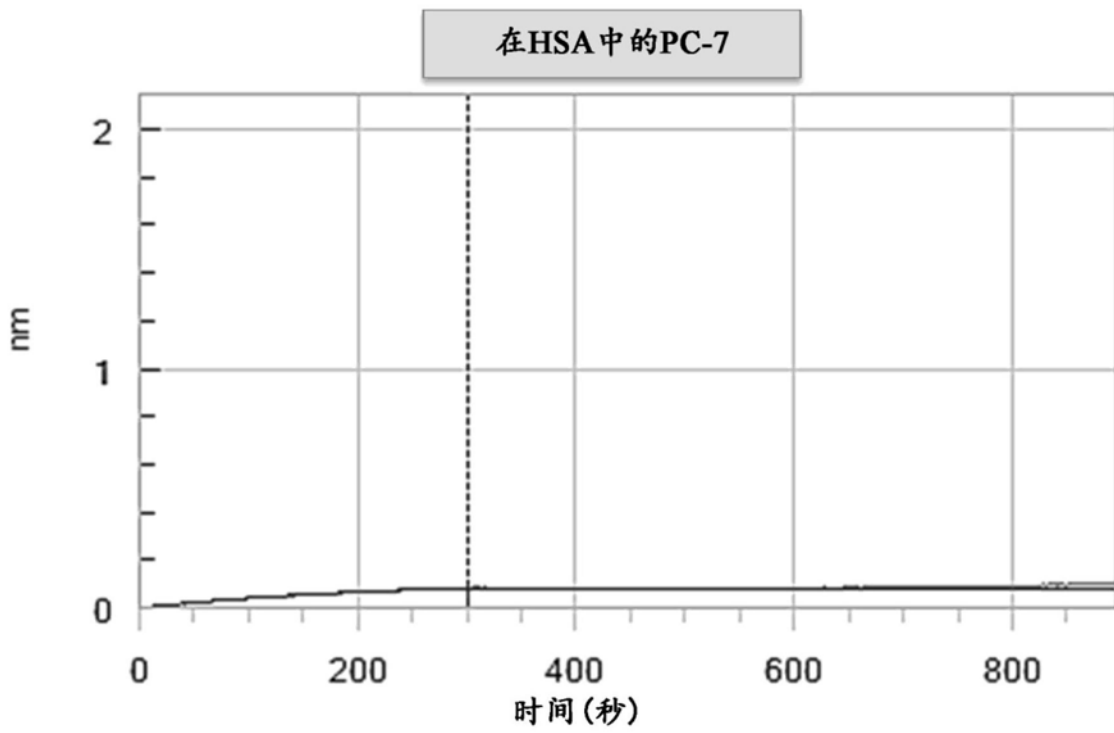


图30K

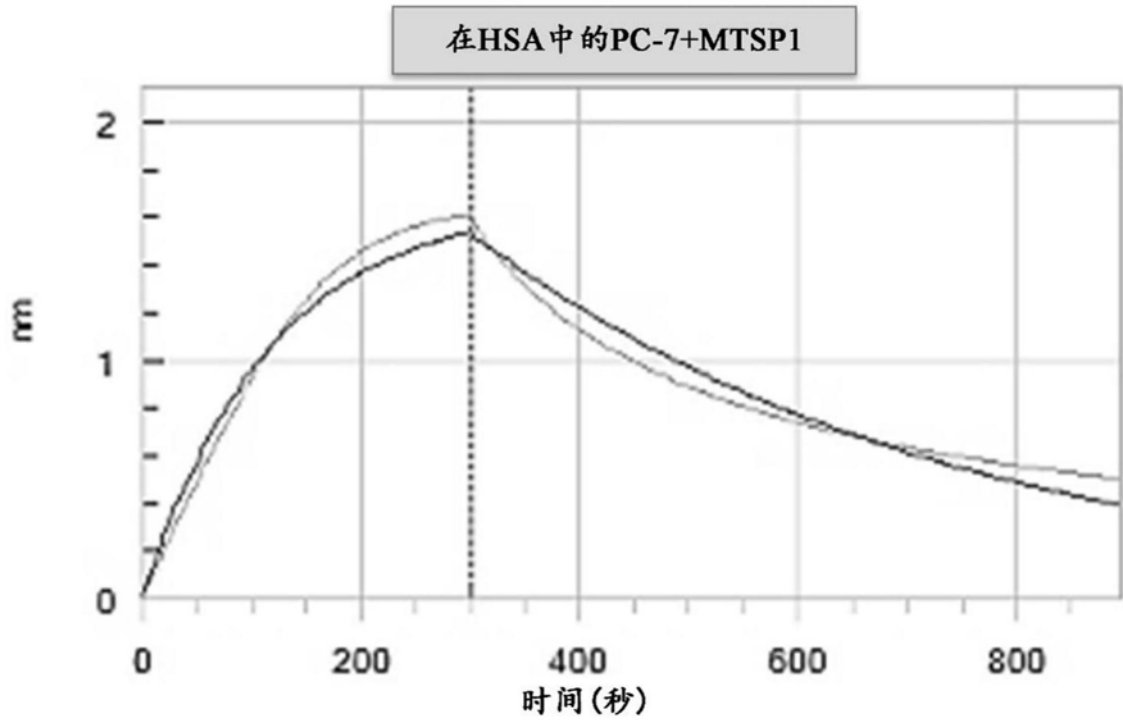


图30L

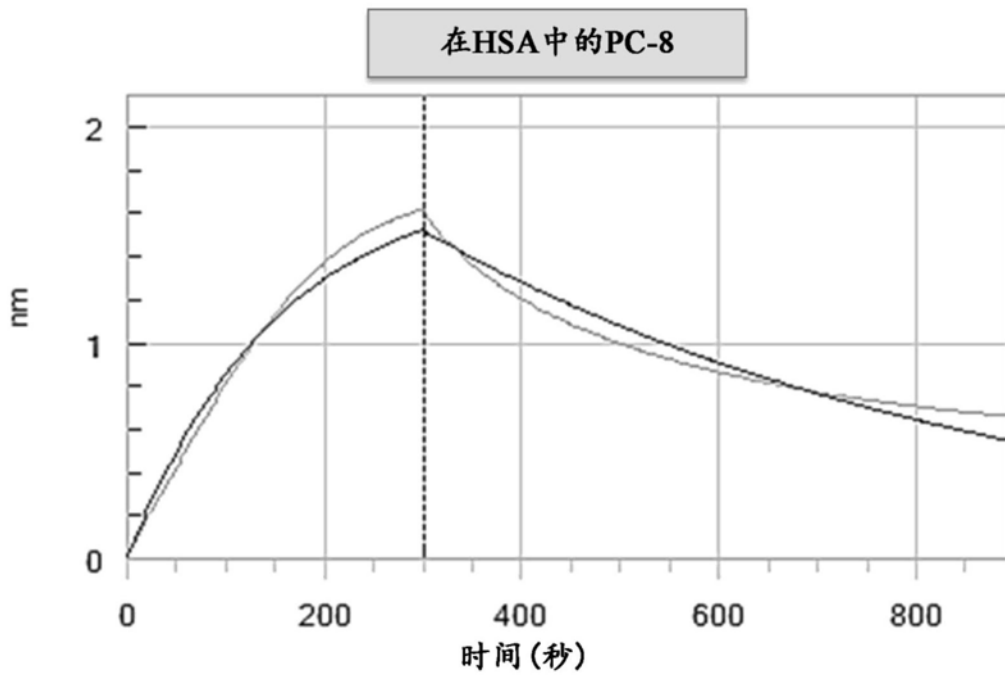


图30M

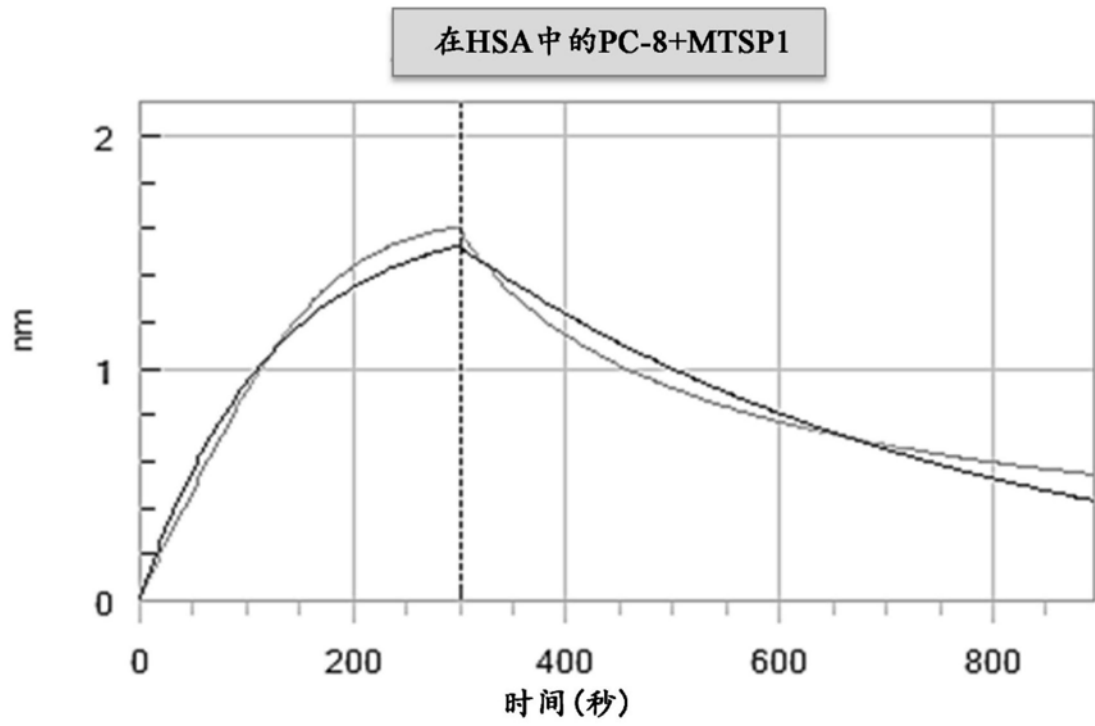


图30N

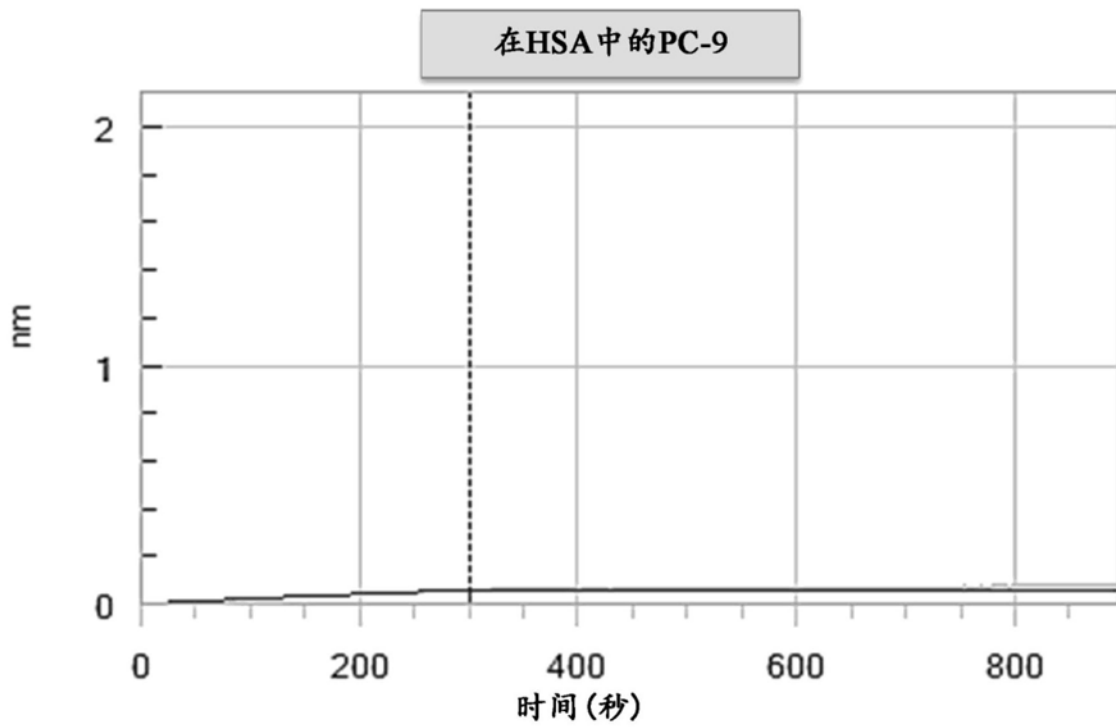


图300

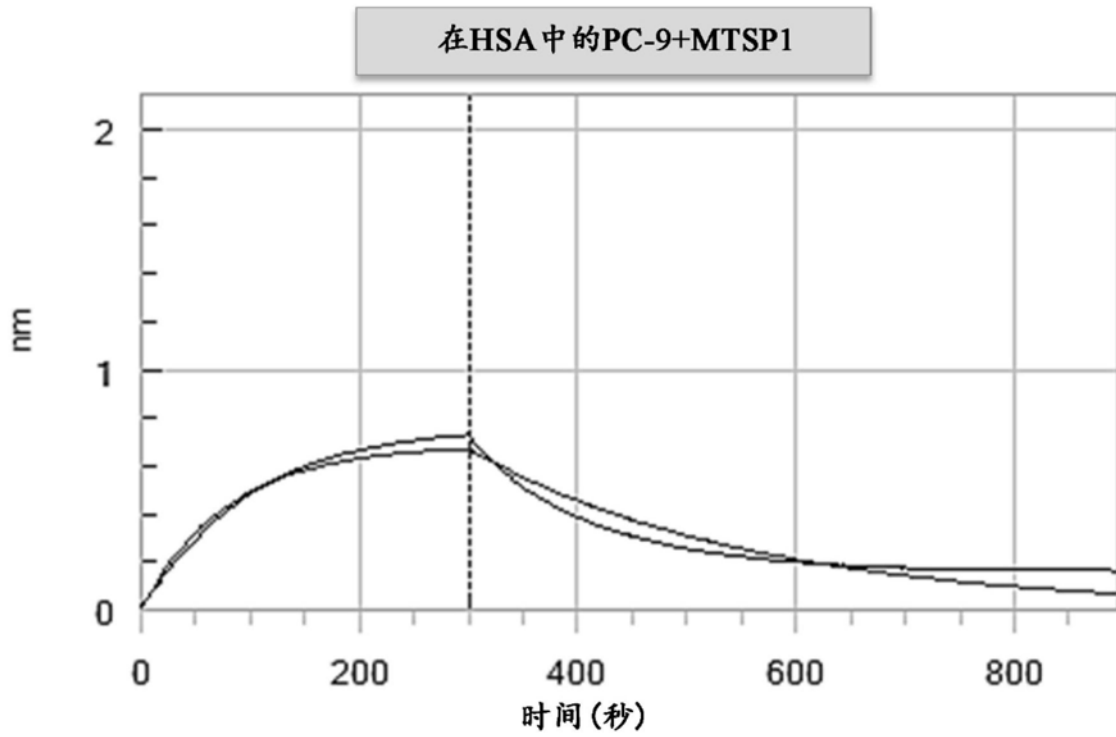


图30P

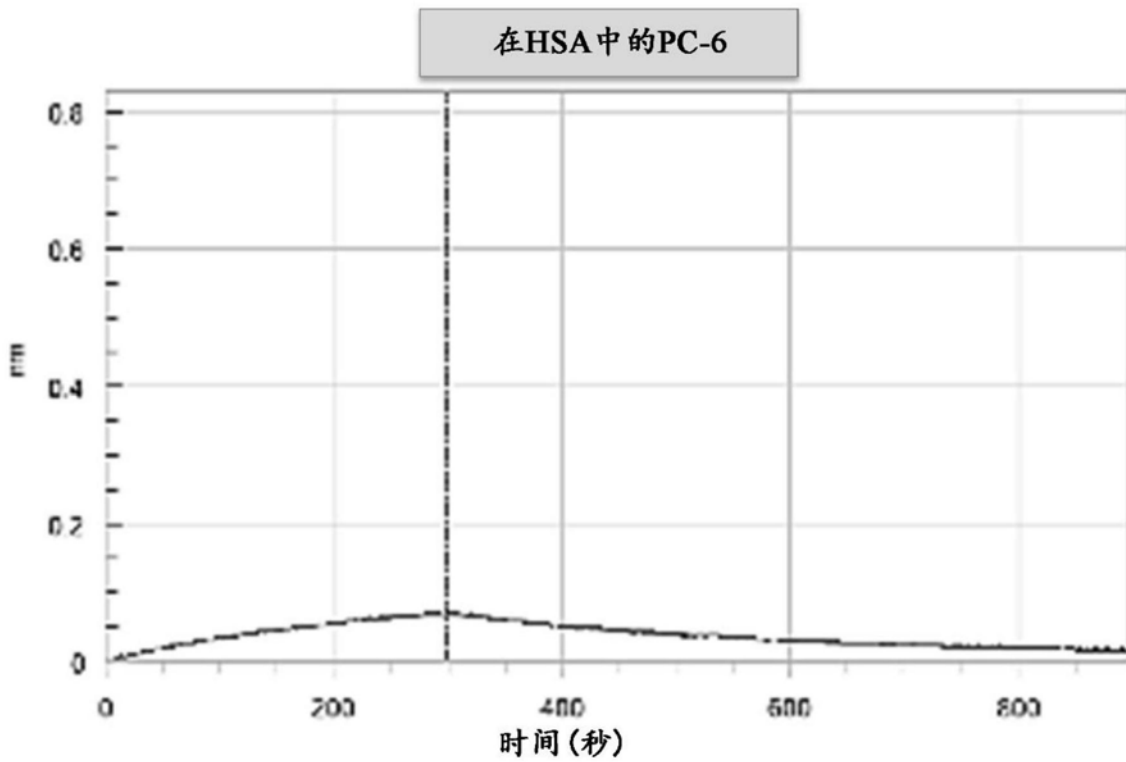


图30Q

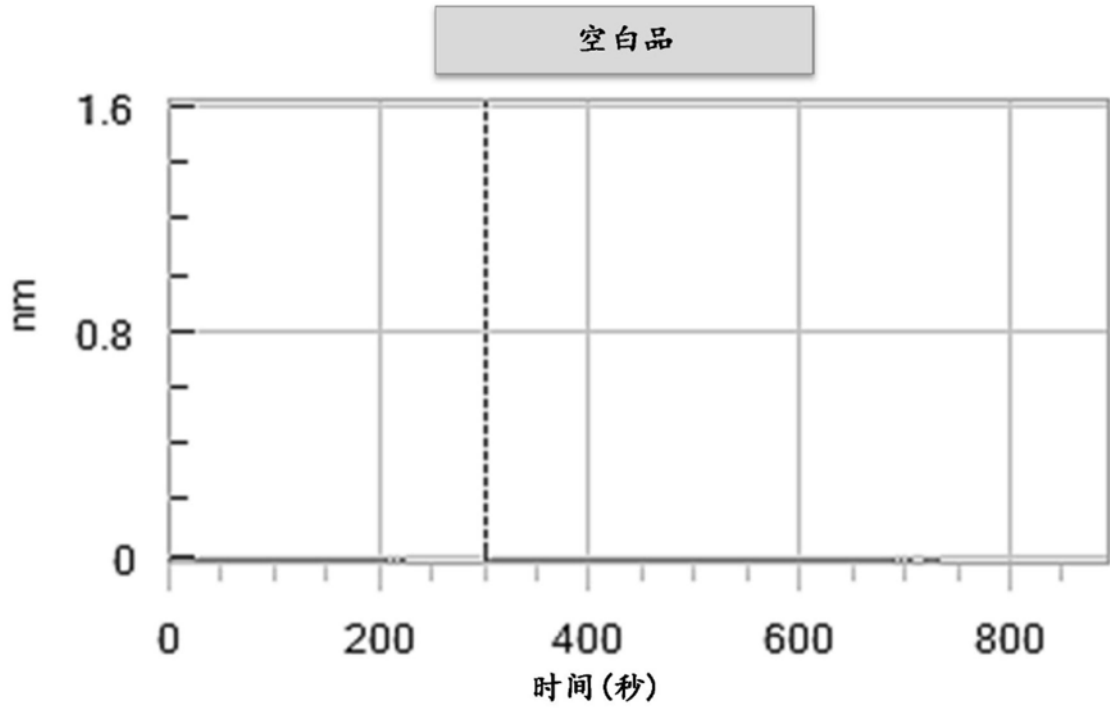


