202204410

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202204410 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：110111557 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 03 月 30 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
C12N15/13 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/03/31 日本 2020-062357

(71)申請人：日商中外製藥股份有限公司 (日本) CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
日本

(72)發明人：直井壯太朗 NAOI, SOTARO (JP)；馮舒 FENG, SHU (CN)；顏 素婉 GAN, SIOK WAN (MY)

(74)代理人：洪澄文；洪茂

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：18 項 圖式數：27 共 390 頁

(54)名稱

免疫活化多特異性抗原結合分子及其用途

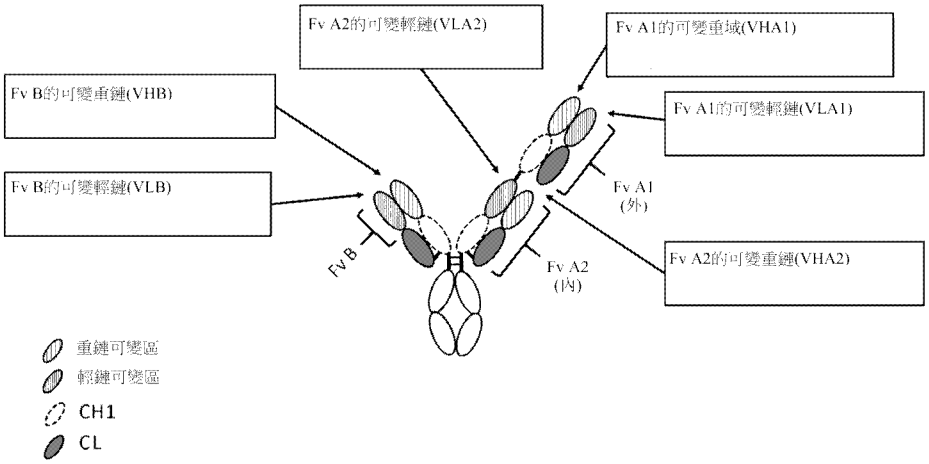
(57)摘要

本發明提供一種抗原結合分子，抗原結合分子包括可結合至 CD3 及 CD137(4-1BB)，但不同時結合至 CD3 及 CD137(即，雙重結合但不同步結合至 CD3 及 CD137)的第一抗原結合部分；以及可結合至特異性表現於癌組織中的分子，特別是磷脂醯肌醇蛋白聚醣 3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分。多特異性抗原結合分子因為雙重結合但不同步結合至 CD3 及 CD137 且結合至 GPC3，並具有微調的結合動力學，對癌細胞表現出強烈的細胞毒性活性且具有減少的不良反應。再者，藉由採用抗體工程技術與分子型式設計(包括在框架區及/或恆定區中的帶電突變、VH/VL 互換、與 Fc 區選擇)而提供具有較佳穩定性、可製造性/可生產性與結構同質性的多特異性抗原結合分子。

An antigen-binding molecule comprising a first antigen-binding moiety that is capable of binding to CD3 and CD137 (4-1BB), but does not bind to CD3 and CD137 at the same time (i.e. dual-binding to CD3 and CD137 but not simultaneously); and a second antigen-binding moiety capable of binding to a molecule specifically expressed in a cancer tissue, specifically Glypican-3 (GPC3) is provided. Due to the dual binding to CD3 and CD137 but not simultaneously and with fine-tuned binding kinetics, and the binding to GPC3, the multispecific antigen-binding molecule express strong cytotoxic activity for cancer cells with reduced adverse effects. Further, by adapting antibody engineering technologies and a molecular format design (including charged mutations in the framework region and/or constant region, VH/VL exchanged, and Fc region selection), the multispecific antigen-binding molecule with favorable stability, manufacturability/ produceability and structural homogeneity is provided.

指定代表圖：

命名規則


Fv A2的可變輕鏈(VLA2)
Fv A1的可變重域(VHA1)
Fv B的可變重鏈(VHB)
Fv A1的可變輕鏈(VLA1)
Fv B的可變輕鏈(VLB)
Fv A1
(外)
Fv B
Fv A2
(內)
Fv A2的可變重鏈(VHA2)
重鏈可變區
輕鏈可變區
CH1
CL

第 13 圖

202204410

【發明摘要】

【中文發明名稱】 免疫活化多特異性抗原結合分子及其用途

【英文發明名稱】 IMMUNE ACTIVATING MULTISPECIFIC ANTIGEN-BINDING MOLECULES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供一種抗原結合分子，抗原結合分子包括可結合至CD3及CD137(4-1BB)，但不同時結合至CD3及CD137(即，雙重結合但不同步結合至CD3及CD137)的第一抗原結合部分；以及可結合至特異性表現於癌組織中的分子，特別是磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分。多特異性抗原結合分子因為雙重結合但不同步結合至CD3及CD137且結合至GPC3，並具有微調的結合動力學，對癌細胞表現出強烈的細胞毒性活性且具有減少的不良反應。再者，藉由採用抗體工程技術與分子型式設計(包括在框架區及/或恆定區中的帶電突變、VH/VL互換、與Fc區選擇)而提供具有較佳穩定性、可製造性/可生產性與結構同質性的多特異性抗原結合分子。

【英文】

An antigen-binding molecule comprising a first antigen-binding moiety that is capable of binding to CD3 and CD137 (4-1BB), but does not bind to CD3 and CD137 at the same time (i.e. dual-binding to CD3 and CD137 but not simultaneously); and a second antigen-binding moiety capable of binding to a molecule specifically expressed in a cancer tissue, specifically Glypican-3 (GPC3) is provided. Due to the dual binding to CD3 and CD137 but not simultaneously and with fine-tuned binding kinetics, and the binding to GPC3, the multispecific antigen-binding molecule express strong

cytotoxic activity for cancer cells with reduced adverse effects. Further, by adapting antibody engineering technologies and a molecular format design (including charged mutations in the framework region and/or constant region, VH/VL exchanged, and Fc region selection), the multispecific antigen-binding molecule with favorable stability, manufacturability/produceability and structural homogeneity is provided.

【指定代表圖】　　第13圖

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 免疫活化多特異性抗原結合分子及其用途

【英文發明名稱】 IMMUNE ACTIVATING MULTISPECIFIC ANTIGEN-BINDING MOLECULES AND USES THEREOF

【技術領域】

【0001】本發明是關於癌症免疫療法的多特異性抗原結合分子及其使用方法。

【先前技術】

【0002】抗體因為在血漿中具有高度穩定性且具有很少副作用而作為藥物受到矚目。在許多治療抗體中，一些型態的抗體需要效應細胞而發揮抗腫瘤反應。抗體依賴性細胞介導細胞毒性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)是效應細胞針對與抗體結合的細胞所展現的細胞毒性，藉由抗體Fc區結合至存在於自然殺手細胞(natural killer cells, NK cells)與巨噬細胞上的Fc受體。直至今日，已發展出多種可誘導ADCC而發揮抗腫瘤效用的治療抗體作為治療癌性的藥品(Nat. Biotechnol. (2005) 23, 1073-1078)。

【0003】除了募集NK細胞或巨噬細胞作為效應細胞而誘導ADCC的抗體外，自1980年代起已知有募集T細胞作為效應細胞而採取細胞毒性的T細胞募集抗體(T cell-recruiting antibodies, TR antibodies)(非專利文獻 2至4)。TR抗體是辨識且結合至形成於T細胞上的T細胞受體複合體的任一次單元，特別是CD3ε鏈，以及癌細胞上抗原的雙特異性抗體。現今正發展著許多TR抗體。針對EpCAM的TR抗體-卡妥索單抗(Catumaxomab)已於歐盟批准用於治療惡性腹水。再者，近來已發現稱為「雙特異性T細胞銜接蛋白(bispecific T-cell engager, BiTE)」的一種TR

抗體展現出強烈的抗腫瘤活性(非專利文獻5與6)。百利妥單抗(Blinatumomab)為一種針對CD19的BiTE分子，首度於2014年受到FDA批准。與誘導抗體依賴性細胞介導細胞毒性(ADCC)與補體依賴性細胞毒性(complement-dependent cytotoxicity, CDC)的利妥昔單抗(Rituximab)相比，已證實百利妥單抗對體外的CD19/CD20陽性癌細胞展現出更強的細胞毒性活性(非專利文獻7)。

【0004】然而，已知三功能性抗體以癌抗原非依賴性的方式同時結合至T細胞及如NK細胞或巨噬細胞的細胞兩者，且因此表現於細胞上的受體交聯，並以抗原非依賴性的方式誘導各種細胞激素的表現。系統性投予三功能性抗體由於誘導了細胞激素的表現而被認為會導致類細胞激素風暴的副作用。事實上，已有報導指出在一期臨床試驗中，每個個體5微克的超低劑量是對患有非小細胞肺癌的患者系統性投予卡妥索單抗的最大耐受劑量，且投予較高的劑量導致了各種嚴重的副作用(非專利文獻8)。當以此低劑量投予時，卡妥索單抗可能會從未達到有效血液水平。亦即，以此低劑量投予卡妥索單抗可能無法達到預期的抗腫瘤效果。

【0005】近年來，透過使用對FcγR具有減弱結合活性的Fc區而提供一種在避免不良反應的同時引起T細胞介導的細胞毒性活性的修飾抗體(專利文獻1)。然而，就其分子結構而言，即便是這樣的抗體在結合至癌症抗原時也無法作用於兩個免疫受體，即CD3ε和FcγR。

尚未有一種以癌抗原特異性的方式發揮由T細胞介導的細胞毒性活性以及由T細胞以外的細胞介導的細胞毒性活性二者並同時避免不良反應的抗體。

【0006】同時，與卡妥索單抗不同，雙特異性sc$(Fv)_2$型式分子(BiTE)不具有Fcγ受體結合位，因此不會以癌抗原非依賴性的方式與T細胞及如NK細胞與巨噬細胞的細胞上表現的受體交聯。然而，因為雙特異性sc$(Fv)_2$是經修飾且不具有Fc區的低分子量抗體分子，故問題在於，在投予至患者後其血液半衰期明顯比

常規作為治療抗體的IgG型抗體更短。事實上，已有報導指出體內投予的雙特異性sc(Fv)$_2$的血液半衰期約為數個小時(非專利文獻9與10)。百利妥單抗為結合至CD19與CD3的sc(Fv)$_2$分子，已批准用於治療急性淋巴細胞白血病。已顯示百利妥單抗的血清半衰期在患者中小於2小時(非專利文獻11)。在百利妥單抗的臨床試驗中，使用微幫浦連續靜脈輸注投予百利妥單抗。此投予方法不僅對患者極為不便，還因為設備故障等因素而存在引發醫療事故的潛在風險。因此，這樣的投予方法不能說是合乎需求的。

【0007】T細胞於腫瘤免疫中扮演重要角色，已知藉由二種訊號活化： 1) T細胞受體(T cell receptor, TCR)與主要組織相容性複合體(major histocompatibility complex, MHC)第I型分子所呈現的抗原性肽的結合及TCR的活化；以及2) T細胞表面的共刺激分子與抗原呈現細胞上配體的結合及共刺激分子的活化。再者，屬於腫瘤壞死因子(tumor necrosis factor, TNF)超級家族以及TNF受體超級家族的分子的活化，如於T細胞表面的CD137(4-1BB)，已被描述為對於T細胞活化是重要的(非專利文獻12)。就這方面而言，已顯現出CD137促效抗體具有抗腫瘤功效，且經實驗顯示主要是因為CD8陽性T細胞及NK細胞的活化(非專利文獻13)。亦能理解的是，經工程化以具有嵌合抗原受體分子的T細胞(chimeric antigen receptor T cells, CAR-T cells)可增強藥效持續性，而嵌合抗原受體分子由作為胞外域的腫瘤抗原結合域以及作為胞內域的CD3及CD137訊號轉導域所組成(Porter, N ENGL J MED, 2011, 365; 725-733(非專利文獻14))。

【0008】然而，此CD137促效抗體起因於其非特異性肝毒性的副作用於臨床上及非臨床上已然成為問題，而藥劑的開發未有進展(Dubrot, Cancer Immunol. Immunother., 2010, 28, 512-22 (非專利文獻15))。已指出副作用的主因是涉及抗體經由抗體恆定區與Fcγ受體的結合(Schabowsky, Vaccine, 2009, 28, 512-22 (非專利文獻16))。再者，已有報導指出為了使靶定屬於TNF受體超級家族的受體的促效

抗體發揮體內促效活性，利用表現Fcγ受體的細胞(表現FcγRII的細胞)的抗體交聯是必要的(Li, Proc Natl Acad Sci USA. 2013, 110(48), 19501-6 (非專利文獻17)。WO2015/156268(專利文獻2)描述了具有含有CD137促效活性的結合域以及針對腫瘤特異性抗原的結合域的雙特異性抗體可發揮CD137促效活性且僅於表現該腫瘤特異性抗原的細胞存在的情況下活化免疫細胞。

【0009】已有報導了包括腫瘤特異性抗原(EGFR)結合域、CD137結合域與CD3結合域的三特異性抗體(WO2014/116846)。然而，因為具有此分子型式的抗體可同時結合至三種不同的抗原，據推測指出這些三特異性抗體可能會同時結合至CD3與CD137而導致表現CD3ε的T細胞與表現CD137的細胞(例如，T細胞、B細胞、NK細胞、樹突細胞等)之間產生交聯。在此情況下，尚未有抗體以癌抗原特異性的方式，透過CD137發揮T細胞介導的細胞毒性活性以及T細胞與其他免疫細胞活化活性兩者，並同時避免不良反應的發生。

【0010】磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)是表現於胚胎組織中的胞外基質蛋白，特別是表現於肝臟與腎臟中，並涉及器官形成的過程。雖然GPC3在成體組織中除了胎盤之外沒有表現於一般組織細胞中，但其表現於各種癌組織中，因此可作為癌症治療的目標分子、腫瘤標記以及診斷標記。近來已描述有一種辨識GPC3殘基524至563的治療單抗(非專利文獻18與19)。稱為GC33的單特異性單抗誘導了抗體依賴性細胞毒性(ADCC)且對小鼠中皮下移植HepG2與HuH-7異位異種移植(ectopic xenograft)展現出腫瘤成長抑制的效果。WO2016/047722(專利文獻4)揭示一種結合至CD3與GPC3並對表現GPC3的癌細胞展現出細胞毒性活性的雙特異性抗體。

[文獻列單]

[專利文獻]

【0011】

[專利文獻1] WO2012/073985

[專利文獻2] WO2015/156268

[專利文獻3] WO2014116846

[專利文獻4] WO2016/047722

[非專利文獻]

【0012】

[非專利文獻1] Nat. Biotechnol. (2005) 23, 1073-1078

[非專利文獻2] Nature. 1985 Apr 18-24;314(6012):628-31.

[非專利文獻3] Int J Cancer. 1988 Apr 15;41(4):609-15.

[非專利文獻4] Proc Natl Acad Sci U S A. 1986 Mar;83(5):1453-7.

[非專利文獻5] Proc Natl Acad Sci U S A. 1995 Jul 18;92(15):7021-5.

[非專利文獻6] Drug Discov Today. 2005 Sep 15;10(18):1237-44.

[非專利文獻7] Int J Cancer. 2002 Aug 20;100(6):690-7.

[非專利文獻8] Cancer Immunol Immunother (2007) 56 (10), 1637-44

[非專利文獻9] Cancer Immunol Immunother. (2006) 55 (5), 503-14

[非專利文獻10] Cancer Immunol Immunother. (2009) 58 (1), 95-109

[非專利文獻11] Nat Rev Drug Discov. 2014 Nov;13(11):799-801.

[非專利文獻12] Vinay, 2011, Cellular & Molecular Immunology, 8, 281-284

[非專利文獻13] Houot, 2009, Blood, 114, 3431-8

[非專利文獻14] Porter, N ENGL J MED, 2011, 365;725-733

[非專利文獻15] Dubrot, Cancer Immunol. Immunother., 2010, 28, 512-22

[非專利文獻16] Schabowsky, Vaccine, 2009, 28, 512-22

[非專利文獻17] Li, Proc Natl Acad Sci USA. 2013, 110(48), 19501-6

[非專利文獻18] Ishiguro, T. et al., (2008). Cancer research 68, 9832-9838

[非專利文獻19] Nakano, K. et al., (2009). Biochemical and biophysical research communications 378, 279-284

【發明內容】

[技術問題]

【0013】本發明的一個目標是提供可有效且特異性地將T細胞募集至目標癌細胞的多特異性抗原結合分子，特別是表現磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(GPC3)的細胞，例如癌細胞，且多特異性抗原結合分子可透過針對包含表現GPC3的細胞的目標癌組織的T細胞之細胞毒性活性而治療癌症；抗原結合分子的製造方法；以及包含抗原結合分子作為活性成分的醫藥組成物。本發明也提供多特異性抗原結合分子的獲得方法，此多特異性抗原結合分子更有效率地誘導T細胞依賴性細胞毒性並同時避免現有技術的多特異性抗原結合分子可能會具有的不良毒性問題或副作用。

[解決問題的手段]

【0014】具體而言，本發明提供一種抗原結合分子，抗原結合分子包括：可結合至CD3及CD137(4-1BB)，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)(即，雙重結合但不同步結合至CD3及CD137)的第一抗原結合部分；以及可結合至特異性表現於癌組織中的分子，特別是磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(GPC3)的第二抗原結合部分。

【0015】與只結合至CD3的T細胞募集雙特異性抗體相比，本發明的多特異性抗原結合分子除了CD3結合能力外，對CD137具有雙重結合能力，有利地展現出對CD3訊號加乘的共刺激分子CD137訊號所貢獻的增強T細胞依賴性細胞毒性

活性。此外，因為抗原結合分子與CD3及CD137的結合是非同時的(即，沒有同時結合至CD3及CD137)，相同的抗原結合分子將不會同時結合至表現於不同免疫細胞(例如，T細胞)上的CD3及/或CD137，因此避免了不同免疫細胞間不期望的交聯而造成的系統性毒性問題，而體內投予可同步結合至CD3及表現於T細胞上的第二分子(例如，CD137)的常規多特異性抗原結合分子時的不良反應被認為是歸咎於此系統性毒性問題。

【0016】此外，透過改造且改良對CD137的結合活性而沒有對本發明抗原結合分子的CD3雙重結合活性帶來負面的影響，發明人於1000個以上的變體選擇出包含特異性重鏈互補決定區(heavy chain complementary determining regions, HCDRs)或重鏈可變區(VH)以及特異性輕鏈互補決定區(light chain CDRs, LCDRs)或輕鏈可變區(VL)的抗原結合分子，這些抗原結合分子以癌抗原(GPC3)依賴性的方式對腫瘤展現出優越的T細胞依賴性細胞毒性活性。在一態樣中，發明人意外地發現，透過改造出最佳的CD3與CD137結合模式，所選擇的抗原結合分子展現出強烈的T細胞依賴性細胞毒性活性及低毒性。

【0017】最終，發展多特異性抗體的共同難題一直以來是以臨床上足夠量及純度製造出多特異性抗體的構築體，因為在共表現時不同特異性的抗體重鏈與輕鏈會發生錯誤配對而減少正確結合構築體的產率並產生一些不具功能的副產物，所欲的多特異性抗體可能會難以從這些副產物分離。在一態樣中，本發明藉由仔細的抗體工程與分子型式設計(包括在框架區及/或恆定區中的帶電突變、VH/VL互換、與Fc區選擇)而提供了設計用於T細胞活化與重新導向的多特異性抗原結合分子，其結合良好的抗癌功效與低毒性，並具有較佳的穩定性、可製造性/可生產性及結構同質性。

【0018】由於上述所有努力的結果，抗原結合分子及其醫藥組成物可用於靶向表現GPC3的細胞，用於治療各種癌症的免疫療法，尤其是與GPC3相關的癌

症，例如GPC3陽性腫瘤。

【0019】更具體而言，本揭露提供下述者：

[1] 一種多特異性抗原結合分子，包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一抗原結合部分包括擇自於下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) SEQ ID NO: 17的重鏈互補決定區1(complementarity determining region 1, CDR 1)、SEQ ID NO: 31的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 45的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 64的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 69的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 74的輕鏈CDR 3；

(a2) SEQ ID NO: 18的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 32的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 46的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a3) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a4) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3；

(a5) SEQ ID NO: 20的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 34的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 48的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a6) SEQ ID NO: 22的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 36的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 50的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以

及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a7) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a8) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a9) SEQ ID NO: 24的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 38的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 52的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a10) SEQ ID NO: 25的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 39的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 53的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a11) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a12) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a13) SEQ ID NO: 27的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 41的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 55的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a14) SEQ ID NO: 28的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 42的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 56的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR

2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；以及

(a15) SEQ ID NO: 82的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 83的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 84的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3。

[1A] 如[1]之多特異性抗原結合分子，其中可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(GPC3)的第二抗原結合部分包括SEQ ID NO: 235的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 244的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 253的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 268的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 274的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 280的輕鏈CDR 3。

[1B] 如[1]或[1A]任一者之多特異性抗原結合分子，更包括Fc域。

[1C] 如[1B]之多特異性抗原結合分子，其中Fc域由可穩定締合的第一Fc區次單元與第二Fc區次單元所形成，且其中與天然的人類IgG1的Fc域相比，上述Fc域對人類Fcγ受體展現出減弱的結合親和性。

[1D] 如[1C]之多特異性抗原結合分子，其中第一Fc區次單元係擇自於包括下列的群組：

(c1) 包括第234位為Ala以及第235位為Ala的Fc區多肽；

(c2) 包括第234位為Ala、第235位為Ala以及第297位為Ala的Fc區多肽；

(c3) 包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第354位為Cys以及第366位為Trp的Fc區多肽；

且其中第二Fc區次單元係擇自於包括下列的群組：

(c4) 包括第234位為Ala以及第235位為Ala的Fc區多肽；

(c5) 包括第234位為Ala、第235位為Ala以及第297位為Ala的Fc區多肽；以及

(c6) 包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第349位為Cys、第366位為Ser、第368位為Ala以及第407位為Val的Fc區多肽；

且其中胺基酸位置係使用EU索引編號而進行編號。

[1E] 如[1B]至[1D]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中Fc域為IgG Fc域，較佳為人類IgG Fc域，更佳為人類IgG1 Fc域。

[2] 如[1]至[1E]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中第一抗原結合部分包括擇自下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) 包括SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 59的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a2) 包括SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a3) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a4) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a5) 包括SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a6) 包括SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a7) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a8) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a9) 包括SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a10) 包括SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a11) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a12) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a13) 包括SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a14) 包括SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及

(a15) 包括SEQ ID NO: 81的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區。

[3] 如[1]至[2]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中第二抗原結合部分包括包含SEQ ID NO: 226的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 262的胺基酸序列的輕鏈可變區。

[4] 如[1B]至[3]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中上述Fc域包括SEQ ID NO: 317所示的第一Fc區次單元以及SEQ ID NO: 323所示的第二Fc區次單元。

[5] 如[1]至[4]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中第一抗原結合部分與第二抗原結合部分各為Fab分子。

[6] 如[5]之多特異性抗原結合分子，其中第一抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至上述Fc域的第一Fc區次單元或第二Fc區次單元任一者的N端，且第二抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至上述Fc域的剩餘次單元的N端。

[7] 如[5]或[6]之多特異性抗原結合分子，其中第二抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換且其包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)，且其中第一抗原結合部分為包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)的傳統Fab分子。

[8] 如[7]之多特異性抗原結合分子，其中在第一抗原結合部分的輕鏈恆定域(CL)中，第123位及/或第124位的胺基酸獨自以精胺酸(R)、離胺酸(K)或組胺酸(H)取代(根據Kabat編號)，且其中在第一抗原結合部分的重鏈恆定域(CH1)中，第147位及/或第213位的胺基酸獨自以麩胺酸(E)或天門冬胺酸(D)取代(根據Kabat EU索引編號)。

[8A] 如[8]之多特異性抗原結合分子，其中在第一抗原結合部分的輕鏈恆定域(CL)中，第123位與第124位的胺基酸分別為精胺酸(R)與離胺酸(K)(根據Kabat編號)，且其中在第一抗原結合部分的重鏈恆定域(CH1)中，第147位與第213位的胺基酸為麩胺酸(E)(根據Kabat EU索引編號)。

[9] 如[8]至[8A]中任一者之多特異性抗原結合分子，其包括擇自於下列(a1)至(a6)組合的任一者中的四個多肽：

(a1) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 219的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a2) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 220的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a3) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 291的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a4) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 292的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a5) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210

的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 293的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；以及

(a6) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 294的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

且其中四個多肽鏈(鏈1至鏈4)較佳是根據第2圖所示的方向彼此連接及/或締合。

[10] 一種單離的多核苷酸或複數個多核苷酸，其編碼如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子。

[11] 一種載體，其編碼如[10]之單離的多核苷酸或複數個多核苷酸。

[12] 一種宿主細胞，包括如[10]之單離的多核苷酸或複數個多核苷酸，或如[11]之載體。

[13] 一種如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子的製造方法，包括以下步驟：

(a) 在適合表現上述抗原結合分子的條件下，培養如[12]之宿主細胞；以及

(b) 回收上述抗原結合分子。

[13A] 一種多特異性抗原結合分子，係利用如[13]之方法所製造。

[14] 一種醫藥組成物，包括如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子以及醫藥上可接受的載劑。

[15] 如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[14]之醫藥組成物，其誘導細胞毒性，較佳為T細胞依賴性細胞毒性。

[16] 如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[14]之醫藥組成物，其用作為藥物。

[17] 如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[14]之醫藥組成物，其

係用於治療有需要的個體中的疾病。

[18] 如[17]之多特異性抗原結合分子或醫藥組成物，其中疾病為癌症，較佳為表現GPC3的癌症或GPC3陽性的癌症。

[19] 一種如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[14]之醫藥組成物的用途，其係用於製備治療有需要的個體中的疾病的藥物。

[20] 一種治療個體中疾病的方法，包括對上述個體投予治療有效量之如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[14]之醫藥組成物。

[21] 如[19]之用途或如[20]之方法，其中疾病為癌症，較佳為表現GPC3的癌症或GPC3陽性的癌症。

[22] 一種誘導目標細胞裂解的方法，包括在T細胞存在下，使目標細胞與如[1]至[9]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[14]之醫藥組成物接觸。

[23] 一種套組，包括如[14]之醫藥組成物以及藥品仿單，藥品仿單包括投予至對象的說明，以治療或延遲癌症進程，較佳為GPC3陽性的癌症或表現GPC3的癌症。

本發明的另一態樣是關於：

[24] 一種多特異性抗原結合分子，包括具有擇自於下列(a1)至(a6)的任一組合的四個多肽：

(a1) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 219的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a2) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 220的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a3) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210

的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 291的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a4) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 292的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a5) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 293的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；以及

(a6) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 294的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

且其中四個多肽鏈(鏈1至鏈4)較佳是根據第2圖所示的方向彼此連接及/或締合。

本發明的又另一態樣是關於：

[25] 一種多特異性抗原結合分子，包括SEQ ID NO: 82的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 83的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 84的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3。

[26] 一種多特異性抗原結合分子，包括包含SEQ ID NO: 81的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區。

本發明的又另一態樣是關於：

[27] 一種多特異性抗原結合分子，包括：

(i) 結合至人類CD3的第一抗原結合部分(moiety)；以及

(ii) 結合至人類磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一抗原結合部分包括擇自於下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) SEQ ID NO: 17的重鏈互補決定區1(complementarity determining region 1, CDR 1)、SEQ ID NO: 31的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 45的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 64的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 69的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 74的輕鏈CDR 3；

(a2) SEQ ID NO: 18的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 32的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 46的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a3) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a4) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3；

(a5) SEQ ID NO: 20的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 34的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 48的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a6) SEQ ID NO: 22的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 36的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 50的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a7) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a8) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO:

51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a9) SEQ ID NO: 24的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 38的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 52的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a10) SEQ ID NO: 25的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 39的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 53的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a11) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a12) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a13) SEQ ID NO: 27的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 41的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 55的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a14) SEQ ID NO: 28的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 42的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 56的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；以及

(a15) SEQ ID NO: 82的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 83的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 84的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3；

且(iii) 更包括Fc域，Fc域由可穩定締合的第一Fc區次單元與第二Fc區次單元

所形成，且其中與天然的人類IgG1的Fc域相比，上述Fc域對人類Fcγ受體展現出減弱的結合親和性；

其中第一Fc區次單元為包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第354位為Cys以及第366位為Trp的Fc區多肽；且

其中第二Fc區多肽為包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第349位為Cys、第366位為Ser、第368位為Ala以及第407位為Val的Fc區多肽；

且其中胺基酸位置係使用EU索引編號而進行編號。

[28] 如[27]之多特異性抗原結合分子，其中第一抗原結合部分包括擇自下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) 包括SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 59的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a2) 包括SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a3) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a4) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a5) 包括SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a6) 包括SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a7) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a8) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61

的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a9) 包括SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a10) 包括SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a11) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a12) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a13) 包括SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a14) 包括SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及

(a15) 包括SEQ ID NO: 81的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區。

[29] 如[27]或[28]之多特異性抗原結合分子，其中第二抗原結合部分包括SEQ ID NO: 235的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 244的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 253的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 268的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 274的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 280的輕鏈CDR 3。

[30] 如[27]至[29]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中第二抗原結合部分包括包含SEQ ID NO: 226的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 262的胺基酸序列的輕鏈可變區。

[31] 如[27]至[30]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中上述Fc域包括SEQ ID NO: 317所示的第一Fc區次單元以及SEQ ID NO: 323所示的第二Fc區次

單元。

[32] 如[27]至[31]中任一者之多特異性抗原結合分子，其中第一抗原結合部分與第二抗原結合部分各為Fab分子。

[33] 如[32]之多特異性抗原結合分子，其中第一抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至上述Fc域的第一Fc區次單元或第二Fc區次單元任一者的N端，且第二抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至上述Fc域的剩餘Fc區次單元的N端。

[34] 如[32]或[33]之多特異性抗原結合分子，其中第二抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換且其包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)，且其中第一抗原結合部分為包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)的傳統Fab分子。

[35] 如[34]之多特異性抗原結合分子，其中在第一抗原結合部分的輕鏈恆定域(CL)中，第123位與第124位的胺基酸分別為精胺酸(R)與離胺酸(K)(根據Kabat編號)，且其中在第一抗原結合部分的重鏈恆定域(CH1)中，第147位與第213位的胺基酸為麩胺酸(E)(根據EU編號)。

[36] 如[27]至[35]中任一者之多特異性抗原結合分子，其包括擇自於下列(a1)至(a6)組合的任一者中的四個多肽：

(a1) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 219的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a2) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 220的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a3) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 291的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)

以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a4) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 292的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a5) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 293的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；以及

(a6) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 294的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)。

[37] 一種單離的多核苷酸或複數個多核苷酸，其編碼如[27]至[36]中任一者之多特異性抗原結合分子。

[38] 一種載體，其編碼如[37]之單離的多核苷酸或複數個多核苷酸。

[39] 一種宿主細胞，包括如[37]之單離的多核苷酸或複數個多核苷酸，或如[38]之載體。

[40] 一種如[27]至[36]中任一者之多特異性抗原結合分子的製造方法，包括以下步驟：

(a) 在適合表現上述抗原結合分子的條件下，培養如[39]之宿主細胞；以及

(b) 回收上述抗原結合分子。

[41] 一種醫藥組成物，包括如[27]至[36]中任一者之多特異性抗原結合分子以及醫藥上可接受的載劑。

[42] 如[27]至[36]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[41]之醫藥組成物，其誘導細胞毒性，較佳為T細胞依賴性細胞毒性。

[43] 如[27]至[36]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[41]或[42]之醫藥

組成物，其用作為藥物。

[44] 如[27]至[36]中任一者之多特異性抗原結合分子或如[41]或[42]之醫藥組成物，其係用於治療癌症，較佳為表現GPC3的癌症或GPC3陽性的癌症。

【圖式簡單說明】

【0020】

第1圖為顯示Biacore串聯阻斷試驗(Biacore in-tandem blocking assay)的結果圖，其以AE06及AE15評估針對CD3及CD137的非同時結合。

第2圖為示意性描繪具有各組成註解的各種抗體型式的圖式。圖(a)描繪利用FAST-Ig的1+1雙特異性抗體，且圖(b)描繪利用CrossMab技術的1+1雙特異性抗體。

第3圖為親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體三特異性抗體的CD3促效活性的測量結果圖。每張圖顯示平均發光單位 ± 標準偏差(s.d.)，係藉由將SK-pca60細胞株與NFAT-luc2 Jurkat 報導細胞以E:T為5的比例共培養24小時，並經由選擇的抗體分為盤1(左圖)及盤2(右圖)而測得。添加0.02、0.2及2 nM的抗體。

第4圖為親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體三特異性抗體的CD137促效活性的測量結果圖。每張圖顯示平均發光單位 ± 標準偏差(s.d.)，係藉由將SK-pca60細胞株與過度表現CD137的 Jurkat NFκB 報導細胞以E:T為5的比例共培養5小時，並經由選擇的抗體分為盤1(左圖)及盤2(右圖)而測得。添加0.5、2.5及5 nM的抗體。

第5圖為親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體三特異性抗體的CD137促效活性的測量結果圖。(a) 平均發光單位 ± 標準偏差(s.d.) 係藉由將SK-pca60細胞株與過度表現CD137的 Jurkat NFκB 報導細胞共培養，並經由一組選擇的抗體而測得。(b) 與(a)相似，於第2盤中分析平均發光單位 ± 標準偏差(s.d.)，其係藉由將SK-pca60細胞株與過度表現CD137的 Jurkat NFκB報導細胞共培養，並經由其他組的抗體而測得。

第6圖為GPC3/Dual-Ig變體的細胞毒性測量結果圖。在以5 nM為起始3倍序列稀

釋之選擇的GPC3/Dual-Ig三特異性分子存在的情況下，將SK-pca60與PBMC共培養。E:T比為0.5。使用即時xCELLigence系統進行分析。於接近120小時獲得的平均細胞成長抑制(%)值± s.d. 經作圖示於各圖中。

第7圖顯示GPC3/Dual-Ig變體的平均細胞毒性(細胞成長抑制(%)值 ± s.d.)。在5 nM與10 nM之選擇的GPC3/Dual-Ig三特異性分子存在的情況下，將SK-pca60與PBMC共培養。E:T比為0.5，並使用即時xCELLigence系統進行分析。於120小時獲得的平均細胞成長抑制(%)值± s.d.經作圖示於圖中。

第8圖顯示於PBMC溶液中釋出的抗原非依賴性細胞激素(IFNγ)的測量結果。以5nM為起始3倍序列稀釋之選擇的GPC3/Dual-Ig三特異性分子存在的情況下，將SK-pca60與PBMC共培養。E:T比為0.5。在48小時的時間點分析共培養物的上清液。圖式顯示IFNγ的平均濃度± s.d.。為了進行評估而將抗體分成盤1(上圖)與盤2(下圖)。

第9圖顯示於PBMC溶液中釋出的抗原非依賴性細胞激素(IL-2)的測量結果。以5nM為起始3倍序列稀釋之經選擇的GPC3/Dual-Ig三特異性分子存在下，將SK-pca60與PBMC共培養。E:T比為0.5。在48小時的時間點分析共培養物的上清液。圖式顯示IL-2的平均濃度± s.d.。為了進行評估而將抗體分成盤1(上圖)與盤2(下圖)。

第10圖顯示於PBMC溶液中釋出的抗原非依賴性細胞激素(IL-6)的測量結果。以5nM為起始3倍序列稀釋之經選擇的GPC3/Dual-Ig三特異性分子存在下，將SK-pca60與PBMC共培養。E:T比為0.5。在48小時的時間點分析共培養物的上清液。圖式顯示IL-6的平均濃度± s.d.。為了進行評估而將抗體分成盤1(上圖)與盤2(下圖)。

第11圖顯示AE05與AE15的CrossMab抗體針對SK-pca60細胞株的TDCC活性測量結果。細胞成長抑制(%)值± s.d.。E:T比為0.5。添加0.008、0.04、0.2、1.0及

5nM的抗體。

第12圖示意性描繪出三特異性抗體-抗體AB(單抗AB)相對於抗體A(單抗A)與抗體B(單抗B)的設計及構築。

第13圖示意性描繪出三特異性抗體-抗體AB(單抗AB)的命名規則。

第14圖顯示GPC3陰性細胞上抗原非依賴性Jurkat活化的測量結果。親代CHO細胞與NFAT-luc2 Jurkat報導細胞以E:T為5的比例共培養24小時，並使用LDH測定進行分析。圖式描繪以0.5、5及50 nM進行培養的不同抗體型式的平均發光單位±標準差(s.d.)。

第15圖顯示GPC3陰性細胞上抗原非依賴性Jurkat活化的測量結果。過度表現CD137的CHO細胞與NFAT-luc2 Jurkat報導細胞以E:T為5的比例共培養24小時。圖式描繪以0.5、5及50 nM進行培養的不同抗體型式的平均發光單位±標準差(s.d.)。

第16圖顯示於PBMC溶液中釋出的抗原非依賴性細胞激素(IFNγ)的測量結果。在48小時的時間點分析親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體或GPC3/CD137xCD3三特異性抗體的上清液，親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體或GPC3/CD137xCD3三特異性抗體以3.2、16及80nM添加至PBMC溶液。圖式顯示IFNγ的平均濃度± s.d.。為了進行評估而將抗體分成盤1(上圖)與盤2(下圖)。

第17圖顯示於PBMC溶液中釋出的抗原非依賴性細胞激素(TNFα)的測量結果。在48小時的時間點分析親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體或GPC3/CD137xCD3三特異性抗體的上清液，親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體或GPC3/CD137xCD3三特異性抗體以3.2、16及80nM添加至PBMC溶液。圖式顯示TNFα的平均濃度± s.d.。為了進行評估而將抗體分成盤1(上圖)與盤2(下圖)。

第18圖顯示於PBMC溶液中釋出的抗原非依賴性細胞激素(IL-6)的測量結果。在48小時的時間點分析親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體或GPC3/CD137xCD3三特

異性抗體的上清液，親和性成熟的GPC3/Dual-Ig變體或GPC3/CD137xCD3三特異性抗體以3.2、16及80nM添加至PBMC溶液。圖式顯示IL-6的平均濃度± s.d.。為了進行評估而將抗體分成盤1(上圖)與盤2(下圖)。

第19圖顯示huNOG小鼠模型中針對sk-pca-13a異體移植的抗體體內功效測量結果。Y軸指的是腫瘤體積(mm^3)且X軸指的是指腫瘤移植後天數。

第20圖顯示人源化CD3/CD137小鼠模型中針對LLC1/hGPC3癌細胞株的抗體體內功效測量結果。Y軸指的是腫瘤體積(mm^3)且X軸指的是腫瘤移植後天數。

第21圖顯示投予各抗體至小鼠中血漿IL-6濃度的測量結果。小鼠於抗體注射後2小時採血，並使用Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Th1 Panel測量血漿IL-6濃度。