图30R

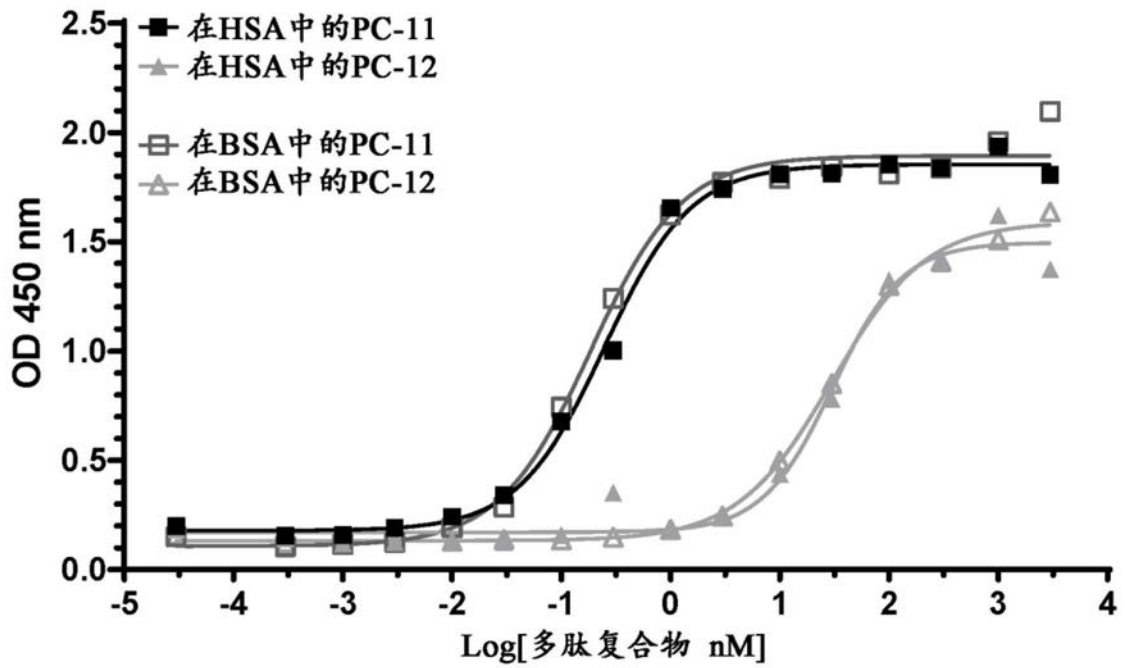


图31

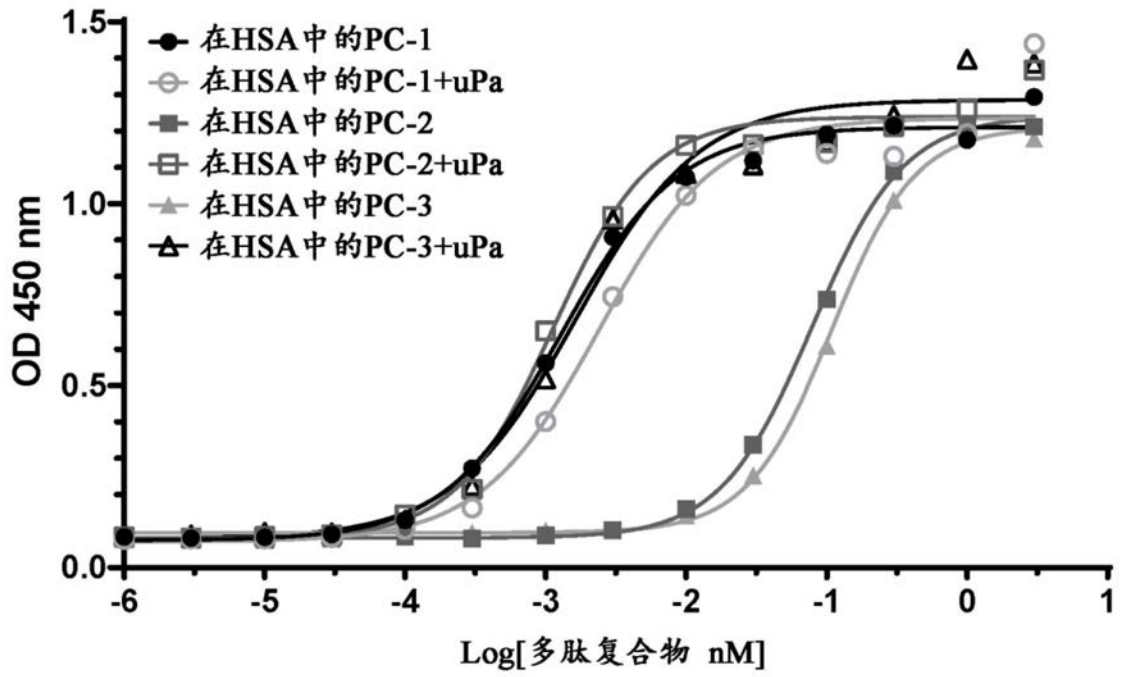


图32A

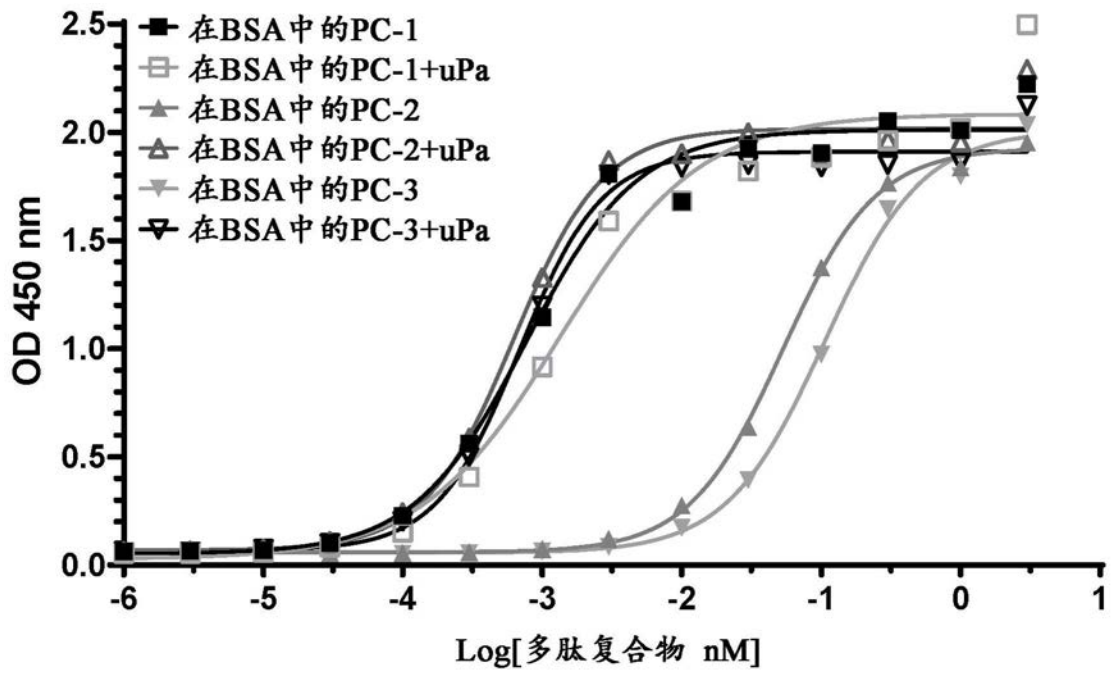


图32B

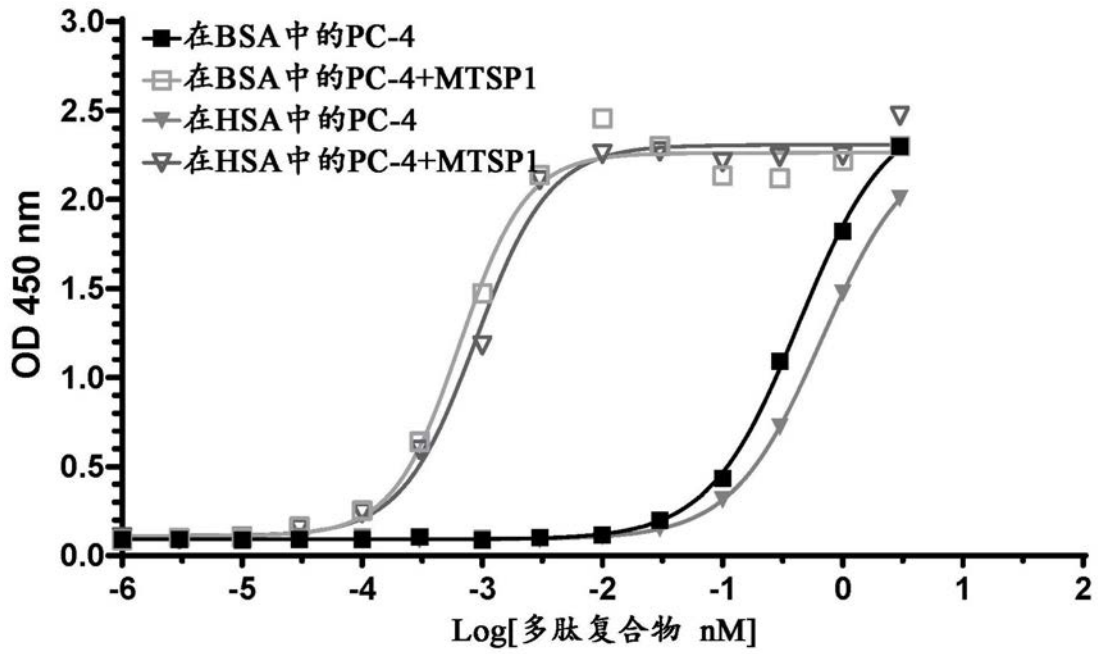


图32C

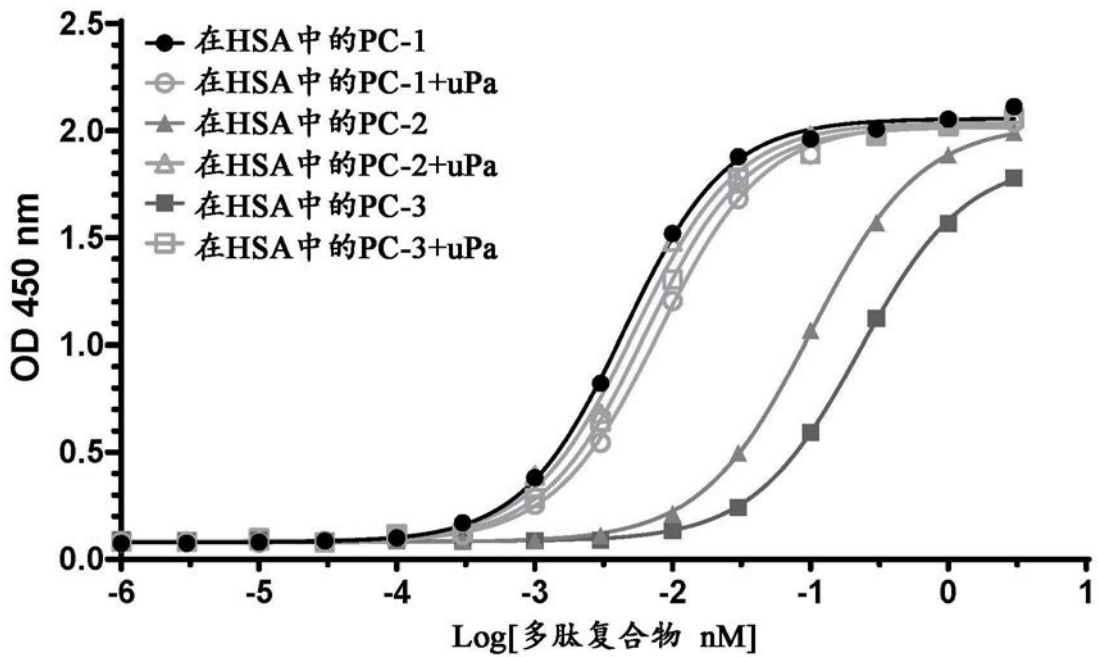


图33A

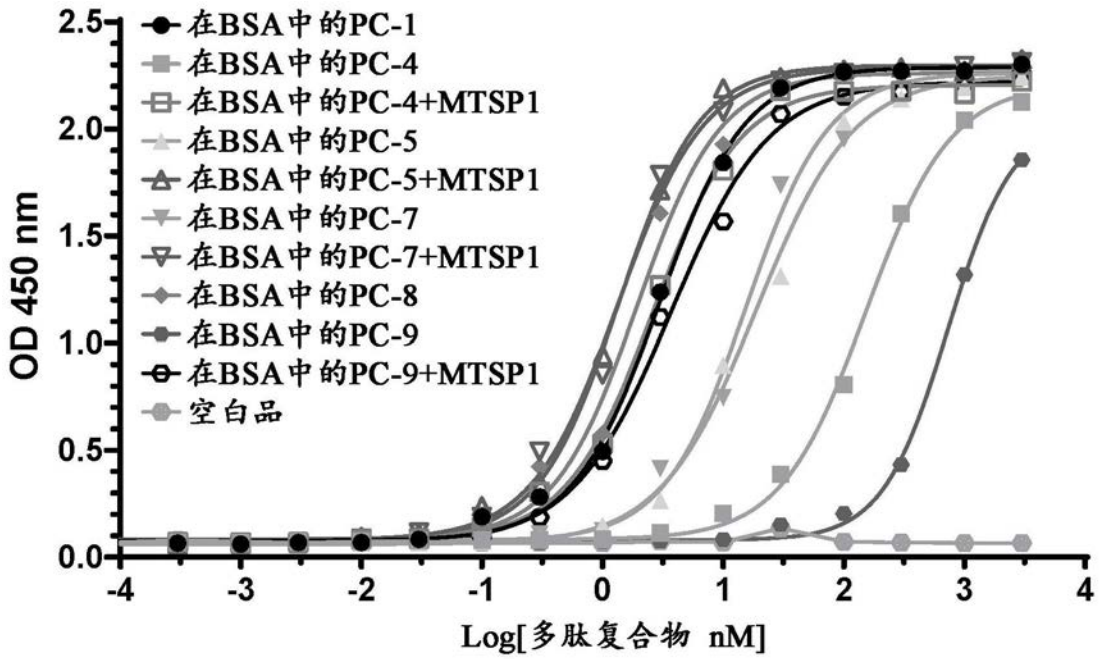


图33B

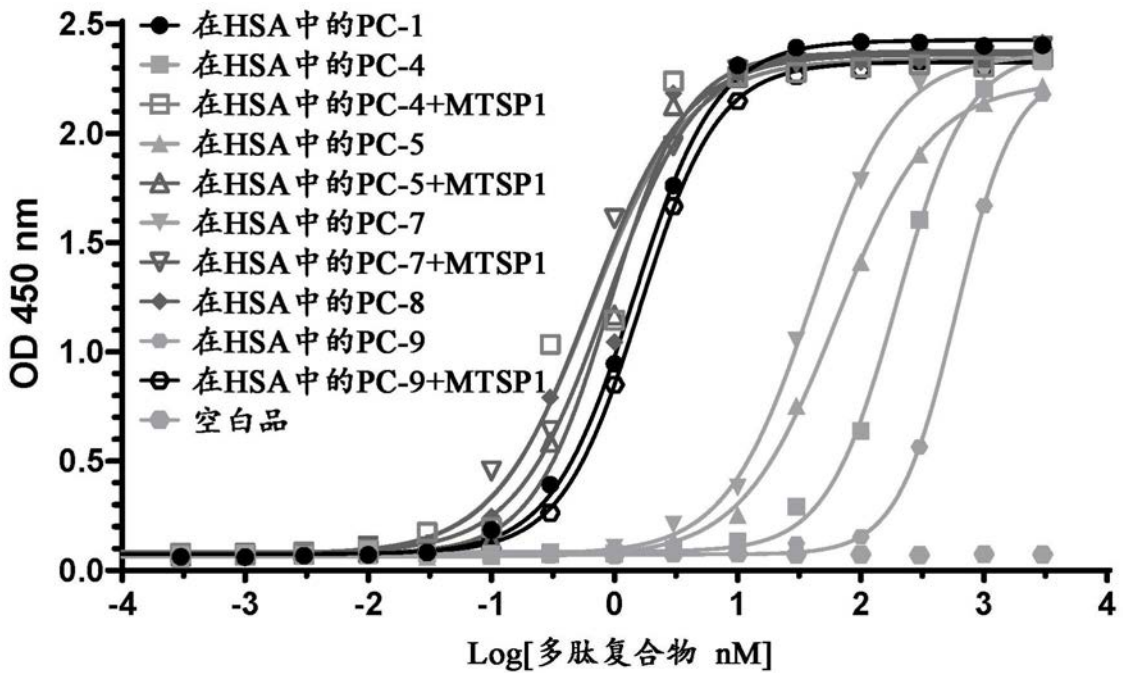


图33C

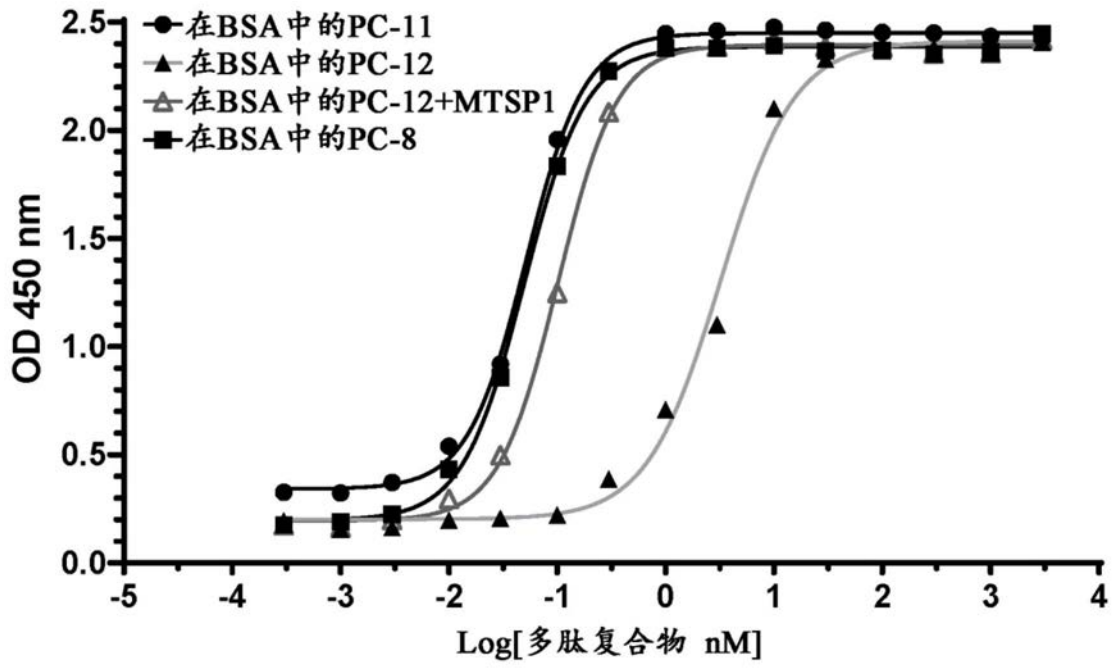


图33D

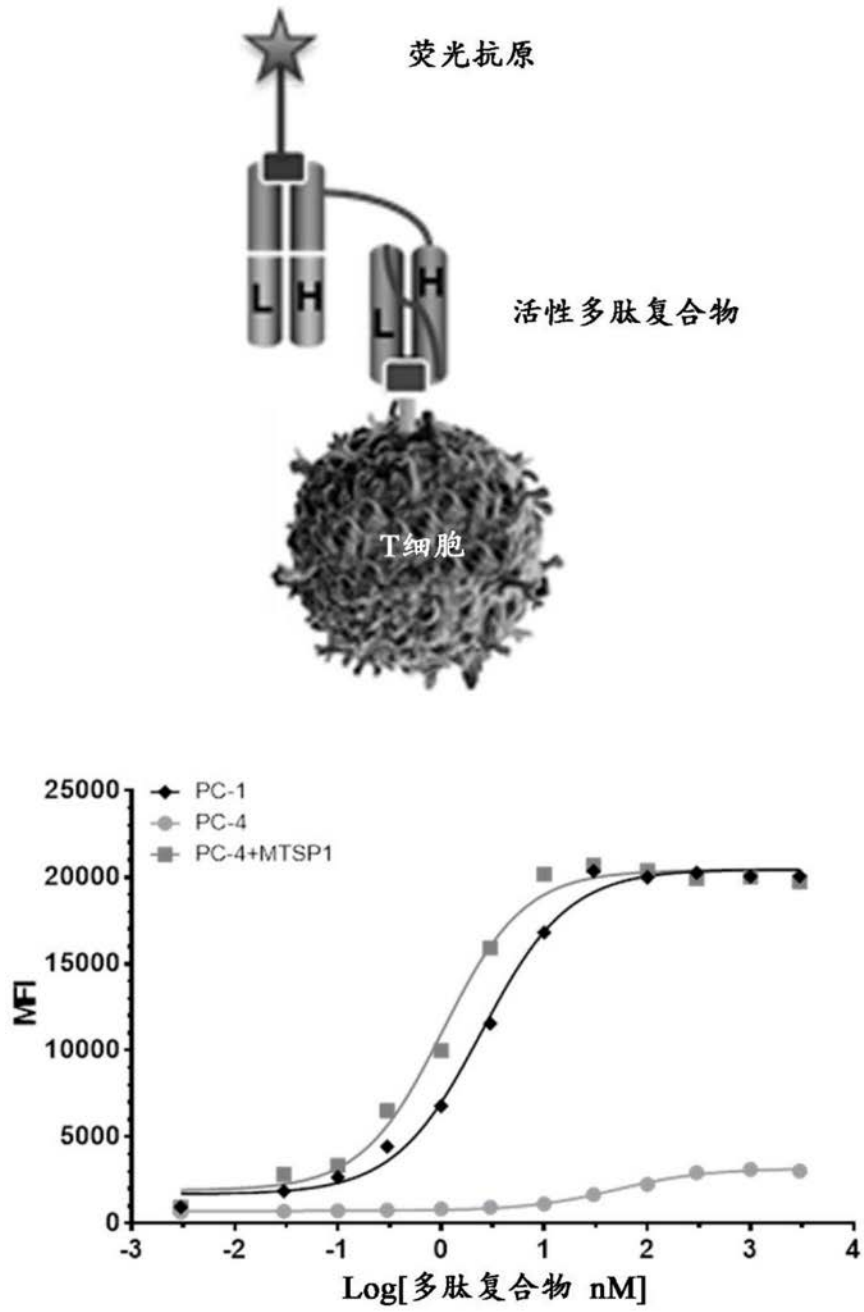


图34

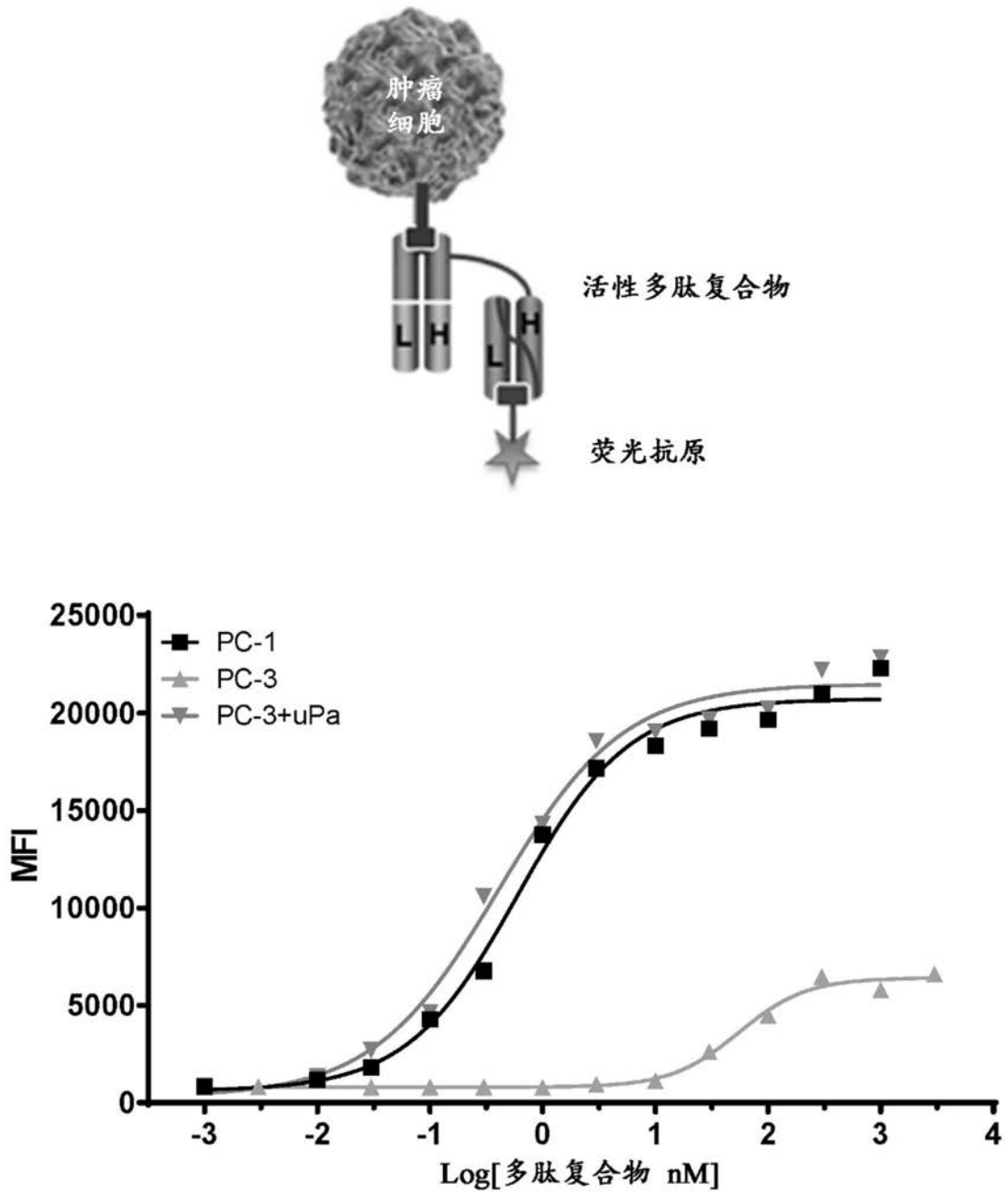


图35

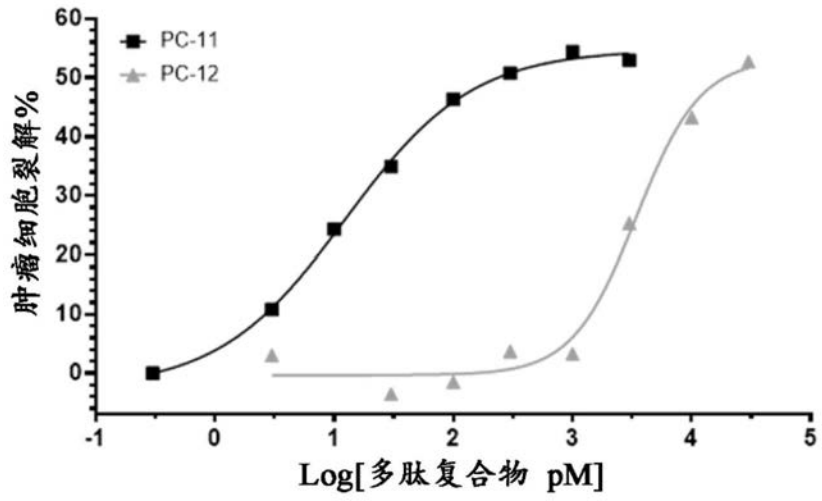


图36

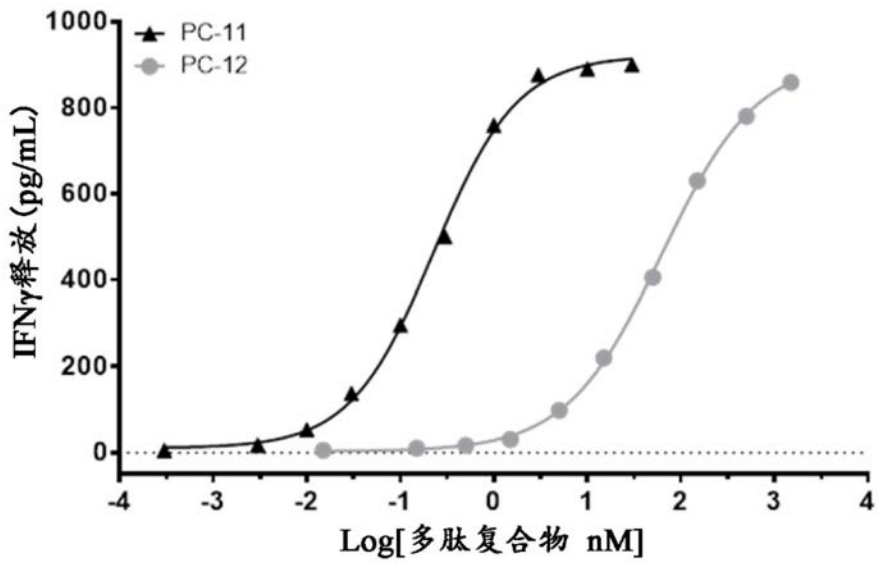


图37

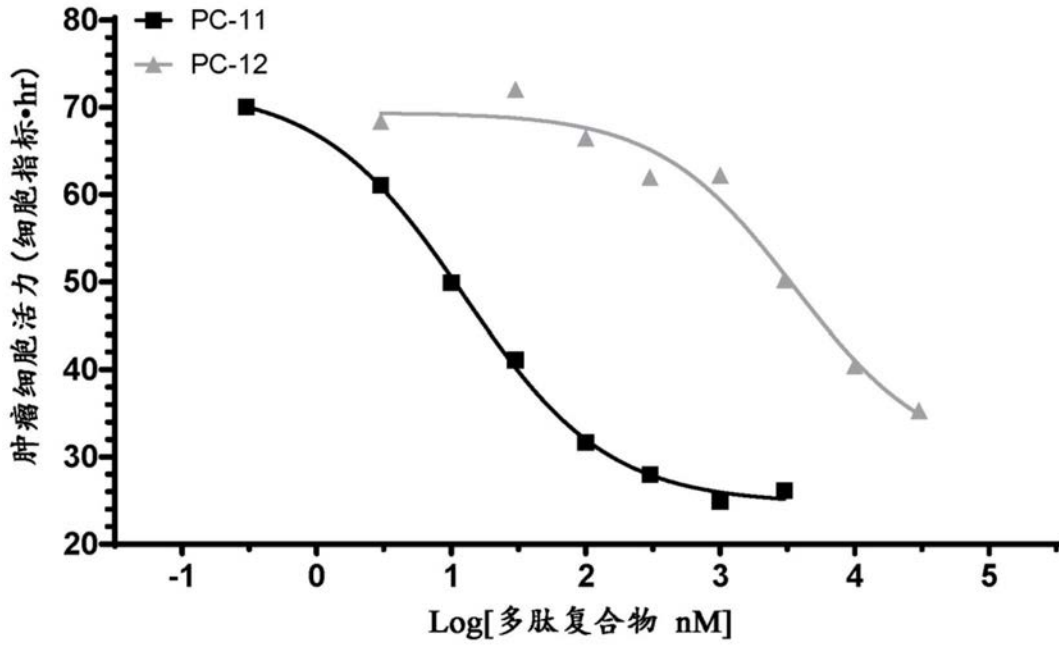


图38

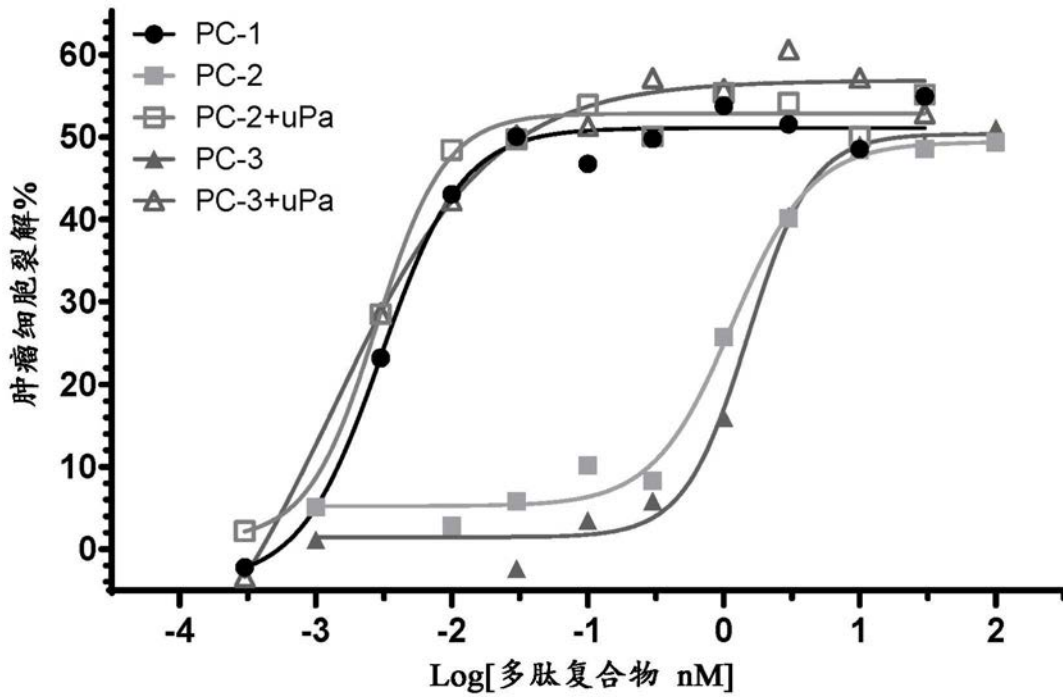


图39A

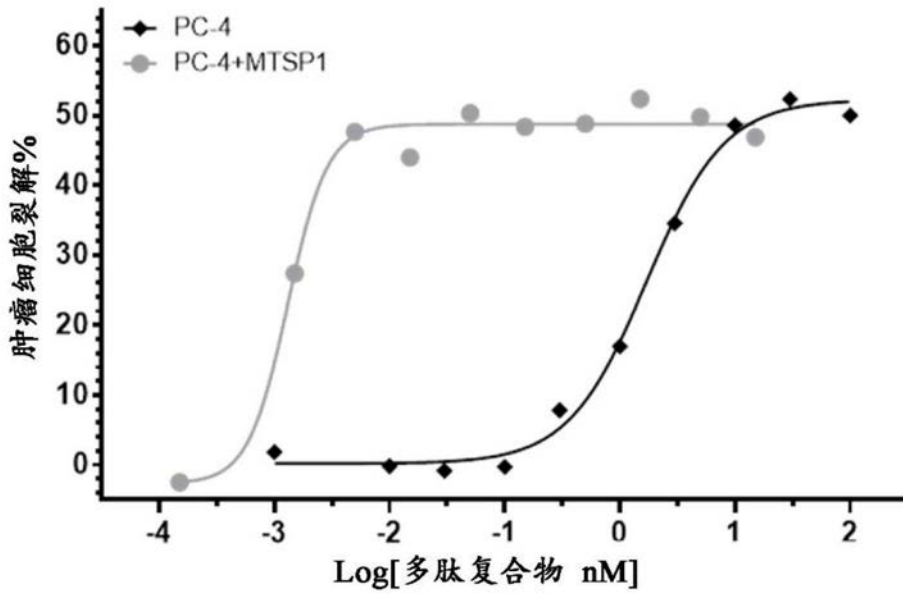


图39B