第22圖顯示人源化CD3/CD137小鼠模型中針對LLC1/hGPC3異體移植的抗體體內功效測量結果。Y軸指的是腫瘤體積(mm^3)且X軸指的是腫瘤移植後天數。

第23圖顯示投予各抗體至小鼠中血漿IL-6濃度的測量結果。小鼠於抗體注射後2小時採血，並使用Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Th1 Panel測量血漿IL-6濃度。

第24圖顯示人源化CD3/CD137小鼠模型中針對LLC1/hGPC3癌細胞株的抗體體內功效測量結果。Y軸指的是腫瘤體積(mm^3)且X軸指的是腫瘤移植後天數。

第25圖顯示人源化CD3/CD137小鼠模型中針對Hepa1-6/hGPC3癌細胞株的抗體體內功效測量結果。Y軸指的是腫瘤體積(mm^3)且X軸指的是腫瘤移植後天數。

第26圖顯示人源化CD3/CD137小鼠模型中針對Hepa1-6/hGPC3癌細胞株的功效研究中，注射後第4天抗GPC3/Dual-Fab抗體的血漿濃度測量結果。

第27圖顯示FAST-Ig與CrossMab的毛細管等電聚焦(capillary isoelectric focusing , cIEF)分析結果。

【實施方式】

【0021】本發明所屬領域中具有通常知識者使用常規方法普遍充分理解與

採用本文描述或引用的技術和步驟，例如，下列所述中廣泛使用的方法：Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.；Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003))；the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1987))；Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984)；Methods in Molecular Biology, Humana Press；Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press；Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987)；Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press；Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons；Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.)；Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987)；PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994)；Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991)；Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)；Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997)；Antibodies (P. Finch, 1997)；Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)；Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)；Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)；The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)；以及 Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)。

【0022】提供以下定義和詳細描述以助於對本文所示的揭露有所理解。

【0023】定義

胺基酸

於本文中，胺基酸是以一或三字母編碼或上述兩者進行描述。例如，Ala/A、Leu/L、Arg/R、Lys/K、Asn/N、Met/M、Asp/D、Phe/F、Cys/C、Pro/P、Gln/Q、Ser/S、Glu/E、Thr/T、Gly/G、Trp/W、His/H、Tyr/Y、Ile/I、或Val/V。

【0024】胺基酸的改變

對於抗原結合分子胺基酸序列中的胺基酸改變(於此說明中亦描述為「胺基酸取代」或「胺基酸突變」)，可適當地採用已知方法如定點突變方法(site-directed mutagenesis)(Kunkel et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1985) 82, 488-492))及重疊延伸聚合酶連鎖反應(overlap extension PCR)。再者，也可採用許多已知方法作為取代成非天然胺基酸的胺基酸改變方法(Annu Rev. Biophys. Biomol. Struct. (2006) 35, 225-249; and Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (11), 6353-6357)。例如，適合使用無細胞轉譯系統(Clover Direct (Protein Express))，其包含具有與其中一種終止密碼子(UAG密碼子(琥珀密碼子))的互補琥珀抑制子tRNA結合的非天然胺基酸的tRNA。

【0025】在本說明書中，當描述胺基酸改變的位點時，「及/或」一詞的意思包括適當結合「及」與「或」的每種組合。具體而言，例如，「取代第33、55、及/或96位的胺基酸」包括以下胺基酸改變的變化：(a)第33位胺基酸、(b)第55位胺基酸、(c)第96位胺基酸、(d)第33及55位胺基酸、(e)第33及96位胺基酸、(f)第55及96位胺基酸、以及(g)第33、55及96位胺基酸。

【0026】再者，於本文中，作為顯示胺基酸改變的表達用法，可以適當地使用在指示特定位置的數字之前和之後的表達用法，分別在胺基酸改變之前和之後的一字母或三字母代碼。例如，當取代包含於抗體改變區中的胺基酸時使

用改變N100bL或Asn100bLeu，表示第100b位(根據Kabat編號)的Asn以Leu取代。亦即，上述數字根據Kabat編號顯示胺基酸位置，在該數字之前的一字母或三字母胺基酸密碼顯示取代前的胺基酸，且在該數字之後的一字母或三字母胺基酸密碼顯示取代後的胺基酸。同樣地，當取代包含於抗體恆定區中的Fc區胺基酸時使用改變P238D或Pro238Asp，表示第238位(根據EU編號)的Pro以Asp取代。亦即，上述數字根據EU編號顯示胺基酸位置，在該數字之前的一字母或三字母胺基酸密碼顯示取代前的胺基酸，且在該數字之後的一字母或三字母胺基酸密碼顯示取代後的胺基酸。

【0027】多肽

如本文所使用，「多肽」一詞指的是構成單體(胺基酸)的分子，係以醯胺鍵(也稱為肽鍵)線性連接。「多肽」一詞指的是兩個或兩個以上胺基酸的任何鏈，且並不是指產物的特定長度。因此，用以指的是兩個或兩個以上胺基酸的一鏈的胜肽、雙肽、三肽、寡肽、「蛋白質」、「胺基酸鏈」或任何其他用詞包含於「多肽」的定義之中，且可使用「多肽」一詞取而代之或以任何這些用詞替換使用「多肽」一詞。「多肽」一詞也意指多肽表現後修飾的產物，包括但不限於，醣基化、乙醯化、磷酸化、醯胺化、已知保護/阻斷基團的衍生化、蛋白水解或非天然存在胺基酸修飾。多肽可衍生於天然生物來源或由重組技術所產生，但並非一定得由指定的核酸序列所轉譯。可由任何方式產生多肽，包括化學合成。本文所描述的多肽可以是約3或3個以上、5或5個以上、10或10個以上、20或20個以上、25或25個以上、50或50個以上、75或75個以上、100或100個以上、200或200個以上、500或500個以上、1000或1000個以上或2000或2000個以上胺基酸的尺寸。多肽可具有定義的三維結構，但不一定具有此結構。具有定義的三維結構的多肽視為折疊的，且不具有定義的三維結構的多肽視為未折疊的，但可採用大量的不同構型。

【0028】胺基酸序列相似度百分比(%)

相對於參考多肽序列的「胺基酸序列相似度百分比(%)」定義為在比對序列且若有必要的話，則將間隙導入以達到最大的序列相似度百分比，且不將任何保守取代視為序列相似度的一部分後，候選序列中與參考多肽序列的胺基酸殘基相同的胺基酸殘基的百分比。可用本發明所屬領域技術中的各種方式，來實現用於確定胺基酸序列相似度百分比的比對，例如，使用公開可用的電腦軟體例如BLAST、BLAST-2、ALIGN或Megalign(DNASTAR)軟體。本發明所屬技術領域中具有通常知識者可確定用於比對序列的合適參數，包含在所比較的序列的全長上實現最大比對所需的任何演算法。然而，為了此述的目的，胺基酸序列相似度百分比的數值是利用序列比較電腦程式ALIGN-2產生。ALIGN-2序列比較電腦程式由Genentech, Inc.編寫，且來源碼已與用戶文件一起歸檔(file)於U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559中，且註冊於美國版權註冊號TXU510087中。ALIGN-2程式可從Genentech, Inc., South San Francisco, California公開獲得，或也可從來源碼中進行編譯。ALIGN-2程式應編譯為在UNIX操作系統(包含數位UNIX V4.0D)上使用。所有序列比較參數均由ALIGN-2程式設置，且沒有改變。在使用ALIGN-2進行胺基酸序列比較的情況下，給定的胺基酸序列A對、和或針對給定的胺基酸序列B(可替代地表示為具有或包含對、和或針對給定的胺基酸序列B的胺基酸序列相似度百分比的給定的胺基酸序列A)胺基酸序列相似度百分比的計算如下：

分數X/Y的100倍

其中X是在此程式的A和B的比對中被序列比對程式ALIGN-2計為相同匹配的胺基酸殘基的數目，且其中Y是B中胺基酸殘基的總數目。應理解的是，若胺基酸序列A的長度不等於胺基酸序列B的長度，則A對B的胺基酸序列相似度%將不等於B對A的胺基酸序列相似度%。除非另有具體說明，否則如前一段落所述，

使用ALIGN-2電腦程式，來獲得本文使用的所有胺基酸序列相似度%數值。

【0029】重組方法與組成物

可使用重組方法和組合物來製造抗體與抗原結合分子，如美國專利號4,816,567中所述。在一實施例中，提供了編碼本文所述抗體的單離核酸。這樣的核酸可編碼包含抗體VL的胺基酸序列和/或包含抗體VH的胺基酸序列(例如，抗體的輕鏈和/或重鏈)。在又一實施例中，提供了包含此類核酸的一或多種載體(例如，表現載體)。在又一實施例中，提供了包含此類核酸的宿主細胞。在一此類實施例中，宿主細胞包含(例如，已經用以下所述轉形)：(1)載體，其包含編碼包含抗體VL的胺基酸序列和包含抗體VH的胺基酸序列的核酸、或(2)第一載體，其包含編碼包含抗體VL的胺基酸序列的核酸；及第二載體，其包含編碼包含抗體VH的胺基酸序列的核酸。在一實施例中，宿主細胞是真核的，例如中國倉鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary，CHO)細胞或類淋巴細胞(例如Y0、NS0、Sp2/0細胞)。在一實施例中，提供了一種本發明多特異性抗原結合分子製備方法，其中此方法包含：在適合表現抗體的條件下，培養包含編碼如上所述之抗體的核酸的宿主細胞，和視需要地從宿主細胞(或宿主細胞培養基)中回收抗體。

為了重組產生本文所述的抗體，將編碼如前文所述的抗體的核酸單離，且將其插入至一或多個載體中，以在宿主細胞中進一步選殖及/或表現。可使用常規流程(例如藉由使用可特異性結合至編碼抗體重鏈和輕鏈的基因的寡核苷酸探針)輕易地單離且定序此類核酸。

【0030】用於選殖或表現編碼抗體的載體的合適宿主細胞包含本文所述的原核或真核細胞。例如，可在細菌中產生抗體，特別是在不需要醣基化和Fc效應子功能時。對於在細菌中表現抗體片段和多肽，參照如美國專利號5,648,237、5,789,199和5,840,523 (亦參照Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254，其描述了在大腸桿

菌中表現抗體片段)。表現之後，可從細菌細胞糊的可溶部分中單離出抗體並進行進一步純化。

【0031】除原核生物外，真核微生物例如絲狀真菌或酵母菌，也是用於編碼抗體的載體的合適選殖或表現宿主，包含其醣基化路徑已被「人源化」的真菌和酵母菌株，從而產生具有部分或完全人類醣基化模式的抗體。參照Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)以及Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)。

【0032】用於表現醣基化抗體的合適宿主細胞也衍生自多細胞生物(無脊椎動物和脊椎動物)。無脊椎動物細胞的範例包含植物和昆蟲細胞。已鑑定出許多桿狀病毒株(baculoviral strain)，其可與昆蟲細胞結合使用，特別是用於節食斜紋夜蛾細胞(Spodoptera frugiperda cell)的轉染。

【0033】植物細胞培養物也可作為宿主。參照如美國專利號5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978和6,417,429 (描述了在轉基因植物中產生抗體的PLANTIBODIESTM™技術)。

【0034】脊椎動物細胞也可作為宿主。例如，可使用適應在懸浮液中生長的哺乳類細胞株。有用的哺乳類宿主細胞株的其他範例是由SV40 (COS-7)轉形的猴腎CV1細胞株；人類胚胎腎細胞株(293或293細胞，如Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)中所述)；嬰兒倉鼠腎細胞(baby hamster kidney cell，BHK)；小鼠史托利細胞(mouse sertoli cell)(TM4細胞，例如Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)中描述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人類子宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK)；水牛大鼠肝細胞(BRL 3A)；人類肺細胞(W138)；人類肝細胞(Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；TRI細胞，例如Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)中所述；MRC 5細胞；和FS4細胞。其他有用的哺乳類宿主細胞株包含中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary，CHO)細胞，其包含DHFR$^-$ CHO細胞(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA

77:4216 (1980))；和骨髓瘤細胞株例如Y0、NS0和Sp2/0。適合產生抗體的某些哺乳類宿主細胞株的回顧，參照如Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)。

【0035】本文所述的抗原結合分子的重組製造可以前文所述相似的方法完成，透過使用(例如，已轉形有)包括核酸的一或複數個載體的宿主細胞，該核酸編碼包括抗原結合分子整體或部分的抗原結合分子的胺基酸序列。

【0036】抗原結合分子與多特異性抗原結合分子

如本文所使用的，「抗原結合分子」一詞指的是包括抗原結合位的任何分子或對抗原具有結合活性的任何分子，且可更指的是如具有長度約為五個或更多個的胺基酸的胜肽或蛋白質的分子。胜肽或蛋白質並不限於衍生自生物體的胜肽或蛋白質，且例如，可以是由人造設計序列所產生的多肽。胜肽或蛋白質也可以是任何天然存在多肽、合成多肽及重組多肽等。包括已知如α/β桶(α/β barrel)作為支架的穩定構型結構且其中部分的分子作為抗原結合位的支架(scaffold)分子也是本文所述抗原結合分子的一實施例。

【0037】「多特異性抗原結合分子」指的是特異性地結合至一個以上的抗原的抗原結合分子。「雙特異性」一詞指的是抗原結合分子能特異性結合至至少兩種不同的抗原決定子。「三特異性」一詞指的是抗原結合分子能特異性結合至至少三種不同的抗原決定子。

【0038】在某些實施例中，本應用的多特異性抗原結合分子為三特異性抗原結合分子，即可特異性地結合至三種不同的抗原，能結合至CD3或CD137其中一者但不同步結合至兩者抗原，且能特異性結合至GPC3。

【0039】本揭露的第一態樣中提供一種多特異性抗原結合分子，其包括：

(i) 可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分；以及

(ii) 可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(GPC3)的第二抗原結合部分，GPC3較佳為人類GPC3。

【0040】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一抗原結合部分包括擇自於下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) SEQ ID NO: 17的重鏈互補決定區1(complementarity determining region 1, CDR 1)、SEQ ID NO: 31的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 45的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 64的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 69的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 74的輕鏈CDR 3；

(a2) SEQ ID NO: 18的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 32的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 46的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a3) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a4) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3；

(a5) SEQ ID NO: 20的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 34的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 48的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a6) SEQ ID NO: 22的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 36的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 50的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a7) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a8) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a9) SEQ ID NO: 24的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 38的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 52的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a10) SEQ ID NO: 25的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 39的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 53的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a11) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a12) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a13) SEQ ID NO: 27的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 41的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 55的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a14) SEQ ID NO: 28的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 42的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 56的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；以及

(a15) SEQ ID NO: 82的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 83的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 84的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3。

【0041】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(GPC3)的第二抗原結合部分包括SEQ ID NO: 235的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 244的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 253的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 268的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 274的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 280的輕鏈CDR 3。

【0042】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中上述多特異性抗原結合分子更包括Fc域。

【0043】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中上述多特異性抗原結合分子更包括Fc域，

且其中Fc域由可穩定締合的第一Fc區次單元與第二Fc區次單元所形成，且其中與天然的人類IgG1的Fc域相比，上述Fc域對人類Fcγ受體展現出減弱的結合親和性。

【0044】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中上述多特異性抗原結合分子更包括Fc域，

其中Fc域由可穩定締合的第一Fc區次單元與第二Fc區次單元所形成，且其中與天然的人類IgG1的Fc域相比，上述Fc域對人類Fcγ受體展現出減弱的結合親和性，

且其中第一Fc區次單元係擇自於包括下列的群組：

(c1) 包括第234位為Ala以及第235位為Ala的Fc區多肽；

(c2) 包括第234位為Ala、第235位為Ala以及第297位為Ala的Fc區多肽；

(c3) 包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第354位為Cys以及第366位為Trp的Fc區多肽；

且其中第二Fc區次單元係擇自於包括下列的群組：

(c4) 包括第234位為Ala以及第235位為Ala的Fc區多肽；

(c5) 包括第234位為Ala、第235位為Ala以及第297位為Ala的Fc區多肽；以及

(c6) 包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第349位為Cys、第366位為Ser、第368位為Ala以及第407位為Val的Fc區多肽；

且其中胺基酸位置係使用EU索引編號而進行編號。

【0045】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中上述多特異性抗原結合分子更包括Fc域，

且其中Fc域是IgG Fc域，較佳為人類IgG Fc域，更佳為人類IgG1 Fc域。

【0046】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一抗原結合部分包括擇自下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) 包括SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 59的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a2) 包括SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a3) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a4) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a5) 包括SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a6) 包括SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a7) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a8) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a9) 包括SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a10) 包括SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a11) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a12) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a13) 包括SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a14) 包括SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及

(a15) 包括SEQ ID NO: 81的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0047】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第二抗原結合部分包括包含SEQ ID NO: 226的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 262的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0048】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中多特異性抗原結合分子更包括Fc域，

且其中上述Fc域包括SEQ ID NO: 317所示的第一Fc區次單元以及SEQ ID NO: 323所示的第二Fc區次單元。

【0049】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一與第二抗原結合部分各為Fab分子。

【0050】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中所述多特異星抗原結合分子更包括Fc域，

其中Fc域由可穩定締合的第一Fc區次單元與第二Fc區次單元所形成，且其中與天然的人類IgG1的Fc域相比，上述Fc域對人類Fcγ受體展現出減弱的結合親和性，

且其中第一抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至上述Fc域的第一Fc區次單元或第二Fc區次單元任一者的N端，且第二抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至上述Fc域的剩餘Fc區次單元的N端。

【0051】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一與第二抗原結合部分各為Fab分子，

且其中第二抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換且其包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)，且其中第一抗原結合部分為包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)的傳統Fab分子。

【0052】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一與第二抗原結合部分各為Fab分子，

其中第二抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換且其包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)，且其中第一抗原結合部分為包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)的傳統Fab分子，

且其中在第一抗原結合部分的輕鏈恆定域(CL)中，第123位及/或第124位的胺基酸獨自以精胺酸(R)、離胺酸(K)或組胺酸(H)取代(根據Kabat編號)，且其中在第一抗原結合部分的重鏈恆定域(CH1)中，第147位及/或第213位的胺基酸獨自

以麩胺酸(E)或天門冬胺酸(D)取代(根據Kabat EU索引編號)。

【0053】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其中第一與第二抗原結合部分各為Fab分子，

其中第二抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換且其包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)，且其中第一抗原結合部分為包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)的傳統Fab分子，

且其中在第一抗原結合部分的輕鏈恆定域(CL)中，第123位與第124位的胺基酸分別為精胺酸(R)與離胺酸(K)(根據Kabat編號)，且其中在第一抗原結合部分的重鏈恆定域(CH1)中，第147位與第213位的胺基酸為麩胺酸(E)(根據Kabt EU索引編號)。

【0054】本揭露的一態樣提供一種多特異性抗原結合分子，其包含可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的第一抗原結合部分(moiety)；以及可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的第二抗原結合部分；

其包括擇自於下列(a1)至(a6)任一者的四個多肽組合：

(a1) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 219的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a2) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 220的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a3) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 291的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)

以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a4) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 292的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a5) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 293的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；以及

(a6) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 294的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)。

【0055】 本發明的多特異性抗原結合分子的成分可以各種組態彼此融合。例示性組態如第2圖中所描繪。在特定實施例中，多特異性抗原結合分子包括由可穩定締合的第一次單元與第二次單元所形成的Fc域。

【0056】 根據任何上述實施例，多特異性抗原結合分子的成分(例如，抗原結合部分、Fc域)可直接融合或透過本文所述或本發明所屬技術領域中習知的各種連接子(linker)融合，特別是包括一或多個胺基酸的肽連結子，一般約為2至20個胺基酸。合適的非免疫性肽連接子包括如(G4S)n、(SG4)n、(G4S)n或G4(SG4)n肽連接子，其中n通常為1至10之間的數字，一般為2至4之間。

【0057】 焦麩醯胺化(pyroglutamylation)

已知在細胞中表現抗體時，抗體會經過轉譯後修飾。後轉譯修飾的範例包括羧肽酶(carboxypeptidase)在重鏈C端切割離胺酸；在重鏈與輕鏈N端透過焦麩醯胺化將麩醯胺酸或麩胺酸修飾為焦麩胺酸(pyroglutamic acid)；醣基化；氧化；脫醯胺化；以及醣化作用(glycation)，且已知這些修飾發生於各種抗體中(Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, Vol. 97, p. 2426-2447)。

本發明的多特異性抗原結合分子也包括進行轉譯後修飾的多特異性抗體。本發明進行轉譯後修飾的多特異性抗原結合分子範例包括在重鏈可變區的N端進行焦麩醯胺化，及/或在重鏈的C端刪除離胺酸的多特異性抗體。在本領域中，N端的焦麩醯胺化及刪除C端離胺酸的這些轉譯後修飾已知不會對抗體活性造成任何影響(Analytical Biochemistry, 2006, Vol. 348, p. 24-39)。

【0058】抗原結合部分

如本文所使用的，「抗原結合部分」一詞指的是特定性結合至抗原的多肽分子。在一實施例中，抗原結合部分可將其所連結的實體(例如，第二抗原結合部分)引導至目標位置，例如將其引導至表現癌抗原(GPC3)的特定類型腫瘤細胞。在另一實施例中，抗原結合部分可透過其目標抗原活化訊號，目標抗原例如T細胞受體複合抗原(CD3)或共刺激分子CD137。抗原結合部分包括抗體及其於本文進一步定義的片段。特定抗原結合部分包括抗原結合域或抗體的抗體可變區，包括抗體重鏈可變區與抗體輕鏈可變區。在某些實施例中，抗原結合部分可包括如本文進一步定義與本發明所屬技術領域已知的抗體恆定區。有用的重鏈恆定區包括五種同型的任一者：α、δ、ε、γ或μ。有用的輕鏈恆定區包括兩種同型的任一者：κ或λ。如本文所使用的，當具有一種以上的各類型部分時，對於抗原結合部分的「第一」、「第二」、「第三」與「第四」等用詞用以便於分辨。除非另有明確陳述，使用這些用詞並非意圖賦予多特異性抗原結合分子特定的順序或方向。

【0059】可結合至CD3與CD137但不會同時結合至CD3與CD137的抗原結合部分

本文所述的多特異性抗原結合分子包括可結合至CD3與CD137，但不會同時結合至CD3與CD137的至少一抗原結合部分(於本文也稱為「雙重抗原結合部分」或「第一抗原結合部分」或「Dual-Ig」或「Dual-Fab」)。在一特定實施例中，多

特異性抗原結合分子包括不多於兩個之可特異性結合至CD3與CD137但不會同時結合至CD3與CD137的抗原結合部分。在一實施例中，多特異性抗原結合分子提供CD3或CD137的單價結合(monovalent binding)，但不會同時結合至CD3與CD137。

【0060】在某些實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)一般為Fab分子，特別是傳統Fab分子。在某些實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)為包括抗體輕鏈與重鏈可變區(VL與VH)的結構域。包括抗體輕鏈與重鏈可變區的這些結構域的合適範例包括「單鏈Fv(single chain Fv, scFv)」、「單鏈抗體」、「Fv」、「單鏈Fv2(scFv2)」、「Fab」與「$F(ab')_2$」等。

【0061】在某些實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)特異性結合至CD3部分胜肽的整體或一部分。在一特定實施例中，CD3是人類CD3或食蟹猴(cynomolgus)CD3，特別是人類CD3。在一特定實施例中，第一抗原結合部分對於人類CD3與食蟹猴CD3為交叉反應的(cross-reactive)(即，特異性結合)。在一些實施例中，第一抗原結合部分可特異性結合至CD3的ε次單元，特別是SEQ ID NO: 7(NP_000724.1)(括弧中顯示RefSeq登錄號)所示的CD3的人類CD3ε次單元。在一些實施例中，第一抗原結合部分可特異性結合至表現於真核細胞表面上的CD3ε鏈。在一些實施例中，第一抗原結合部分結合至表現於T細胞表面上的CD3ε鏈。

【0062】在某些實施例中，CD137為人類CD137。在一些實施例中，本發明的抗原結合分子較佳的範例包括結合至與由下述抗體結合的人類CD137抗原決定位(epitope)相同的抗原決定位的抗原結合分子，該抗體擇自於由下列所組成之組群：

辨識包括人類CD137蛋白中序列SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGC(SEQ ID NO: 21)的區域的抗體；

辨識包括人類CD137蛋白中序列DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGC(SEQ ID NO: 35)的區域的抗體；

辨識包括人類CD137蛋白中序列LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC(SEQ ID NO: 49)的區域的抗體；以及

辨識包括人類CD137蛋白中序列LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC(SEQ ID NO: 105)的區域的抗體。

【0063】在特定實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)包括以下表1所示的任一抗體可變區序列。在特定實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)包括以下表1所示重鏈可變區與輕鏈可變區的任一組合。

【0064】(表1)

雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」或「Dual-Fab」)可變區的SEQ ID NO

命名	SEQ ID NO	
	重鏈可變區(VH)	輕鏈可變區(VL)
DualAE08	3	59
DualAE06	4	58
DualAE17	5	58
DualAE10	5	60
DualAE05	6	58
DualAE19	8	58
DualAE20	9	58
DualAE21	9	61
DualAE22	10	58
DualAE23	11	61
DualAE09	12	61
DualAE18	12	58
DualAE14	13	58
DualAE15	14	58
DualAE16	81	60

【0065】在一實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)包括

與SEQ ID NO: 6至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的重鏈可變區序列，以及與SEQ ID NO: 58至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的輕鏈可變區序列。在一實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)包括重鏈可變區與輕鏈可變區，重鏈可變區包括SEQ ID NO: 6的胺基酸序列且輕鏈可變區包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列。

【0066】在一實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」) 包括與SEQ ID NO: 14至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的重鏈可變區序列，以及與SEQ ID NO: 58至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的輕鏈可變區序列。在一實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)包括重鏈可變區與輕鏈可變區，重鏈可變區包括SEQ ID NO: 14的胺基酸序列且輕鏈可變區包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列。

【0067】在一實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」) 包括與SEQ ID NO: 81至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的重鏈可變區序列，以及與SEQ ID NO: 58至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的輕鏈可變區序列。在一實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」)包括重鏈可變區與輕鏈可變區，重鏈可變區包括SEQ ID NO: 81的胺基酸序列且輕鏈可變區包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列。

【0068】在特定實施例中，雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」或「Dual-Fab」)包括以下表2所示HVR序列的任一組合。

【0069】(表2)

雙重抗原結合部分(「第一抗原結合部分」或「Dual-Fab」)的HVR(CDR)序列的SEQ ID NO

命名	SEQ ID NO					
	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
DualAE08	17	31	45	64	69	74
DualAE06	18	32	46	63	68	73
DualAE17	19	33	47	63	68	73
DualAE10	19	33	47	65	70	75
DualAE05	20	34	48	63	68	73
DualAE19	22	36	50	63	68	73
DualAE20	23	37	51	63	68	73
DualAE21	23	37	51	66	71	76
DualAE22	24	38	52	63	68	73
DualAE23	25	39	53	66	71	76
DualAE09	26	40	54	66	71	76
DualAE18	26	40	54	63	68	73
DualAE14	27	41	55	63	68	73
DualAE15	28	42	56	63	68	73
DualAE16	82	83	84	65	70	75

【0070】本發明的多特異性抗原結合分子也包括進行轉譯後修飾的多特異性抗體。本發明進行轉譯後修飾的多特異性抗原結合分子範例包括在重鏈可變區的N端進行焦麩醯胺化，及/或在重鏈的C端刪除離胺酸的多特異性抗體。在本領域中，N端的焦麩醯胺化及刪除C端離胺酸的這些轉譯後修飾已知不會對抗體活性造成任何影響(Analytical Biochemistry, 2006, Vol. 348, p. 24-39)。

【0071】可結合至GPC3的抗原結合部分

本文所述的多特異性抗原結合分子包括至少一個可結合至GPC3的抗原結合部分(於本文也稱為「GPC3抗原結合部分」或「第二抗原結合部分」)。在某些實施例中，多特異性抗原結合分子包括一個可結合至GPC3的抗原結合部分。

在某些實施例中，多特異性抗原結合分子包括兩個可結合至GPC3的抗原結合部分。在一特定的此實施例中，這些抗原結合部分各特異性結合至GPC3的相同抗原決定位。在一更特定實施例中，這些抗原結合部分皆相同。在一實施例中，多特異性抗原結合分子包括可特異性結合至GPC3的免疫球蛋白分子。在一實施例中，多特異性抗原結合分子包括不多於兩個之可結合至GPC3的抗原結合

部分。

在某些實施例中，GPC3抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，亦即，Fab重鏈與輕鏈之可變區或恆定區其中一者交換的Fab分子。

【0072】在某些實施例中，GPC3抗原結合部分為互換型Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換，且其包括包含SEQ ID NO: 226的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 262的胺基酸序列的輕鏈可變區。

在特定實施例中，多特異性抗原結合分子包括至少一個對磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)具有特異性的抗原結合部分。在一實施例中，對GPC3具有特異性的抗原結合部分包括擇自於下列所組成之群組的至少一重鏈互補決定區(complementarity determining region, CDR)：SEQ ID NO: 235、SEQ ID NO: 244、及SEQ ID NO: 253，且包括擇自於下列所組成之群組的至少一輕鏈CDR：SEQ ID NO: 268、SEQ ID NO: 274、及SEQ ID NO: 280。

【0073】在一實施例中，對GPC3具有特異性的抗原結合部分包括SEQ ID NO: 235的重鏈CDR1、SEQ ID NO: 244的重鏈CDR2、SEQ ID NO: 253的重鏈CDR3、SEQ ID NO: 268的輕鏈CDR1、SEQ ID NO: 274的輕鏈CDR2、以及SEQ ID NO: 280的輕鏈CDR3。

【0074】在又一實施例中，對GPC3具有特異性的抗原結合部分包括與SEQ ID NO: 226 至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的重鏈可變區序列，以及與SEQ ID NO: 262 至少約95%、96%、97%、98%、99%或100%相似度的輕鏈可變區序列，或其保有功能性的變體。

【0075】在一實施例中，對GPC3具有特異性的抗原結合部分包括包含SEQ ID NO: 226的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 262的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【0076】本發明的多特異性抗原結合分子也包括進行轉譯後修飾的多特異

性抗體。本發明進行轉譯後修飾的多特異性抗原結合分子其範例包括在重鏈可變區的N端進行焦麩醯胺化，及/或在重鏈的C端刪除離胺酸的多特異性抗體。在本領域中，N端的焦麩醯胺化及刪除C端離胺酸的這些轉譯後修飾已知不會對抗體活性造成任何影響(Analytical Biochemistry, 2006, Vol. 348, p. 24-39)。

【0077】抗原

如本文所使用，「抗原」一詞指的是抗原結合部分所結合並形成抗原結合部分-抗原複合體的多肽聚分子上的位置(例如，胺基酸的連續延伸，或由非連續胺基酸的不同區域所形成的構型組態(conformational configuration))。可在如腫瘤細胞的表面上、感染病毒的細胞表面上、其他患病細胞的表面上、免疫細胞的表面上、無血液血清中及/或胞外基質(extracellular matrix, ECM)中發現有用的抗原決定子。除非另有說明，否則於本文稱為抗原的蛋白質(例如，CD3、CD137、GPC3)可以是來自任何脊椎動物來源的天然(native)蛋白質形式，脊椎動物包括哺乳類如靈長類(primates)(例如人類)與齧齒類(例如小鼠與大鼠)。在一特定實施例中，抗原為人類CD3、人類CD137或人類GPC3。在本文中提及特定蛋白質的情況下，此用詞涵蓋「全長」、未加工的蛋白質以及在細胞中加工產生的任何形式蛋白質。此用詞也涵蓋蛋白質的自然存在變體，例如剪接變體(splice variants)或對偶變體(allelic variants)。

【0078】在某些實施例中，本文所述的多特異性抗原結合分子結合至CD3、CD137或GPC3的抗原決定位，其在不同物種的CD3、CD137或GPC3之中是保守的(conserved)。在某些實施例中，本應用的多特異性抗原結合分子為三特異性抗原結合分子，即可特異性結合至三種不同抗原、可結合至CD3或CD137其中一者但不會同步結合CD3與CD137，且可特異性結合至GPC3。

【0079】在某些實施例中，多特異性抗原結合分子特異性結合至CD3部分胜肽的整體或一部分。在一特定實施例中，CD3是人類CD3或食蟹猴

(cynomolgus)CD3，特別是人類CD3。在一特定實施例中，多特異性抗原結合分子對於(即，特異性結合至)人類CD3與食蟹猴CD3為交叉反應的(cross-reactive)。在一些實施例中，多特異性抗原結合分子可特異性結合至CD3的ε次單元，特別是SEQ ID NO: 7(NP_000724.1)(括弧中顯示RefSeq登錄號)所示的CD3的人類CD3ε次單元。在一些實施例中，多特異性抗原結合分子可特異性結合至表現於真核細胞表面上的CD3ε鏈。在一些實施例中，多特異性抗原結合分子結合至表現於T細胞表面上的CD3ε鏈。

【0080】在某些實施例中，CD137為人類CD137。在一些實施例中，本發明抗原結合分子較佳的範例包括結合至與由下述抗體結合的人類CD137抗原決定位(epitope)相同的抗原決定位的抗原結合分子該抗體擇自於由下列所組成之組群：

辨識包括人類CD137蛋白中序列SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGC(SEQ ID NO: 21)的區域的抗體；

辨識包括人類CD137蛋白中序列DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGC(SEQ ID NO: 35)的區域的抗體；

辨識包括人類CD137蛋白中序列LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC(SEQ ID NO: 49)的區域的抗體；以及

辨識包括人類CD137蛋白中序列LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC(SEQ ID NO: 105)的區域的抗體。

【0081】抗原結合域

「抗原結合域」一詞指的是抗體的一部分，其包括與抗原的部分或全部互

補並特異性結合的區域。抗原結合域可由如一或多個抗體可變域(也稱為抗體可變區)提供。較佳為，抗原結合域包括抗體輕鏈可變區(VL)與抗體重鏈可變區(VH)兩者。這些較佳的抗原結合域包括如「單鏈Fv(single chain Fv, scFv)」、「單鏈抗體」、「Fv」、「單域抗體或VHH」、「單鏈Fv2(scFv2)」、「Fab」與「$F(ab')_2$」等。

【0082】 可變區

「可變區」或「可變域」一詞指的是抗體重鏈或輕鏈涉及抗體與抗原結合的結構域。天然抗體的重鏈可變域與輕鏈可變域(分別為VH與VL)一般具有相似的結構，各結構域包括四個保守的框架區(framework regions, FRs)與三個高度可變區(hypervariable regions, HVRs)(參照如，Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007))。單一VH或VL域可足以賦予抗原結合特異性。再者，可利用來自結合一特定抗原的抗體的VH域或VL域單離出結合至此抗原的抗體，以分別篩選出互補VL或VH域的基因庫(library)。參照如Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)。

【0083】 高度可變區(HVR)或互補決定區(CDR)

本文使用的「高度可變區」或「HVR」一詞指的是抗體可變域是序列中高度可變的各區域(「互補決定區」或「CDR」)，及/或抗體可變域形成結構性定義環(loop)(「高度可變環」)的各區域，及/或抗體可變域含有抗原接觸殘基(「抗原接點 (antigen contact)」)的各區域。高度可變區(HVR)也稱為「互補決定區(CDR)」，且本文使用的這些用詞參照可變區形成抗原結合區的部分可互換。一般而言，抗體包含6個HVR：3個於VH (H1、H2、H3)中以及3個於VL (L1、L2、L3)中。

【0084】 本文的例示性高度可變區包括：

(a) 發生於胺基酸殘基26至32 (L1)、50至52 (L2)、91至96 (L3)、26至32 (H1)、

53至55 (H2)及96至101 (H3)的高度可變環(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987))；

(b) 發生於胺基酸殘基24至34 (L1)、50至56 (L2)、89至97 (L3)、31至35b (H1)、50 至 65(H2) 及 95 至 102(H3) 的 CDR(Kabat et al., Sequence of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National of Health, Bethesda, MD (1991))；

(c) 發生於胺基酸殘基27c至36(L1)、46至55(L2)、89至96(L3)、30至35b(H1)、47至58(H2)及93至101(H3)的抗原接點(MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996))；以及

(d) (a)、(b)及/或(c)的組合，包括HVR胺基酸殘基46至56 (L2)、47至56 (L2)、48至56(L2)、49至56(L2)、26至35(H1)、26至35b(H1)、49至65(H2)、93至102(H3)及94至102(H3)。

除非另有指明，本文中，可變域中的HVR殘基及其他殘基(例如，FR殘基)，係根據Kabat et al.(同上)進行編號。

HVR-H1、HVR-H2、HVR-H3、HVR-L1、HVR-L2與HVR-L3也分別稱為「H-CDR1」、「H-CDR2」、「H-CDR3」、「L-CDR1」、「L-CDR2」與「L-CDR3」。

【0085】 可結合至CD3與CD137

可利用本發明所屬領域中的已知方法判斷本發明的抗體可變區是否「可結合至CD3與CD137」。

例如，可藉由電致化學發光方法(electrochemiluminescence method，ECL方法)來判斷(BMC Research Notes 2011, 4: 281)。

具體而言，例如，由可結合至CD3及CD137的區域，例如欲測試的生物素標記抗原結合分子或其單價抗體(缺乏由一般抗體所帶有的二個Fab區之一者的抗體)的Fab區所形成的低分子量抗體與以硫標籤(釕(Ru)複合體)標記的CD3或

CD137混合，且將混合物添加至固定鏈黴親和素(streptavidin)的盤。在此操作步驟中，欲測試的生物素標記抗原結合分子結合至盤中的鏈黴親和素。由硫標籤發展出光，且可使用Sector Imager 600或2400(MSD K.K.)等偵測發光(luminescence)訊號，藉此確認前述欲測試的抗原結合分子的區域與CD3或CD137的結合。

或者，可藉由ELISA、FACS (fluorescence activated cell sorting，螢光活化細胞分類)、ALPHAScreen (amplified luminescent proximity homogeneous assay screen，放大發光近似均質測定篩選)、基於表面電漿共振(surface plasmon resonance, SPR)現象的BIACORE方法等(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006)103 (11), 4005-4010)來進行此測定。

【0086】具體而言，可使用如基於表面電漿共振(SPR)現象的交互作用分析儀Biacore(GE Health Japan Corp.)來進行此測定。Biacore分析儀包括任何型號如Biacore T100、T200、X100、A100、4000、3000、2000、1000、8K或C。用於Biacore的任何感測晶片，如CM7、CM5、CM4、CM3、C1、SA、NTA、L1、HPA或Au晶片皆可用作為感測晶片。用於捕獲本發明抗原結合分子的蛋白質，如蛋白質A、蛋白質G、蛋白質L、抗人類IgG抗體、抗人類IgG-Fab、抗人類L鏈抗體、抗人類Fc抗體、抗原性蛋白質或抗原性胜肽，係藉由如胺偶合、雙硫偶合或醛偶合之偶合方法固定於感測晶片。CD3或CD137係注射於感測晶片上作為分析物，並測量交互作用以獲得感測圖。在此操作步驟中，CD3或CD137的濃度可根據測定樣品交互作用的強度(例如，KD)於數μM至數pM的範圍內選擇。

【0087】或者，CD3或CD137可取代抗原結合分子而固定於感測晶片，進一步使欲評估的抗體樣品與其進行交互作用。可基於由交互作用的感測圖所計算的解離常數(KD)或基於抗原結合分子樣品作用後相較於作用前水平之感測圖中增加的程度而證實本發明抗原結合分子的抗體可變區對CD3或CD137是否具

有結合活性。

【0088】在一些實施例中，於37度C(對於CD137)或25度C(對於CD3)使用例如Biacore T200儀器(GE Healthcare)或Biacore 8K儀器(GE Healthcare)來評估本發明的抗體可變區對感興趣抗原(亦即CD3或CD137)的結合活性或親和性。抗人類Fc(例如，GE Healthcare)係使用胺偶合套組(例如，GE Healthcare)固定至CM4感測晶片的所有流通槽。抗原結合分子或抗體可變區被捕獲至抗Fc感測表面，然後注射抗原(CD3或CD137)至流通槽。抗原結合分子或抗體可變區的捕獲水平可以200共振單元(RU)為目標。重組人類CD3或CD137可以藉由兩倍序列稀釋所製備，並以2000至125nM注射，接著解離。所有抗原結合分子或抗體可變區及分析物係於含有20 mM ACES、150 mM NaCl、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3的ACES pH 7.4中製備。感測器表面於各循環係以3M $MgCl_2$再生。使用例如Biacore Insight評估軟體，版本 2.0 (GE Healthcare)或Biacore 8K評估軟體(GE Healthcare)透過處理及擬合(fitting)數據至1:1結合模型而判斷結合親和性。計算KD值，以評估本發明抗原結合域的特異性結合活性或親和性。

【0089】藉由使用二種珠粒(供者及受者)的ALPHA技術並基於下述準則來進行ALPHAScreen方法：僅當經由與供者珠粒結合的分子以及與受者珠粒結合的分子之間產生生物交互作用而使此二珠粒接近時，偵測到發光訊號。供者珠粒中的雷射激發感光劑將環境氧轉換為具激發態的單態氧(singlet oxygen)。單態氧於供者珠粒周圍擴散且接近至受者珠粒附近，因此於珠粒中引起化學發光反應，其最終發射光線。在與供者珠粒結合的分子以及與受者珠粒結合的分子之間沒有產生交互作用時，由供者珠粒所產生的單態氧沒有接近受者珠粒。因此，沒有發生化學發光反應。

【0090】將欲觀察之間具有交互作用的物質之其中一者(配體)固定至感測晶片的金薄膜上。由背部以光照射感測晶片，使得金薄膜及玻璃之間的界面發

生全反射。因此，反射強度(SPR訊號)下降的位點形成於反射光的一部分。在欲觀察之間具有交互作用的物質之另一者(分析物)注射至感測晶片的表面。一旦分析物結合至配體，固定的配體分子的質量增加，改變感測晶片表面上溶劑的折射率。此折射率的變化偏移SPR訊號的位置(相對於此，已結合的分子的解離使訊號回至原始位置)。Biacore系統於偏移量的軸作圖，亦即感測晶片表面的質量變化，且展示時間依賴性的質量變化作為測定數據(感測圖)。可由感測圖判斷分析物與捕獲於感測晶片表面的配體的結合量(於分析物的交互作用之前與之後之間感測圖的反應變化量)。然而，由於結合量亦取決於配體量，必須於所使用的配體量為實質相同的條件下進行比較。可由感測圖曲線判斷動力學，亦即締合速率常數(ka)與解離速率常數(kd)，而可由這些常數之間的比例判斷親和性(KD)。抑制測定也較佳使用於BIACORE方法中。抑制測定的範例描述於Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11), 4005-4010。

【0091】不同時結合至CD3與CD137(4-1BB)

用詞「不同時(at the same time)結合至CD3與CD137(4-1BB)」或「不同步(simultaneously)結合至CD3與CD137(4-1BB)」指的是本發明抗原結合部分或抗體可變區不會在結合至CD3的狀態下結合至CD137，而抗原結合部分或抗體可變區不會在結合至CD137的狀態下結合至CD3。在此情況下，用句「不同時結合至CD3與CD137」也可包括表現CD3的細胞沒有與表現CD137的細胞交聯，或沒有同時結合至各表現於不同細胞的CD3與CD137。此用句更包括以下情況：當CD3及CD137不表現於細胞膜上，而是作為可溶性蛋白質，或二者同時在相同細胞上時，可變區可同時結合至CD3及CD137，但不可同時結合至各自表現於不同細胞上的CD3及CD137。只要抗體可變區具有這些功能，這樣的抗體可變區就沒有特別限制。其範例可包括衍生自IgG型抗體可變區的可變區，其經過一部份胺基酸的改變以結合至所欲抗原。欲改變的胺基酸擇自如在結合至CD3或CD137的抗體

可變區中，其改變沒有消除與抗原結合的胺基酸。

在此情況下，用句「表現於不同細胞」僅指的是表現於個別細胞的抗原。這些細胞的組合可以是如相同型態的細胞，例如T細胞與另一T細胞，或可以是不同型態的細胞，例如T細胞與NK細胞。

【0092】可藉由以下方式來證實本發明之抗原結合分子是否「不同時結合至CD3及CD137」：證實抗原結合分子對CD3及CD137二者具有結合活性；然後使CD3或CD137中的任一者先結合至包含具有此結合活性的可變區的抗原結合分子；以及接著藉由上述方法判斷對另一者的結合活性存在與否。或者，此亦可透過判斷抗原結合分子對固定於ELISA盤或感測晶片的CD3或CD137中的任一者的結合，是否藉由將另一者添加至溶液受到抑制而證實。在一些實施例中，本發明的抗原結合分子與CD3或CD137中的任一者的結合係藉由抗原結合分子與另一者的結合而受到至少50%的抑制、較佳為60%或60%以上的抑制、更佳為70%或70%以上的抑制、更佳為80%或80%以上的抑制、再佳為90%或90%以上的抑制、或甚至更佳為95%或95%以上的抑制。

【0093】在一態樣中，當一抗原(例如，CD3)被固定時，抗原結合分子與CD3結合的抑制可於另一抗原(例如，CD137)的存在下，利用本發明所屬技術領域習知的方法(亦即，ELISA、BIACORE等)而進行判斷。在另一態樣中，當CD137被固定時，抗原結合分子與CD137結合的抑制亦可於CD3的存在下而判斷。當進行上述二態樣之任一者時，若結合受到至少50%的抑制、較佳為60%或60%以上的抑制、更佳為70%或70%以上的抑制、更佳為80%或80%以上的抑制、更佳為90%或90%以上的抑制、或甚至更佳為95%或95%以上的抑制，則判斷本發明的抗原結合分子不同時結合至CD3及CD137。

【0094】在一些實施例中，注射作為分析物的抗原濃度比欲固定的另一抗原濃度高至少1倍、2倍、5倍、10倍、30倍、50倍或100倍。

在較佳方式中，注射作為分析物的抗原濃度比欲固定的另一抗原濃度高100倍且結合受到至少80%的抑制。

【0095】在一實施例中，計算抗原結合分子的CD3(分析物)結合活性與抗原結合分子的CD137(固定的)結合活性的KD值比例(KD(CD3)/KD(CD137)，且比CD137(固定的)濃度高10倍、50倍、100倍或200倍KD值比例(KD(CD3)/KD(CD137)的CD3(分析物)濃度可用於上述競爭測量。(例如，當KD值比例為0.1時，可選擇高1倍、5倍、10倍或20倍的濃度。再者，當KD值比例為10時，可選擇高100倍、500倍、1000倍或2000倍的濃度。)

【0096】在一態樣中，當一抗原(例如，CD3)被固定時，抗原結合分子對CD3的結合訊號衰減可於另一抗原(例如，CD137)的存在下，利用所屬技術領域習知的方法(亦即，ELISA、ECL等)來判斷。在另一態樣中，當CD137被固定時，抗原結合分子對CD137的結合訊號衰減亦可於CD3的存在下來判斷。當進行上述二態樣之任一者時，若結合訊號衰減至少50%、較佳為60%或60%以上、更佳為70%或70%以上、更佳為80%或80%以上、更佳為90%或90%以上、或甚至更佳為95%或95%以上，則判斷本發明的抗原結合分子不同時結合至CD3及CD137。

在一些實施例中，注射作為分析物的抗原濃度比欲固定的另一抗原濃度高至少1倍、2倍、5倍、10倍、30倍、50倍或100倍。

在較佳方式中，注射作為分析物的抗原濃度比欲固定的另一抗原濃度高100倍且結合受到至少80%的抑制。

【0097】在一實施例中，計算抗原結合分子的CD3(分析物)結合活性與抗原結合分子的CD137(固定的)結合活性的KD值比例(KD(CD3)/KD(CD137)，且比CD137(固定的)濃度高10倍、50倍、100倍或200倍KD值比例(KD(CD3)/KD(CD137)的CD3(分析物)濃度可用於上述測量。(例如，當KD值比例為0.1時，可選擇高1倍、10倍或20倍的濃度。再者，當KD值比例為10時，可

選擇高100倍、500倍、1000倍或2000倍的濃度。)

【0098】具體而言，例如在使用ECL方法的情況中，製備欲測試的生物素標記抗原結合分子、以硫標籤(釕複合體)標記的CD3以及未標記的CD137。當欲測試的抗原結合分子可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137時，藉由將欲測試的抗原結合分子與標記的CD3的混合物添加至固定鏈黴親和素的盤，接著顯光而於未標記CD137不存在的情況下偵測硫標籤的發光訊號。相對地，在未標記CD137的存在下，發光訊號降低。可將發光訊號的降低定量以判斷相對結合活性。可使用標記的CD137及未標記的CD3類似地進行此分析。

【0099】在ALPHAScreen的情況下，在不存在競爭CD137的情況下，欲測試的抗原結合分子與CD3進行交互作用以產生520至620nm的訊號。未標籤的CD137及CD3競爭與欲測試的抗原結合分子的交互作用。可將競爭所引起的螢光減低定量以判斷相對結合活性。使用硫-NHS-生物素等的多肽生物素化於本發明所屬技術領域是習知的。可藉由合適地採用的方法以GST來標籤CD3，例如涉及：使框架中編碼CD3的多核苷酸與編碼GST的多核苷酸融合；以及使所得融合基因透過帶有能表現其載體的細胞等而進行表現，接著使用穀胱甘肽(glutathione)管柱純化。較佳使用如適用於基於非線性迴歸分析之一位點競爭模型的軟體GRAPHPAD PRISM (GraphPad Software, Inc., San Diego)來分析所得訊號。可使用標籤的CD137及未標籤的CD3類似地進行此分析。

【0100】或者，可使用螢光共振能量轉移(fluorescence resonance energy transfer，FRET)的方法。FRET為激發能量藉由電子共振而在彼此位處鄰近的兩個螢光分子之間直接轉移的現象。當發生FRET時，供者(具有激發態的螢光分子)的激發能量轉移至受者(靠近供者的另一螢光分子)，使得由供者發射的螢光消失(精確而言，螢光的壽命縮短)，且取而代之的是由受者發射螢光。藉由使用此現象，可分析是否同時結合至CD3及CD137。例如，當帶有螢光供者的CD3及帶有

螢光受者的CD137同時結合至欲測試的抗原結合分子時，供者的螢光消失而由受者發射螢光。因此，觀察到螢光波長的變化。這種抗體被證實同時結合至CD3及CD137。另一方面，若混合CD3、CD137及欲測試的抗原結合分子不改變與CD3結合的螢光供者的螢光波長，則欲測試的此抗原結合分子可視為可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的抗原結合域。

【0101】例如，使欲測試的生物素標記抗原結合分子允許結合至供者珠粒上的鏈黴親和素，而使具有穀胱甘肽S轉移酶(glutathione S transferas, GST)標籤的CD3允許結合至受者珠粒。於競爭的第二抗原不存在的情況下，欲測試的抗原結合分子與CD3進行交互作用以產生520至620nm的訊號。未標籤的第二抗原和CD3競爭與欲測試的抗原結合分子的交互作用。可定量競爭結果所引起的螢光減低以判斷相對結合活性。使用硫-NHS-生物素等的多肽生物素化在本發明所屬技術領域是習知的。可利用適當採用的方法來以GST標籤CD3，例如，涉及：使編碼框架中CD3的多核苷酸與編碼GST的多核苷酸融合；以及藉由帶有能將其表現的載體的細胞等表現所得融合基因，接著使用穀胱甘肽管柱純化。較佳使用如適用於基於非線性迴歸分析之一位點競爭模型的軟體GRAPHPAD PRISM (GraphPad Software, Inc., San Diego)來分析所得訊號。

【0102】標籤不限於GST標籤且可以任何標籤進行，例如但不限於組胺酸標籤、MBP、CBP、Flag標籤、HA標籤、V5標籤或c-myc標籤。欲測試的抗原結合分子對供者珠粒的結合不限於使用生物素-鏈黴親和素反應的結合。詳細而言，當欲測試的抗原結合分子包含Fc時，可能的方法涉及使欲測試的抗原結合分子經由辨識Fc的蛋白質而結合，如供者珠粒上的蛋白質A或蛋白質G。

【0103】再者，當CD3及CD137不表現於細胞膜上，而是作為可溶性蛋白質，或二者同時在相同細胞上時，可變區可同時結合至CD3及CD137，但不可同時結合至各自表現於不同細胞上的CD3及CD137的情況下，亦可利用所屬技術領

域習知的方法進行測定。

具體而言，欲測試的抗原結合分子在偵測同時結合至CD3及CD137的ECL-ELISA中已被證實為陽性，且欲測試的抗原結合分子亦與表現CD3的細胞及表現CD137的細胞混合。除非抗原結合分子及這些細胞同時彼此結合，否則欲測試的抗原結合分子可顯示為不可同時結合至表現於不同細胞上的CD3及CD137。可利用如基於細胞的ECL-ELISA進行此測試。表現CD3的細胞事先固定於盤中。在欲測試的抗原結合分子與其結合之後，將表現CD137的細胞添加至盤中。利用針對此抗原的硫標籤標記抗體來偵測僅表現於表現CD137的細胞上的不同抗原。當抗原結合分子同時結合至分別表現於兩種細胞的兩種抗原時，則觀察到訊號。當抗原結合分子不同時結合至這些抗原時，則未觀察到訊號。

【0104】或者，可利用ALPHAScreen方法來進行此測試。欲測試的抗原結合分子與結合至供者珠粒且表現CD3的細胞以及結合至受者珠粒且表現CD137的細胞混合。當抗原結合分子同時結合至分別表現於兩種細胞的兩種抗原時，則觀察到訊號。當抗原結合分子不同時結合至這些抗原時，則未觀察到訊號。

【0105】或者，可利用八隅體交互作用(Octet interaction)分析法來進行此測試。首先，使表現具有肽標籤標記的CD3的細胞結合至辨識此肽標籤的生物感測器。表現CD137的細胞和欲測試的抗原結合分子置於孔洞中且分析交互作用。當抗原結合分子同時結合至分別表現於兩個細胞的兩種抗原時，則觀察到由欲測試的抗原結合分子和表現CD137的細胞與生物感應器結合所引起的大幅度波長偏移。當抗原結合分子不同時結合至這些抗原時，則觀察到僅由欲測試的抗原結合分子與生物感應器結合所引起的小幅度波長偏移。

【0106】可進行基於生物活性的測試，而非基於結合活性的這些方法。例如，表現CD3的細胞以及表現CD137的細胞與欲測試的抗原結合分子混合，並進行培養。當抗原結合分子同時結合至這兩種抗原時，分別表現於兩個細胞的兩

種抗原經由欲測試的抗原結合分子互相活化。因此，可偵測到活化訊號的變化，如抗原的個別下游磷酸化水平的增加。或者，因為活化而誘發產生細胞激素。因此，可測量細胞激素的產生量以證實是否同時結合至兩個細胞。或者，因為活化而誘發針對表現CD137的細胞的細胞毒性。或者，因為活化而透過於CD137或CD3的訊號傳遞途徑的下游受到活化的啟動子，來誘發報導基因的表現。因此，可測量細胞毒性或報導蛋白的產生量，以證實是否同時結合至兩個細胞。

【0107】 Fab分子

「Fab分子」指的是由免疫球蛋白的重鏈(「Fab重鏈」)VH與CH1域以及輕鏈(「Fab輕鏈」)VL與CL域所組成的蛋白質。

【0108】 融合

「融合」指的是成 分（例如，Fab分子和Fc域次單元）通過肽鍵直接連接，或通過一個或多個肽連接子連接。

【0109】 「互換型(crossover)」Fab

「互換型」Fab分子(也稱為「Crossfab」)指的是Fab重鏈與輕鏈的可變區或恆定區交換的Fab分子，亦即，互換型Fab分子包括由輕鏈可變區與重鏈恆定區形成的肽鏈，以及由重鏈可變區與輕鏈恆定區形成的肽鏈。為了清楚起見，在Fab重鏈與Fab輕鏈的可變區交換的互換型Fab分子中，包括重鏈恆定區的肽鏈於本文稱為互換型Fab分子的「重鏈」。相反地，在Fab輕鏈與Fab重鏈的恆定區交換的互換型Fab分子中，包括重鏈可變區的肽鏈於本文稱為互換型Fab分子的「重鏈」。

【0110】 傳統Fab

與其相反，「傳統」Fab分子指的是其自然型式的Fab分子，即包括由重鏈可變區與恆定區形成的重鏈(VH-CH1)，以及由輕鏈可變區與恆定區形成的輕鏈(VL-CL)。「免疫球蛋白分子」一詞指的是具有天然存在抗體結構的蛋白質。例

如，IgG型的免疫球蛋白為約150,000道耳吞的異四聚體醣蛋白，其由雙硫鍵鍵結的兩個輕鏈與兩個重鏈所形成。從N到C端來看，每個重鏈具有可變區(VH)，也稱為可變重域或重鏈可變域，之後為三個恆定域(CH1、CH2及CH3)，也稱為重鏈恆定區。同樣地，從N到C端來看，每個輕鏈具有可變區(VL)，也稱為可變輕域或輕鏈可變域，之後為恆定輕域(CL)，也稱為輕鏈恆定區。免疫球蛋白的重鏈可歸為五種類型之一，五種類型為α (IgA)、δ (IgD)、ε (IgE)、γ (IgG)或μ (IgM)，其中一些更分成次型，如γ1 (IgG1)、γ2 (IgG2)、 γ3 (IgG3)、γ4 (IgG4)、α1 (IgA1)及α2 (IgA2)。免疫球蛋白的輕鏈基於其恆定域的胺基酸序列可歸為兩種類型之一，兩種類型為κ與λ。免疫球蛋白實質上由兩個Fab分子與一個Fc域所組成，其透過免疫球蛋白鉸鏈區(hinge region)所連接。

【0111】 親和性

「親和性」指的是分子(如，抗原結合分子或抗體)單一結合位與其結合對象(如，抗原)間的非共價交互作用的強度總和。如非另有說明，如本文所使用，「結合親和性」指的是固有的結合親和性，其反應了結合對成員(例如，抗原結合分子及抗原，或抗體及抗原)間的1比1的交互作用。分子X對其對象Y的親和性一般可以解離常數(KD)表示，解離常數是解離與締合速率常數(分別為koff與kon)的比例。因此，只要速率常數的比例維持相同，同等親和性可包括不同的速率常數。可利用本發明所屬技術領域中習知的完善方法來測量親和性，包括本文所述的方法。測量親和性的特定方法為表面電漿共振法(surface plasmon resoncance, SPR)。

【0112】 判斷親和性的方法

在某些實施例中，本文提供的抗原結合分子或抗體對其抗原具有以下解離常數(KD)：1μM或1μM以下、120nM或120nM以下、100nM或100nM以下、80nM或80nM以下、70nM或70nM以下、50nM或50nM以下、40nM或40nM以下、30nM

或30nM以下、20nM或20nM以下、10nM或10nM以下、2nM或2nM以下、1nM或1nM以下、0.1nM或0.1nM以下、0.01nM或0.01nM以下、或0.001nM或0.001nM以下(例如，10^{-8}M或10^{-8}M以下、10^{-8}M至10^{-13}M、10^{-9}M至10^{-13}M)。在某些實施例中，抗體/抗原結合分子對CD3、CD137或GPC3的KD值位於以下範圍之內：1-40nM、1-50nM、1-70nM、1-80nM、30-50nM、30-70nM、30-80nM、40-70nM、40-80nM、或60-80nM。

【0113】在一實施例中，利用放射標記抗原結合測定法(radiolabeled antigen-binding assay, RIA)測量KD。在一實施例中，以感興趣抗體的Fab形式及其抗原來進行放射標記抗原結合測定。例如，透過在未標記抗原的序列滴定存在下，用最小濃度的^{125}I標記抗原平衡Fab，然後用塗佈抗Fab抗體的盤捕獲結合的抗原來測量Fab對抗原的溶液結合親和性(參照如Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999))。為了建立測定條件，將5μg/ml之在50 mM碳酸鈉(pH 9.6)中的捕獲抗Fab抗體(Cappel Labs)於MICROTITER(註冊商標)多孔盤(Thermo Scientific)塗佈過夜，接著在室溫(約23度C)下在PBS中以2%(w/v)之牛血清白蛋白將其阻斷二至五小時。在非吸收盤中(Nunc#269620)，將序列稀釋的感興趣Fab與100pM或26pM的^{125}I標記抗原混合(例如，與在Presta et al., Cancer Res. 57:4593-4599 (1997)中對抗VEGF抗體Fab-12進行的評估一致)。接著將感興趣Fab培養過夜，然而，培養可持續更長的時間(例如，約65小時)以確保達到平衡。接著，將混合物轉移至捕獲盤而於室溫下培養(例如，一小時)。接著移除溶液，並以在PBS中的0.1%聚山梨醇酯20(TWEEN-20(註冊商標)清洗盤八次。當盤已乾燥時，於每孔添加150μL的閃爍劑(scintillant，MICROSCIN-20™；Packard)，且於TOPCOUNT™伽瑪計量器(Packard)上計量盤十分鐘。選擇小於或等於20%最大結合的各個Fab濃度用於競爭結合測定中。

【0114】根據另一實施例，利用BIACORE(註冊商標)表面電漿共振測定法

來測量Kd。例如，使用BIACORE(註冊商標)-2000或BIACORE(註冊商標)-3000 (BIACORE, Inc., Piscataway, NJ)的測定法，是在25度C下使用固定有約10個反應單位(response unit, RU)的抗原之CM5晶片進行。在一實施例中，根據供應商的使用說明，使用N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳二亞胺鹽酸鹽(EDC)及N-羥基琥珀醯亞胺(NHS)活化羧甲基化聚葡萄糖生物感測器晶片(CM5, BIACORE, Inc.)。在以5μl/分的流速注射抗原前，使用pH4.8的10mM醋酸鈉，將抗原稀釋至5μg/ml(約0.2μM)，以達到約10個反應單位(RU)的偶合蛋白質。注射抗原後，注射1M乙醇胺以阻斷未反應基團。為了進行動力學測量，在25度C以約25μl/分的流速，在含0.05%聚山梨醇酯20(TWEEN-20™)界面活性劑的PBS(PBST)中注入兩倍序列稀釋的Fab(0.78nM~500nM)。使用簡單一對一Langmuir結合模型(BIACORE(註冊商標)評估軟體版本3.2)、藉由同步擬合(fitting)締合及解離感測圖而計算締合速率(k_{on})及解離速率(k_{off})。平衡解離常數(Kd)是以k_{off}/k_{on}比值進行計算。例如，參照Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)。若以上述的表面電漿共振測定法，締合速率(on-rate)超過10^6 $M^{-1}s^{-1}$，可利用螢光淬滅技術來判斷締合速率，螢光淬滅技術利用分光計(例如，停流(stop-flow)式分光光度計(Aviv Instruments)或使用攪拌比色管之8000系列SLM-AMINCO™分光光度計(ThermoSpectronic))而進行測量，並在漸增濃度抗原存在的情況下，測量在pH7.2的PBS中的20nM抗抗原抗體(Fab形式)在25度C的螢光發射強度(激發=295nm；發射=340nm，帶通16nm)的增加或減少。

【0115】根據上述抗原結合分子或抗體親和性的測量方法，本發明所屬技術領域中具有通常知識者可對各種抗原進行其他抗原結合分子或抗體的親和性測量。

【0116】抗體

本文「抗體」一詞是以最廣泛的方式使用且涵蓋各種抗體結構，而抗體結

構只要能夠展現所欲的抗原結合活性，其包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如，雙特異性抗體)及抗體片段。

【0117】抗體片段

「抗體片段」指的是完整抗體以外的分子，其包括完整抗體的一部分，結合至完整抗體所結合的抗原。抗體片段的範例包括但不限於Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、雙鏈抗體(diabody)、線性抗體、單鏈抗體分子(例如，scFv)及單域抗體。某些抗體片段的回顧請參照Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)。scFv片段的回顧請參照如Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)；亦參照WO 93/16185、美國專利號5,571,894與5,587,458。關於包含再利用(salvage)受體結合抗原決定位殘基且具有體內(in vivo)延長半衰期的Fab與$F(ab')_2$片段所作的討論，可參照美國專利號5,869,046。雙鏈抗體是具有雙價或雙特異性的兩種抗原結合位的抗體片段。例如，參照EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)；以及Hollinger et al., Proc Natl Acad Sci USA 90, 6444-6448 (1993)。三鏈抗體(triabody)與四鏈抗體(tetrabody)亦描述於Hudson et al., Nat Med 9, 129-134 (2003)中。單域抗體是包括抗體重鏈可變域全部或一部分，或抗體輕鏈可變域全部或一部分的抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參照如美國專利號6,248,516 B1)。可利用各種技術製造抗體片段，包括但不限於如本文所述的完整抗體蛋白水解消化以及利用重組宿主細胞(例如，大腸桿菌或嗜菌體)產生而製造。

【0118】抗體類型

抗體的「類型」指的是其重鏈擁有的恆定域或恆定區型態。有五種主要的抗體類型：IgA、IgD、IgE、IgG與IgM，且許多這些類型可更分成次類型(次型)，

例如：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1與IgA2。對應至不同免疫球蛋白類型的重鏈恆定域分別稱為α、δ、ε、γ以及μ。

【0119】除非另有說明，否則輕鏈恆定區中的胺基酸殘基在本文是根據Kabat等人進行編號，且重鏈恆定區中的胺基酸殘基編號是根據EU編號系統，也稱為EU索引，如Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991中所述。

【0120】框架

「框架(framework, FR)」指的是可變域殘基而不是高度可變區(HVR)殘基。可變域的框架一般由四個框架域所組成：FR1、FR2、FR3與FR4。因此，高度可變區與框架序列一般會出現在以下VH(或CL)序列中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0121】人類共通框架(humen consensus framework)

「人類共通框架」是代表在選擇人類免疫球蛋白VL或VH框架序列中最常存在的胺基酸殘基之框架。一般而言，人類免疫球蛋白VL或VH框架序列的選擇是來自可變域序列的次群組。一般而言，序列的次群組如Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3中的次群組。在一實施例中，對於VL而言，次群組為如前述Kabat等人的次群組κI。在一實施例中，對於VH而言，次群組為如前述Kabat等人的次群組III。

【0122】嵌合抗體(chimeric antibody)

「嵌合」抗體一詞指的是重鏈及/或輕鏈的一部份衍生自特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈的剩餘部分衍生自不同來源或物種的抗體。同樣地，「嵌合抗體可變域」一詞指的是重鏈及/或輕鏈可變區衍生自特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈可變區的剩餘部分衍生自不同來源或物種的抗體可變區。

【0123】 人源化抗體(humanized antibody)

「人源化」抗體指的是包括來自非人類HVR的胺基酸殘基與來自人類FR的胺基酸殘基的嵌合抗體。在某些實施例中，人源化抗體將實質上包括所有至少一種可變域且一般是兩種可變域，其中所有或實質上所有HVR(例如，CDR)對應至非人類抗體的HVR，且所有或實質上所有FR對應至人類抗體的FR。人源化抗體可視需要地包括衍生自人類抗體的抗體恆定區的至少一部分。抗體的「人源化形式」，指的是已進行人源化的抗體，例如非人類抗體。「人源化抗體可變區」指的是人源化抗體的可變區。

【0124】 人類抗體

「人類抗體」所具有的胺基酸序列是對應至由人類或人類細胞所產生，或衍生自非人類來源的抗體的胺基酸序列，非人類來源使用的是人類抗體庫(repertoire)或其他編碼人類抗體的序列。此人類抗體的定義特別排除包括非人類抗原結合殘基的人源化抗體。「人類抗體可變區」指的是人類抗體的可變區。

【0125】 多核苷酸(核酸)

本文可交替使用的「多核苷酸」或「核酸」指的是任何長度的核苷酸聚合物，且可包括DNA與RNA。核苷酸可以是去氧核醣核苷酸、核醣核苷酸、修飾的核苷酸或鹼基及/或其類似物、或可被DNA或RNA聚合酶或藉由合成反應加入至聚合物的任何受質。多核苷酸可包括修飾的核苷酸，例如甲基化核苷酸及其類似物。核苷酸的序列可以被非核苷酸成分所阻斷。多核苷酸可包括合成之後所作的修飾，例如連接至標記。其他種類的修飾包括如「加帽(cap)」、以類似物取代一或多個天然存在核苷酸、核苷酸內修飾如非帶電鍵結(例如，甲基膦酸酯、磷酸三酯、胺基磷酸酯(phosphoramidates)、胺基甲酸酯(carbamates)等)與帶電鍵結(例如，硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)的核苷酸內修飾、含有懸垂部分(pendant moiety)的修飾如蛋白質(例如，核酸酶、毒素、抗體、訊號胜肽、聚-L-

離胺酸等)、具有插入劑(intercalators)(例如，吖啶(acridine)、補骨脂素(psoralen)等)的修飾、含有螯合劑(例如，金屬、放射性金屬、硼、氧化金屬等)的修飾、含有烷化劑的修飾、具有修飾鍵結(例如，α變旋異構物核酸等)的修飾以及多核苷酸的未修飾形式。

【0126】再者，通常存在於糖中的任何羥基基團可使用如膦酸酯基、磷酸酯基取代，被標準保護基團保護，或被活化以製備額外鍵結連接至額外的核苷酸，或可被結合至固體或半固體支持物。5'和3'端OH可被磷酸化或使用胺或具有1至20個碳原子的有機帽基團部分取代。其他羥基也可被衍生化成標準的保護基團。多核苷酸也可含有本領域一般習知的核醣或去氧核醣類似形式，包括，例如2'-O-甲基、2'-O-烯丙基-、2'-氟-或2'-疊氮基-核醣、碳環醣類似物、α變旋異構物醣(α-anomeric sugars)、差向異構糖(epimeric sugars)(例如，阿拉伯糖、木糖或來蘇糖、吡喃糖、呋喃糖、景天庚糖(sedoheptuloses))，非環類似物以及鹼性核苷類似物(例如甲基核糖苷(riboside))。一種或多種磷酸二酯鍵可被替代連接基團取代。這些替代連接基團包括但不限於其中磷酸酯被P(O)S(「硫酯」)、P(S)S(「二硫酯」)、(O)NR_2(「醯胺酯」)、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH2(「甲醛(formacetal)」)取代的實施例，其中R或R'各單獨為H或取代或非取代的烷基(1-20 C)，其視需要含有醚(-O-)鍵、芳基、鏈烯基(alkenyl)、環烷基、環鏈烯基或芳烷基(araldyl)。多核苷酸中的所有鍵結並非皆為相同。前文描述應用至本文提及的所有多核苷酸，包括RNA和DNA。

【0127】單離(核酸)

「單離」核酸分子是從其自然環境的成分所分離的分子。單離核酸分子更包括包含於細胞中的核酸分子，上述細胞通常包含核酸分子，但此核酸分子是存在於染色體外的，或位於與其自然染色體位置不同的染色體位置。

【0128】載體

本文所使用的「載體」一詞指的是能夠傳遞其所連接的另一核酸的核酸分子。此用詞包括作為自我複製核酸結構的載體以及加入其被導入的宿主細胞基因體中的載體。某些載體可引導其有效連接的核酸表現。這些載體在本文稱為「表現載體」。載體可利用病毒或電穿孔的方式被導入至宿主細胞。然而，導入載體並不侷限於體外(in vitro)方法。例如，也可直接利用體內(in vivo)方法將載體導入至一對象中。

【0129】宿主細胞

「宿主細胞」、「宿主細胞株」與「宿主細胞培養物」等用詞可交替使用，且指的是外源核酸導入其中的細胞，包括這些細胞的子代。宿主細胞包括「轉形體(transformant)」與「轉形細胞」，其包括初始(primary)轉形細胞以及自其衍生且不論繼代數量的子代。子代與親代細胞中的核酸成分可不完全相同，但可包括突變。本文包括具有與在一開始轉形細胞中所篩選或選擇的相同功能或生物活性的突變子代。

【0130】特異性

「特異性」指的是特異性結合至一或多個結合對象的分子沒有與對象之外的其他分子產生顯著結合。再者，「特異性」也用於抗原結合位對包含於抗原中多個抗原決定位中的一特定抗原決定位具有特異性時。若抗原結合分子特異性結合至一抗原，則亦描述為「抗原結合分子對/針對此抗原具有/展現出特異性」。當與抗原結合位(antigen-binding site)結合的抗原決定位(epitope)包含於多個不同抗原中時，包括此抗原決定位(antigen-binding site)的抗原結合分子可結合至具有此抗原決定位(epitope)的各種抗原。

【0131】抗體片段

「抗體片段」指的是完整抗體以外的分子，其包括完整抗體的一部分，結合至完整抗體所結合的抗原。抗體片段的範例包括但不限於Fv、Fab、Fab’、

Fab'-SH、F(ab')$_2$；雙鏈抗體(diabody)；線性抗體；單鏈抗體分子(例如，scFv)；及由抗體片段所形成的多特異性抗體。

【0132】用詞「全長抗體」、「完整抗體」與「全抗體(whole antibody)」於本文可交替使用，且指的是具有與天然抗體結構實質上相似的結構的抗體，或具有包含如本文定義的Fc區的重鏈的抗體。

【0133】可變片段(Fv)

於本文中，「可變片段(Fv)」一詞指的是由一對抗體輕鏈可變區(VL)與抗體重鏈可變區(VH)形成的抗體衍生抗原結合位的最小單位。1988年，Skerra與Pluckthun發現可將抗體基因插入細菌訊號序列的下游並誘導大腸桿菌中的基因表現，而從大腸桿菌周邊細胞質(periplasm)部分製備同質及活性抗體(Science (1988) 240(4855), 1038-1041)。在從周邊細胞質製備的Fv中，VH以可結合至一抗原的方式與VL締合。

【0134】scFv、單鏈抗體及sc(Fv)$_2$

於本文中，用詞「scFv」、「單鏈抗體」及「sc(Fv)$_2$」皆指的是單一多肽鏈的抗體片段，其包含衍生自重鏈與輕鏈的可變區，而不包含恆定區。一般而言，單鏈抗體也包含VH域與VL域間的多肽連接子，以能夠形成被認為能夠結合抗體的所欲結構。「The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, Vol. 113, Rosenburg and Moore, eds., Springer-Verlag, New York, 269-315 (1994)」中Pluckthun詳細討論單鏈抗體。亦參照國際專利公開WO 1998/001649；美國專利號4,946,778及5,260,203。在一特定實施例中，單鏈抗體可以是雙特異性及/或人源化的。

【0135】scFv為單鏈低分子量抗體，其中形成Fv的VH與VL以肽連接子相互連接(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988) 85(16), 5879-5883)。VH與VL可透過肽連接子保持在相當接近的位置。

【0136】sc(Fv)$_2$為單鏈抗體，其中兩個VL與兩個VH的四個可變區透過連接

子連接，連接子如形成單鏈的肽連接子(J Immunol. Methods (1999) 231(1-2), 177-189)。兩個VL與兩個VH可衍生自不同單株抗體。如Journal of Immunology (1994) 152(11), 5368-5374中所揭示，這些sc(Fv)$_2$較佳包括如雙特異性sc(Fv)$_2$，其辨識單一抗原中的兩個抗原決定位。可利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者習知的方法製造sc(Fv)$_2$。例如，可使用如肽連接子的連接子連接scFv而製造sc(Fv)$_2$。

【0137】於本文中，sc(Fv)$_2$包括兩個VH單位與兩個VL單位，其以從單鏈多肽N端起VH、VL、VH及VL的順序排列([VH]-連接子-[VL]-連接子-[VH]-連接子-[VL])。兩個VH單位與兩個VL單位的順序並不限於以上形式，且可以任何順序排列。範例形式如以下所列。

[VL]-連接子-[VH]-連接子-[VH]-連接子-[VL]

[VH]-連接子-[VL]-連接子-[VL]-連接子-[VH]

[VH]-連接子-[VH]-連接子-[VL]-連接子-[VL]

[VL]-連接子-[VL]-連接子-[VH]-連接子-[VH]

[VL]-連接子-[VH]-連接子-[VL]-連接子-[VH]

【0138】sc(Fv)$_2$的分子形式也詳細描述於WO 2006/132352。根據這些描述，本發明所屬技術領域中具有通常知識者可適當地製備所欲sc(Fv)$_2$，以製造本發明所揭示的多肽複合體。

【0139】再者，本揭露的抗原結合分子或抗體可與載劑聚合物如PEG或有機化合物如抗癌劑接合(conjugate)。或者，較佳可將醣鏈加成序列插入至抗原結合分子或抗體，使醣鏈產生所欲效果。

【0140】用於連接抗體可變區的連接子包括可透過基因工程導入的任意肽連接子、合成連接子以及如Protein Engineering, 9(3), 299-305, 1996中揭示的連接子。然而，本揭露中較佳為肽連接子。肽連接子的長度沒有特別限制，且可根

據目的由本發明所屬技術領域中具有通常知識者適當地選擇。長度較佳為5或更多個胺基酸(上限沒有特別限制，且一般為30或少於30個胺基酸，較佳為20或少於20個胺基酸)，特佳為15個胺基酸。當sc(Fv)$_2$含有三個肽連接子時，其長度可以皆相同或不同。