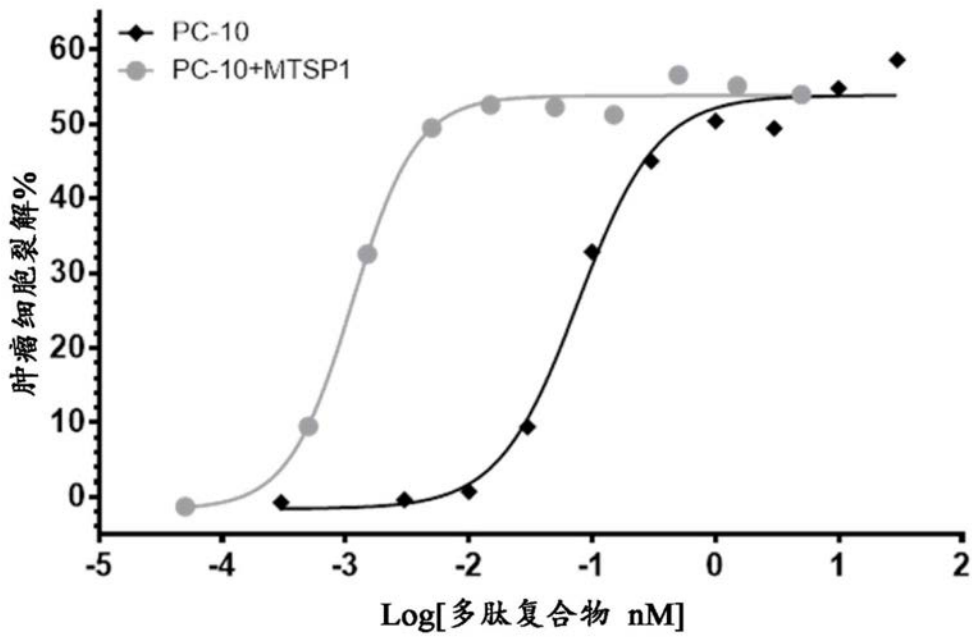


图39C

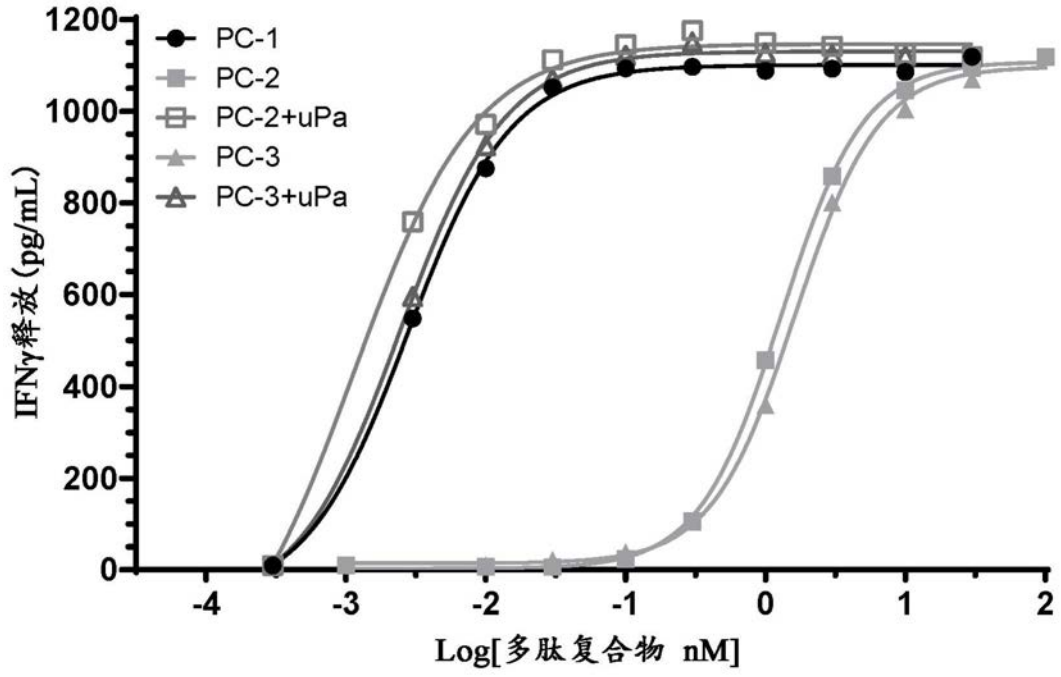


图40A

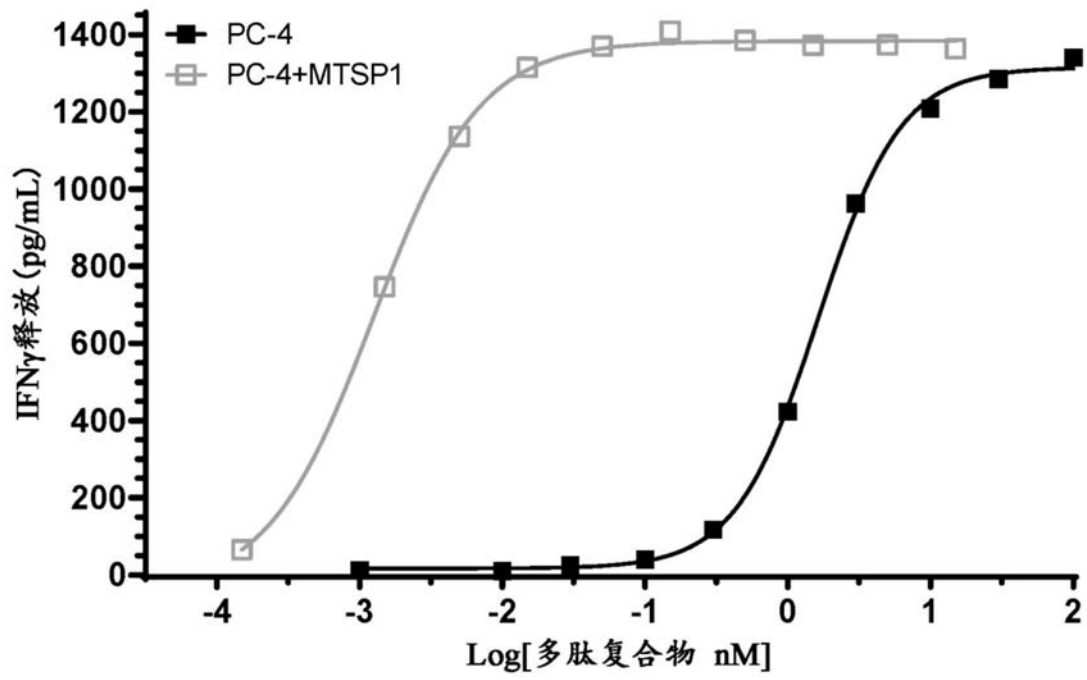


图40B

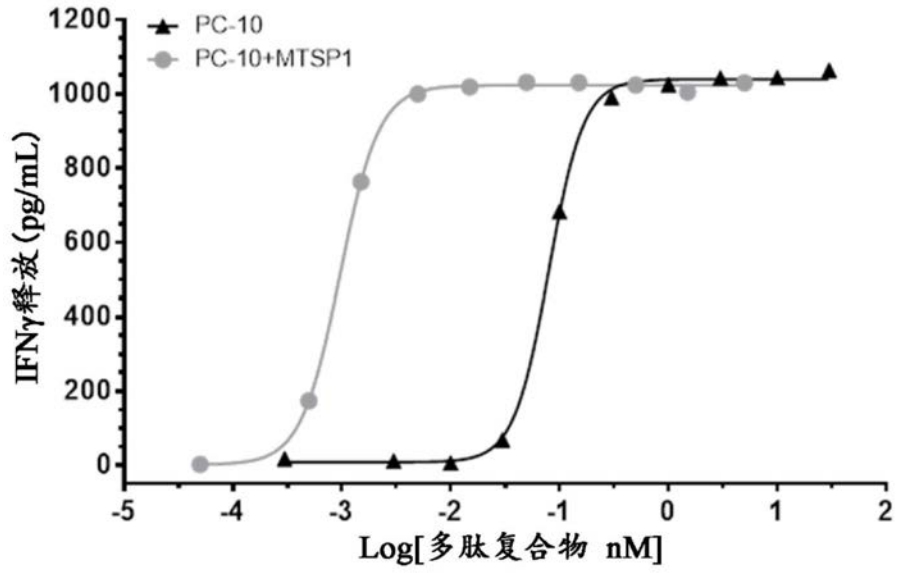


图40C

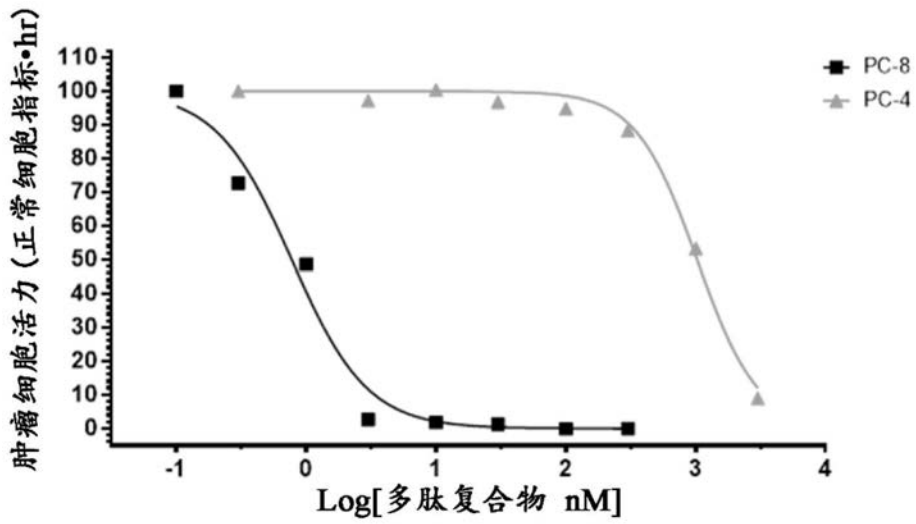


图41

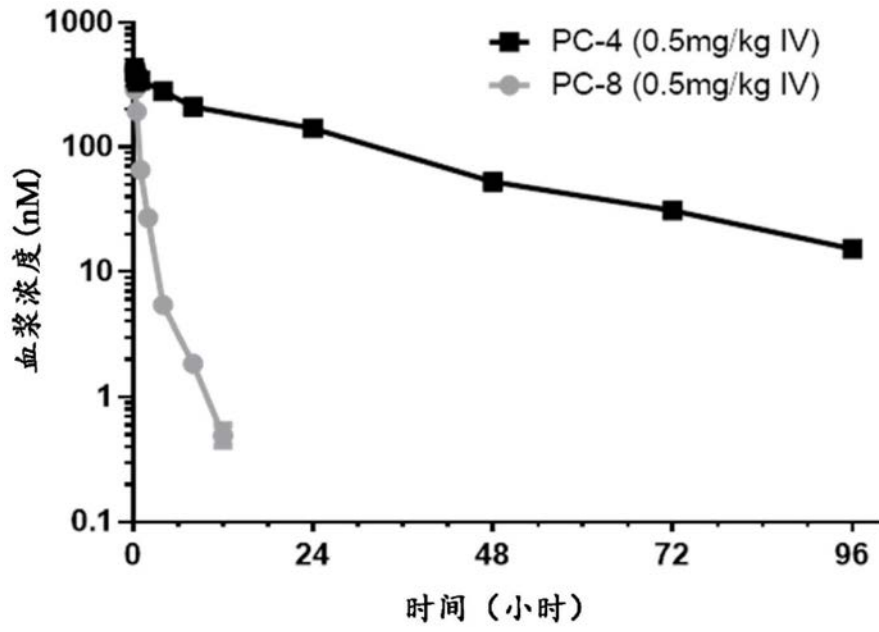


图42

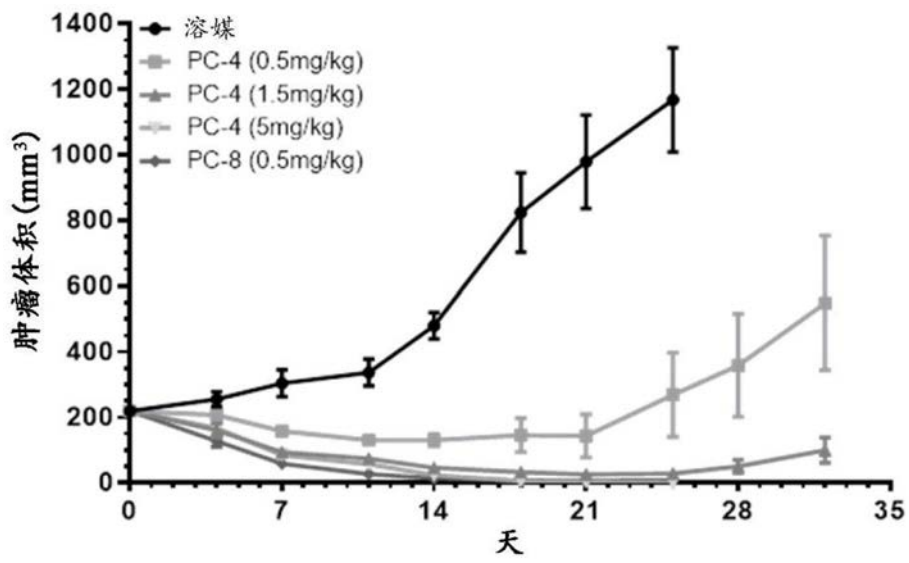


图43

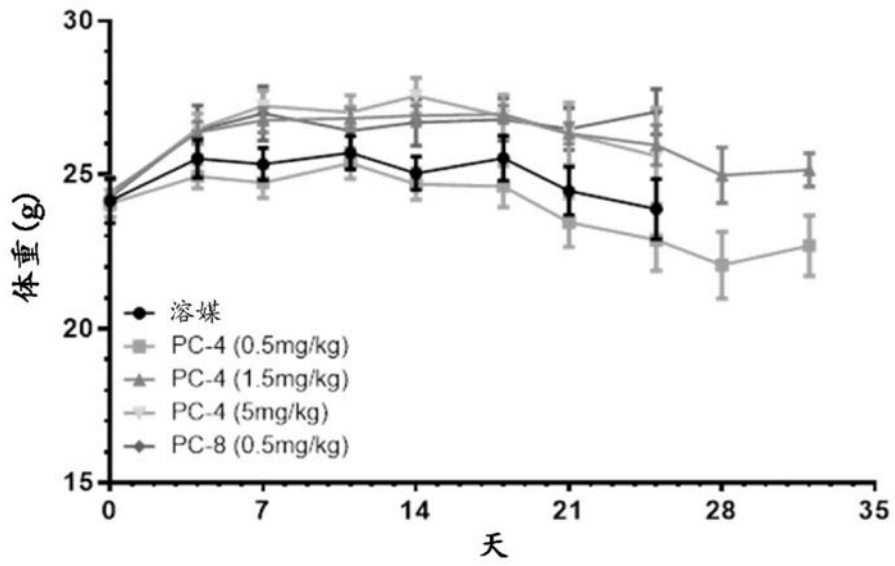


图44