【0141】例如，這些肽連接子包括

Ser、

Gly-Ser、

Gly-Gly-Ser、

Ser-Gly-Gly、

Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 91)、

Ser-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 92)、

Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 93)、

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 94)、

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 95)、

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 96)、

Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 97)、

Ser-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 98)、

(Gly-Gly-Gly-Gly-Ser (SEQ ID NO: 93))n、以及

(Ser-Gly-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO: 94))n，

其中，n為1或更大的整數。肽連接子的長度或序列可由本發明所屬技術領域中具有通常知識者根據目的而選擇。

【0142】通常使用合成連接子(化學交聯劑)來交聯胜肽，且範例包括：

N-羥基琥珀醯亞胺(N-hydroxysuccinimide, NHS)、

辛二酸二琥珀醯亞胺酯(disuccinimidyl suberate, DSS)、

辛二酸雙(硫琥珀醯亞胺酯)(bis(sulfosuccinimidyl) suberate, BS3)、

二硫代雙(丙酸琥珀醯亞胺酯)(dithiobis(succinimidyl propionate), DSP)、

二硫代雙(丙酸硫代琥珀醯亞胺酯)(dithiobis(sulfosuccinimidyl propionate), DTSSP)、

乙二醇雙(琥珀酸琥珀醯亞胺酯)(ethylene glycol bis(succinimidyl succinate), EGS)、

乙二醇雙(琥珀酸硫代琥珀醯亞胺酯)(ethylene glycol bis(sulfosuccinimidyl succinate), sulfo-EGS)、

酒石酸二琥珀醯亞胺酯(disuccinimidyl tartrate, DST)、

酒石酸二硫代琥珀醯亞胺酯(sulfo-DST)、

雙[2-(琥珀醯亞胺氧基羰基氧基)乙基]碸(bis[2-(succinimidoxycarbonyloxy)ethyl]sulfonate, BSOCOES)、

或雙[2-(硫代琥珀醯亞胺氧基羰基氧基)乙基]碸(bis[2-(sulfosuccinimidoxycarbonyloxy)ethyl]sulfonate, sulfo-BSOCOES)。這些交聯劑為市售可得。

【0143】 一般而言，需要三個連接子來將四個抗體可變域連接在一起。所使用的連接子可為相同種類或不同種類。

【0144】 Fab、$F(ab')_2$及Fab’

「Fab」由單一輕鏈以及來自單一重鏈的CH1域與可變區所組成。Fab分子的重鏈無法與另一重鏈分子形成雙硫鍵。

【0145】 「$F(ab')_2$」或「Fab」是將免疫球蛋白(單株抗體)以例如胃蛋白酶及木瓜酵素的蛋白酶處理所製造的，且指的是將免疫球蛋白(單株抗體)在兩各自H鏈中的絞鏈區間存在的雙硫鍵附近進行消化所產生的抗體片段。例如，木瓜酵素切割兩各自H鏈中的絞鏈區間存在的雙硫鍵的IgG上游以產生兩個同源抗體片

段，其中包括VL(L鏈可變區)與CL(L鏈恆定區)的L鏈透過在C端區的雙硫鍵連接至包括VH(H鏈可變區)與CHγ1(H鏈恆定區中的γ1區)的H鏈片段。這兩個同源抗體片段各稱為Fab’。

【0146】「$F(ab')_2$」由包括CH1域恆定區與CH2域一部分的兩個輕鏈與兩個重鏈所組成，使得兩重鏈之間形成雙硫鍵。本文揭示的$F(ab')_2$較佳可如下文所述而製造。可利用如胃蛋白酶的蛋白酶來部分消化全單株抗體或包括所欲抗原結合位的全單株抗體；以及藉由吸附於蛋白質A管柱而移除Fc片段。蛋白酶沒有特別限制，只要於適當設定的酵素反應條件(例如，pH)下可以選擇性的方式切割全抗體而產生$F(ab')_2$。例如，這些蛋白酶包括胃蛋白酶及無花果蛋白酶(ficin)。

【0147】單域抗體

在本說明書中，「單域抗體」一詞不被其結構所限制，只要其結構域本身可發揮抗原結合活性。如IgG抗體的通常抗體已知在配對VH與VL形成可變區的狀態下展現出抗原結合活性，而單域抗體自己的域結構本身在不與另一域配對的情況下可發揮抗原結合活性。單域抗體一般具有相對低的分子量並以單體形式存在。

【0148】單域抗體的範例包括但不限於，先天缺少輕鏈的抗原結合分子，例如例如駱駝科動物的VHH和鯊魚VNAR，以及包含抗體VH域全體或一部分或抗體VL域全體或一部分的抗體片段。如美國專利號US 6,248,516 B1等中所述，包含抗體VH域或VL域全體或一部分的抗體片段之單域抗體範例包括但不限於，源自人類抗體VH或人類抗體VL的人造製備單域抗體。在本發明的一些實施例中，一個單域抗體具有三個CDR(CDR1、CDR2與CDR3)。

【0149】可從能製造單域抗體的動物或將能製造單域抗體的動物進行免疫化而獲得單域抗體。能製造單域抗體的動物範例包括但不限於駱駝科動物，以及帶有能產生單域抗體的基因的轉基因動物。駱駝科動物包括駱駝(camels)、駱

馬(lamas)、羊駝(alpacas)、單峰駱駝(one-hump camels)與原駝(guanacos)等。帶有能產生單域抗體的基因的轉基因動物範例包括但不限於國際公開號WO 2015/143414與美國專利公開號US 2011/0123527 A1中所述的轉基因動物。從動物獲得的單域抗體的框架序列可轉換成人類生殖系列序列或其相似序列以獲得人源化單域抗體。人源化單域抗體(例如，人源化VHH)也是本發明單域抗體的一實施例。

【0150】或者，可從包含單域抗體的多肽庫利用ELISA或篩選法(panning)等獲得單域抗體。包含單域抗體的多肽庫範例包括但不限於從各種動物或人類獲得的天然抗體庫(例如，Methods in Molecular Biology 2012 911 (65-78)；及Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics 2006 1764: 8 (1307-1319))、藉由免疫各種動物而獲得的抗體庫(例如， Journal of Applied Microbiology 2014 117: 2 (528-536))、以及從各種動物或人類抗體基因製備的合成抗體庫(例如，Journal of Biomolecular Screening 2016 21: 1 (35-43)；Journal of Biological Chemistry 2016 291:24 (12641-12657)；以及AIDS 2016 30: 11 (1691-1701))。

【0151】Fc區

「Fc區」或「Fc域」一詞指的是包括由抗體分子中絞鏈或其部分及CH2域與CH3域所組成的片段的區域。IgG類型的Fc區指的是但不限於，例如從半胱胺酸226(EU編號(本文中亦稱為EU索引))至C端或脯胺酸230(EU編號)至C端的區域。較佳地可藉由以如胃蛋白酶的蛋白水解酵素部分消化如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4單株抗體，接著將吸附於蛋白質A管柱或蛋白質G管柱的分液再沖提，以獲得Fc區。這種蛋白水解酵素沒有特別限定，只要在此酵素適當設定的反應條件下(例如，pH)，此酵素能消化全抗體以限制性地形成Fab或$F(ab')_2$。其範例可包括胃蛋白酶及木瓜酵素。

【0152】衍生自如天然存在IgG的Fc區可用作為本發明的「Fc區」。在此情況下，天然存在IgG指的是多肽，其含有與自然中發現的IgG相同的胺基酸序列且屬於實質上由免疫球蛋白γ基因所編碼的抗體類型。天然存在人類IgG指的是例如天然存在人類IgG1、天然存在人類IgG2、天然存在人類IgG3或天然存在人類IgG4。天然存在IgG也包括從其自發性衍生的變體等。於Sequences of proteins of immunological interest, NIH出版號No. 91-3242中，基於基因多型性的複數個同種異型體(allotype)序列描述為人類IgG1、人類IgG2、人類IgG3及人類IgG4抗體的恆定區，其任一者皆可使用於本發明。詳細而言，人類IgG1的序列可具有DEL或EEM作為EU編號第356至358位的胺基酸序列。

【0153】在一些實施例中，多特異性抗原結合分子的Fc域由一對包括免疫球蛋白分子的重鏈域的多肽鏈組成。例如，免疫球蛋白G(IgG)分子的Fc域為雙體，其各個次單元包括CH2與CH3 IgG重鏈恆定域。Fc域的兩個次單元可彼此穩定締合。在一實施例中，本文所述的多特異性抗原結合分子包括不多於一個的Fc域。

【0154】在本文所述的一實施例中，多特異性抗原結合分子的Fc域為IgG Fc域。在一特定實施例中，Fc域為IgG1 Fc域。在另一實施例中，Fc域為IgG1 Fc域。在又一特定實施例中，Fc域為人類IgG1 Fc區。

【0155】具有減弱Fc受體(Fcγ受體)結合活性的Fc區

在某些實施例中，本文所述的多特異性抗原結合分子的Fc域對Fc受體相較於天然IgG1 Fc域展現出減弱的結合親和性。在這樣的一實施例中，Fc域(或包括上述Fc域的多特異性抗原結合分子)與天然IgG1 Fc域(或包括天然IgG1 Fc域的多特異性抗原結合分子)相比對Fc受體展現出小於50%、較佳小於20%、更佳小於10%，且最佳小於5%的結合親和性。在一實施例中，Fc域(或包括上述Fc域的多特異性抗原結合分子)實質上沒有結合至Fc受體。在一特定實施例中，Fc受體為

Fcγ受體。在一實施例中，Fc受體為人類Fc受體。在一實施例中，Fc受體為活化Fc受體。在一特定實施例中，Fc受體為活化人類Fcγ受體，較具體為人類FcγRIIIa、FcγRI或cγRIIa，最具體為人類FcγRIIIa。

【0156】在某些實施例中，多特異性抗原結合分子的Fc域包括一或多個胺基酸突變，其減少Fc域對Fc受體的結合親和性。一般而言，相同的一或多個胺基酸突變存在於Fc域兩個次單元的每一個之中。在一實施例中，胺基酸突變減少Fc域對Fc受體的結合親和性。在一實施例中，胺基酸突變減少Fc域對Fc受體至少2倍、至少5倍或至少10倍的結合親和性。在存在減少Fc域對Fc受體的結合親和性的一個以上胺基酸突變的實施例中，這些胺基酸突變的組合可減少Fc域對Fc受體至少10倍、至少20倍或甚至至少50倍的結合親和性。在一實施例中，包括經改造的Fc域的多特異性抗原結合分子與包括未經改造的Fc的多特異性抗原結合分子相比，對Fc受體展現出小於20%、特別是小於10%、更特別是小於5%的結合親和性。在一特定實施例中，Fc受體為Fcγ受體。在一些實施例中，Fc受體為人類Fc受體。在一些實施例中，Fc受體為活化Fc受體。在一特定實施例中，Fc受體為活化人類Fcγ受體，更具體為人類FcγRIIIa、FcγRI或FcγRIIa，最具體為人類FcγRIIIa。較佳為，減少對各個這些抗體的結合。

【0157】在一實施例中，減少Fc域對Fc受體的結合親和性的胺基酸突變為胺基酸取代。在一實施例中，Fc域包括在擇自於E233、L234、L235、N297、P331及P329所組成之群組的位置的胺基酸取代。在一更特定實施例中，Fc域包括在擇自於L234、L235及P329所組成之群組的位置的胺基酸取代。在一些實施例中，Fc域包括L234A與L235A的胺基酸取代。在此一實施例中，Fc域為IgG1 Fc域，特別是人類IgG1 Fc域。在一實施例中，Fc域包括在第P329位的胺基酸取代。在一更特定實施例中，胺基酸取代為P329A或P329G，特別是P329G。在一實施例中，Fc域包括在第P329位的胺基酸取代，以及擇自於第E233、L234、L235、N297

及P331位的又一胺基酸取代。在一更特定實施例中，上述又一胺基酸取代為E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D或P331S。在特定實施例中，Fc域包括在第P329、L234與L235位的胺基酸取代。在更特定實施例中，Fc域包括胺基酸取代L234A、L235A及P329G(「P329G LALA」)。在此一時施例中，Fc域為IgG1 Fc域，特別是人類IgG1 Fc域。如PCT公開號WO 2012/130831中所述，胺基酸取代的「P329G LALA」組合幾乎完全消除Fcγ受體(以及補體)與人類IgG1 Fc域的結合。WO 2012/130831也描述製備此突變Fc域的方法以及判斷其特性如Fc受體結合或效應子功能的方法。

【0158】IgG4抗體與IgG1抗體相比對Fc受體展現出減弱的結合親和性及減弱的效應子功能。因此，在一些實施例中，本文所述之T細胞活化雙特異性抗原結合分子的Fc域為IgG4 Fc域，特別是人類IgG4 Fc域。在一實施例中，IgG4 Fc域包括第S228位的胺基酸取代，具體為S228P的胺基酸取代。在一實施例中，為了進一步減少其對Fc受體的結合親和性及/或其效應子功能，IgG4 Fc域包括第L235位的胺基酸取代，具體為L235E的胺基酸取代。在另一實施例中，IgG4 Fc域包括第P329位的胺基酸取代，具體為P329G的胺基酸取代。在一特定實施例中，IgG4 Fc域包括第S228、L235及P329位的胺基酸取代，具體為S228P、L235E及P329G的胺基酸取代。此IgG4 Fc域突變及其Fcγ受體結合特性描述於PCT公開號WO 2012/130831。

【0159】在某些實施例中，消除Fc域的N醣基化。在此一實施例中，Fc域包括第N297位的胺基酸突變，特別是以丙胺酸(N297A)或天門冬胺酸(N297D)取代天冬醯胺酸的胺基酸取代。

【0160】在一特定較佳實施例中，與天然IgG1 Fc域相比對Fc受體展現出減弱結合親和性的Fc域為包括L234A、L235A與N297A胺基酸取代的人類IgG1 Fc域。

【0161】可利用本發明所屬技術領域中已習知的基因或化學方法，透過胺基酸刪除、取代、插入或修飾而製備突變Fc域。基因方法可包括編碼DNA序列的定點突變(site-specific mutagenesis)、PCR、基因合成等。可利用如定序證實正確的核苷酸變化。

可利用如ELISA或藉由使用如BIAcore儀器(GE Healthcare)的標準儀器的表面電漿共振法(SPR)而輕易判斷與Fc受體的結合，且可利用如重組表現來獲得Fc受體。此合適的結合測定法於本文描述。或者，Fc域或包括Fc域的細胞活化雙特異性抗原結合分子對Fc受體的結合親和性可利用已知會表現特定Fc受體的細胞株來評估，例如表現FcγIIIa受體的人類NK細胞。

【0162】Fc受體

「Fc受體」或「FcR」一詞指的是結合至抗體Fc區的受體。在一些實施例中，FcR為天然人類FcR。在一些實施例中，FcR是結合IgG抗體 (γ受體)的FcR，且包括FcγRI、FcγRII、及FcγRIII次類型的受體，其包括這些受體的對偶變體及選擇性剪接(splicing)形態。FcγRII受體包含FcγRIIA(「活化受體」)及FcγRIIB(「抑制受體」)，其具有主要差異在於其細胞質域的相似胺基酸序列。活化受體FcγRIIA在其細胞質域包含免疫受體酪胺酸活化模體(immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM)。抑制受體FcγRIIB在其細胞質域包含免疫受體酪胺酸抑制模體(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif, ITIM)(例如，參照Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997))。FcR的回顧例如在Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)；Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994)；及de Haas et al., J. Lab. Clin. Med 126:330-41 (1995)中。包含將來鑑定的其他FcR也包含於本文的「FcR」一詞。

【0163】「Fc受體」或「FcR」一詞更包括新生兒(neonatal)受體FcRn，其負責母體IgG向胎兒的轉移(Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976)及Kim et al., J.

Immunol. 24:249 (1994))以及免疫球蛋白的恆定調節。與FcRn結合的測量方法為習知的(例如，參照Ghetie and Ward., Immunol. Today 18(12):592-598 (1997)；Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15(7):637-640 (1997)；Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004)；WO 2004/92219 (Hinton et al.))。

【0164】體內(in vivo)與人類FcRn的結合及人類FcRn高親和性結合多肽的血漿半衰期，可在如表現人類FcRn的轉基因小鼠或者轉染(transfect)人類細胞株中、或被投予具有變體Fc區的多肽的靈長類中進行測定。WO 2000/42072 (Presta)描述了對FcR結合增加或減少的抗體變體。例如，亦參照Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2):6591-6604 (2001)。

【0165】Fcγ受體

Fcγ受體指的是可結合至單株IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體Fc域的受體，且包括屬於實質上由Fcγ受體基因編碼的蛋白質家族的所有成員。人類中，此家族包括：包括同型異構物FcγRIa、FcγRIb及FcγRIc的FcγRI (CD64)；包括同型異構物FcγRIIa(包括同種異型體(allotype)H131及R131)、FcγRIIb(包括FcγRIIb-1及FcγRIIb-2)及FcγRIIc的FcγRII (CD32)；以及包括同型異構物FcγRIIIa(包括同種異型體V158及F158)及FcγRIIIb(包括同種異型體FcγRIIIb-NA1及FcγRIIIb-NA2)的FcγRIII(CD16)；以及所有未鑑定的人類Fcγ受體、Fcγ受體同型異構物及其同種異型體。然而，Fcγ受體不限於這些範例。並非以此為限，Fcγ受體包括衍生自人類、小鼠、大鼠、兔子和猴子的Fcγ受體。Fcγ受體可衍生自任何生物。小鼠Fcγ受體包括但不限於，FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)、FcγRIII(CD16)及FcγRIII-2 (CD16-2)、以及所有未鑑定的小鼠Fcγ受體、Fcγ受體同型異構物及其同種異型體。這些較佳的Fcγ受體包括如人類FcγRI(CD64)、FcγRIIA(CD32)、FcγRIIB(CD32)、FcγRIIIA(CD16)及/或FcγRIIIB(CD16)。

【0166】FcγRI的多核苷酸序列及胺基酸序列分別於RefSeq登錄號

NM_000566.3及RefSeq登錄號NP_000557.1中所示；FcγRIIA的多核苷酸序列及胺基酸序列分別於RefSeq登錄號BC020823.1及RefSeq登錄號AAH20823.1中所示；FcγRIIB的多核苷酸序列及胺基酸序列分別於RefSeq登錄號BC146678.1及RefSeq登錄號AAI46679.1中所示；FcγRIIIA的多核苷酸序列及胺基酸序列分別於RefSeq登錄號BC033678.1及RefSeq登錄號AAH33678.1中所示；且FcγRIIIB的多核苷酸序列及胺基酸序列分別於RefSeq登錄號BC128562.1及RefSeq登錄號AAI28563.1中所示。除了上述FACS (fluorescence activated cell sorting，螢光活化細胞分類)及ELISA形式，可利用ALPHAScreen (amplified luminescent proximity homogeneous assay screen，放大發光近似均質測定篩選)、基於表面電漿共振(surface plasmon resonance, SPR)現象的BIACORE方法及其他方法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006)103 (11), 4005-4010)來評估Fcγ受體對單株IgG1、IgG2、IgG3或IgG4抗體的Fc域是否具有結合活性。

【0167】同時，「Fc配體」或「效應子配體(effector ligand)」指的是結合至抗體Fc域而形成Fc/Fc配體複合體的分子，且較佳為多肽。分子可衍生自任何生物。Fc配體與Fc的結合較佳誘導了一或多個效應子功能。此Fc配體包括但不限於Fc受體、Fcγ受體、Fcα受體、Fcβ受體、FcRn、C1q、C3、甘露聚醣結合凝集素、甘露糖受體、葡萄球菌蛋白質A、葡萄球菌蛋白質G以及病毒Fcγ受體。Fc配體也包括Fc受體同源物(Rc receptor homolog, RcRH)(Davis et al., (2002) Immunological Reviews 190, 123-136)，為與Fcγ受體同源的Fc受體家族。Fc配體也包括結合至Fc的未鑑定分子。

【0168】Fcγ受體結合活性

可利用上述FACS與ELISA形式以及ALPHAScreen (amplified luminescent proximity homogeneous assay screen，放大發光近似均質測定篩選)與基於表面電漿共振(SPR)的BIACORE方法(Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11),

4005-4010)評估Fc域對Fcγ受體FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB、FcγRIIIA及/或FcγRIIIB中任一的減弱的結合活性。

【0169】藉由基於下述準則並使用二種珠粒(供者及受者珠粒)的ALPHA技術來進行ALPHAScreen。只有當連接至供者珠粒的分子與連接至受者珠粒的分子進行生物交互作用時，以及當兩珠粒非常接近時，偵測得到發光訊號。供者珠粒中雷射光所激發的感光劑將珠粒周圍的氧轉換成激發的單態氧(singlet oxygen)。當單態氧於供者珠粒周圍擴散且到達非常接近的受者珠粒時，於受者珠粒中引起化學發光反應。此反應最終發出光線。若連接至供者珠粒的分子沒有與連接至受者珠粒的分子進行交互作用時，供者珠粒產生的單態氧沒有到達受體珠粒且沒有發生化學發光反應。

【0170】例如，將生物素標記抗原結合分子或抗體固定於供者珠粒，且將穀胱甘肽S轉移酶(GST)標籤的Fcγ受體固定於受者珠粒。在包括競爭性突變Fc域的抗原結合分子或抗體不存在的情況下，Fcγ受體與包括野生型Fc域的抗原結合分子或抗體進行交互作用，因此引發520至620nm的訊號。具有未標籤突變Fc域的抗原結合分子或抗體與包括野生型Fc域的抗原結合分子或抗體競爭與Fcγ受體的交互作用。可透過定量因競爭而減少的螢光來判斷相對結合親和性。抗原結合分子或抗體的生物素化方法是習知的方法，例如使用硫-NHS-生物素等的抗體。將GST標籤添加至Fcγ受體的適當方法包括涉及以下所述的方法：使框架中編碼Fcγ受體與GST的多肽融合；以導入帶有基因的載體的細胞表現融合基因；接著使用穀胱甘肽管柱純化。較佳可透過如使用GRAPHPAD PRISM(GraphPad; San Diego)的軟體，並基於非線性迴歸分析將引發出的訊號擬合至一位點競爭模型而分析引發出的訊號。

【0171】將欲觀察其交互作用的其中一物質作為配體固定至感測晶片的金薄層上。當光線照射感測晶片的背面，使得在金薄層與玻璃之間的界面發生全

反射時，反射光的強度在某些位點(SPR訊號)部分地減少。將欲觀察其交互作用的另一物質作為分析物注射於感測晶片的表面上。當分析物結合至配體時，固定的配體分子的質量增加。這改變了感測晶片的表面上溶劑的折射率。折射率的改變造成SPR訊號的位置偏移(相反地，解離將訊號轉移至原始位置)。在Biacore系統中，上述的偏移量(亦即，感測晶片表面上的質量改變)繪示於垂直軸，因此隨時間的質量變化繪示為測量資料(感測圖)。動力學參數(締合速率常數(ka)與解離速率常數(kd))是由感測圖的曲線而判斷，且親和性(KD)是由這兩個常數間的比值而判斷。BIACORE方法中較佳使用抑制測定法。此抑制測定的範例描述於Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11), 4005-4010。

【0172】 多特異性抗原結合分子的製造與純化

本文所述的多特異性抗原結合分子包括兩個不同的抗原結合部分(例如，「第一抗原結合部分」與「第二抗原結合部分」)，其與Fc域兩個次單元的其中一者或另一者融合，因此Fc域的兩個次單元一般包含於兩個不相同的多肽鏈中。這些多肽的重組共表現與後續的二聚合(dimerization)產生兩個多肽的許多可能組合。為了改善重組製造中多特異性抗原結合分子的產率與純度，在多特異性抗原結合分子的Fc域中導入促進所欲多肽締合的修飾將是有利的。

【0173】 因此，在特定實施例中，本文所述的多特異性抗原結合分子的Fc域包括促進Fc域的第一次單元與第二次單元締合的修飾。人類IgG Fc域兩個次單元之間的蛋白質-蛋白質交互作用最大量的位點位於Fc域的CH3域中。因此，在一實施例中，上述修飾位於Fc域的CH3域中。

在特定實施例中，上述修飾是所謂的「杵入臼(knob-into-hole)」修飾，包括Fc域兩個次單元的其中一個中的「杵(knob)」修飾以及Fc域兩個次單元的另一個中的「臼(hole)」修飾。

【0174】 杵入臼技術描述於US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway et al., Prot

Eng 9, 617-621 (1996)；以及Carter, J Immunol Meth 248, 7-15 (2001)。一般而言，方法涉及在第一多肽的界面導入隆起(protuberance)(「杵」)並於第二多肽的界面中導入對應的空腔(cavity)(「臼」)，使隆起可被放置於空腔中以促進異二聚體的形成與絞鏈同二聚體的形成。可藉由從第一多肽的界面以較大的側鏈(例如，酪胺酸或色胺酸)取代小胺基酸側鏈而建構出隆起。藉由以較小的胺基酸側鏈(例如，丙胺酸或蘇胺酸)取代大胺基酸側鏈而於第二多肽的界面中產生與隆起尺寸相同或相似的補償空腔。

【0175】因此，在一特定實施例中，多特異性抗原結合分子Fc域的第一次單元的CH3域中，以具有較大側鏈體積的胺基酸殘基取代胺基酸殘基，以於第一次單元的CH3域之中產生隆起，隆起可置於第二次單元的CH3域之中的空腔中，且Fc域第二次單元的CH3域中，以具有較小側鏈體積的胺基酸殘基取代胺基酸殘基，以於第二次單元的CH3域之中產生空腔，第一次單元的CH3域之中的隆起可置於第二次單元CH3域之中的空腔中。

【0176】可利用如定點突變改變編碼多肽的核酸或利用胜肽合成而製造隆起與空腔。

【0177】在一特定實施例中，Fc域第一次單元的CH3域中，以色胺酸殘基取代第366位的蘇胺酸殘基(T366W)，且Fc域第二次單元的CH3域中，以纈胺酸殘基取代第407位的酪胺酸殘基(Y407V)。在一實施例中，Fc域的第二次單元中，另外以絲胺酸殘基取代第366位的蘇胺酸殘基(T366S)，並以丙胺酸殘基取代第368位的白胺酸殘基(L368A)。

【0178】在又一實施例中，Fc域的第一次單元中，另外以半胱胺酸殘基取代第354位的絲胺酸殘基(S354C)，且在Fc域的第二次單元中，另外以半胱胺酸殘基取代第349位的酪胺酸殘基(Y349C)。這兩個半胱胺酸殘基的導入於Fc域的兩個次單元之間形成雙硫鍵，進一步穩定二聚體(Carter, J Immunol Methods 248,

7-15 (2001))。

【0179】在其他實施例中，於H鏈之中以及具有所欲組合的L鏈與H鏈之間促進締合的其他技術可應用於本發明的多特異性抗原結合分子。

【0180】例如，在抗體H鏈第二恆定區或第三恆定區(CH2或CH3)的界面導入靜電排斥(electrostatic repulsion) 而抑制非所欲的H鏈締合的技術可應用於多特異性抗體締合(WO 2006/106905)。

【0181】在CH2或CH3的界面導入靜電排斥而抑制非刻意的H鏈締合的技術中，在H鏈其他恆定區的界面接觸的胺基酸殘基範例包括對應至CH3區中的EU編號第356、439、357、370、399與409位殘基的區域。

【0182】更具體而言，範例包括含有兩種H鏈CH3區的抗體，其中第一H鏈CH3區中一至三對胺基酸殘基帶有相同型態的電荷，上述一至三對胺基酸殘基擇自於下列(1)至(3)所示的胺基酸殘基對：(1) 包含於H鏈CH3區EU編號第356與439位中的胺基酸殘基；(2) 包含於H鏈CH3區EU編號第357與370位中的胺基酸殘基；以及(3) 包含於H鏈CH3區EU編號第399與409位中的胺基酸殘基。

【0183】再者，抗體可以是與前述第一H鏈CH3區不同的第二H鏈CH3區中的胺基酸殘基對的抗體，第二H鏈CH3區中的胺基酸殘基對擇自於前述(1)至(3)的胺基酸殘基對，其中對應至在第一H鏈CH3區中帶有相同型態電荷的前述(1)至(3)的胺基酸殘基對的一至三對胺基酸殘基帶有與前述第一H鏈CH3區中對應的胺基酸殘基相反的電荷。

【0184】以上(1)至(3)所示的每個胺基酸殘基在締合時彼此靠近。本發明所屬技術領域中具有通常知識者可透過同源建模等使用市售軟體，在所欲H鏈CH3區或H鏈恆定區中找出對應至前述胺基酸殘基(1)至(3)的位置，且可適當地對這些位置的胺基酸殘基進行修飾。

【0185】在前述抗體中，「帶電胺基酸殘基」較佳擇自如包含於下列群組

中其中一者中的胺基酸殘基：

(a) 麩胺酸(E)與天門冬胺酸(D)；以及

(b) 離胺酸(K)、精胺酸(R)與組胺酸(H)。

【0186】在前述抗體中，用句「帶有相同電荷」指的是如兩個或兩個以上的胺基酸殘基皆擇自包含於上述群組(a)與(b)的其中一者中的胺基酸殘基。用句「帶有相反電荷」指的是如當兩個或兩個以上的胺基酸殘基之中的至少一胺基酸殘基擇自包含於上述群組(a)與(b)的其中一者中的胺基酸殘基時，剩餘的胺基酸殘基是擇自包含於另一群組中的胺基酸殘基。

【0187】在一較佳實施例中，前述抗體可透過雙硫鍵使其第一H鏈CH3區與第二H鏈CH3域交聯。

【0188】在本發明中，進行修飾的胺基酸殘基並不限於抗體可變區或抗體恆定區的前述胺基酸殘基。本發明所屬技術領域中具有通常知識者可透過同源建模等使用市售軟體，鑑定出在突變多肽或多異聚體中形成界面的胺基酸殘基，且可對這些位置的胺基酸殘基進行修飾以調節締合。

【0189】此外，其他習知技術也可用於形成本發明的多特異性抗原結合分子。將其中抗體H鏈CH3中的一個的一部分轉換為對應的IgA衍生序列，且將對應的IgA衍生序列導入其他H鏈CH3的互補部分中而製造股交換改造域(strand-exchange engineered domain)CH3，使用股交換改造域CH3進行CH3的互補締合來有效誘導具有不同序列的多肽進行締合(Protein Engineering Design & Selection, 23; 195-202, 2010)。此習知技術也可用以有效率地形成感興趣的多特異性抗原結合分子。

【0190】此外，利用抗體CH1與CL的締合以及VH與VL的締合製造抗體的技術描述於WO 2011/028952、WO 2014/018572及Nat Biotechnol. 2014 Feb; 32(2):191-8；利用結合個別製備的單株抗體(Fab臂交換)來製造雙特異性抗體的

技術描述於WO 2008/119353及WO 2011/131746；調節抗體重鏈CH3之間締合的技術描述於WO 2012/058768及WO 2013/063702；由兩種輕鏈與一種重鏈所構成的多特異性抗體的製造技術描述於WO 2012/023053；使用獨立表現包括單一輕鏈與單一重鏈的抗體的其中一鏈的兩種細菌細胞株來製造多特異性抗體的技術如Christoph等人所述(Nature Biotechnology Vol. 31, p. 753-758 (2013))；且亦可用於形成多特異性抗體。

【0191】或者，即便是無法有效形成感興趣的多特異性抗體時，可透過從所製造的抗體分離並純化感興趣的多特異性抗體而獲得本發明的多特異性抗體。例如，已有報導(WO2007114325)揭示可透過將胺基酸取代導入至兩種H鏈的可變區中而產生等電點差異，進而以離子交換層析法純化感興趣的兩種同聚體形式與異聚體抗體的方法。直至今日，作為純化異聚體抗體的方法，已有報導(WO98050431及WO95033844)揭示利用蛋白質A純化異二聚體抗體的方法，異二聚體抗體包括結合至蛋白質A的小鼠IgG2a H鏈及沒有結合至蛋白質A的大鼠IgG2b H鏈。再者，可利用包括為IgG蛋白質A結合位的EU編號第435與436位胺基酸殘基以如Tyr、His或產生不同的蛋白質A親和性的胺基酸取代的H鏈，或利用具有不同蛋白質A親和性的H鏈以改變每個H鏈與蛋白質A的交互作用，然後使用蛋白質A管柱而自行有效率地純化異二聚體抗體。

【0192】再者，Fc區C端異質性已改善的Fc區可適當地作為本發明的Fc區。更具體而言，本發明提供透過從組成衍生自IgG1、IgG2、IgG3或IgG4的Fc區的兩個多肽胺基酸序列，刪除如EU編號所指定的第446位的甘胺酸與第447位的離胺酸而製造的Fc區。

【0193】可利用本發明所屬技術領域習知的技術如高效能液相層析法、離子交換層析法、凝膠電泳法、親和性層析法、粒徑篩析層析法等來純化如本文所述而製備的多特異性抗原結合分子。用以純化特定蛋白質的實際條件將部分

地取決於如淨電荷、親油性、親水性等因素，且對於本發明所屬技術領域中具有通常知識者是顯而易見的。對於親和性層析純化，可使用與多特性抗原結合分子結合的抗體、配體、受體或抗原。例如，對於本發明多特異性抗原結合分子的親和性層析純化而言，可使用具有蛋白質A或蛋白質G的基質(matrix)。可使用依序的蛋白質A或蛋白質G親和性層析法及粒徑篩析層析法來分離多特異性抗原結合分子。可利用任何各式各樣習知的分析方法判斷多特異性抗原結合分子的純度，包括凝膠電泳法及高壓液相層析法等。

【0194】抗體依賴性細胞介導細胞毒性(Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)

「抗體依賴性細胞介導細胞毒性」或「ADCC」指的是一種形式的細胞毒性，其中與存在於某些細胞毒性細胞(例如，NK細胞、嗜中性球與巨噬細胞)上的Fc受體(FcRs)結合的分泌Ig，可使這些細胞毒性效應細胞特異性結合至帶有抗原的目標細胞並接著以細胞毒素殺死目標細胞。介導ADCC、NK細胞的初始細胞(primary cell)僅表現FcγRIII，而單核球表現FcγRI、FcγRII與FcγRIII。造血細胞上FcR的表現概述於Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)第464頁的表3中。為了評估感興趣分子的ADCC活性，可進行如美國專利號5,500,362或5,821,337或美國專利號6,737,056(Presta)中所述的體外ADCC測定。這些測定適用的效應細胞包括PBMC與NK細胞。或者或更甚者，可於體內評估感興趣分子的ADCC活性，例如在Clynes et al. PNAS (USA) 95:652-656 (1998)中揭示的動物模型中。

【0195】補體依賴性細胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)

「補體依賴性細胞毒性」或「CDC」指的是在補體存在的情況下裂解目標細胞。傳統的補體途徑是透過補體系統第一成分(C1q)與結合至其同源抗原的抗體(適當次類型)結合而開始進行活化。為了評估補體的活化，可進行如

Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)中所述的CDC測定。具有經改變的Fc區胺基酸序列的多肽變體(具有變體Fc區的多肽)及增強或減弱的C1q結合能力描述於如美國專利號6,194,551 B1及WO 1991/51642。亦參照如Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000)。

【0196】T細胞依賴性細胞毒性(T cell dependent cellular cytotoxicity, TDCC)

「T細胞依賴性細胞毒性」或「TDCC」指的是一種形式的細胞毒性，其中抗原結合分子結合至表現於目標細胞的抗原以及表現於T細胞的另一抗原兩者，其再引導T細胞接近目標細胞，例如T細胞誘導對目標細胞的細胞毒性。評估T細胞依賴性細胞毒性的方法，體外TDCC測定也描述於本說明書的「T細胞依賴性細胞毒性的測量」段落中。

【0197】T細胞依賴性細胞毒性的測量

在抗原結合分子結合至GPC3及CD3/CD137兩者的實施例中，下文所述的方法較佳作為T細胞依賴性細胞毒性(TDCC)的評估或判斷方法，將本揭露的抗原結合分子接觸與本揭露抗原結合分子中抗原結合位結合的表現GPC3細胞而導致T細胞依賴性細胞毒性(TDCC)。體外細胞毒性活性的評估或判斷方法包括細胞毒性T細胞活性的判斷方法等。可利用習知方法(參照如Current protocols in Immunology, Chapter 7. Immunologic studies in humans, Editor, John E, Coligan et al., John Wiley & Sons, Inc., (1993))來判斷本揭露的抗原結合分子是否具有誘導T細胞介導細胞毒性的活性。在細胞毒性測定中，可結合至與GPC3不同的抗原及CD3/CD137且沒有表現於細胞中的抗原結合分子作為控制抗原結合分子。以相同方式測定控制抗原結合分子。接著，測試本揭露的抗原結合分子是否展現比控制抗原結合分子更強的細胞毒性活性來評估活性。

【0198】同時，可利用如以下步驟來評估或判斷體內抗腫瘤功效。將表現與本揭露抗原結合分子中的抗原結合位結合的抗原的細胞皮內或皮下移植到非

人類動物對象。接著從移植日或之後，每日或以數天的期間將測試抗原結合分子投予至靜脈或腹膜腔。隨著時間測量腫瘤尺寸。腫瘤尺寸的變化差異可定義為細胞毒性活性。如在體外測定中，投予控制抗原結合分子。當投予本揭露的抗原結合分子群組中的腫瘤尺寸小於投予控制抗原結合分子群組中的腫瘤尺寸時，可評斷本揭露的抗原結合分子具有細胞毒性。

【0199】較佳使用甲基噻唑四氮唑(MTT)方法並測量同位素標記胸苷被細胞攝取來評估或判斷與本揭露抗原結合分子接觸以抑制表現與抗原結合分子中抗原結合位結合的抗原的細胞成長的效應。同時，上述評估或判斷體內細胞毒性活性的相同方法可較佳用以評估或判斷體內抑制細胞成長的活性。

【0200】本揭露抗體或抗原結合分子的TDCC可利用任何本發明所屬技術領域中習知的合適方法來進行評估。例如，可利用乳酸脫氫酶(lactate dehydrogenase, LDH)釋放測定法來測量TDCC。在此測定法中，在存在測試抗體或抗原結合分子的情況下，將目標細胞(例如，表現GPC3的細胞)與T細胞(例如，PBMC)進行培養，且從T細胞殺死的目標細胞所釋放的LDH活性是使用合適試劑進行測量。一般而言，細胞毒性活性是計算為來自與抗體或抗原結合分子培養而得的LDH活性相對於來自殺死100%目標細胞(例如，利用Triton-X處理而裂解)而得的LDH活性的百分比。若如前述計算的細胞毒性活性較高，則判斷測試抗體或抗原結合分子具有較高的TDCC。

【0201】或者或更甚者，例如，也可利用即時細胞成長抑制測定法來測量TDCC。在此測定中，目標細胞(例如，表現GPC3的細胞)在測試抗體或抗原結合分子存在的情況下於96孔盤與T細胞(例如，PBMC)進行培養，且利用本發明所屬技術領域中習知的方法監測目標細胞的成長，例如使用合適的分析儀器(例如，xCELLigence即時細胞分析儀)。由根據公式: CGI (%) = 100 - (CI_{Ab} × 100 / CI_{NoAb})的細胞指標值(cell index value, CGI)判斷細胞成長抑制率(CGI: %)。「CI_{Ab}」

表示於特定實驗時間具有抗體或抗原結合分子的孔洞的細胞指標值，且「CI_{NoAb}」表示沒有抗體或抗原結合分子的孔洞的平均細胞指標值。若抗體或抗原結合分子的CGI率高，亦即具有顯著正值，則可謂抗體或抗原結合分子具有TDCC活性。

【0202】在一態樣中，本揭露的抗體或抗原結合分子具有T細胞活化活性。可利用本發明所屬技術領域中習知的方法來測定T細胞的活化，例如使用對其活化反應而表現報導基因(例如，螢光素酶)的改造T細胞株(例如，Jurkat / NFAT-RE Reporter細胞株(T Cell Activation Bioassay, Promega))的方法。此方法中，目標細胞(例如，表現GPC3的細胞)在測試抗體與抗原結合分子存在的情況下與T細胞進行培養，且接著利用適合作為T細胞活化指標的方法測量報導基因表現產物的水平或活性。當報導基因為螢光素酶基因時，可測量來自於螢光素酶與其受質之間的反應發光作為T細胞活化的指標。若如前述所測量的T細胞活化程度較高，則判斷測試抗體或抗原結合分子具有較高的T細胞活化活性。

【0203】醫藥組成物

在一態樣中，本揭露提供一種包括本揭露抗原結合分子或抗體的醫藥組成物。在某些實施例中，本揭露的醫藥組成物誘導T細胞依賴性細胞毒性，換言之，本揭露的醫藥組成物為誘導細胞毒性的治療劑。在某些實施例中，本揭露的醫藥組成物為用於治療及/或預防癌症的醫藥組成物。在某些實施例中，本揭露的醫藥組成物為治療及/或預防GPC3陽性的癌症或表現GPC3的癌症的醫藥組成物。

【0204】本揭露的醫藥組成物、本揭露的誘導細胞毒性的治療劑、細胞成長抑制劑或抗癌劑若有需要，可與不同種類的抗原結合分子或抗體配製。例如，可利用本揭露多重抗原結合分子或抗體的混合物(cocktail)增強針對表現抗原的細胞的細胞毒性作用。

【0205】將具有所欲純度的此抗原結合分子或抗體與一或多種可選的醫藥

上可接受載體(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))以凍乾製劑或水溶液的形式混合來製備如本文所述的抗原結合分子或抗體的醫藥組成物。醫藥上可接受載體在所採用的劑量與濃度一般對於接受者是無毒性的，且其包括但不限於：緩衝液如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸與甲硫胺酸；防腐劑(如氯化十八烷基二甲基苄銨(octadecyldimethylbenzyl ammonium chloride)；氯化六甲銨(hexamethonium chloride)；氯化苄二甲基烴銨(benzalkonium chloride)；氯化苯索寧(hexamethonium chloride)；苯酚；丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷酯，如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(小於約10個殘基)多肽；蛋白質，如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，如甘胺酸、麩醯胺酸、天門冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單糖、雙糖和其它醣類，包含葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，如EDTA；糖類，如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨醇；形成鹽相對離子，如鈉；金屬複合體(例如鋅蛋白質複合體)；及/或非離子界面活性劑，如聚乙二醇(PEG)。本文中的例示性醫藥上可接受載體更包括藥物間質分散劑，如可溶中性活性玻尿酸酶醣蛋白(soluble neutral-active hyaluroidase glycoproteins, sHASEGP)，例如，人類可溶PH-20玻尿酸酶醣蛋白，如rHuPH20(HYLENEX(註冊商標)，Baxter International, Inc.)。某些示例性sHASEGP及使用方法，包含rHuPH20，描述於美國專利公開號2005/0260186及2006/0104968中。在一態樣中，sHASEGP與一或多種額外的葡糖胺聚醣酶結合，葡糖胺聚醣酶如軟骨素酶。

【0206】例示性凍乾的抗體配方描述於美國專利號6,267,958中。水溶液抗體配方包含描述於美國專利號6,171,586及WO 2006/044908中的水溶液抗體配方，後者的配方包含組胺酸-醋酸鹽緩衝液。

【0207】對於治療的特定適應症所需，本文的配方亦可包含多於一種的活

性成分，較佳為具有不會對彼此造成負面影響的互補活性的活性成分。此活性成分適合以對於目的用途有效的量的組合存在。

【0208】若有需要，可將本揭露的抗原結合分子或抗體裝入微膠囊(羥甲基纖維素、明膠、聚[甲基丙烯酸甲酯]等製成的微膠囊)中，且可製成膠體藥物遞送系統(微脂體、白蛋白微球體、微乳劑、奈米粒子及奈米膠囊等)(參照如"Remington’s Pharmaceutical Science 16thedition", Oslo Ed.(1980))的成分。再者，將製劑製備成緩釋製劑的方法是習知的，且這些方法可應用於本揭露的抗原結合分子(J. Biomed. Mater. Res. (1981) 15, 267-277；Chemtech. (1982) 12, 98-105；美國專利號3773719、歐洲專利申請號EP58481及EP133988；Biopolymers (1983) 22, 547-556)。

【0209】本揭露的醫藥組成物、細胞成長抑制劑或抗癌劑可口服或腸胃外投予至患者。較佳為腸胃外投予。具體而言，此投予方法包括注射、鼻腔投予、經肺投予及經皮投予。例如，注射包括靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等。例如，可透過注射而局部或系統性投予本揭露的醫藥組成物、本揭露的誘導細胞毒性的治療劑、細胞成長抑制劑或抗癌劑。再者，適當的投予方法可根據患者的年齡與症狀而選擇。例如，投予劑量可擇自每次投予每kg體重0.0001mg至1,000mg之間的範圍。或者，例如，劑量可擇自每位患者0.001mg/body至100,000mg/body之間的範圍。然而，本揭露醫藥組成物的劑量並不限於這些劑量。

【0210】本揭露的醫藥組成物較佳包括本文所述的抗原結合分子或抗體。在一態樣中，組成物為用於誘導細胞毒性的醫藥組成物。在另一態樣中，組成物為用於治療或預防癌症的醫藥組成物。癌症較佳為GPC3陽性的癌症。本揭露的醫藥組成物可用於治療或預防癌症。因此，本揭露提供治療或預防癌症的方法，其中將本文所述的抗原結合分子或抗體投予至有需要的患者。

【0211】本揭露也提供透過將表現GPC3的細胞與本揭露結合至GPC3的抗原結合分子接觸，而損害表現GPC3的細胞或GPC3陽性的癌症或抑制細胞成長的方法。本揭露抗原結合分子所結合的細胞只要能表現GPC3即可，並沒有特別限制。

【0212】在本揭露中，例如，可透過將本揭露的抗原結合分子添加至於體外培養的表現GPC3細胞的培養基來進行「接觸」。在此情況下，欲添加的抗原結合分子可以適當的形式使用，例如溶液或利用凍乾製備而得的固體等。當本揭露的抗原結合分子以水溶液添加時，溶液可以是僅含有抗原結合分子的純水溶液，或是含有如前述界面活性劑、賦形劑、著色劑、調味劑(flavoring agent)、防腐劑、穩定劑、緩衝劑、懸浮劑、等滲劑、黏合劑、崩解劑、潤滑劑、流動性促進劑和矯味劑(corrigent)的溶液。添加的濃度並沒有特別限制，然而，培養基中的最終濃度較佳在1pg/ml至1g/ml之間的範圍，更佳為1ng/ml至1mg/ml，且更佳為1μg/ml至1mg/ml。

【0213】在本揭露的另一實施例中，也可透過體內投予至移植表現GPC3的細胞的非人類動物，或投予至具有內源性表現GPC3的癌細胞的動物來進行「接觸」。投予方法可以是口服或腸胃外的。特別偏好腸胃外投予。具體而言，腸胃外投予方法包括注射、鼻腔投予、經肺投予及經皮投予。例如，注射包括靜脈內注射、肌肉內注射、腹腔內注射、皮下注射等。例如，可透過注射而局部或系統性投予本揭露的醫藥組成物、誘導細胞毒性的治療劑、細胞成長抑制劑或抗癌劑。再者，可根據動物對象的年齡與症狀而選擇適當的投予方法。

【0214】當抗原結合分子以水溶液形式投予時，溶液可以是僅含有抗原結合分子的純水溶液，或是含有如前述界面活性劑、賦形劑、著色劑、調味劑(flavoring agent)、防腐劑、穩定劑、緩衝劑、懸浮劑、等滲劑、黏合劑、崩解劑、潤滑劑、流動性促進劑和矯味劑(corrigent)的溶液。例如，投予劑量可擇自每次

投予每kg體重0.0001mg至1,000mg之間的範圍。或者，例如劑量可擇自每位患者0.001mg/body至100,000mg/body之間的範圍。然而，本揭露抗原結合分子的劑量並不限於這些範例。

【0215】本揭露也提供用於本揭露方法的套組，其包括本揭露的抗原結合分子或利用本揭露方法製造的抗原結合分子。套組可以與額外的醫藥上可接受載體或培養基，或敘述如何使用套組的說明書等一同包裝。

【0216】在本發明的另一態樣中，提供包括用於治療、預防及/或診斷前述病症的材料的製品。製品包括容器及容器上的標籤或與容器相關的藥品仿單。例如，合適的容器包括瓶子、小瓶(vial)、注射器、IV溶液袋等。容器可由各種材料如玻璃或塑膠製成。容器裝有組成物，組成物是單獨地或與對治療、預防及/或診斷病症有效的另一組成物結合，且可具有無菌的存取口(例如，容器可以是具有可被皮下注射針刺穿的塞子的靜脈內溶液袋或小瓶)。組成物中至少一活性成分為本發明的抗體。

【0217】標籤或藥品仿單標明組成物是用於治療特定的病症。此外，製品可包含(a) 包含組成物於其中的第一容器，其中組成物包括本發明的抗體；及(b) 包含組成物於其中的第二容器，其中組成物包括另外的細胞毒性劑或其它治療劑。在本發明的此實施例中的製品可更包括標明組成物可用於治療特定症狀的藥品仿單。或者或更甚者，製品可更包括第二(或第三)容器，其包括醫藥上可接受的緩衝液，如注射用抑菌水(bacreiostatic water for injection, BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、Ringer溶液及右旋糖溶液。以商業角度與使用者角度而言，可更包括其他所需材料，包括其它緩衝液、稀釋劑、濾膜、針頭及注射器。

【0218】藥品仿單

「藥品仿單」一詞指的是習慣包含於治療產品的商業包裝中的說明，其包含關於適應症、用法、劑量、投予、結合療法、禁忌症及/或有關這類治療產品

的使用警語的資訊。

【0219】醫藥配方

「醫藥配方」或「醫藥組成物」一詞指的是處於使包含在其中的活性成分的生物活性有效的形式，且其不包含對將要投予此配方的對象具有不可接受的毒性之額外成分。

【0220】醫藥上可接受的載劑

「醫藥上可接受的載劑」指的是醫藥配方中活性成分以外的成分，對對象不具有毒性。醫藥上可接受的載劑包括但不限於緩衝液、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0221】治療

如本文所使用，「治療」(及其文法上的變化如治療(treat)或治療(treating))指的是意圖改變被治療個體自然病程的臨床介入，且可在臨床病理過程中進行或為了預防而進行。治療的預期效果包括但不限於防止疾病的發生或復發、減緩症狀、減少疾病任何直接或間接的病理結果、防止轉移、降低疾病進程的速率、改善或減輕疾病的狀態以及緩解或改善預後。在一些實施例中，本揭露的抗原結合分子或抗體用以延遲疾病的發展或減緩疾病的進程。

【0222】癌症

用詞「癌症」與「癌變(cancerous)」指的是或描述的是哺乳類中的生理狀況，一般是以不受控制的細胞成長/增殖為特徵。

【0223】在某些實施例中，癌症為表現GPC3或GPC3陽性的癌症。

【0224】腫瘤

「腫瘤」一詞指的是所有腫瘤性(neoplastic)細胞成長與增殖，無論是良性或惡性，以及所有前癌變或癌變細胞與組織。用詞「癌症」、「癌變」、「細胞增殖失調」、「增殖失調」與「腫瘤」於本文並不相互排斥。

【0225】其他製劑與治療

本文所述的多特異性抗原結合分子可與一或多種其他治療劑一起投予。例如，本文所述的多特異性抗原結合分子可與至少一種額外的治療劑共同投予。「治療劑(therapeutic agent)」一詞涵蓋治療有需要此治療的個體中的症狀或疾病而投予的任何製劑。這些額外的治療劑可包括適用於被治療的特定適應症的任何活性成分，較佳為不會彼此帶來負面影響的互補活性的活性成分。在某些實施例中，額外的治療劑為免疫調節劑、細胞抑制劑、細胞黏著抑制劑、細胞毒性劑、細胞凋亡活化劑、或增加細胞對細胞凋亡誘導劑靈敏度的製劑。在一特定實施例中，額外的治療劑為抗癌劑，例如微管破壞劑(microtubule disruptor)、抗代謝物、拓樸異構酶抑制劑、DNA插入劑(intercalator)、烷化劑、荷爾蒙療法、激酶抑制劑、受體拮抗劑、腫瘤細胞凋亡活化劑或抗血管新生劑。

【0226】這些其他製劑適合以對預期目的有效的含量存在。這些其他製劑的有效量取決多特異性抗原結合分子的使用量、病症或治療的種類及前文所討論的其他因素。多特異性抗原結合分子一般是以本文所述的相同劑量及投予途徑使用，或約本文所述劑量的1至99%，或以經驗/臨床上判斷為合適的任何劑量及任何途徑使用。

前文提及的這些組合療法涵蓋結合投予(其中相同或個別組成物中包含兩種或兩種以上的治療劑)以及個別投予，在此情況下，可在投予額外治療劑及/或佐劑之前、同步及/或之後投予本文所述的多特異性抗原結合分子。本文所述的多特異性抗原結合分子也可與放射療法一同使用。

【0227】本文引用的所有文獻均通過引用併入本文。

【0228】以下為本揭露方法與組成物的範例。應能理解，在前述提供的總體描述的情況下，可實施其他各種實施例。

[實施例]

【0229】[實施例1]篩選親代Dual-Fab H183L072的親和性成熟變體以改善對腫瘤細胞的體外細胞毒性

【0230】1.1 親和性成熟變體的序列

提供結合至CD3與CD137但沒有同時結合至CD3與CD137的免疫球蛋白可變(Fab)區的概念(Dual-Fab)揭示於WO2019111871中(透過引用併入本文)。為了增加WO2019111871中揭示的親代Dual-Fab H183L072(重鏈：SEQ ID NO: 1；輕鏈：SEQ ID NO: 57)的結合親和性，使用H183L072作為模板，於可變區導入單一或多個突變，產生1000個以上的Dual-Fab變體。抗體使用Expi293細胞(Invitrogen)表現，且利用蛋白質A純化法並接著利用凝膠過濾(有需要進行凝膠過濾時)來進行純化。帶有多個突變的22個代表的Dual-Fab變體的序列列於表4與表6-1至6-6，且在實施例1.2.2(表7-1與7-2)中，在25度C及/或37度C下使用下述的Biacore T200儀器(GE Healthcare)評估對CD3與CD137的結合親和性與動力學。

【0231】(表4)

DualAE 編號	抗體名稱	VHR名稱	VLR名稱	VHR	VHR_CDR1	VHR_CDR2	VHR_CDR3	VLR	VLR_CDR1	VLR_CDR2	VLR_CDR3
親代	H183/L072	dBBDu183H	dBBDu072L	1	15	29	43	57	62	67	72
DualAE01	H0868L0581	dBBDu183H0868	dBBDu072L0581	2	16	30	44	58	63	68	73
DualAE08	H1550L0918	dBBDu183H1550	dBBDu072L0918	3	17	31	45	59	64	69	74
DualAE06	H1571L0581	dBBDu183H1571	dBBDu072L0581	4	18	32	46	58	63	68	73
DualAE17	H1610L0581	dBBDu183H1610	dBBDu072L0581	5	19	33	47	58	63	68	73
DualAE10	H1610L0939	dBBDu183H1610	dBBDu072L0939	5	19	33	47	60	65	70	75
DualAE05	H1643L0581	dBBDu183H1643	dBBDu072L0581	6	20	34	48	58	63	68	73
DualAE19	H1647L0581	dBBDu183H1647	dBBDu072L0581	8	22	36	50	58	63	68	73
DualAE20	H1649L0581	dBBDu183H1649	dBBDu072L0581	9	23	37	51	58	63	68	73
DualAE21	H1649L0943	dBBDu183H1649	dBBDu072L0943	9	23	37	51	61	66	71	76
DualAE22	H1651L0581	dBBDu183H1651	dBBDu072L0581	10	24	38	52	58	63	68	73
DualAE23	H1652L0943	dBBDu183H1652	dBBDu072L0943	11	25	39	53	61	66	71	76
DualAE09	H1673L0943	dBBDu183H1673	dBBDu072L0943	12	26	40	54	61	66	71	76
DualAE18	H1673L0581	dBBDu183H1673	dBBDu072L0581	12	26	40	54	58	63	68	73
DualAE14	H2591L0581	dBBDu183H2591	dBBDu072L0581	13	27	41	55	58	63	68	73
DualAE15	H2594L0581	dBBDu183H2594	dBBDu072L0581	14	28	42	56	58	63	68	73
DualAE16	H1644L0939	dBBDu183H1644	dBBDu072L0939	81	82	83	84	60	65	70	75
DualAE02	H0888L0581	dBBDu183H0888	dBBDu072L0581	101	114	127	140	58	63	68	73
DualAE24	H1595L0581	dBBDu183H1595	dBBDu072L0581	104	117	130	143	58	63	68	73
DualAE07	H1573L0581	dBBDu183H1573	dBBDu072L0581	106	119	132	145	58	63	68	73
DualAE25	H1579L0581	dBBDu183H1579	dBBDu072L0581	107	120	133	146	58	63	68	73
DualAE26	H1572L0581	dBBDu183H1572	dBBDu072L0581	110	123	136	149	58	63	68	73
DualAE27	H0883	dBBDu183H0883	dBBDu072L	113	126	139	152	57	62	67	72
	CD3ε	CD3εVH	CD3εVL	77				78			
	CD137	CD137VH	CD137VL	79				80			

【0232】(表6-1)

序列列表	序列編號	胺基酸序列
dBBDu183H	1	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKGNAYAAYYA PSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTVLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H0868	2	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYAAYYA PSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1550	3	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYAAYYA PSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYIHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1571	4	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYATYYAP SVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1610	5	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFVFSNVWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKWNAYAAYYA PSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYIHYASASTLLPAEGIDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1643	6	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAAYYAP SVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1647	8	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNTWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNDYAAYYAP SVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1649	9	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFVFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYADYYAP SVKERFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1651	10	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFVFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYADYYAP SVEGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1652	11	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFVFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYADYYAP SVEGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1673	12	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFVFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKWNAYADYYA PSVKERFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYIHYASASTLLPAEGIDAWGQGTTVTVSS

【0233】(表6-2)

序列列表	序列編號	胺基酸序列
dBBDu183H2591	13	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H2594	14	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H_VHR_CDR1	15	NAWMH
dBBDu183H0868_VHR_CDR1	16	NVWMH
dBBDu183H1550_VHR_CDR1	17	NVWMH
dBBDu183H1571_VHR_CDR1	18	NVWFH
dBBDu183H1610_VHR_CDR1	19	NVWMH
dBBDu183H1643_VHR_CDR1	20	NVWFH
dBBDu183H1647_VHR_CDR1	22	NTWFH
dBBDu183H1649_VHR_CDR1	23	NVWFH
dBBDu183H1651_VHR_CDR1	24	NVWFH
dBBDu183H1652_VHR_CDR1	25	NVWFH
dBBDu183H1673_VHR_CDR1	26	NVWFH
dBBDu183H2591_VHR_CDR1	27	NVWFH
dBBDu183H2594_VHR_CDR1	28	NVWFH
dBBDu183H_VHR_CDR2	29	QIKDKGNAYAAYYAPSVKG
dBBDu183H0868_VHR_CDR2	30	QIKDKYNAYAAYYAPSVKG
dBBDu183H1550_VHR_CDR2	31	QIKDKYNAYAAYYAPSVKG
dBBDu183H1571_VHR_CDR2	32	QIKDKYNAYATYYAPSVKG

【0234】(表6-3)

序列列表	序列編號	胺基酸序列
dBBDu183H1610_VHR_CDR2	33	QIKDKWNAYAAYYAPSVKG
dBBDu183H1643_VHR_CDR2	34	QIKDYYNAYAAYYAPSVKG
dBBDu183H1647_VHR_CDR2	36	QIKDYYNDYAAYYAPSVKG
dBBDu183H1649_VHR_CDR2	37	QIKDKYNAYADYYAPSVKE
dBBDu183H1651_VHR_CDR2	38	QIKDKYNAYADYYAPSVEG
dBBDu183H1652_VHR_CDR2	39	QIKDYYNAYADYYAPSVEG
dBBDu183H1673_VHR_CDR2	40	QIKDKWNAYADYYAPSVKE
dBBDu183H2591_VHR_CDR2	41	QIKDYYNAYAGYYHPSVKG
dBBDu183H2594_VHR_CDR2	42	QIKDYYNAYAGYYHPSVKG
dBBDu183H_VHR_CDR3	43	VHYASASTVLPAFGVDA
dBBDu183H0868_VHR_CDR3	44	VHYASASTLLPAFGVDA
dBBDu183H1550_VHR_CDR3	45	IHYASASTLLPAFGVDA
dBBDu183H1571_VHR_CDR3	46	VHYASASTLLPAFGVDA
dBBDu183H1610_VHR_CDR3	47	IHYASASTLLPAEGIDA
dBBDu183H1643_VHR_CDR3	48	VHYASASTLLPAEGVDA
dBBDu183H1647_VHR_CDR3	50	VHYASASTLLPAEGVDA
dBBDu183H1649_VHR_CDR3	51	VHYASASTLLPAEGVDA
dBBDu183H1651_VHR_CDR3	52	VHYASASTLLPAEGVDA
dBBDu183H1652_VHR_CDR3	53	VHYASASTLLPAEGVDA
dBBDu183H1673_VHR_CDR3	54	IHYASASTLLPAEGIDA
dBBDu183H2591_VHR_CDR3	55	VHYAAASTLLPAEGVDA
dBBDu183H2594_VHR_CDR3	56	VHYAAASQLLPAEGVDA

【0235】(表6-4)

序列列表	序列編號	胺基酸序列
dBBDu072L	57	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQASQELVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSVPFTFGQGTKLEIK
dBBDu072L0581	58	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIK
dBBDu072L0918	59	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNNVVYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIK
dBBDu072L0939	60	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNVFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTHHPFTFGQGTKLEIK
dBBDu072L0943	61	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSEEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNLFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTHHPFTFGQGTKLEIK
dBBDu072L_VLR_CDR1	62	QASQELVHMNRNTYLH
dBBDu072L0581_VLR_CDR1	63	QPSQEVVHMNRNTYLH
dBBDu072L0918_VLR_CDR1	64	QPSQEVVHMNNVVYLH
dBBDu072L0939_VLR_CDR1	65	QPSQEVVHMNRNTYLH
dBBDu072L0943_VLR_CDR1	66	QPSEEVVHMNRNTYLH
dBBDu072L_VLR_CDR2	67	KVSNRFP
dBBDu072L0581_VLR_CDR2	68	KVSNRFP
dBBDu072L0918_VLR_CDR2	69	KVSNRFP
dBBDu072L0939_VLR_CDR2	70	KVSNVFP
dBBDu072L0943_VLR_CDR2	71	KVSNLFP
dBBDu072L_VLR_CDR3	72	AQGTSVPFT
dBBDu072L0581_VLR_CDR3	73	AQGTSHPFT
dBBDu072L0918_VLR_CDR3	74	AQGTSHPFT
dBBDu072L0939_VLR_CDR3	75	AQGTHHPFT
dBBDu072L0943_VLR_CDR3	76	AQGTHHPFT

【0236】(表6-5)

序列列表	序列編號	胺基酸序列
CD3εVH	77	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKSQNYATYVAESVKGRFTISRADSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCRYVHYAAGYGVDIWGQGTTVTVSS
CD3εVL	78	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIK
CD137VH	79	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGRGTLVTVSS
CD137VL	80	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPALTFGGGTKVEIK
dBBDu183H1644	81	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFVFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1644_VHR_CDR1	82	NVWFH
dBBDu183H1644_VHR_CDR2	83	QIKDYYNAYAAYYAPSVKG
dBBDu183H1644_VHR_CDR3	84	VHYASASTLLPAEGVDA
dBBDu183H0888	101	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKWNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYIHYASASTLLPAFGIDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1595	104	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNTWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYIHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1573	106	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1579	107	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSHVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H1572	110	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
dBBDu183H0883	113	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKGNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCRYVHYASASTLLPAFGVDAWGQGTTVTVSS

|(0237)| (續6-6)

序列列表	序列編號	胺基酸序列
dBEDu183H0888_VHR_CDR1	114	NVWMH
dBEDu183H1595_VHR_CDR1	117	NTWMH
dBEDu183H1573_VHR_CDR1	119	NVWFH
dBEDu183H1579_VHR_CDR1	120	HVWFH
dBEDu183H1572_VHR_CDR1	123	NVWFH
dBEDu183H0883_VHR_CDR1	126	NAWMH
dBEDu183H0888_VHR_CDR2	127	QIKDKWNAYAAYYAPSVKG
dBEDu183H1595_VHR_CDR2	130	QIKDKYNAYAAYYAPSVKG
dBEDu183H1573_VHR_CDR2	132	QIKDYYNAYAAYYAPSVKG
dBEDu183H1579_VHR_CDR2	133	QIKDKYNAYAAYYAPSVKG
dBEDu183H1572_VHR_CDR2	136	QIKDKYNAYAAYYAPSVKG
dBEDu183H0883_VHR_CDR2	139	QIKDKGNAYAAYYAPSVKG
dBEDu183H0888_VHR_CDR3	140	HYASASTLPAFGIDA
dBEDu183H1595_VHR_CDR3	143	HYASASTLPAFGVDA
dBEDu183H1573_VHR_CDR3	145	VHYASASTLPAFGVDA
dBEDu183H1579_VHR_CDR3	146	VHYASASTLPAFGVDA
dBEDu183H1572_VHR_CDR3	149	VHYASASTLPAFGVDA
dBEDu183H0883_VHR_CDR3	152	VHYASASTLPAFGVDA

【0238】 1.2. 親和性成熟變體的結合動力學資訊

【0239】 1.2.1 人類CD3與CD137的表現與純化

人類CD3複合體的γ與ε次單元(人類CD3eg連接子)是透過29個單體單元的連接子連接，且Flag標籤融合至γ次單元的C端(SEQ ID NO: 102，表3與5)。使用FreeStyle293F細胞株(Thermo Fisher)暫時表現此構築體。使用裝載有Q HP樹脂(GE healthcare)的管柱濃縮表現人類CD3eg連接子的條件培養基(conditioned media)，接著將其應用於FLAG標籤親和性層析。收集包含人類CD3eg連接子的分液且接著以經1x D-PBS平衡的Superdex 200凝膠過濾管柱(GE healthcare)進行處理。然後匯集含有人類CD3eg連接子的分液。使用FreeStyle293F細胞株(Thermo Fisher)暫時表現C端有六組胺酸(hexahistidine)(His標籤)及生物素受體肽(biotin acceptor peptide, BAP)的人類CD137胞外域(extracellular domain, ECD)(SEQ ID NO: 103，表3與5)。將表現人類CD137胞外域的條件培養基應用於HisTrap HP管柱(GE healthcare)，並以含有咪唑(Nacalai)的緩衝液沖提。收集含有人類CD137胞外域的分液接著以經1x D-PBS平衡的Superdex 200凝膠過濾管柱(GE healthcare)進行處理。然後匯集含有人類CD137胞外域的分液並儲存於-80度C。

【0240】 (表3)

抗原名稱	序列列表
人類CD3eg連接子	102
人類CD137胞外域	103

【0241】 (表5)

抗原名稱	序列列表	胺基酸序列
人類CD3eg連接子	102	QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVGSADDAKKDAAKKDDAKKDDAKKDGSQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQVYYRMDYKDDDDK
人類CD137胞外域	103	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQHHHHHHGGGGSGLNDIFEAQKIEWHE

【0242】 1.2.2 對人類CD3與CD137的親和性測量

在25度C下，使用Biacore 8K儀器(GE Healthcare)評估Dual-Fab抗體(Dual-Ig)對人類CD3的結合親和性。使用胺偶合套組(GE Healthcare)將抗人類Fc(GE Healthcare)固定於CM4感測晶片的所有流通槽(flow cell)。將抗體捕獲於抗Fc感測表面上，並接著將重組人類CD3或CD137注射於流通槽上。以pH7.4之含有20 mM ACES、150 mM NaCl、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3的ACES來製備所有抗體與分析物。每循環以3M $MgCl_2$再生感測表面。使用版本為2.0的Biacore Insight評估軟體(GE Healthcare)處理數據並將其擬合至1:1結合模型以判斷結合親和性。以相同條件進行CD137結合親和性測定，但測定溫度設定為37度C。Dual-Fab抗體對重組人類CD3與CD137的結合親和性顯示於表7-1與7-2中。如表7-1與7-2所示，與H183/L072相比，Dual Fab變體對CD3與CD137展現出不同的結合動力學。

【0243】 (表7-1)

抗體名稱	CD3 (25°C)			CD137 (37°C)		
	ka (M-1s-1)	kd (s-1)	KD (M)	ka (M-1s-1)	kd (s-1)	KD (M)
H183L072	3.54E+04	1.20E-02	3.40E-07	3.47E+03	1.96E-02	5.66E-06
H0681L0581	1.23E+05	1.94E-02	1.57E-07	1.22E+04	1.35E-03	1.11E-07
H1550L0918	7.20E+04	3.16E-03	4.38E-08	1.09E+04	5.79E-03	5.30E-07
H1570L0581	1.42E+05	1.56E-02	1.10E-07	1.21E+04	1.05E-03	8.68E-08
H1610L0581	6.80E+04	1.42E-03	2.09E-08	1.07E+04	1.10E-03	1.03E-07
H1610L0939	5.00E+04	2.53E-03	5.07E-08	1.30E+04	8.01E-04	6.18E-08
H1643L0581	9.46E+04	2.51E-02	2.65E-07	1.23E+04	6.06E-04	4.94E-08
H1641L0939	5.58E+04	8.08E-02	1.45E-06	1.21E+04	4.44E-04	3.68E-08
H1647L0581	4.43E+04	1.01E-01	2.28E-06	9.98E+03	6.47E-04	6.48E-08
H1649L0581	7.50E+04	3.36E-02	4.49E-07	1.29E+04	5.53E-04	4.28E-08
H1649L0943	6.10E+04	4.81E-02	7.89E-07	1.43E+04	4.58E-04	3.28E-08
H1651L0581	7.18E+04	3.71E-02	5.17E-07	1.40E+04	6.03E-04	4.32E-08
H1652L0943	6.23E+04	6.36E-02	1.02E-06	1.29E+04	4.70E-04	3.64E-08
H1673L0581	7.96E+04	1.06E-03	1.33E-08	1.19E+04	9.60E-04	8.04E-08
H1673L0943	5.50E+04	1.16E-03	2.10E-08	1.27E+04	7.27E-04	5.91E-08
H2591L0581	1.02E+05	5.35E-02	5.25E-07	2.04E+04	7.42E-04	3.63E-08
H2594L0581	9.83E+04	5.84E-02	5.93E-07	2.09E+04	1.63E-03	7.81E-08

【0244】（表7-2）

抗體名稱	CD3 (25°C)			CD137 (37°C)		
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
H0888L0581	9.50E+04	1.92E-03	2.02E-08	1.50E+04	3.11E-03	2.06E-07
H1595L0581	1.18E+05	6.58E-03	5.70E-08	1.38E+04	2.69E-03	1.95E-07
H1573L0581	1.21E+05	1.88E-02	1.56E-07	1.46E+04	1.03E-03	7.05E-08
H1579L0581	1.24E+05	3.40E-02	2.73E-07	1.48E+04	4.06E-03	2.75E-07
H1572L0581	9.77E+04	2.80E-02	2.86E-07	1.39E+04	7.22E-04	5.21E-08
H0883	9.07E+04	9.99E-03	1.10E-07	n.d.		

【0245】1.2.3 Dual-Fab AE05(H1643L0581)與AE15(H2594L0581)對CD3與CD137的非同時結合

進行Biacore串聯(in-tandem)阻斷測定以獲取Dual-Ig抗體對CD3與CD137兩者的非同時結合特徵。在25度C下，於pH7.4之合有20 mM ACES、150 mM NaCl、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3的ACES緩衝液中，且於Biacore T200儀器(GE Healthcare)進行此測定。使用胺偶合套組(GE Healthcare)將抗人類Fc(GE Healthcare)固定於CM4感測晶片的所有流通槽(flow cell)。將抗體捕獲於抗Fc感測表面上，然後將8μM CD3注射於流通槽上，並接著在存在8μM CD3的情況下注射相同的8μM CD137。第二次注射增加的結合反應表示與不同互補位(paratope)的結合，因此發生同時結合的交互作用；而第二次注射沒有增強或減少的結合反應表示與相同或重疊或鄰近的互補位結合，因此發生非同時結合的交互作用。

【0246】此測定結果顯示於第1圖。xGPC3/DualAE05-xSG1350k1349hV11與xGPC3DualAE15-xSG1350kSG1349hV11兩者展現出第二次注射減少的結合反應，這表示非同時結合至CD3與CD137。

解離階段中與單獨結合CD3相比，較小的解離速率顯示這兩種單株抗體都觀察到從CD3到CD137的結合轉換。xGPC3/DualAE05-xSG1350k1349hV11與xGPC3DualAE15-xSG1350kSG1349hV11兩者都展現出CD137結合的低解離速率及CD3結合的高解離速率。與重疊的抗原決定位結合的抗原上知可彼此取代(Abdiche YN, Young AY, Ni I, Stone D, Miles A, Morishige W, et al., 2017,

Antibodies Targeting Closely Adjacent or Minimally Overlapping Epitopes Can Displace One Another. PLoS ONE 12(1): e0169535.)。

【0247】 1.3.三特異性抗體的製造與序列

利用FAST-Ig (WO2013065708)或CrossMab技術 (WO2017055539)(第2圖)製造三特異性抗體，其具有靶定GPC3的一臂以及對CD3與CD137的具有雙重靶定功能的另一臂(抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體)。Fc區為FcγR靜默(silent)且去醣基化的。三特異性抗體中各個Fv區的目標抗原顯示於表8。每個結合域的命名規則繪示於第2圖，且相應的SEQ ID NO顯示於表9與10中，序列則顯示於表11-1至11-12。所有抗體皆根據參考實施例1，利用在Expi293細胞(Invitrogen)中的暫時表現以三特異性的形式而表現並進行純化。

【0248】(表8)

抗體名稱	Fv A	Fv B	格式	Fc (柱)	Fc (孔)
GPC3/DualAE05-SG1363k1364hV11	GPC3	DualAE05	FAST-Ig	SG1363kV11Fc	SG1364hV11Fc
GPC3KE/DualAE05EK-SG1363k1365hV11	GPC3KE	DualAE05EK	FAST-Ig	SG1363kV11Fc	SG1365hV11Fc
GPC3/DualAE05-SG1364k1363hV11	GPC3	DualAE05	FAST-Ig	SG1364kV11Fc	SG1363hV11Fc
GPC3EK/DualAE05KE-SG1365k1363hV11	GPC3EK	DualAE05KE	FAST-Ig	SG1365kV11Fc	SG1363hV11Fc
GPC3/DualAE15-SG1363k1364hV11	GPC3	DualAE15	FAST-Ig	SG1363kV11Fc	SG1364hV11Fc
GPC3KE/DualAE15EK-SG1363k1365hV11	GPC3KE	DualAE15EK	FAST-Ig	SG1363kV11Fc	SG1365hV11Fc
GPC3/DualAE15-SG1364k1363hV11	GPC3	DualAE15	FAST-Ig	SG1364kV11Fc	SG1363hV11Fc
GPC3EK/DualAE15KE-SG1365k1363hV11	GPC3EK	DualAE15KE	FAST-Ig	SG1365kV11Fc	SG1363hV11Fc
xGPC3/DualAE05-xSG1350k1349hV11	xGPC3	DualAE05	CrossMab	xSG1350kV11Fc	SG1349hV11Fc
xGPC3/DualAE15-xSG1350k1349hV11	xGPC3	DualAE15	CrossMab	xSG1350kV11Fc	SG1349hV11Fc
xGPC3/183H072L-xSG1350k1349hV11	xGPC3	183H072L	CrossMab	xSG1350kV11Fc	SG1349hV11Fc
xGPC3/DualAE15-xSG1356k1355hV11	xGPC3	DualAE15	CrossMab	xSG1356kV11Fc	SG1355hV11Fc
xGPC3/DualAE05-xSG1356k1355hV11	xGPC3	DualAE05	CrossMab	xSG1356kV11Fc	SG1355hV11Fc
xGPC3/DualAE05-xSG1386k1385hV11	xGPC3	DualAE05	CrossMab	xSG1386kV11Fc	SG1385hV11Fc
xGPC3/DualAE15-xSG1386k1385hV11	xGPC3	DualAE15	CrossMab	xSG1386kV11Fc	SG1385hV11Fc
xCtrl/DualAE05-xSG1350k1349hV11	xIC17	DualAE05	CrossMab	xSG1350kV11Fc	SG1349hV11Fc

【0249】(表9)

Fc名稱	序列編號	FcγR靜默	去醣基化	杵入臼突變	動作5
SG1363kV11Fc	312	L234A, L235A	N297A	S354C,T366W	
SG1364kV11Fc	313	L234A, L235A	N297A	S354C,T366W	
SG1365kV11Fc	314	L234A, L235A	N297A	S354C,T366W	
xSG1350kV11Fc	315	L234A, L235A	N297A	S354C,T366W	
xSG1356kV11Fc	316	L234A, L235A	N297A	S354C,T366W	M428L,N434A,Q438R,S440E
xSG1386kV11Fc	317	L234A, L235A	N297A	S354C,T366W	
SG1364hV11Fc	318	L234A, L235A	N297A	Y349C,T366S,L368A,Y407V	
SG1365hV11Fc	319	L234A, L235A	N297A	Y349C,T366S,L368A,Y407V	
SG1363hV11Fc	320	L234A, L235A	N297A	Y349C,T366S,L368A,Y407V	
SG1349hV11Fc	321	L234A, L235A	N297A	Y349C,T366S,L368A,Y407V	
SG1355hV11Fc	322	L234A, L235A	N297A	Y349C,T366S,L368A,Y407V	M428L,N434A,Q438R,S440E
SG1385hV11Fc	323	L234A, L235A	N297A	Y349C,T366S,L368A,Y407V	

|(0250)| (續10)