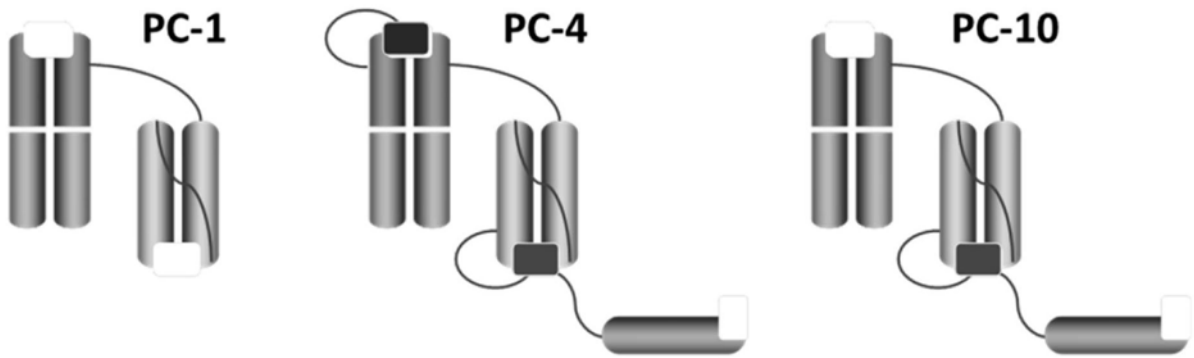


图45

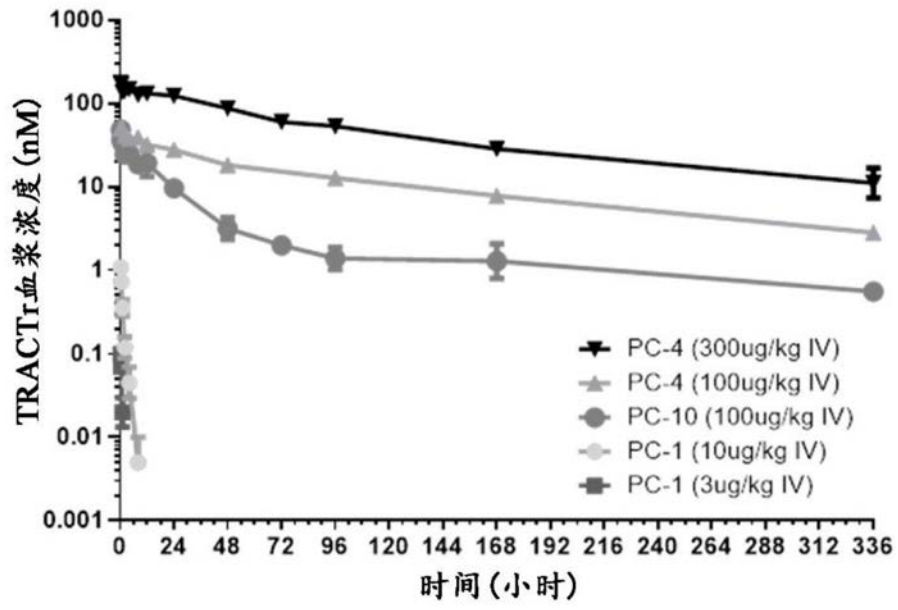


图46

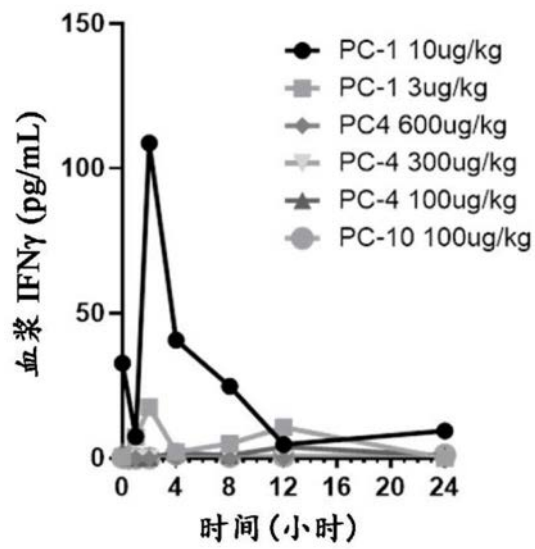


图47A

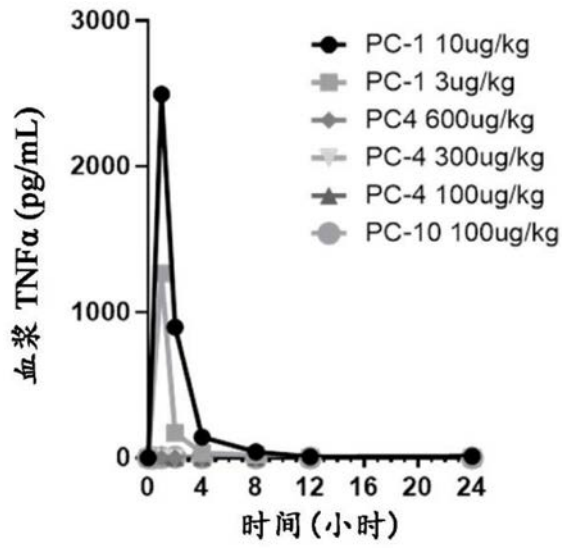


图47B

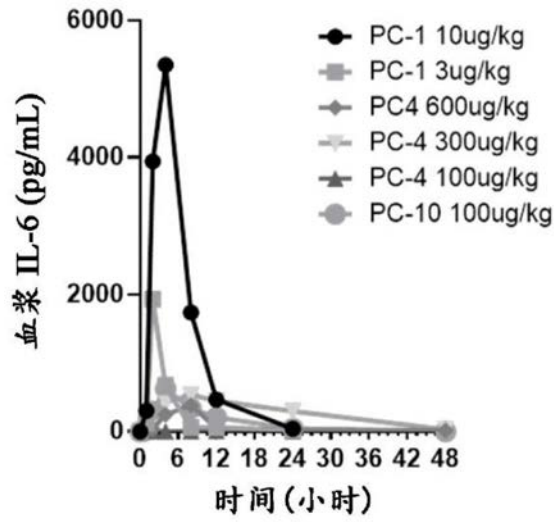


图47C

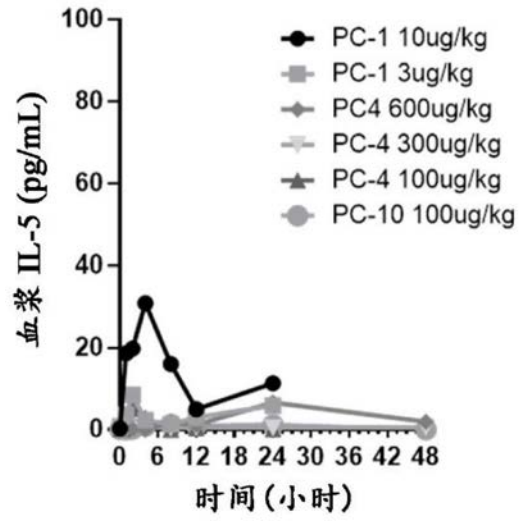


图47D

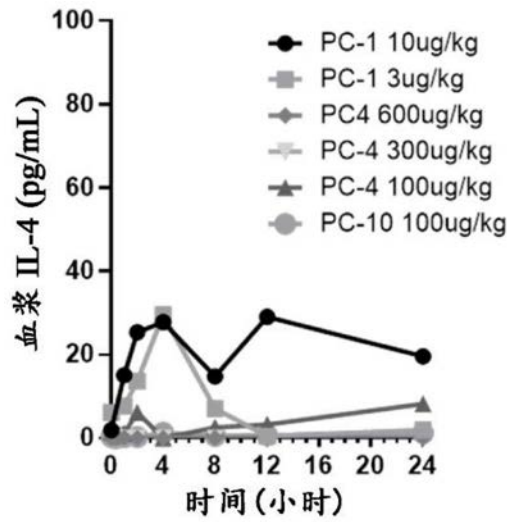


图47E

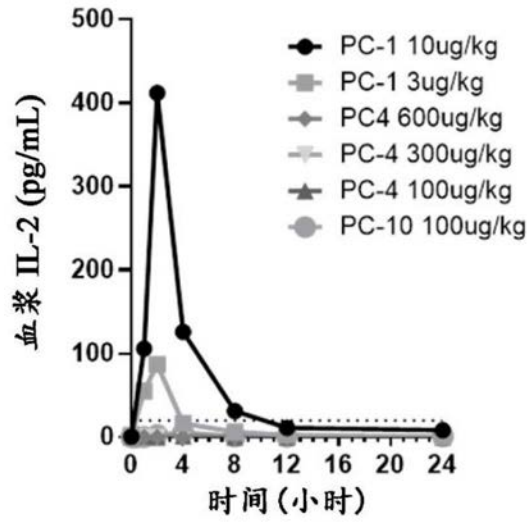