VR名稱	VHR名稱	VLR名稱	VHR	VHR_CDR1	VHR_CDR2	VHR_CDR3	VLR	VLR_CDR1	VLR_CDR2	VLR_CDR3
GPC3	GCH065H	TR01L0011	226	235	244	253	262	268	274	280
GPC3KE	GCH065H.Q39K	TR01L0011.Q38E	227	236	245	254	263	269	275	281
GPC3EK	GCH065H.Q39E	TR01L0011.Q38K	228	237	246	255	264	270	276	282
xGPC3	GCH065H	TR01L0011	226	235	244	253	262	268	274	280
DualAB05	dBBDu183H1643	dBBDu072L0581	229	238	247	256	265	271	277	283
DualAB05EK	dBBDu183H1643.Q39E	dBBDu072L0581.Q38K	230	239	248	257	266	272	278	284
DualAB05KE	dBBDu183H1643.Q39K	dBBDu072L0581.Q38E	231	240	249	258	267	273	279	285
DualAB15	dBBDu183H2594	dBBDu072L0581	232	241	250	259	265	271	277	283
DualAB15EK	dBBDu183H2594.Q39E	dBBDu072L0581.Q38K	233	242	251	260	266	272	278	284
DualAB15KE	dBBDu183H2594.Q39K	dBBDu072L0581.Q38E	234	243	252	261	267	273	279	285
183H072L	dBBDu183H.GS	dBBDu072L.GS	296	297	298	299	300	301	302	303
xCtrl	IC17BdK	IC17L	308	309	310	311	304	305	306	307

【0251】(表11-1)

序列編號	胺基酸序列
201	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQPPGEGLEWIGAIDGPTPDTA YSEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLKSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSP
202	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRKPPGEGLEWIGAIDGPTPDTAY SEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLKSSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSP
203	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQPPGEGLEWIGAIDGPTPDTA YSEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLESSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSP
204	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIREPPGEGLEWIGAIDGPTPDTAY SEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLESSGLYSLSSVVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSP
205	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSP

【0252】(表11-2)

序列編號	胺基酸序列
206	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAEVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
207	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQEKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAEVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDSTYSLSSTLELSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
208	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTAKVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
209	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQKKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDKQLKSGTAKVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
210	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQPPGEGLEWIGAIDGPTPDTAYSEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSSASVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
211	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLESSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
212	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVREAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLESSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0253】(表11-3)

序列編號	胺基酸序列
213	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLKSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
214	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRKAPGKGLEWVAQIKDYYNAYA AYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQ GTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLKSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRE EMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
215	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLESSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
216	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVREAPGKGLEWVAQIKDYYNAYA GYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLESSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0254】(表11-4)

序列編號	胺基酸序列
217	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLKSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
218	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRKAPGKGLEWVAQIKDYYNAYA GYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLKSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
219	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
220	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0255】(表11-5)

序列編號	胺基酸序列
221	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTAKVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
222	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQKKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDKQLKSGTAKVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSKESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
223	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTAEVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
224	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQEKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTAEVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSEESVTEQDSKDSTYSLSST LELSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
225	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
226	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQPPGEGLEWIGAIDGPTPDTAY SEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSS
227	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRKPPGEGLEWIGAIDGPTPDTAY SEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSS
228	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIREPPGEGLEWIGAIDGPTPDTAY SEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRFYSYTYWGQGTLVTVSS
229	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWG QGTTVTVSS
230	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVREAPGKGLEWVAQIKDYYNAYA AYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQ GTTVTVSS

【0256】(表11-6)

序列編號	胺基酸序列
231	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRKAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
232	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
233	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVREAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
234	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRKAPGKGLEWVAQIKDYYNAYAGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWGQGTTVTVSS
235	DYEMH
236	DYEMH
237	DYEMH
238	NVWFH
239	NVWFH
240	NVWFH
241	NVWFH
242	NVWFH
243	NVWFH
244	AIDGPTPDTAYSEKFKG
245	AIDGPTPDTAYSEKFKG
246	AIDGPTPDTAYSEKFKG
247	QIKDYYNAYAAYYAPSVKG
248	QIKDYYNAYAAYYAPSVKG

【0257】(表11-7)

序列編號	胺基酸序列
249	QIKDYYNAYAAYYAPSVKG
250	QIKDYYNAYAGYYHPSVKG
251	QIKDYYNAYAGYYHPSVKG
252	QIKDYYNAYAGYYHPSVKG
253	FYSYTY
254	FYSYTY
255	FYSYTY
256	VHYASASTLLPAEGVDA
257	VHYASASTLLPAEGVDA
258	VHYASASTLLPAEGVDA
259	VHYAAASQLLPAEGVDA
260	VHYAAASQLLPAEGVDA
261	VHYAAASQLLPAEGVDA
262	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIK
263	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQEKPGQAPRLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIK
264	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQKKPGQAPRLLIYKVSNRFSG VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIK
265	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIK

【0258】(表11-8)

序列編號	胺基酸序列
266	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQKKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIK
267	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQPSQEVVHMNRNTYLHWYQEKPGQAPRLLIYKVSNRF PGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSHPFTFGQGTKLEIK
268	RSSQPLVHSNRNTYLH
269	RSSQPLVHSNRNTYLH
270	RSSQPLVHSNRNTYLH
271	QPSQEVVHMNRNTYLH
272	QPSQEVVHMNRNTYLH
273	QPSQEVVHMNRNTYLH
274	KVSNRFS
275	KVSNRFS
276	KVSNRFS
277	KVSNRFP
278	KVSNRFP
279	KVSNRFP
280	GQGTQVPYT
281	GQGTQVPYT
282	GQGTQVPYT

【0259】(表11-9)

序列編號	胺基酸序列
283	AQGTSHPFT
284	AQGTSHPFT
285	AQGTSHPFT
286	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALH AHYTRKELSLSP
287	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIKSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSP
288	DIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFS GSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSTPYTFGGGTKLEVKSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSP
289	QVQLQQSGPQLVRPGASVKISCKASGYSFTSYWMHWVNQRPGQGLEWIGMIDPSYSET RLNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCALYGNYFDYWGQGTTLTVSSASV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
290	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKGNAY AAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTVLPAFGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0260】(表11-10)

序列編號	胺基酸序列
291	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVLHEALHAHYTRKELSLSP
292	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQEGNVFSCSVLHEALHAHYTRKELSLSP
293	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
294	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFKFSNVWFHWVRQAPGKGLEWVAQIKDYYNAY AGYYHPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYAAASQLLPAEGVDAWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVEDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDERVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSR EEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0261】(表11-11)

序列編號	胺基酸序列
295	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQASQELVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSVPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDRKLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
296	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDKGNAYAAYYAPSVKGRFTISRDDSKNSIYLQMNSLKTEDTAVYYCHYVHYASASTVLPAFGVDAWGQGTTVTVSS
297	NAWMH
298	QIKDKGNAYAAYYAPSVKG
299	VHYASASTVLPAFGVDA
300	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCQASQELVHMNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFPGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCAQGTSVPFTFGQGTKLEIK
301	QASQELVHMNRNTYLH
302	KVSNRFP
303	AQGTSVPFT
304	DIQMTQSSSSFSVSLGDRVTITCKASEDIYNRLAWYQQKPGNAPRLLISGATSLETGVPSRFSGSGSGKDYTLSITSLQTEDVATYYCQQYWSTPYTFGGGTKLEVK
305	KASEDIYNRLA
306	GATSLET
307	QQYWSTPYT
308	QVQLQQSGPQLVRPGASVKISCKASGYSFTSYWMHWVNQRPGQGLEWIGMIDPSYSETRLNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCALYGNYFDYWGQGTTLTVSS
309	SYWMH
310	MIDPSYSETRLNQKFKD
311	YGNYFDY
312	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
313	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
314	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0262】(表11-12)

序列編號	胺基酸序列
315	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
316	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHAHYTRKELSLSP
317	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPCREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
318	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
319	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
320	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
321	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
322	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVLHEALHAHYTRKELSLSP
323	CPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVCTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF FLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

【0263】 [實施例2]衍生自腫瘤細胞上的親代Dual-Fab H183L072的親和性成熟Dual-Fab變體的體外細胞毒性評估

【0264】 2.1. 親和性成熟Dual-Fab變體的體外CD3促效活性評估

為了評估親和性成熟引起的CD3促效活性，進行 NFAT-luc2 Jurkat螢光素酶測定。簡而言之，使用4 x 10^3 細胞/孔於細胞膜上表現人類GPC3的SK-pca60細胞(參考實施例2)作為目標細胞，且在0.02、0.2及2nM的三特異性抗體存在的情況下，與2.0 x 10^4 細胞/孔的NFAT-luc2 Jurkat細胞(E:T 比例為5)共培養24小時。變體分為第3圖上方圖的盤1以及第3圖下方圖的盤2。24小時後，根據製造商指示以Bio-Glo螢光素酶測定系統(Promega, G7940)來偵測螢光素酶的活性。使用GloMax(註冊商標) Explorer System (Promega #GM3500)偵測發光(單位)，且利用Graphpad Prism 7對捕獲的數值進行作圖。包含2nM濃度的親代三特異性抗體GPC3/H183L072及雙特異性抗體GPC3/CD3ε。第3圖顯示，大多數變體具有相似的CD3促效活性。特別是在2nM，變體具有與親代H183L072相似的活性。第3圖上方圖顯示盤1中的所有變體具有相似的CD3促效活性。第3圖下方圖顯示在盤2的變體之中，H1610L939具有稍弱的CD3測效活性，而H2591L581具有最強的CD3促效活性。

【0265】 2.2. 親和性成熟Dual-Fab變體的體外CD137促效活性評估

為了評估哪一種抗體變體可能造成親和性成熟所引發的強烈CD137促效活性，使用GloResponse™ NF-κB-Luc2/CD137 Jurkat細胞株(Promega #CS196004)作為效應細胞，而與前文相似，使用SK-pca60細胞株(參考實施例2)作為目標細胞。將4.0x10^3細胞/孔的SK-pca60細胞(目標細胞)及2.0x10^4細胞/孔的NF-κB-Luc2/CD137 Jurkat(效應細胞)以E:T為5的比例，添加至白底96孔測定盤(Costar, 3917)的每個孔洞中。將抗體以0.5nM、2.5nM 及5nM的濃度添加至各個孔洞，並於37度C與5%CO_2下培養5小時。根據製造商指示以Bio-Glo螢光素酶測定系統(Promega, G7940)偵測表現的螢光素酶。使用GloMax(註冊商標)Explorer System (Promega #GM3500)偵測發光(單位)，且利用Graphpad Prism 7對捕獲的數值進行作圖。

【0266】如第4圖所示，抗體變體分成盤1與盤2。與作為負控制組的GPC3/CD3ε相比，兩盤中的所有變體皆具有可偵測到的CD137促效活性。親和性成熟前的親代抗體GPC3/H183L072在兩盤中也作為控制組。如第4圖所示，在CD137結合的親和性成熟之後，所有變體展現出比親代抗體GPC3/H183L072更強的CD137促效活性。因此，盤1中的GPC3/H1643L581與GPC3/H868L581以及盤2中的GPC3/H2594L581及GPC3/H2591L581是產生較強CD137促效活性的優良變體。而如盤1中的GPC3/H1550L918及盤2中的GPC3/H1610L581與GPC3/H1610L939展現出較弱的CD137促效活性。綜合而言，第3圖與第4圖顯示GPC3/H1643L581、GPC3/H2594L581、GPC3/H868L581與GPC3/H2591L581在Jurat細胞中似乎具有強烈活性，而GPC3/H1610L939在變體之中具有較弱的活性。

【0267】如第5圖所示，抗體變體分成盤1與盤2，其中GPC3/H0868L581與GPC3/H1643L0581變體作為盤間控制組。與GPC3/CD3ε相比，兩盤中的所有變體皆具有可偵測到的CD137促效活性。因此，GPC3/H1643L581、GPC3/H1571L581與GPC3/H1573L581是在盤1中產生較強CD137促效活性的優良變體，盤2中的GPC3/H1572L581、GPC3/H0868L581與GPC3/H1595L0581產生較強的CD137促效活性，而如GPC3/H888L581與GPC3/H1673L581的變體展現出較弱的CD137活性。

【0268】2.3. 親和性成熟變體的體外細胞毒性評估

為了將對CD3及/或CD137活化的觀察延伸至體外細胞毒性，使用人類周邊血液單核細胞對稍早所述的親和性成熟變體進行SK-pca60細胞的T細胞依賴性細胞毒性(TDCC)評估。

【0269】2.3.1.冷凍人類PBMC的製備

將商業購得含有PBMC的冷凍管(STEMCELL Technologies.)置於37度C水浴

以解凍細胞。然後將細胞分配於含有9mL培養基(用於培養目標細胞的培養基)的15mL falcon管中。接著於室溫下以1,200rpm將細胞懸浮物離心5分鐘。溫和地吸出上清夜且添加剛加溫的培養基以重新懸浮，並使用作為人類PBMC溶液。

【0270】 2.3.2. 以親和性成熟抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體誘導的TDCC活性測量

於PBMC存在的情況下，使用xCELLigence即時細胞分析儀(Roche Diagnostics)觀察腫瘤細胞成長抑制率以評估細胞毒性活性。第6圖顯示抗GPC3親和性成熟Dual-Fab三特異性抗體的TDCC活性。使用SK-pca60細胞株作為目標細胞。目標細胞從盤脫附，將細胞調整至$3.5x10^3$細胞/孔並以100 μL/孔的等分將細胞接種於E-plate 96 (Roche Diagnostics)中，且使用xCELLigence即時細胞分析儀開始進行細胞成長的測量。24小時後，移除盤且將50μL以各濃度(從5nM為起始進行三倍序列稀釋，即0.19、0.56、1.67及5nM)製備的個別抗體添加至盤中。於室溫反應15分鐘後，以效應細胞比目標細胞(E:T)為0.5的比例添加50μL實施例2.3.1中製備的新鮮人類PBMC溶液(亦即，$1.75x10^3$細胞/孔)，且使用xCELLigence即時細胞分析儀繼續細胞成長的測量。在37度C及5%二氧化碳氣體的條件下進行反應。由於CD137訊號增強T細胞的存活且防止活化所引發的細胞死亡，TDCC測定是以低E:T比進行。可能會需要延長時間以觀察CD137活化所貢獻的較多細胞毒性。因此，添加PBMC之後約120小時，使用以下算式判斷細胞成長抑制(cell growth inhibition, CGI)率(%)。由xCELLigence即時細胞分析儀所獲得且用於計算的細胞指標值為標準化數值，其中在添加抗體前的時間點的細胞指標值定義為1。

細胞生長抑制率 (%) = (A-B) x 100/ (A-1)

【0271】 A表示無添加抗體的孔(僅含有目標細胞及人類PBMC)中細胞指標值的平均值，且B表示目標孔的細胞指標值的平均值。以三重複(triplicate)的方

式進行檢視。與上述實施例相同，將親和性成熟變體分為2盤並以第6圖中用於參考的GPC3/H1643L581作為盤內控制組。雖然多數變體展現出相似的TDCC活性，但可觀察到在變體之中，H1643L581在兩盤之中於0.56nM與1.67nM的較低濃度均展現出相對較強的TDCC活性。在0.56nM的濃度，第6a圖顯示GPC3/H2591L581相對較弱，而第6b圖顯示GPC3/H1610L939相對較弱。

【0272】如第7圖所示，具有比GPC3/CD3ε更強的細胞毒性的親和性成熟變體包括在5nM與10nM兩者抗體濃度的GPC3/H1643L581、GPC3/H1571L581與GPC3/H1595L581。這表示與GPC3/CD3ε相比，與CD137結合改善了這些變體的細胞毒性。如GPC3/H0868L581與GPC3/H1572L581的變體於5nM展現出比GPC3/CD3ε更弱的細胞毒性。

【0273】2.3.3. 使用親和性成熟抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體的細胞激素釋放測量

為了進一步確認抗體的體外(in vitro)效力，也針對細胞激素釋放來評估這些抗體。於48小時採集來自類似於實施例2.3.2所進行的TDCC測定的上清夜，且評估細胞激素的存在。由於多數抗體展現出與第3圖所示的GPC3/CD3ε相似的CD3促效活性，因此將GPC3/CD3ε添加至此測定以評估與CD137的協同活性所導致的細胞激素釋放。同樣地，使用GPC3/H1643L581作為盤內控制組。利用細胞計數珠粒陣列(cytometric bead array, CBA)人類Th1/T2細胞激素套組II(BD Biosciences #551809)來評估細胞激素的總釋放。評估IFNγ(第8圖)、IL-2(第9圖)與IL-6(第10圖)。

【0274】如第8與9圖所示，盤1中，GPC3/H2591L581及GPC3/H1643L581為於5nM與1.67nM引發高IFNγ與IL-2的前兩株優良變體。盤2中，GPC3/H1610L939、GPC3/H2594L581與GPC3/H1643L581於5nM展現出相對強烈的細胞激素釋放。然而，僅有GPC3/H1643L581於1.67nM展現出較強的細胞激素

釋放。至於第10圖所示的IL-6水平，盤1中，除了GPC3/H2591L581於0.56nM及0.19nM展現出較低的IL-6水平之外，所有變體對GPC3/CD3ε皆展現出相似的水平，。同樣地，盤2中，所有變體展現出與GPC3/H1643L581相似的細胞激素釋放水平。綜合而言，Dual Fab變體相較於GPC3/CD3ε可展現出改善的IFNγ與IL-2水平而沒有顯著地增加IL-6水平。

【0275】綜合而言，親和性成熟變體展現出較強的CD137促效活性，可引發細胞激素釋放相應的TDCC活性。詳細而言，變體相較於GPC3/CD3ε展現出改善的IFNγ與IL-2水平。

【0276】2.3.4. 使用AE05與AE15 CrossMab抗體的TDCC活性測量

於PBMC存在的情況下，使用xCELLigence即時細胞分析儀(Roche Diagnostics)觀察腫瘤細胞成長抑制率以評估細胞毒性活性。第11圖顯示實施例1.3中製備的AE05與AR15 CrossMab抗體的TDCC活性。使用SK-pca60細胞株作為目標細胞。目標細胞從培養皿脫附，將細胞調整至$3.5x10^3$細胞/孔並以100 μL/孔的等分將細胞接種於E-plate 96 (Roche Diagnostics)中，且使用xCELLigence即時細胞分析儀開始進行細胞成長的測量。24小時後，移除盤且將50μL以各濃度(從5nM為起始進行5倍序列稀釋，即0.008、0.004、0.2、1及5nM)製備的個別抗體添加至盤中。於室溫反應15分鐘後，以效應細胞比目標細胞(E:T)為0.5的比例添加50μL實施例2.3.1中製備的新鮮人類PBMC溶液(亦即，$1.75x10^3$細胞/孔)，且使用CELLigence即時細胞分析儀繼續細胞成長的測量。在37度C及5%二氧化碳氣體的條件下進行反應。由於CD137訊號增強T細胞的存活且防止活化所引發的細胞死亡，TDCC測定是以低E:T比進行。可能會需要延長時間以觀察CD137活化所貢獻的較多細胞毒性。因此，添加PBMC之後約140小時，使用以下算式判斷細胞成長抑制(CGI)率(%)。由xCELLigence 實時細胞分析儀所獲得且用於計算的細胞指標值為標準化數值，其中在添加抗體前的時間點的細胞指標值定義為1。

細胞生長抑制率 (%) = (A-B) x 100/ (A-1)

A表示無添加抗體的孔(僅含有目標細胞及人類PBMC)中細胞指標值的平均值，且B表示目標孔的細胞指標值的平均值。以二重複(duplicate)的方式進行檢視。如第11圖所示，AE05與AE15 CrossMab抗體以劑量依賴性的方式對SK-pca60細胞株展現出TDCC活性。AE05於0.2nM的濃度展現出比AE15稍強的TDCC活性。

【0277】[實施例3] GPC3/CD3/人類CD137 (2+1)三特異性抗體及抗GPC3/Dual (1+1) 三特異性抗體的脫靶(off-target)細胞毒性的評估

【0278】3.1. 抗GPC3/CD137xCD3 (2+1)三特異性抗體的製備

為了研究目標非依賴性的細胞毒性與細胞激素釋放，利用CrossMab及Fab臂交換(Fab-arm exchange, FAE)技術來產生三特異性抗體(第12與13圖)。以前文所述的CrossMab產生一個分子中各臂具有兩個結合域而產生四個結合域的四價類IgG分子的抗體A(單株抗體A，mAb A)。雙價IgG的抗體B(單株抗體B，mAb B)為與傳統IgG相同的型式。單株抗體A與單株抗體B兩者的Fc區皆為FcγR靜默(silent)而對Fcγ受體具有減弱的親和性、為去醣基化的，且可應用於FAE。建構六種三特異性抗體。表12顯示六種三特異性抗體中各個Fv區的目標抗原。第13圖顯示單株抗體A、單株抗體B與單株抗體AB各個結合域的命名規則。表13與表14顯示產生個別三特異性抗體單株抗體AB(mAb AB)的單株抗體A及單株抗體B配對及其SEQ ID NO。描述於WO2005/035584A1的抗體CD3D(2)_i121(簡寫為AN121)作為抗CD3抗體。利用前文所述的方法表現及純化表13與表14中所述的三特異性抗體。

【0279】(表12) 抗體各臂的目標

單株抗體AB名稱	Fv A1	Fv A2	Fv B
GPC3/CD137xCD3	抗CD137	抗CD3e	抗GPC3
控制組/CD137xCD3	抗CD137	抗CD3e	控制組

【0280】 (表13) 表12中所述的抗體各可變序列的SEQ ID NO

單株抗體AB名稱	產生單株抗體AB的單株抗體A名稱	VHA1 (SEQ ID NO.)	VLA1 (SEQ ID NO.)	VHA2 (SEQ ID NO.)	VLA2 (SEQ ID NO.)	產生單株抗體AB的單株抗體B名稱	VHB (SEQ ID NO.)	VLB (SEQ ID NO.)
GPC3/CD137xCD3	CD137xCD3	85	86	87	88	GPC3	89	90
控制組/CD137x控制組1	CD137x控制組1	85	86	控制組1	控制組1	控制組1	控制組1	控制組1

【0281】 (表14) 表12與表13中所述抗體的可變區胺基酸序列

CD137/VH SEQ ID NO: 85	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQSPEKGLEWIGEINHGGYVTYNPSLESRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDYGPGNYDWYFDLWGRGTLVTVSS
CD137/VL SEQ ID NO: 86	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPATFGGGTKVEIK
CD3VH SEQ ID NO: 87	QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSNAWMHWVRQAPGKGLEWVAQIKDRANSYNTYYAESVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCRYVHYTYAGSSFSYGVDAWGQGTTVTVSS
CD3VL SEQ ID NO: 88	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIK
GPC3VH SEQ ID NO: 89	QVQLVQSGAEVKKPGASVTVSCKASGYTFTDYEMHWIRQPPGEGLEWIGAIDGETPDTAYSEKFKGRVTLTADKSTSTAYMELSSLTSEDTAVYYCTRLYSYTYWGQGTLVTVSS
GPV3VL SEQ ID NO: 90	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQPLVHSNRNTYLHWYQQKPGQAPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCGQGTQVPYTFGQGTKLEIK

【0282】 3.2. GPC3/CD137xCD3 (2:1)雙特異性抗體的結合評估

於37度C下使用Biacore T200儀器(GE Healthcare)評估雙特異性抗體對人類CD3及CD137的結合親和性。使用胺偶合套組(GE Healthcare)將抗人類Fc抗體(GE Healthcare)固定至CM4感測晶片的所有流通槽。抗體被捕獲至抗Fc感測表面，然後注射重組人類CD3或CD137至流通槽。所有抗體及分析物係於pH 7.4之含有20 mM ACES、150 mM NaCl、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3的ACES緩衝液中製備。各循環係以3M $MgCl_2$洗去感測器表面。使用例如版本2.0的Biacore T200評估軟體(GE Healthcare)透過處理及擬合(fitting)數據至1:1結合模型而判斷結合親

和性。

【0283】表15顯示二特異性抗體對重組人類CD3及CD137的結合親和性。

【0284】(表15)以Biacore測量附錄3.1中所述的二特異性抗體之對人類CD137或CD3的結合親和性

抗體名稱	CD137			CD3		
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	KD (M)	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	KD (M)
GPC3/CD137xCD3	5.47E+05	2.06E-02	3.77E-08	8.18E+04	1.61E-03	1.97E-08
控制組/CD137xCD3	5.48E+05	1.82E-02	3.31E-08	8.24E+04	1.52E-03	1.85E-08

【0285】3.3. GPC3/CD137xCD3二特異性抗體及抗GPC3/Dual-Fab二特異性抗體對人類CD137表現細胞的旁觀細胞毒性的評估

【0286】為了研究H183L072的親和性成熟是否可造成潛在的旁觀細胞毒性，與二特異性2+1抗體型式(GPC3/CD137xCD3、GPC3/控制組xCD3)相比對親和性熟變體進行相互評估，其中表現hCD3的Jurkat細胞與表現hCD137的CHO細胞共培養。$5.0x10^3$細胞/孔的表現hCD137的CHO(第15圖)或親代CHO(第14圖)在存在0.5、5及50nM濃度的二特異性抗體的情況下，與$2.5x10^4$的NFAT-luc2 Jurkat細胞共培養24小時。第6a圖顯示與親代CHO細胞共培養時，所有二特異性抗體都不會引起Jurkatc細胞的非特異性活化。然而，觀察到二特異性2+1型式抗體GPC3/CD137xCD3及控制組/CD137xCD3在表現hCD137的CHO細胞存在的情況下可活化Jurkat細胞。與表現hCD137的CHO細胞共培養時，1+1型式的親和性成熟變體沒有引起Jurkat細胞的活化。綜合而言，這表示二特異性型式GPC3/CD137xCD3可能會引起腫瘤抗原結合非依賴性的Jurkat細胞活化，即便在CD137結合的親和性成熟之後，也會導致與GPC3/Dual (1+1)型式不同的旁觀細胞毒性。

【0287】3.4. GPC3/CD137xCD3三特異性抗體及GPC3/Dual-Fab三特異性抗體自PBMC的脫靶細胞激素釋放評估

也使用人類PBMC溶液評估三特異性型式對脫靶毒性的 比較。簡言之，將如實施例2.3.1中所述而製備的2.0 x 10^5個PBMC在目標細胞不存在的情況下，與80、16及3.2nM的三特異性抗體培養48小時。由於使用任何抗體皆沒有偵測到IL-2，因此上清液中IL-6、IFNγ及TNFα的水平如第16至18圖所示。以與實施例2.3.3中所述的相似方法進行細胞激素釋放的測量。與實施例2相似，親和性成熟變體分成2盤。如第16至18圖所示，GPC3/CD137xCD3而非抗GPC3/Dual-Fab造成從PBMC釋放IFNγ(第16圖)、TNFα(第17圖)及IL-6(第18圖)。這些結果表示，GPC3/CD137xCD3三特異性型式在目標細胞不存在的情況下引起PBMC非特異性的活化。最後，數據顯示Dual-Fab三特異性1+1型式可賦予目標特異性效應細胞的活化而沒有脫靶毒性。

【0288】[實施例 4] GPC3/CD3ε雙特異性抗體及抗GPC3/Dual-Fab (1+1) 三特異性抗體的體內功效評估

【0289】4.1. 抗GPC3/Dual-Fab、GPC3/CD3ε及GPC3/CD137雙特異性抗體的製備

利用實施例1.3所述的CrossMab技術或根據Proc Natl Acad Sci USA. 2013 Mar 26; 110(13): 5145-5150中所述的Fab臂交換(FAE)法來產生用於體內功效研究的抗體。利用Fab臂交換法產生GPC3/CD3ε、GPC3/H1643L0581、GPC3/H1644L0939與GPC3/CD137抗體，且這些抗體包括對Fcγ受體具有減弱親和性的小鼠Fc。GPC3/CD3ε包括靶定GPC3的一臂，而另一臂靶定人類CD3。GPC3/CD137包括靶定GPC3的一臂，而另一臂靶定人類CD137。GPC3/H1643L0581與GPC3/H1644L0939包括靶定GPC3的一臂，而另一臂對人類CD3與CD137具有雙重靶定的特性。利用Fab臂交換法來產生

GPC3/H1643L0581-BS11ab，且其包括對Fcγ受體具有減弱親和性的人類Fc，其一臂靶定GPC3，而另一臂對人類CD3與CD137具有雙重靶定的特性。表10與表4顯示可變區序列。

【0290】4.2. 產生CD137/CD3雙人源化小鼠

使用小鼠胚胎幹細胞以人類CD137基因體序列取代小鼠內源性Cd137基因體區，以產生敲入(knock-in, KI)人類CD137的小鼠品系(strain)。將人類CD3 EDG取代小鼠建立為CD3複合體-CD3e、CD3d與CD3g的所有三個成分皆以其人類對應體(counterpart)-CD3E、CD3D與CD3G進行取代的品系(Scientific Rep. 2018; 8: 46960)。將敲入人類CD137的小鼠與人類CD3 EDG取代小鼠雜交育種(crossbreeding)而建立CD137/CD3雙人源化小鼠品系。

【0291】4.3. LLC1/hGPC3細胞株的製備

以pCXND3-hGPC3轉染小鼠癌細胞株LL/2(LLC1)(ATCC)，並以500μg/ml G418進行單一細胞選殖株的分離。所選擇的細胞株(LLC1/hGPC3)經證實表現hGPC3。

【0292】4.4. 利用hCD3/hCD137小鼠對抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體的體內功效評估

【0293】4.4.1. 利用hCD3/hCD137小鼠對抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體的體內功效評估

在使用LLC1/hGPC3模型的GPC3/H1644L0939藥物功效測試中，進行以下的測試。將LLC1/hGPC3(1×10^6個細胞)移植至hCD3/hCD137小鼠的鼠蹊皮下區(inguinal subcutaneous region)之中。移植日定義為第0天。移植後第9天，根據體重與腫瘤尺寸將小鼠隨機分組。在隨機分組日，透過尾靜脈而靜脈內投予5mg/kg的GPC3/H1643L0581、GPC3/H1644L0939或GPC3/CD3ε抗體。僅投予抗體一次。每3-4天測量腫瘤體積與體重。對於IL-6分析而言，小鼠於治療後2小時進行採

血。據製造商的程序使用Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Th1 Panel來分析血漿樣品。

【0294】結果，可於GPC3/H1643L0581與GPC3/H1644L0939組別觀察到比在GPC3/CD3ε組別更清楚的抗腫瘤活性(第20圖)。如第21圖所示，GPC3/H1644L0939組與GPC3/H1643L0581及GPC3/CD3ε組相比產生較少的IL-6。

【0295】在另一體內功效評估中，將LLC/hGPC3細胞移植至hCD3/hCD137小鼠的右側腹(right flank)之中。於第9日，根據腫瘤體積及體重將小鼠隨機分組，且靜脈注射媒液(vehicle)或實施例4.1所製備的抗體。每週測量腫瘤體積兩次。對於IL-6分析而言，小鼠於治療後2小時進行採血。根據製造商的程序使用Bio-Plex Pro Mouse Cytokine Th1 Panel來分析血漿樣品。如第22與23圖所示，GPC3/Dual組與GPC3/CD3ε組相比展現出較強的抗腫瘤活性且產生較少的IL-6。

【0296】4.4.2 抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體與親代抗體相比的體內功效評估

以LLC1/hGPC3癌症模型測試實施例4.1所製備的抗GPC3/Dual-Fab抗體與親代抗體的抗腫瘤活性。將LLC1/hGPC3(3×10^6個細胞)移植至hCD3/hCD137小鼠的鼠蹊皮下區之中。移植日定義為第0天。移植後第13天，根據體重與腫瘤尺寸將小鼠隨機分組，且靜脈注射媒液(含0.05% Tween的PBS)、5mg/kg的xGPC3/Dual183H072L-xSG1350kSG1349hV11、5mg/kg的xGPC3/DualAE15-xSG1350kSG1349hV11、5mg/kg的xGPC3/DualAE15-xSG1356kSG1355hV11、5mg/kg的xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11或5mg/kg的xGPC3/DualAE05-xSG1356kSG1355hV11。

【0297】結果，四種抗GPC3/Dual-Fab抗體展現出比xGPC3/Dual183H072L-xSG1350kSG1349hV11抗體更強的功效(第24圖)。

【0298】4.4.3. 以CrossMab或Fab臂交換法(FAE)製備的抗GPC3/Dual-Fab的

體內功效評估

於小鼠肝臟Hepa1-6/hGPC3癌症模型中測試以實施例4.1中CrossMab或Fab臂交換法製備的抗GPC3/Dual-Fab抗體的抗腫瘤活性。具體而言，以CrossMab的型式產生xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11，而利用Fab臂交換技術以人類Fc產生GPC3/H1643L0581-BS11ab。為了獲得Hepa1-6/hGPC3細胞株，利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者習知的方法，將人類GPC3基因整合至小鼠肝腫瘤細胞株Hepa1-6 (ATCC No. CRL-1830)的染色體中。將Hepa1-6/hGPC3($1x10^7$個細胞)移植至hCD3/hCD137小鼠的鼠蹊皮下區之中。移植日定義為第0天。移植後第7天，根據體重與腫瘤尺寸將小鼠隨機分組，且靜脈注射媒液(含0.05% Tween的PBS)、0.2mg/kg的xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11或0.2mg/kg的GPC3/H1643L0581-BS11ab。

【0299】結果，xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11展現出比GPC3/H1643L0581-BS11ab抗體更強的功效，表示CrossMab型式的抗GPC3/Dual-Fab展現出比Fab臂交換型式的抗GPC3/Dual-Fab更佳的功效(第25圖)。

【0300】4.4.3.1 以CrossMab或Fab臂交換法製備的抗GPC3/Dual-Fab的體內功效評估抗體血漿濃度

xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11與GPC3/H1643L0581-BS11ab的循環水平定量如下。於注射後第4天，從各組中的七隻動物收集血液。於4度C下，以1,900xg進行離心10分鐘以獲得肝素化(heparinized)血漿樣品。利用電致化學發光(electrochemiluminescence, ECL)免疫測定法測量小鼠血漿中兩種抗GPC3/Dual-Fab抗體的濃度。所有步驟皆於室溫下完成。人類核心磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(human core glypican-3, hGPC3)重組蛋白(於廠內製備)固定於未塗佈的

MULTI-ARRAY標準盤(Meso Scale Discovery)一小時。之後，以含5%牛血清白蛋白的阻斷溶液(blocking solution)培養盤1小時。製備1.50、0.500、0.167、0.0556、0.0185、0.00617與0.00206μg/mL的校正曲線樣品，以及稀釋100倍或100倍以上的小鼠血漿樣品。接著，將樣品分配至固定有hGPC3的盤中，並靜置1小時。然後將生物素化的抗人類IgG特異性抗體(Jackson ImmunoResearch)添加至盤中並培養1小時。之後，添加標記有硫標籤的鏈黴親和素(streptavidin)以於室溫下反應30分鐘。使用SECTOR S 600 (Meso Scale Discovery)進行電致化學發光測量。利用分析軟體SOFTmax PRO (Molecular Devices)計算小鼠血漿中的濃度。

【0301】結果，xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11於給藥後第4天的平均血漿濃度為GPC3/H1643L0581-BS11ab的1.46倍，表示CrossMab型式展現出比Fab臂交換型式更佳的藥物動力學模式(第26圖)。

【0302】4.5. 使用HuNOG小鼠對抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體的體內功效評估

於人類肝臟sk-pca-13a癌症模型中測試實施例4.1所製備的抗GPC3/Dual-Fab抗體、GPC3/CD3ε雙特異性抗體及GPC3/CD137雙特異性抗體的抗腫瘤活性。GPC3/CD3ε雙特異性抗體也與GPC3/CD137雙特異性抗體結合而進行測試。將sk-pca-13a細胞皮下移植至NOG人源化小鼠。

為了獲得sk-pca-13a細胞株，利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者習知的方法，將人類GPC3基因整合至人類肝腺癌細胞株SK-HEP-1(ATCC No. HTB-52)的染色體中。

【0303】NOG雌性小鼠是從In-Vivo Science購買而得。對於人源化而言，次致死性(sub lethally)照射小鼠1日後，注射100,000個人臍帶血細胞(ALLCELLS)。十六週後，將sk-pca-13a細胞(1x10^7個細胞)與Matrigel™ Basement Membrane Matrix (Corning)混合並移植至人源化NOG小鼠的右側腹。移植日定義

為第0日。於第19日，根據腫瘤體積與體重將小鼠隨機分組，且靜脈注射媒液(含有0.05% Tween的PBS)、5mg/kg的GPC3/CD3ε、5mg/kg的GPC3/H1643L0581或5mg/kg的GPC3/CD3ε及5mg/kg的GPC3/CD137的組合。

【0304】結果，抗GPC3/Dual-Fab(GPC3/H1643L0581)展現出比GPC3/CD3ε更強的抗腫瘤活性(第19圖)。

【0305】[實施例5] 抗GPC3/Dual-Fab (1+1)三特異性抗體的抗體型式與Fc選擇

如實施例1.3中所述產生抗GPC3/Dual-Fab三特異性抗體。如實施例5.1、5.2與5.3所述來評估對抗體純度、結合動力學與表現水平。

【0306】為了控制抗體輕鏈正確的配對，使用如第2圖、表8與表9所示的CrossMab(WO2017055539)或FAST-Ig(WO2013065708)技術。對於CrossMab抗體而言，交換一臂的VH與VL區，而將帶電突變導入至另一臂的CH1與CL區，以產生錯誤配對輕鏈的靜電排斥。對於FAST-Ig抗體而言，將突變導入至各臂的Fab區，以產生錯誤配對輕鏈的靜電排斥。

【0307】5.1. CrossMab與FAST-Ig突變的純度評估

將每個樣品以主混合液(master mix)稀釋成0.085mg/mL，主混合液包含0.4375%甲基纖維素溶液；pH5-8的2.5%兩性電解質(Pharmalyte)；pH8-10.5的2.5%兩性電解質；3.75M的尿素；12.5mM的精胺酸；12.5mM的亞氨基二乙酸(iminodiacetic acid, IDA)；0.625%的等電點標記(marker)5.85；以及0.625%的等電點標記9.99。接著將樣品置於Maurice C.分析儀上(Protein Simple, San Jose, CA)並於1,500V聚焦一分鐘，之後以3,000V聚焦6分鐘。在280 nm的紫外線吸收和天然螢光(激發光：280nm，發射光：320-450nm)下偵測蛋白質。所得電泳模式使用版本為2.1.0的Compass for iCE軟體進行分析。

第27圖顯示FAST-Ig與CrossMab的電泳圖譜。如箭頭所示，

GPC3/DualAE05-SG1364k1363hV11(FAST-Ig型式)可清楚地看到錯誤配對產物的雜質。

【0308】5.2. CrossMab與FAST-Ig的結合動力學資訊

於25度C下使用Biacore 8K儀器(GE Healthcare)評估Dual-Ig抗體對人類CD3的結合親和性。使用胺偶合套組(GE Healthcare) 將抗人類Fc(GE Healthcare)固定於CM4感測晶片的所有流通槽。抗體被捕獲至抗Fc感測表面，然後注射重組人類CD3或CD137至流通槽。所有抗體及分析物係於pH 7.4之含有20 mM ACES、150 mM NaCl、0.05% Tween 20、0.005% NaN_3的ACES中製備。各循環係以3M $MgCl_2$再生感測器表面。使用如版本 2.0的Biacore Insight評估軟體(GE Healthcare)透過處理及擬合(fitting)數據至1:1結合模型而判斷結合親和性。以相同條件進行CD137的結合親和性測定，但測定溫度設定為37度C。

【0309】表16顯示Dual-Fab抗體對重組人類CD3與CD137的結合親和性。與以CrossMab製備的抗體相比，FAST-Ig抗體GPC3/DualAE05-SG1363k1364hV11與 GPC3/DualAE05-SG1364k1363hV11對CD137展現出弱約2倍的結合親和性，表示FAST-Ig抗體中使用的帶電突變影響/弱化CD137的結合活性。這是由FAST-Ig構築體中較快的解離速率所導致。與CrossMab xSG1350相比，FAST-Ig抗體GPC3KE/DualAE05EK-SG1363k1365hV11與GPC3EK/DualAE05KE-SG1365k1363hV11對CD3展現出弱約3倍的結合親和性，表示FAST-Ig抗體中使用的帶電突變影響/弱化CD137的結合活性。這是由FAST-Ig構築體中較快的解離速率所導致。

【0310】綜合而言，結果顯示選擇的CrossMab型式(及突變)在控制抗體輕鏈的正確配對中優於FAST-Ig型式，且對抗原結合活性具有較小的影響。

【0311】(表16)

抗體名稱	CD8 (25C)			CD137 (37C)		
	ka (M-1s-1)	kd (s-1)	KD (M)	ka (M-1s-1)	kd (s-1)	KD (M)
GPC3/DualAE05-SG1363k1364hV11	8.85E+04	2.78E-02	3.14E-07	1.28E+04	1.02E-03	7.95E-08
GPC3/DualAE05-SG1364k1363hV11	9.34E+04	2.63E-02	2.82E-07	1.36E+04	7.45E-04	5.47E-08
GPC3KE/DualAE05EK-SG1363k1365hV11	7.59E+04	6.11E-02	8.06E-07	1.33E+04	5.06E-04	3.80E-08
GPC3EK/DualAE05KE-SG1365k1363hV11	8.35E+04	6.28E-02	7.51E-07	1.45E+04	6.30E-04	4.35E-08
xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11	9.29E+04	2.75E-02	2.96E-07	1.30E+04	5.25E-04	4.05E-08

【0312】 5.3. FAST-Ig與CrossMab的表現水平

透過在表現抗體的Expi293F細胞(Thermofisher Scientific)中暫時將Fast-Ig或CrossMab抗體表現為一特異性形式。利用Bravo自動液體操作平台(Agilent)並使用蛋白質A(PA-W)匣(catridge)(Agilent)從獲得的培養上清液純化出各個抗體。至於純化抗體的濃度，使用分光光度計於280nm測量吸光值，且利用從PACE(Protein Science 1995; 4: 2411-2423)所獲得的數值計算出的消光係數來計算抗體濃度。利用[最終濃度]×[沖提體積]/[培養體積]來計算表現水平。

表17顯示各抗體的表現水平。FAST-Ig抗體GPC3KE/DualAE05EK-SG1363k1365hV11與GPC3EK/DualAE05KE-SG1365k1363hV11展現出比CrossMab型式(xGPC3/DualAE05xSG1350kSG1349hV11)較低的表現水平。

【0313】 (表17)

抗體名稱	表現水平
GPC3/DualAE05-SG1363k1364hV11	48 mg/L
GPC3/DualAE05-SG1364k1363hV11	45 mg/L
GPC3KE/DualAE05EK-SG1363k1365hV11	15 mg/L
GPC3EK/DualAE05KE-SG1365k1363hV11	7 mg/L
xGPC3/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11	40 mg/L

【0314】 [參考實施例1] 抗體表現載體的製備與抗體的表現及純化

利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者一般習知使用PCR或In-Fusion Advantage PCR選殖套組(Takara Bio Inc.)等的方法進行胺基酸取代或IgG轉換以

建構表現載體。利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者一般習知的方法對獲得的表現載體進行定序。將製備的質體(plasmid)暫時轉染至FreeStyle 293細胞(ThermoFisher Scientific)或Expi293F細胞(ThermoFisher Scientific)以表現抗體。利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者習知使用rProtein A Sepharose™ Fast Flow(GE Healthcare Japan Corp.)的方法，從獲得的培養上清液純化出每個抗體。至於純化抗體的濃度，使用分光光度計於280nm測量吸光值，且利用從PACE(Protein Science 1995; 4: 2411-2423)所獲得的數值計算出的消光係數來計算抗體濃度。

【0315】[參考實施例2] 實驗細胞株

利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者習知的方法，將人類GPC3基因整合至小鼠大腸直腸癌細胞株CT-26(ATCC No. CRL-2638)的染色體以獲得高表現量的CT26-GPC3細胞株。使用QIFI套組(Dako)並利用製造商推薦的方法來判斷人類GPC3($2.3x10^5$/細胞)的表現水平。為了維持人類GPC3基因，以用於CT26-GPC3而添加200μg/ml遺傳黴素(Geneticin)(GIBCO)的ATCC推薦培養基來培養這些重組細胞株。培養之後，使用2.5g/L胰蛋白酶-1mM EDTA(nacalai tesque)脫附這些細胞，然後將其用於各個實驗。轉染細胞株於本文稱為SKpca60a。利用本發明所屬技術領域中具有通常知識者習知的方法，將人類CD137基因整合至中國倉鼠卵巢(Chinese Hamaster Ovary, CHO)細胞株CHO-DG44的染色體中，以獲得高表現量的CHO-hCD137細胞株。使用PE抗人類CD137(4-1BB)抗體(BioLegend, Cat. No. 309803)的FACS分析與製造商指示來判斷人類CD137的表現水平。分別於RPMI1640(Gibco)與DMEM(低葡萄醣)中維持NCI-H446與Huh7細胞株。兩種培養基皆添加10%胎牛血清(Bovogen Biologicals)、100單位/mL的青黴素與100μg/mL的鏈黴素，且於37度C與5%CO_2下培養細胞。

[產業可利用性]

【0316】本發明提供可結合至CD3及CD137(4-1BB)但不同時結合至CD3及CD137，且可結合至GPC3的多特異性抗原結合分子。本發明的抗原結合分子透過與CD3/CD137及GPC3結合，以GPC3依賴性的方式展現出增強的T細胞依賴性細胞毒性活性。抗原結合分子及其醫藥組成物可用於靶定表現GPC3的細胞，且用於治療各種癌症的免疫療法中，特別是與GPC3相關的癌症，例如GPC3陽性的癌症。

【符號說明】

無。

序列表

〈110〉 日商中外製藥股份有限公司(CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA)

〈120〉 免疫活化多特異性抗原結合分子及其用途

〈130〉 C1-A2005-TW

〈150〉 JP 2020-062357
〈151〉 2020-03-31

〈160〉 323

〈170〉 PatentIn version 3.5

〈210〉 1
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 1

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Val Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 2
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 2

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 3
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 3

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 4
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 4

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala

100 105 110

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

〈210〉 5
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 5

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Trp Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 6
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 6

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

Glu Gly Val Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

〈210〉 7
〈211〉 207
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 7

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 8
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 8

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Asp Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro

50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 9
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 9

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 10
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 10

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 11
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 11

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 12
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 12

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Trp Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

Ile Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys His Tyr Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 13
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 13

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 14
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 14

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala

100 105 110

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

〈210〉 15
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 15

Asn Ala Trp Met His
1 5

〈210〉 16
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 16

Asn Val Trp Met His
1 5

〈210〉 17
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 17

Asn Val Trp Met His
1 5

〈210〉 18
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 18

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 19
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 19

Asn Val Trp Met His
1 5

〈210〉 20
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 20

Asn Val Trp Phe His

1 5

〈210〉 21
〈211〉 72
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 21

Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr
1 5 10 15

Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu
20 25 30

Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His
35 40 45

Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly
50 55 60

Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys
65 70

〈210〉 22
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 22

Asn Thr Trp Phe His

1 5

〈210〉 23
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 23

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 24
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 24

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 25
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 25

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 26
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 26

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 27
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 27

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 28
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 28

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 29

〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 29

Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 30
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 30

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 31
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 31

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 32
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 32

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

Val Lys Gly

〈210〉 33
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 33

Gln Ile Lys Asp Lys Trp Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 34
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 34

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 35
〈211〉 31
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 35

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

Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys
20 25 30

〈210〉 36
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 36

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Asp Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 37
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 37

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Glu

〈210〉 38
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 38

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Glu Gly

〈210〉 39
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 39

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Glu Gly

〈210〉 40
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 40

Gln Ile Lys Asp Lys Trp Asn Ala Tyr Ala Asp Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Glu

〈210〉 41
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 41

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 42
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 42

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 43
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 43

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Val Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 44
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 44

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 45
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 45

Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 46
〈211〉 17
〈212〉 PRT

〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 46

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 47
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 47

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

Ala

〈210〉 48
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 48

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp

1 5 10 15

Ala

〈210〉 49
〈211〉 63
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 49

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

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val
35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys
50 55 60

〈210〉 50
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 50

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp

1 5 10 15

Ala

〈210〉 51
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 51

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 52
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 52

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 53

〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 53

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 54
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 54

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

Ala

〈210〉 55
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 55

Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 56
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 56

Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 57
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 57

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gln Glu Leu Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 58
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 58

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro

50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

〈210〉 59
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 59

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

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

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

〈210〉 60
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 60

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Val Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

〈210〉 61
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 61

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Glu Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Leu Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr His His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

〈210〉 62
〈211〉 16
〈212〉 PRT

〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 62

Gln Ala Ser Gln Glu Leu Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 63
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 63

Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 64
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 64

Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met Asn Asn Val Val Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 65
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 65

Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 66
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 66

Gln Pro Ser Glu Glu Val Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 67
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 67

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 68
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 68

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 69
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 69

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 70
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 70

Lys Val Ser Asn Val Phe Pro
1 5

〈210〉 71
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 71

Lys Val Ser Asn Leu Phe Pro
1 5

〈210〉 72
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 72

Ala Gln Gly Thr Ser Val Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 73
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 73

Ala Gln Gly Thr Ser His Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 74
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 74

Ala Gln Gly Thr Ser His Pro Phe Thr

1 5

〈210〉 75
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 75

Ala Gln Gly Thr His His Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 76
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 76

Ala Gln Gly Thr His His Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 77
〈211〉 122
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 77

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Ser Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Val Ala Glu
50 55 60

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

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

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

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

〈210〉 78
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 78

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser

20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 79
〈211〉 121
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 79

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

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

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

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

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

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

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 80
〈211〉 109
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 80

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

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

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

Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

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

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

〈210〉 81
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 81

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 82
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 82

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 83
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 83

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 84
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 84

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 85
〈211〉 121
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 85

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

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

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

Gly Glu Ile Asn His Gly Gly Tyr Val Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Glu
50 55 60

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

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

Arg Asp Tyr Gly Pro Gly Asn Tyr Asp Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 86
〈211〉 109
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 86

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro

65 70 75 80

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

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

〈210〉 87
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 87

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Thr Thr Tyr Ala Gly Ser Ser Phe Ser
100 105 110

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

〈210〉 88
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 88

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Gln Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

〈210〉 89
〈211〉 115
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 89

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

〈210〉 90
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 90

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 91
〈211〉 4
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 91

Gly Gly Gly Ser
1

〈210〉 92
〈211〉 4
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 92

Ser Gly Gly Gly
1

〈210〉 93
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 93

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

〈210〉 94
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 94

Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

〈210〉 95
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 95

Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

〈210〉 96
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 96

Ser Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

〈210〉 97
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 97

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

〈210〉 98
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 98

Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5

〈210〉 99

〈400〉 99
000

〈210〉 100

〈400〉 100
000

〈210〉 101
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 101

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Trp Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 102
〈211〉 212
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 102

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
35 40 45

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

Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
65 70 75 80

Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
85 90 95

Val Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Asp
100 105 110

Ala Lys Lys Asp Asp Ala Lys Lys Asp Gly Ser Gln Ser Ile Lys Gly
115 120 125

Asn His Leu Val Lys Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu
130 135 140

Leu Thr Cys Asp Ala Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly
145 150 155 160

Lys Met Ile Gly Phe Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly
165 170 175

Ser Asn Ala Lys Asp Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln
180 185 190

Asn Lys Ser Lys Pro Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Asp Tyr Lys Asp

195 200 205

Asp Asp Asp Lys
210

〈210〉 103
〈211〉 189
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 103

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

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val
35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp
50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu
65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp
85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro
100 105 110

Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly Thr
115 120 125

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
145 150 155 160

Ser Pro Gln His His His His His His Gly Gly Gly Gly Ser Gly Leu
165 170 175

Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
180 185

〈210〉 104
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 104

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro

50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 105
〈211〉 22
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 105

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

Asn Arg Asn Gln Ile Cys
20

〈210〉 106
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 106

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 107
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 107

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Lys Phe Ser His Val
20 25 30

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 108

〈400〉 108
000

〈210〉 109

〈400〉 109
000

〈210〉 110
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 110

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 111

〈400〉 111
000

〈210〉 112

〈400〉 112
000

〈210〉 113
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 113

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys Arg Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 114
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 114

Asn Val Trp Met His
1 5

〈210〉 115

〈400〉 115
000

〈210〉 116

〈400〉 116
000

〈210〉 117
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 117

Asn Thr Trp Met His
1 5

〈210〉 118

〈400〉 118
000

〈210〉 119
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 119

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 120
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 120

His Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 121

〈400〉 121
000

〈210〉 122

〈400〉 122
000

〈210〉 123
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 123

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 124

〈400〉 124
000

〈210〉 125

〈400〉 125
000

〈210〉 126
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 126

Asn Ala Trp Met His

1 5

〈210〉 127
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 127

Gln Ile Lys Asp Lys Trp Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 128

〈400〉 128
000

〈210〉 129

〈400〉 129
000

〈210〉 130
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 130

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 131

<400> 131
000

<210> 132
<211> 19
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 132

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 133
<211> 19
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 133

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 134

〈400〉 134
000

〈210〉 135

〈400〉 135
000

〈210〉 136
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 136

Gln Ile Lys Asp Lys Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 137

〈400〉 137
000

〈210〉 138

〈400〉 138

000

〈210〉 139
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 139

Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 140
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 140

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

Ala

〈210〉 141

〈400〉 141
000

〈210〉 142

〈400〉 142
000

〈210〉 143
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 143

Ile His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 144

〈400〉 144
000

〈210〉 145
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 145

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 146
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 146

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 147

〈400〉 147
000

〈210〉 148

〈400〉 148
000

〈210〉 149
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 149

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

<210> 150

<400> 150
000

<210> 151

<400> 151
000

<210> 152
<211> 17
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 152

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

<210> 153

<400> 153
000

<210> 154

〈400〉 154
000

〈210〉 155

〈400〉 155
000

〈210〉 156

〈400〉 156
000

〈210〉 157

〈400〉 157
000

〈210〉 158

〈400〉 158
000

〈210〉 159

〈400〉 159
000

〈210〉 160

〈400〉 160
000

〈210〉 161

〈400〉 161
000

〈210〉 162

〈400〉 162
000

〈210〉 163

〈400〉 163
000

〈210〉 164

〈400〉 164
000

〈210〉 165

〈400〉 165
000

〈210〉 166

〈400〉 166
000

〈210〉 167

〈400〉 167
000

〈210〉 168

〈400〉 168
000

〈210〉 169

〈400〉 169
000

〈210〉 170

〈400〉 170
000

〈210〉 171

〈400〉 171
000

〈210〉 172

〈400〉 172
000

〈210〉 173

〈400〉 173
000

〈210〉 174

〈400〉 174
000

〈210〉 175

〈400〉 175
000

〈210〉 176

〈400〉 176
000

〈210〉 177

〈400〉 177
000

〈210〉 178

〈400〉 178
000

〈210〉 179

〈400〉 179
000

〈210〉 180

〈400〉 180

000

〈210〉 181

〈400〉 181
000

〈210〉 182

〈400〉 182
000

〈210〉 183

〈400〉 183
000

〈210〉 184

〈400〉 184
000

〈210〉 185

〈400〉 185
000

〈210〉 186

〈400〉 186
000

〈210〉 187

〈400〉 187
000

〈210〉 188

〈400〉 188
000

〈210〉 189

〈400〉 189
000

〈210〉 190

〈400〉 190
000

〈210〉 191

〈400〉 191
000

〈210〉 192

〈400〉 192
000

〈210〉 193

〈400〉 193
000

〈210〉 194

〈400〉 194
000

〈210〉 195

〈400〉 195
000

〈210〉 196

〈400〉 196
000

〈210〉 197

〈400〉 197
000

〈210〉 198

〈400〉 198
000

〈210〉 199

〈400〉 199
000

〈210〉 200

〈400〉 200
000

〈210〉 201
〈211〉 443
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 201

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

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

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

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

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

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

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 202
〈211〉 443
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 202

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

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

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

Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

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

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

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 203
〈211〉 443
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 203

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

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

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

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

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

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

Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 204
〈211〉 443
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 204

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

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

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

Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145 150 155 160

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

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

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

Val Asp Glu Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
210 215 220

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 205
〈211〉 442
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 205

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

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

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

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

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

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

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

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

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

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

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 206
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 206

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 207
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 207

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 208
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 208

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 209
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 209

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 210
〈211〉 222
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 210

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu
130 135 140

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

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

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

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

Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

〈210〉 211
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 211

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 212
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 212

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 213
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 213

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 214
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 214

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

<210> 215
<211> 456
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 215

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 216
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 216

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Glu Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 217
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 217

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 218
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 218

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Lys Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 219
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 219

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 220
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 220

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 221
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 221

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 222
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 222

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 223
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 223

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 224
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 224

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 225
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 225

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 226
〈211〉 115
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 226

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

〈210〉 227
〈211〉 115
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 227

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

〈210〉 228
〈211〉 115
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 228

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

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

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

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

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

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

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

〈210〉 229
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 229

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 230
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 230

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 231
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 231

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 232
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 232

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 233
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 233

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 234
〈211〉 128
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 234

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 235
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 235

Asp Tyr Glu Met His
1 5

〈210〉 236
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 236

Asp Tyr Glu Met His
1 5

〈210〉 237
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 237

Asp Tyr Glu Met His
1 5

〈210〉 238
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 238

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 239
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 239

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 240
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 240

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 241
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 241

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 242
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 242

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 243
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 243

Asn Val Trp Phe His
1 5

〈210〉 244
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 244

Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

〈210〉 245
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 245

Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

〈210〉 246
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 246

Ala Ile Asp Gly Pro Thr Pro Asp Thr Ala Tyr Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

〈210〉 247
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 247

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 248
〈211〉 19

〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 248

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 249
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 249

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 250
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 250

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 251
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 251

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 252
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 252

Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 253
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 253

Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr
1 5

〈210〉 254
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 254

Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr
1 5

〈210〉 255
〈211〉 6
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 255

Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr
1 5

〈210〉 256
〈211〉 17

〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 256

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 257
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 257

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 258
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 258

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

<210> 259
<211> 17
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 259

Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

<210> 260
<211> 17
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 260

Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 261
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 261

Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala Glu Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 262
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 262

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 263
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 263

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 264
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 264

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 265
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 265

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

〈210〉 266
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 266

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

〈210〉 267
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 267

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

Thr Ser His Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

〈210〉 268
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 268

Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 269
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 269

Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 270
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 270

Arg Ser Ser Gln Pro Leu Val His Ser Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 271
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 271

Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 272
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 272

Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 273
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 273

Gln Pro Ser Gln Glu Val Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 274
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 274

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

〈210〉 275
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 275

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

〈210〉 276
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 276

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

〈210〉 277
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 277

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 278
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 278

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 279
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 279

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 280
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 280

Gly Gln Gly Thr Gln Val Pro Tyr Thr
1 5

〈210〉 281
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 281

Gly Gln Gly Thr Gln Val Pro Tyr Thr
1 5

〈210〉 282
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 282

Gly Gln Gly Thr Gln Val Pro Tyr Thr
1 5

〈210〉 283
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 283

Ala Gln Gly Thr Ser His Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 284
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 284

Ala Gln Gly Thr Ser His Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 285
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 285

Ala Gln Gly Thr Ser His Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 286
〈211〉 442
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 286

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

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

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

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

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

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

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

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

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

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

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

Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 287
〈211〉 442
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 287

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

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

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
210 215 220

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

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

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
260 265 270

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

Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300

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

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
325 330 335

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

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

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

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

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

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

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

〈210〉 288
〈211〉 437
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 288

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

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

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

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

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

〈210〉 289
〈211〉 223
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 289

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gln Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Met Ile Asp Pro Ser Tyr Ser Glu Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu
130 135 140

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

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

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

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln
195 200 205

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

〈210〉 290
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 290

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Val Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 291
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 291

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 292
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 292

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
420 425 430

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 293
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 293

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 294
〈211〉 456
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 294

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Tyr Tyr Asn Ala Tyr Ala Gly Tyr Tyr His Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ala Ala Ser Gln Leu Leu Pro Ala
100 105 110

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

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

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr
145 150 155 160

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

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

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
225 230 235 240

Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
245 250 255

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
260 265 270

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

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
290 295 300

Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
305 310 315 320

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
325 330 335

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
340 345 350

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

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
370 375 380

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
385 390 395 400

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
405 410 415

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
420 425 430

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
435 440 445

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455

〈210〉 295
〈211〉 219
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 295

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gln Glu Leu Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

〈210〉 296
〈211〉 128

〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 296

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

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

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

Ala Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro
50 55 60

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

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

Tyr Cys His Tyr Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Val Leu Pro Ala
100 105 110

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

〈210〉 297
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 297

Asn Ala Trp Met His
1 5

〈210〉 298
〈211〉 19
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 298

Gln Ile Lys Asp Lys Gly Asn Ala Tyr Ala Ala Tyr Tyr Ala Pro Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

〈210〉 299
〈211〉 17
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 299

Val His Tyr Ala Ser Ala Ser Thr Val Leu Pro Ala Phe Gly Val Asp
1 5 10 15

Ala

〈210〉 300
〈211〉 112
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 300

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Ala Ser Gln Glu Leu Val His Met
20 25 30

Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro Gly Val Pro
50 55 60

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

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

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

〈210〉 301
〈211〉 16
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 301

Gln Ala Ser Gln Glu Leu Val His Met Asn Arg Asn Thr Tyr Leu His
1 5 10 15

〈210〉 302
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 302

Lys Val Ser Asn Arg Phe Pro
1 5

〈210〉 303
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 303

Ala Gln Gly Thr Ser Val Pro Phe Thr
1 5

〈210〉 304
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉

〈223〉 人造合成序列

〈400〉 304

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr
65 70 75 80

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

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

〈210〉 305
〈211〉 11
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 305

Lys Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Arg Leu Ala
1 5 10

〈210〉 306
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 306

Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr
1 5

〈210〉 307
〈211〉 9
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 307

Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Tyr Thr
1 5

〈210〉 308
〈211〉 116
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 308

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gln Leu Val Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

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

Gly Met Ile Asp Pro Ser Tyr Ser Glu Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Val Ser Ser
115

〈210〉 309
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 309

Ser Tyr Trp Met His
1 5

〈210〉 310
〈211〉 17

〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 310

Met Ile Asp Pro Ser Tyr Ser Glu Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

〈210〉 311
〈211〉 7
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 311

Tyr Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr
1 5

〈210〉 312
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 312

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

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

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

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

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

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

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 313
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 313

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

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

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

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

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

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 314
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 314

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

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

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

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

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

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

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 315
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 315

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 316
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 316

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
195 200 205

Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

<210> 317
<211> 220
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 317

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 318
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 318

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 319
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 319

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 320
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 320

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

<210> 321
<211> 220
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 321

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

〈210〉 322
〈211〉 220
〈212〉 PRT
〈213〉 人造序列

〈220〉
〈223〉 人造合成序列

〈400〉 322

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His
195 200 205

Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

<210> 323
<211> 220
<212> PRT
<213> 人造序列

<220>
<223> 人造合成序列

<400> 323

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
1 5 10 15

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
20 25 30

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
35 40 45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
50 55 60

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
65 70 75 80

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
85 90 95

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
100 105 110

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
115 120 125

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
130 135 140

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
145 150 155 160

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
165 170 175

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
180 185 190

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
195 200 205

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
210 215 220

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種多特異性抗原結合分子，包括：

(i) 可結合至CD3及CD137，但不同時結合至CD3及CD137的一第一抗原結合部分(moiety)；以及

(ii) 可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(glypican-3, GPC3)的一第二抗原結合部分；

其中該第一抗原結合部分包括擇自於下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) SEQ ID NO: 17的重鏈互補決定區1(complementarity determining region 1, CDR 1)、SEQ ID NO: 31的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 45的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 64的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 69的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 74的輕鏈CDR 3；

(a2) SEQ ID NO: 18的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 32的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 46的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a3) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a4) SEQ ID NO: 19的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 33的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 47的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3；

(a5) SEQ ID NO: 20的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 34的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 48的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a6) SEQ ID NO: 22的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 36的重鏈CDR 2、SEQ ID NO:

50的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a7) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a8) SEQ ID NO: 23的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 37的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 51的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a9) SEQ ID NO: 24的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 38的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 52的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a10) SEQ ID NO: 25的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 39的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 53的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a11) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 66的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 71的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 76的輕鏈CDR 3；

(a12) SEQ ID NO: 26的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 40的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 54的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a13) SEQ ID NO: 27的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 41的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 55的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；

(a14) SEQ ID NO: 28的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 42的重鏈CDR 2、SEQ ID

NO: 56的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 63的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 68的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 73的輕鏈CDR 3；以及

(a15) SEQ ID NO: 82的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 83的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 84的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 65的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 70的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 75的輕鏈CDR 3；

以及(iii) 更包括由可穩定締合的一第一Fc區次單元與一第二Fc區次單元所形成的一Fc域，且其中與天然的人類IgG1的Fc域相比，該Fc域對人類Fcγ受體展現出減弱的結合親和性；

其中該第一Fc區次單元係擇自於下列所組成的群組：

(1) 包括第234位為Ala以及第235位為Ala的Fc區多肽；

(2) 包括第234位為Ala、第235位為Ala以及第297位為Ala的Fc區多肽；

(3) 包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第354位為Cys以及第366位為Trp的Fc區多肽；

且其中該第二Fc區次單元係擇自於包括下列的群組：

(4) 包括第234位為Ala以及第235位為Ala的Fc區多肽；

(5) 包括第234位為Ala、第235位為Ala以及第297位為Ala的Fc區多肽；以及

(6) 包括第234位為Ala、第235位為Ala、第297位為Ala、第349位為Cys、第366位為Ser、第368位為Ala以及第407位為Val的Fc區多肽；

且其中胺基酸位置係使用EU索引編號而進行編號。

【請求項2】 如請求項1所述之多特異性抗原結合分子，其中該第一抗原結合部分包括擇自下列(a1)至(a15)的任一者：

(a1) 包括SEQ ID NO: 3的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 59的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a2) 包括SEQ ID NO: 4的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58

的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a3) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a4) 包括SEQ ID NO: 5的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a5) 包括SEQ ID NO: 6的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a6) 包括SEQ ID NO: 8的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a7) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a8) 包括SEQ ID NO: 9的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a9) 包括SEQ ID NO: 10的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a10) 包括SEQ ID NO: 11的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a11) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 61的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a12) 包括SEQ ID NO: 12的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a13) 包括SEQ ID NO: 13的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 58的胺基酸序列的輕鏈可變區；

(a14) 包括SEQ ID NO: 14的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO:

58的胺基酸序列的輕鏈可變區；以及

(a15) 包括SEQ ID NO: 81的胺基酸序列的重鏈可變區以及包括SEQ ID NO: 60的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項3】 如請求項1或2所述之多特異性抗原結合分子，其中可結合至磷脂醯肌醇蛋白聚醣3(GPC3)的該第二抗原結合部分包括SEQ ID NO: 235的重鏈CDR 1、SEQ ID NO: 244的重鏈CDR 2、SEQ ID NO: 253的重鏈CDR 3、SEQ ID NO: 268的輕鏈CDR 1、SEQ ID NO: 274的輕鏈CDR 2以及SEQ ID NO: 280的輕鏈CDR 3。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項所述之多特異性抗原結合分子，其中該第二抗原結合部分包括包含SEQ ID NO: 226的胺基酸序列的重鏈可變區以及包含SEQ ID NO: 262的胺基酸序列的輕鏈可變區。

【請求項5】 如請求項1至4中任一項所述之多特異性抗原結合分子，其中該Fc域包括SEQ ID NO: 317所示的第一Fc區次單元以及SEQ ID NO: 323所示的第二Fc區次單元。

【請求項6】 如請求項1至5中任一項所述之多特異性抗原結合分子，其中該第一抗原結合部分與該第二抗原結合部分各為Fab分子。

【請求項7】 如請求項6所述之多特異性抗原結合分子，其中該第一抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至該Fc域的該第一Fc區次單元或該第二Fc區次單元任一者的N端，且該第二抗原結合部分在Fab重鏈的C端融合至該Fc域的剩餘Fc區次單元的N端。

【請求項8】 如請求項6或7所述之多特異性抗原結合分子，其中該第二抗原結合部分為互換型(crossover)Fab分子，其中Fab輕鏈與Fab重鏈的可變區交換且其包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)，且其中該第一抗原結合部分為包括重鏈可變區(VH)與輕鏈可變區(VL)的傳統Fab分子。

【請求項9】如請求項8所述之多特異性抗原結合分子，其中在該第一抗原結合部分的輕鏈恆定域(CL)中，第123位與第124位的胺基酸分別為精胺酸(R)與離胺酸(K)(根據Kabat編號)，且其中在該第一抗原結合部分的重鏈恆定域(CH1)中，第147位與第213位的胺基酸為麩胺酸(E)(根據Kabat EU索引編號)。

【請求項10】如請求項1至9中任一項所述之多特異性抗原結合分子，其包括擇自於下列(a1)至(a6)組合的任一者中的四個多肽：

(a1) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 219的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a2) 包括SEQ ID NO: 205的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 220的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a3) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 291的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a4) 包括SEQ ID NO: 286的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 292的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；

(a5) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 293的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)；以及

(a6) 包括SEQ ID NO: 287的胺基酸序列的多肽鏈(鏈1)、包括SEQ ID NO: 210的胺基酸序列的多肽鏈(鏈2)、包括SEQ ID NO: 294的胺基酸序列的多肽鏈(鏈3)以及包括SEQ ID NO: 225的胺基酸序列的多肽鏈(鏈4)。

【請求項11】一種單離的多核苷酸或複數個多核苷酸，其編碼如請求項1至10中任一項所述之多特異性抗原結合分子。

【請求項12】一種載體，其編碼如請求項11所述之單離的多核苷酸或複數個多核苷酸。

【請求項13】一種宿主細胞，包括如請求項11所述之單離的多核苷酸或複數個多核苷酸，或如請求項12所述之載體。

【請求項14】一種如請求項1至10中任一項所述之多特異性抗原結合分子的製造方法，包括以下步驟：

(a) 在適合表現所述之抗原結合分子的條件下，培養如請求項13所述之宿主細胞；以及

(b) 回收所述之抗原結合分子。

【請求項15】一種醫藥組成物，包括如請求項1至10中任一項所述之多特異性抗原結合分子以及醫藥上可接受的載劑。

【請求項16】如請求項1至10中任一項所述之多特異性抗原結合分子或如請求項15所述之醫藥組成物，其誘導細胞毒性，較佳為T細胞依賴性細胞毒性。

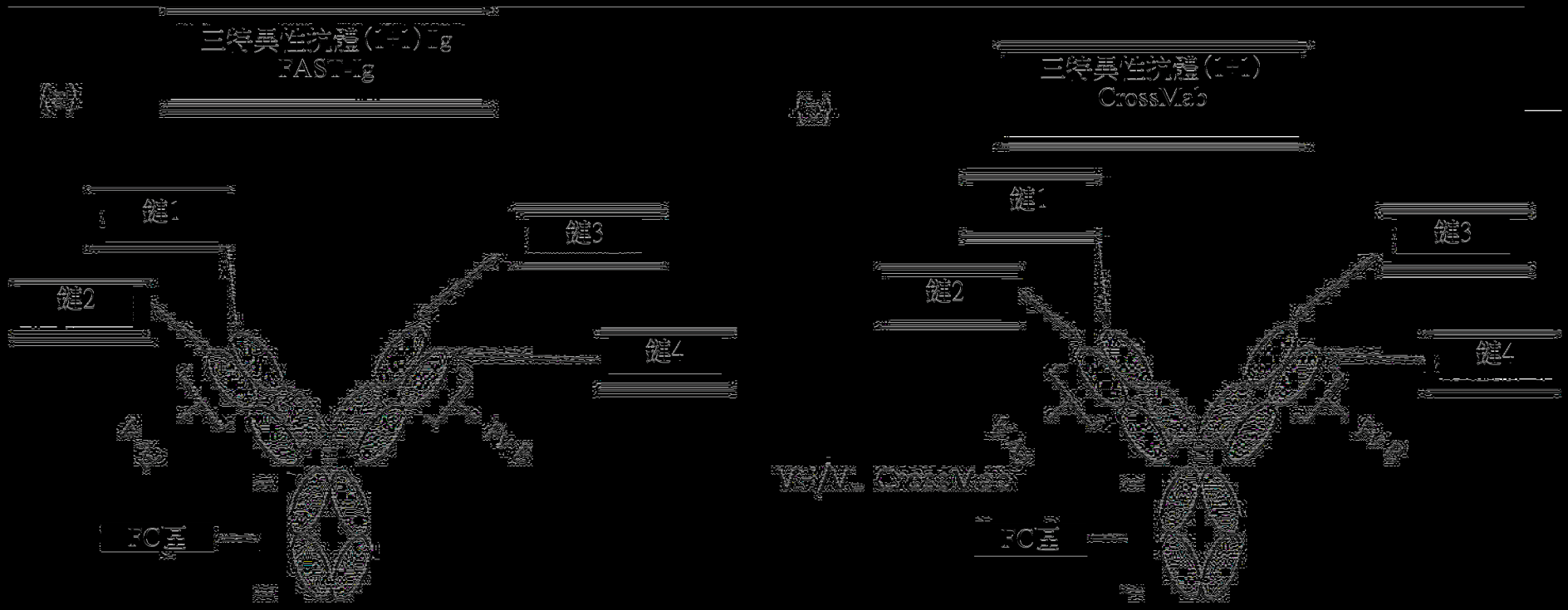
【請求項17】如請求項1至10中任一項所述之多特異性抗原結合分子或如請求項15所述之醫藥組成物，其用作為藥物。

【請求項18】如請求項1至10中任一項所述之多特異性抗原結合分子或如請求項15所述之醫藥組成物，其用於治療癌症，較佳為表現GPC3的癌症或GPC3陽性的癌症。

【發明圖式】

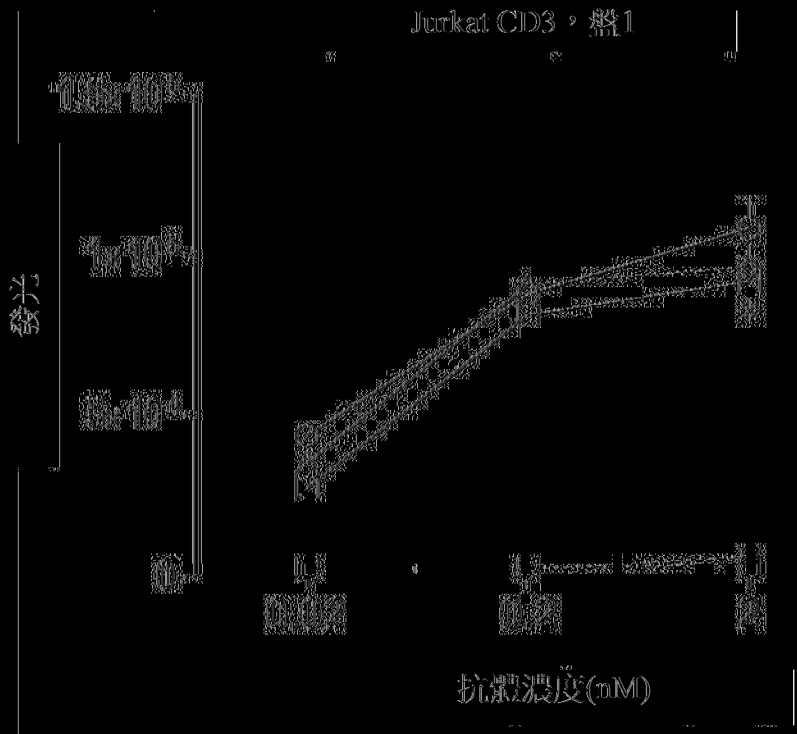

反應單位
第一次注射：hCD3eg
第二次注射
第二次注射
反應
時間
70
60
50
40
30
20
10
0
-10
200
300
400
500
600
700
800
900