图47F

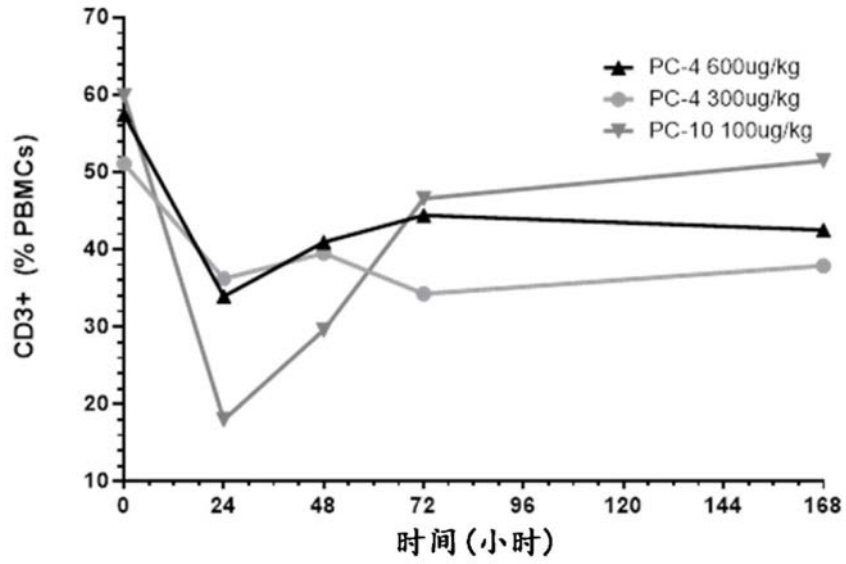


图48A

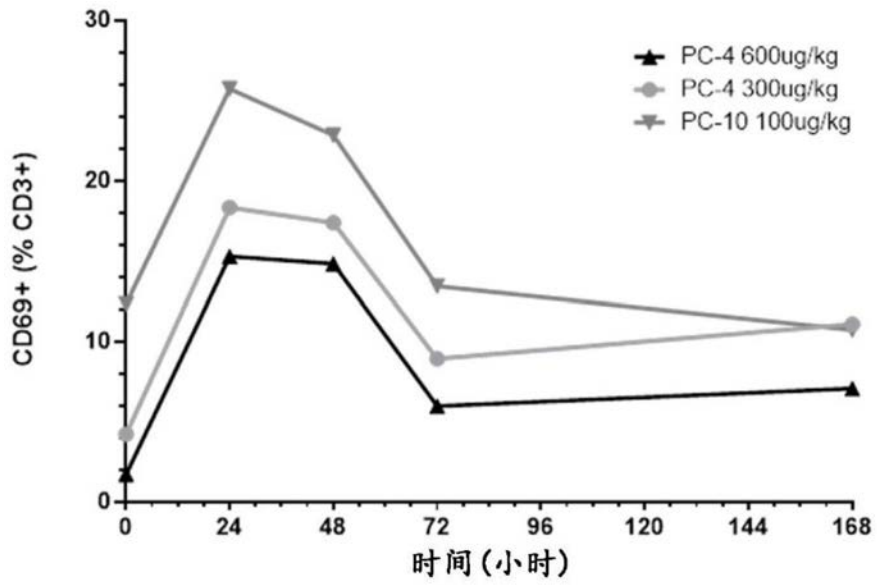


图48B

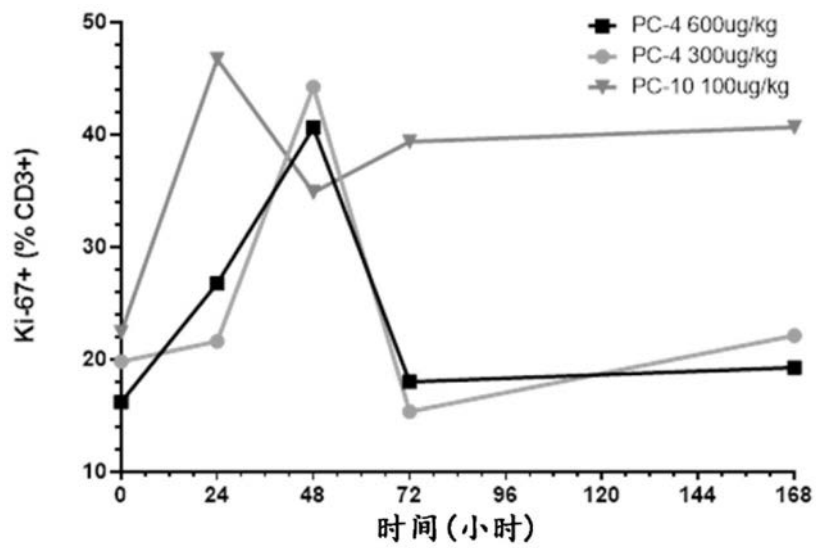


图48C

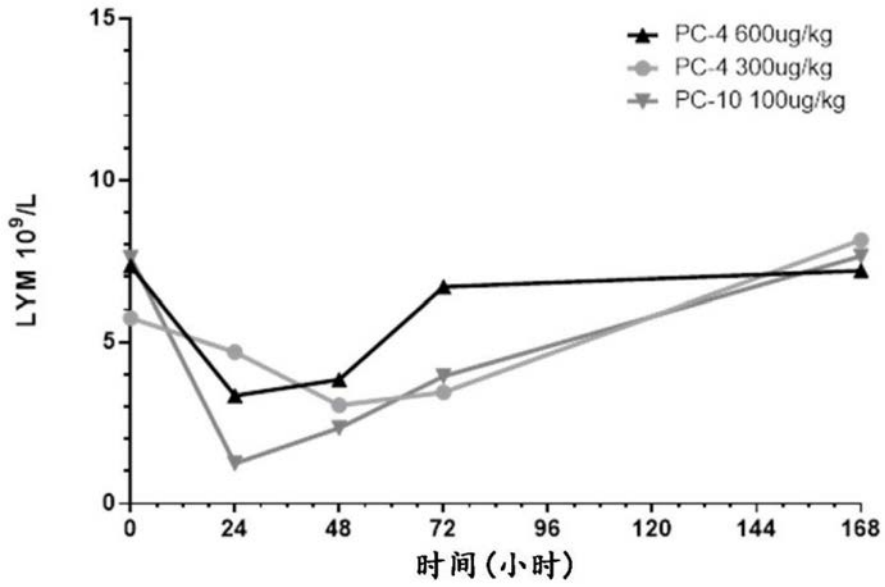


图49A

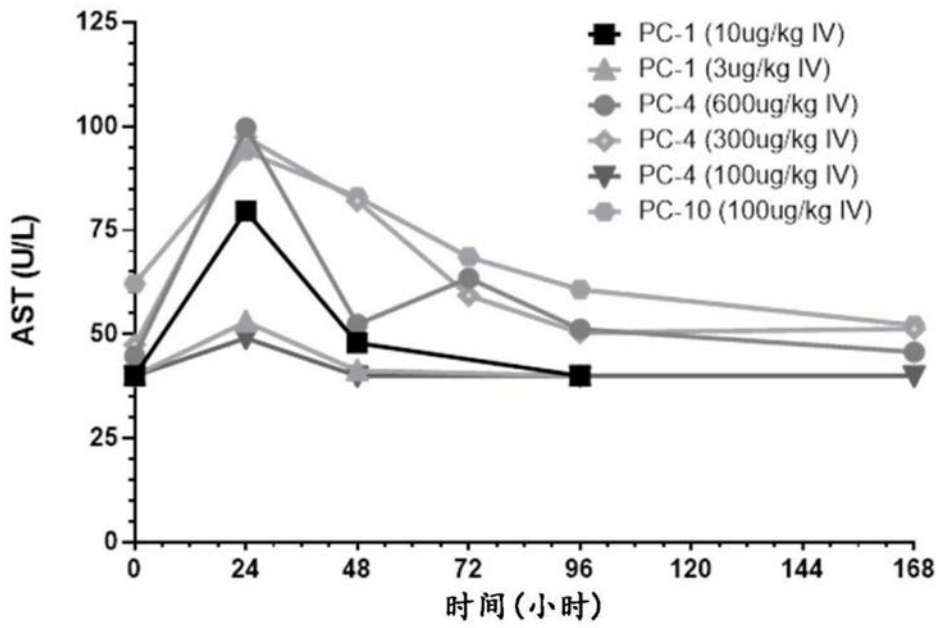


图49B

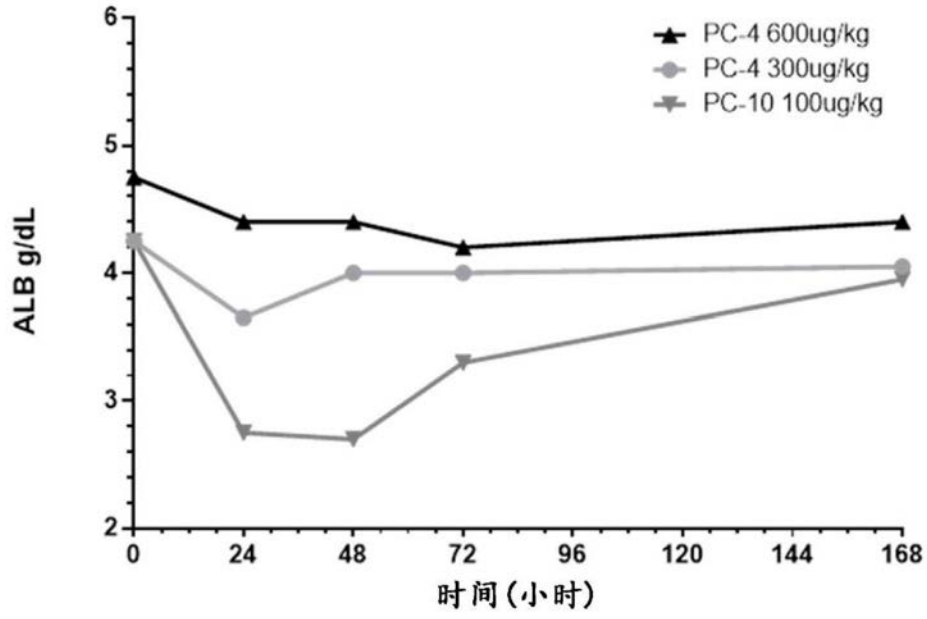


图49C

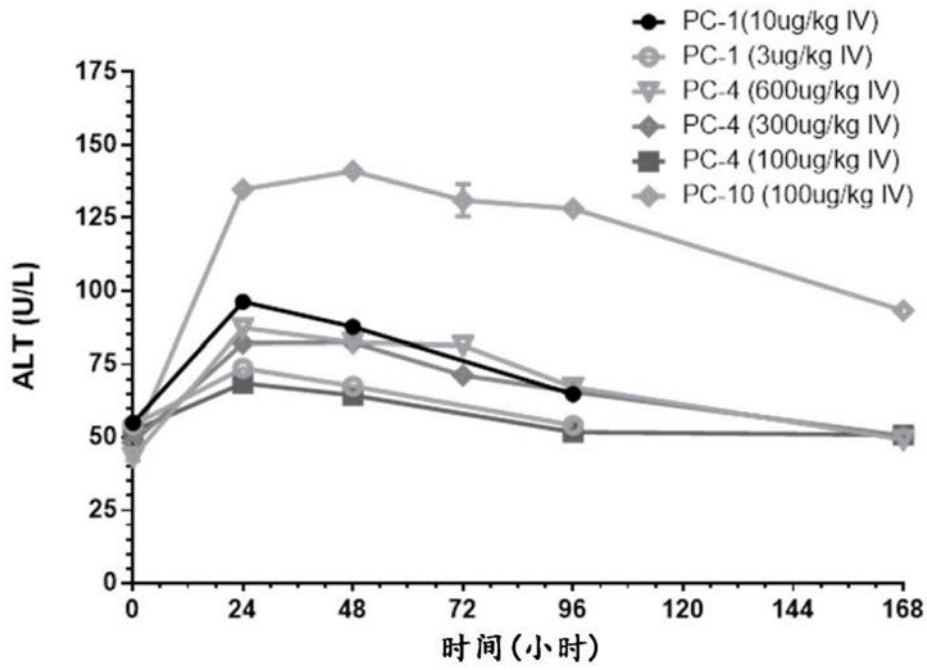


图49D

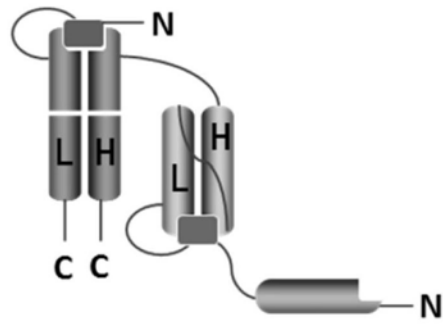


图50A

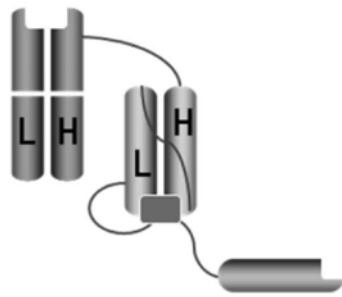


图50B

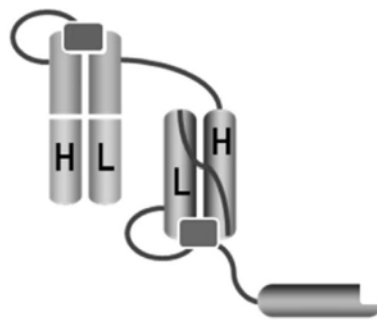


图50C

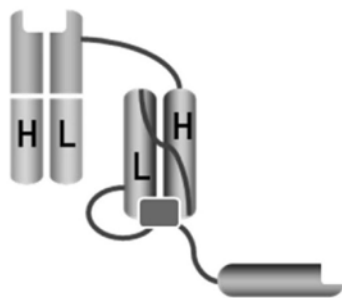


图50D

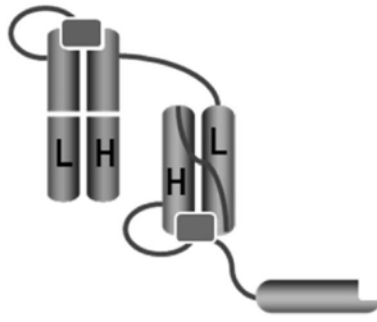


图50E

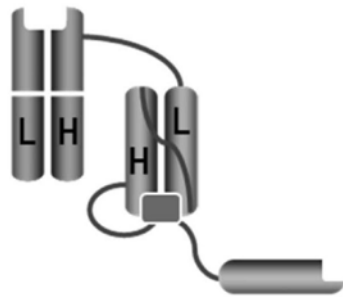


图50F

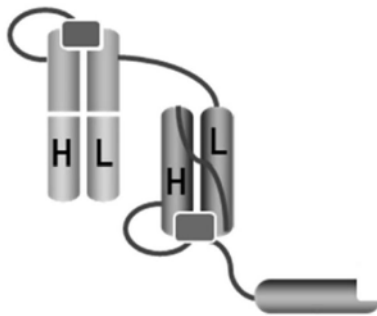


图50G

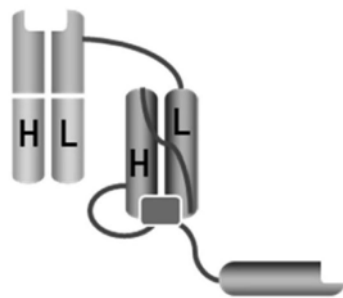


图50H

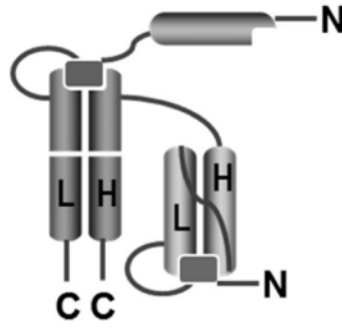


图50I

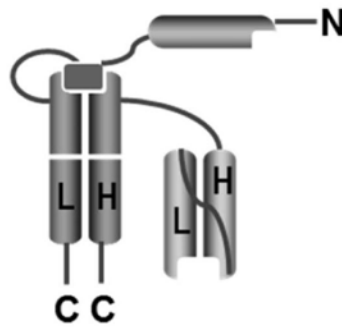


图50J

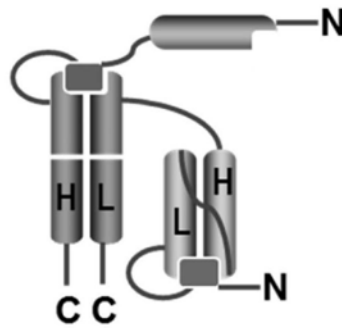


图50K

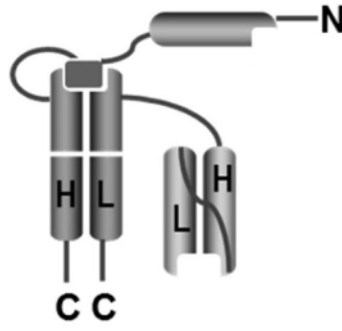


图50L

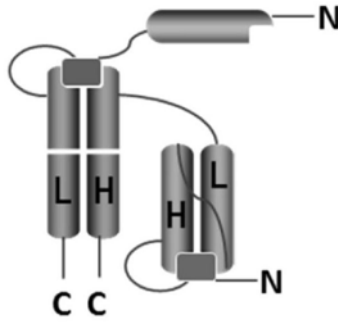


图50M

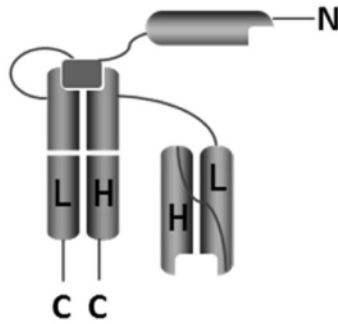


图50N

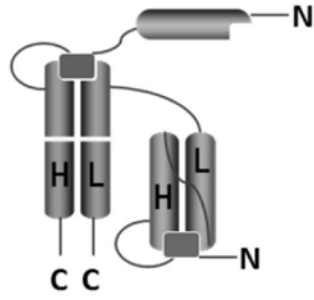


图500

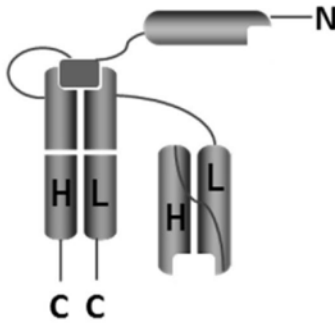


图50P