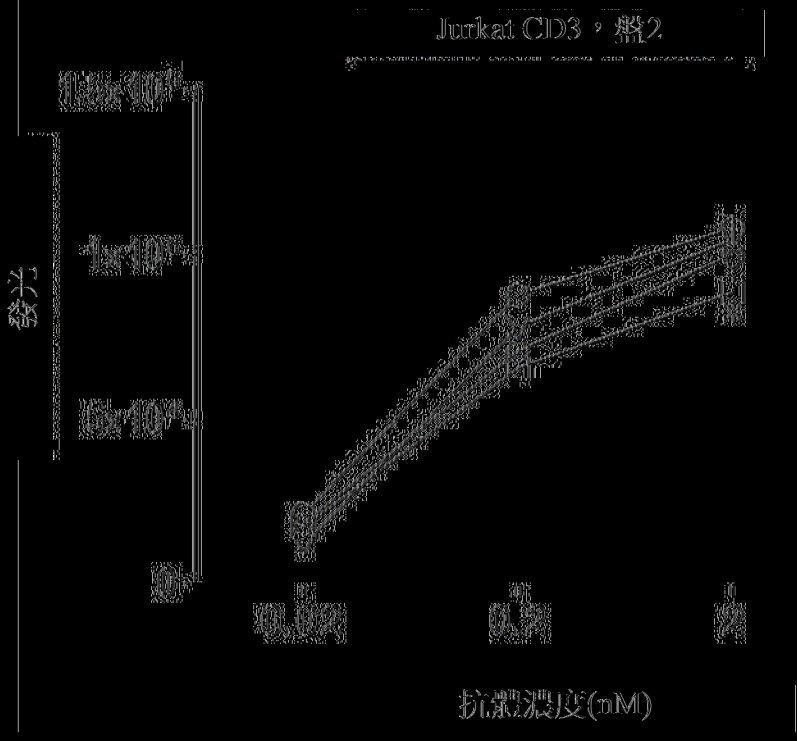
第 1 圖



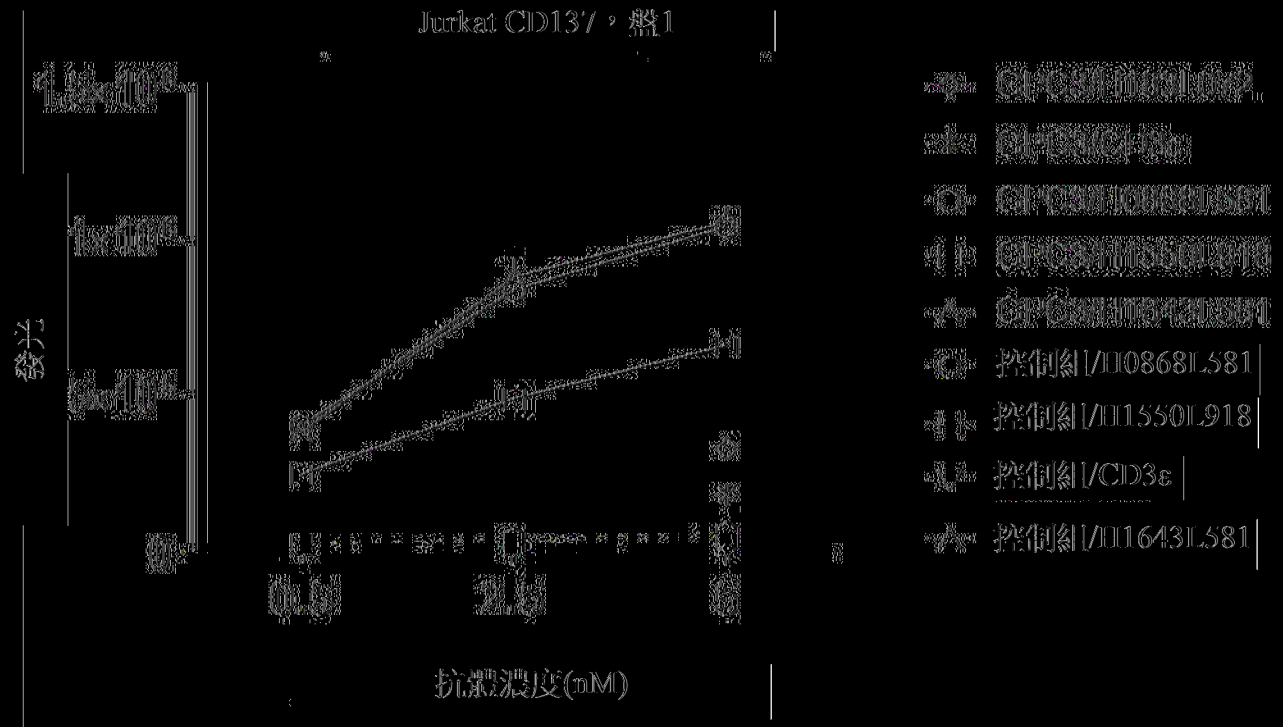
- 可變重鏈域(VH)
- 可變輕鏈域(VL)
- 恆定重鏈域1(CH1)
- 恆定輕鏈域(CL)

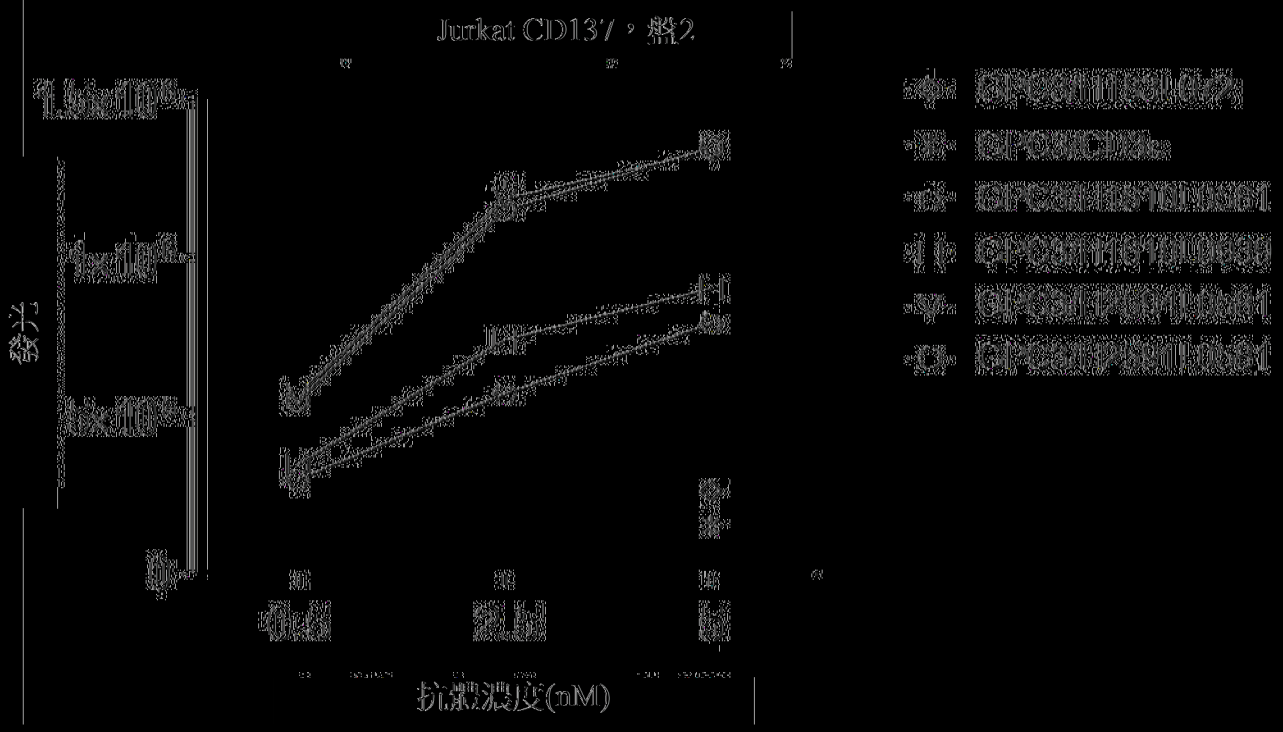
第2圖


Jurkat CD3，盤1
發光
抗體濃度(nM)
控制組/I10868L0581
控制組/I11550L0918
控制組/CD3ε
控制組/I11643L0581

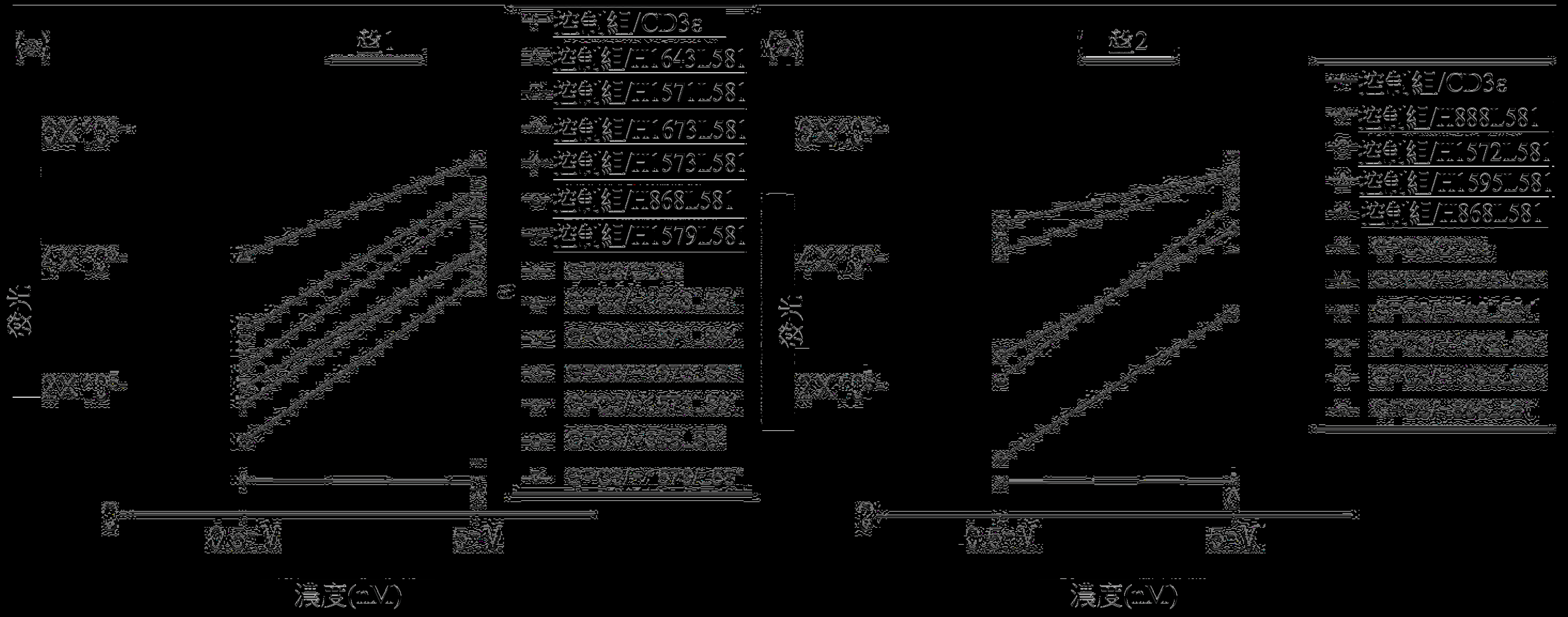

Jurkat CD3，盤2
發光
抗體濃度(nM)

第 3 圖


Jurkat CD137，盤1
發光
抗體濃度(nM)
控制組I/D0868L581
控制組I/D1550L918
控制組I/CD3ε
控制組I/D1643L581


Jurkat CD137，盤2
發光
抗體濃度(nM)

第4圖

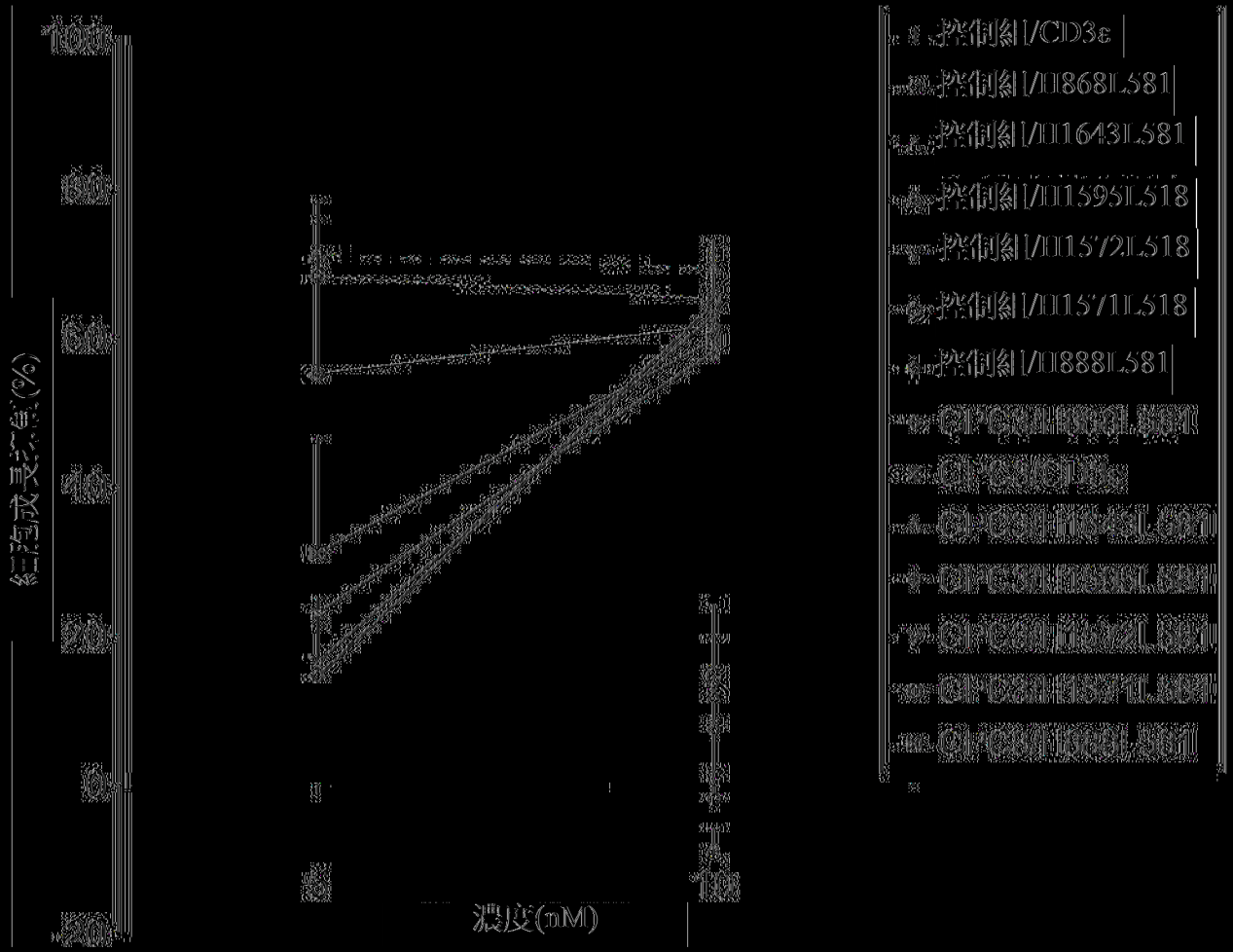

盤1
發光
濃度(nM)
0.5 nM
5 nM
控制組/CD3ε
控制組/H1643L581
控制組/H1571L581
控制組/H1673L581
控制組/H1573L581
控制組/H868L581
控制組/H1579L581
盤2
發光
濃度(nM)
0.5 nM
5 nM
控制組/CD3ε
控制組/H888L581
控制組/H1572L581
控制組/H1595L581
控制組/H868L581

第 5 圖

圖1
經荷或受傷(%)
濃度(mM)
控制組/D1643L581
控制組/D1550L918
控制組/D868L581
CPC3H1S91L584

圖2
經荷或受傷(%)
濃度(mM)
控制組/D1643L581
CPC3H1S10L561
CPC3H1S91L584
CPC3H1S10L561
CPC3H1S91L584

第6圖


100%
80%
60%
40%
20%
0%
結合或活性(%)
0
10
20
30
40
50
濃度(nM)
控制組/CD3ε
控制組/U868L581
控制組/U1643L581
控制組/U1595L518
控制組/U1572L518
控制組/U1571L518
控制組/U888L581
CPC組/U1031L581
CPC組/CD3ε
CPC組/U868L581
CPC組/U1643L581
CPC組/U1595L518
CPC組/U1572L518
CPC組/U1571L518
CPC組/U888L581

第7圖

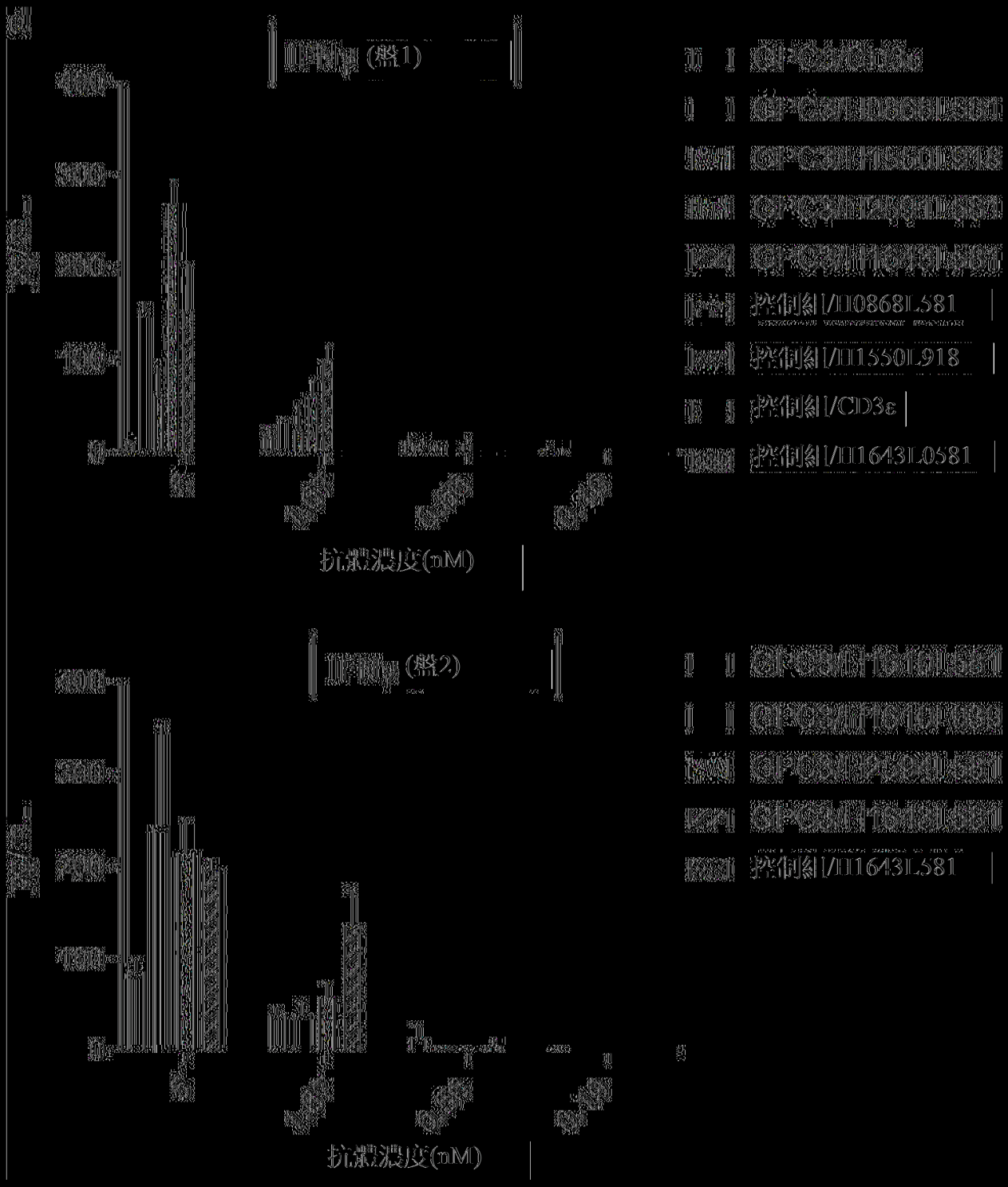
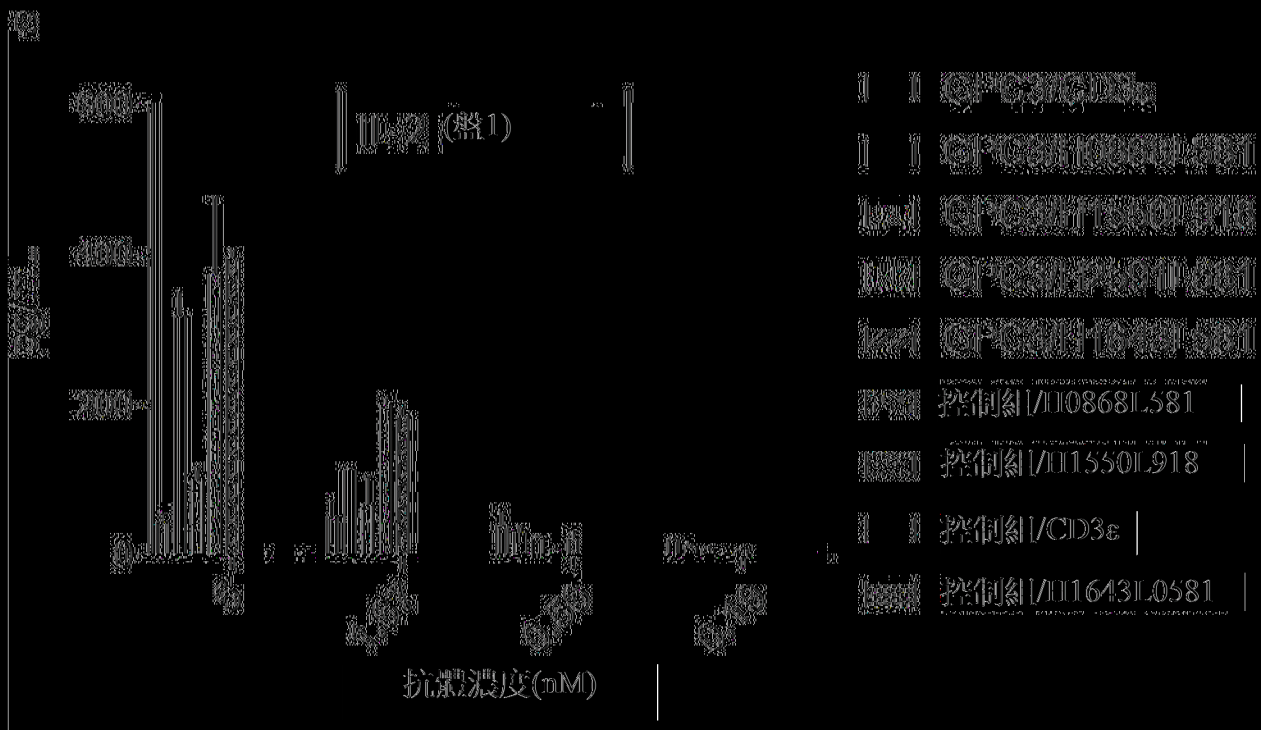
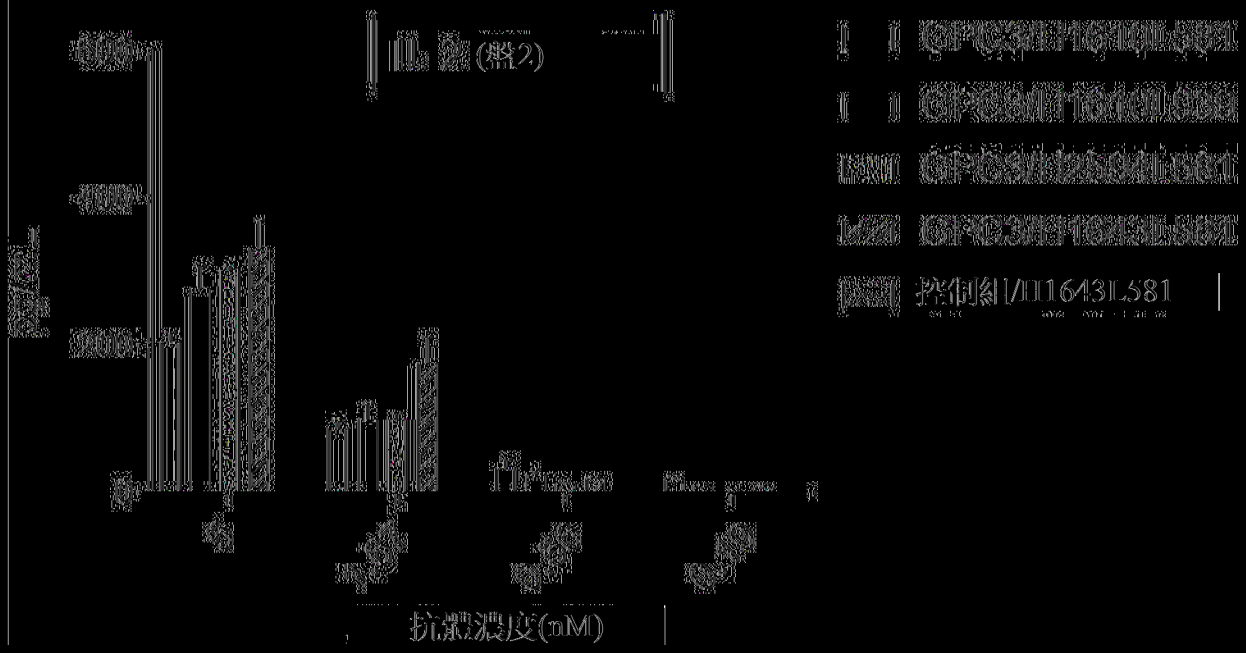


圖1
抗體濃度(nM)
控制組I/H0868L581
控制組I/H1550L918
控制組I/CD3ε
控制組I/H1643L0581
圖2
抗體濃度(nM)
控制組I/H1643L581

第 8 圖


圖(盤1)
抗體濃度(nM)
控制組I/D0868L581
控制組I/D1550L918
控制組I/CD3ε
控制組I/D1643L0581


圖(盤2)
抗體濃度(nM)
控制組I/D1643L581

第9圖

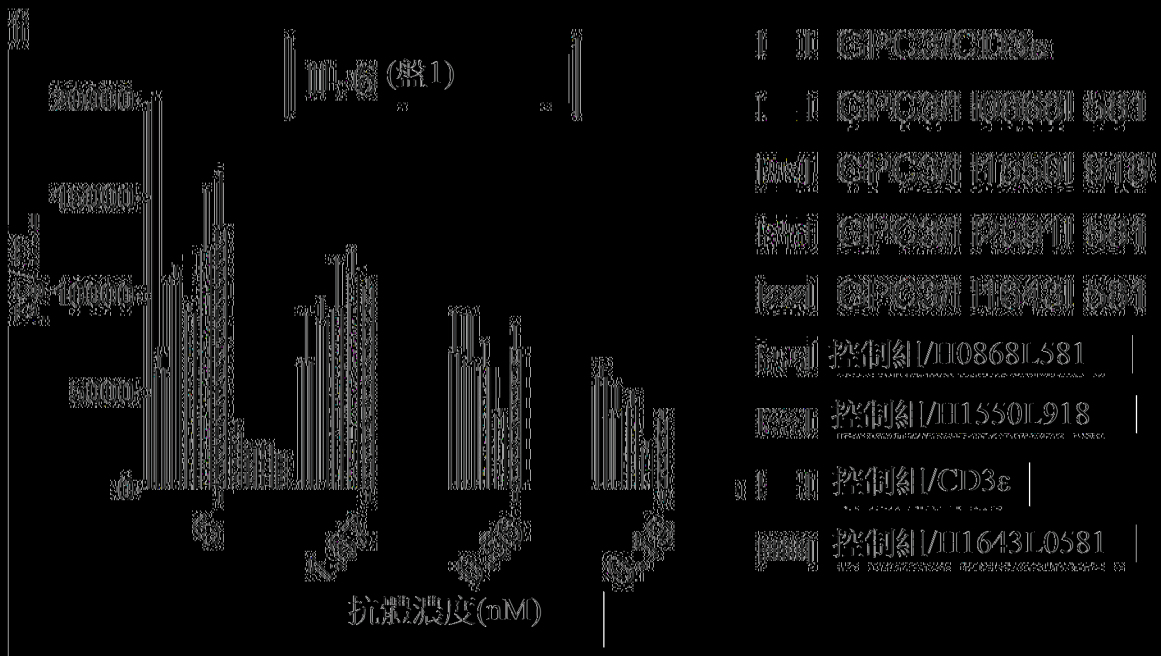


圖6 (續1)
抗體濃度(nM)
控制組I/I10868L581
控制組I/I11550L918
控制組I/CD3ε
控制組I/I11643L0581

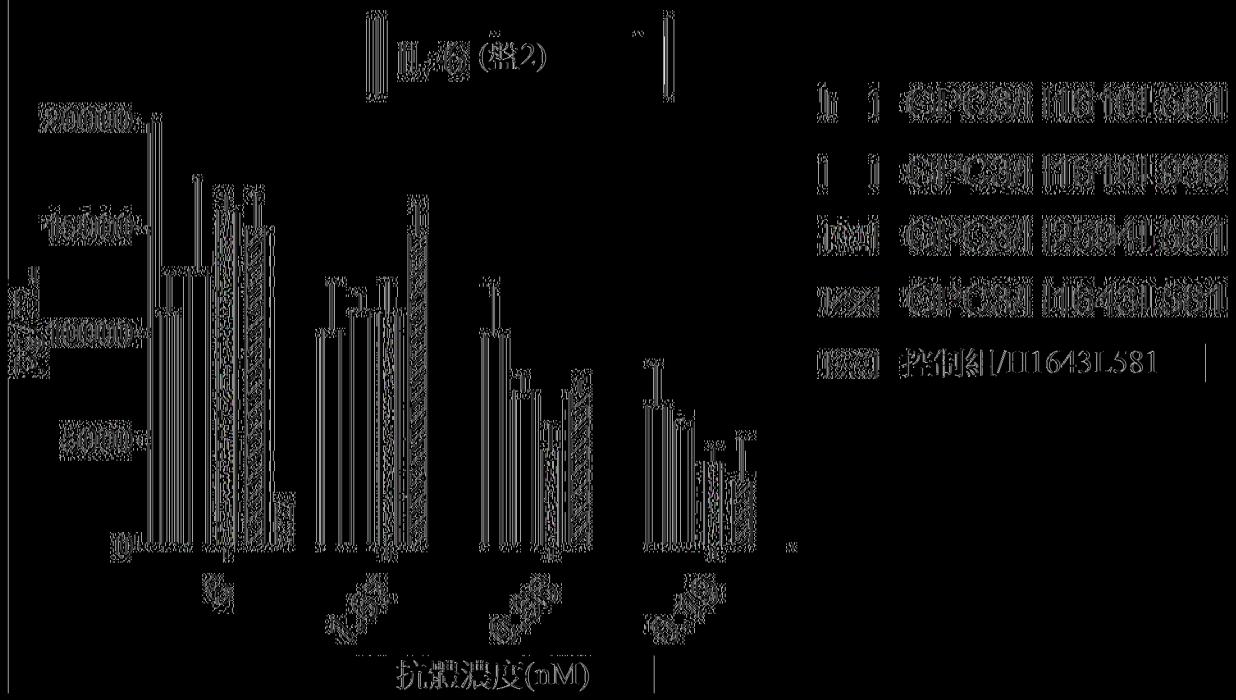
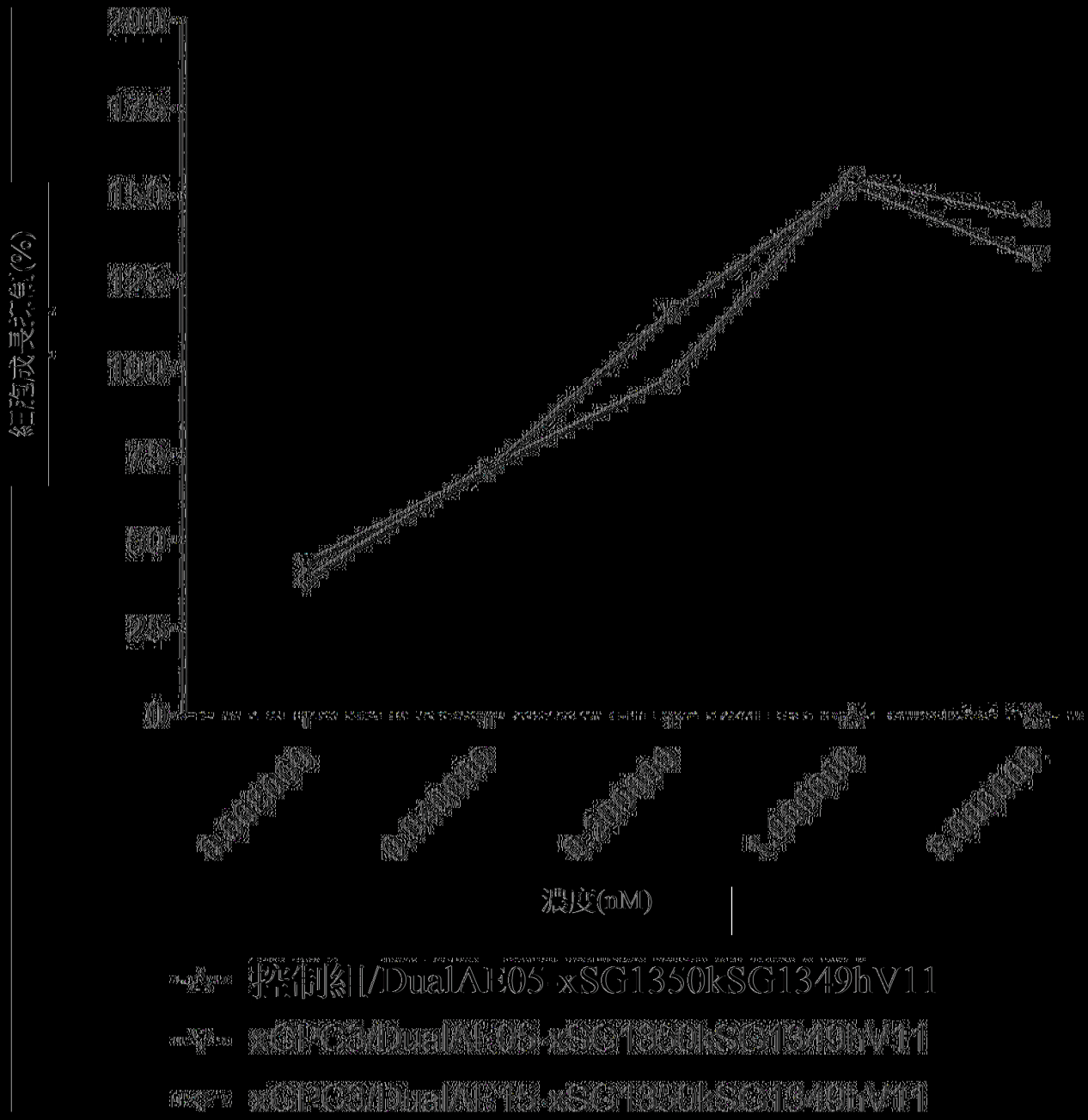


圖6 (續2)
抗體濃度(nM)
控制組I/I11643L581

第 10 圖

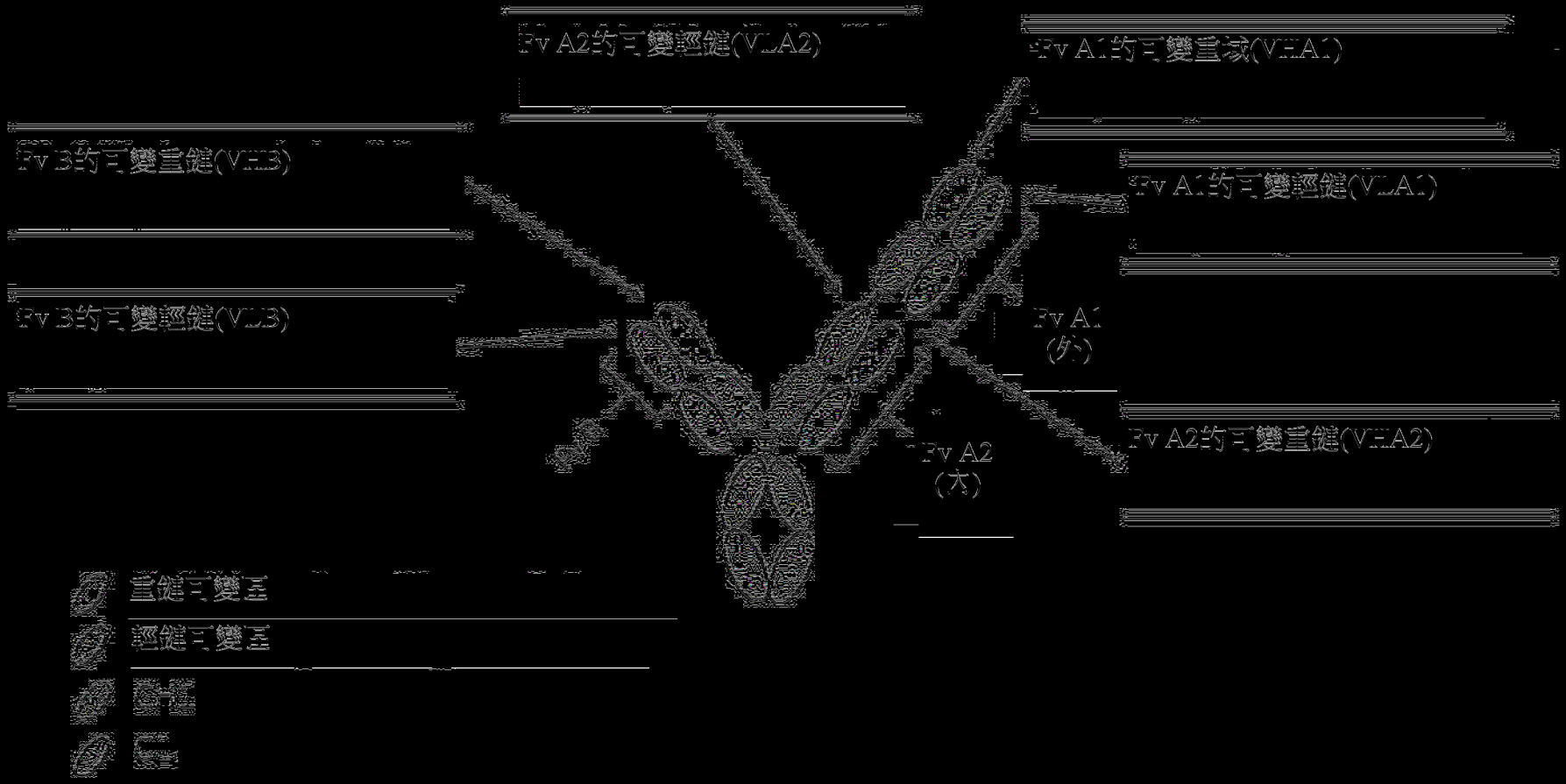

結合成長速度(%)
200
175
150
125
100
75
50
25
0
濃度(nM)
制御II/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11
制御I/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11
制御III/DualAE05-xSG1350kSG1349hV11

第11図

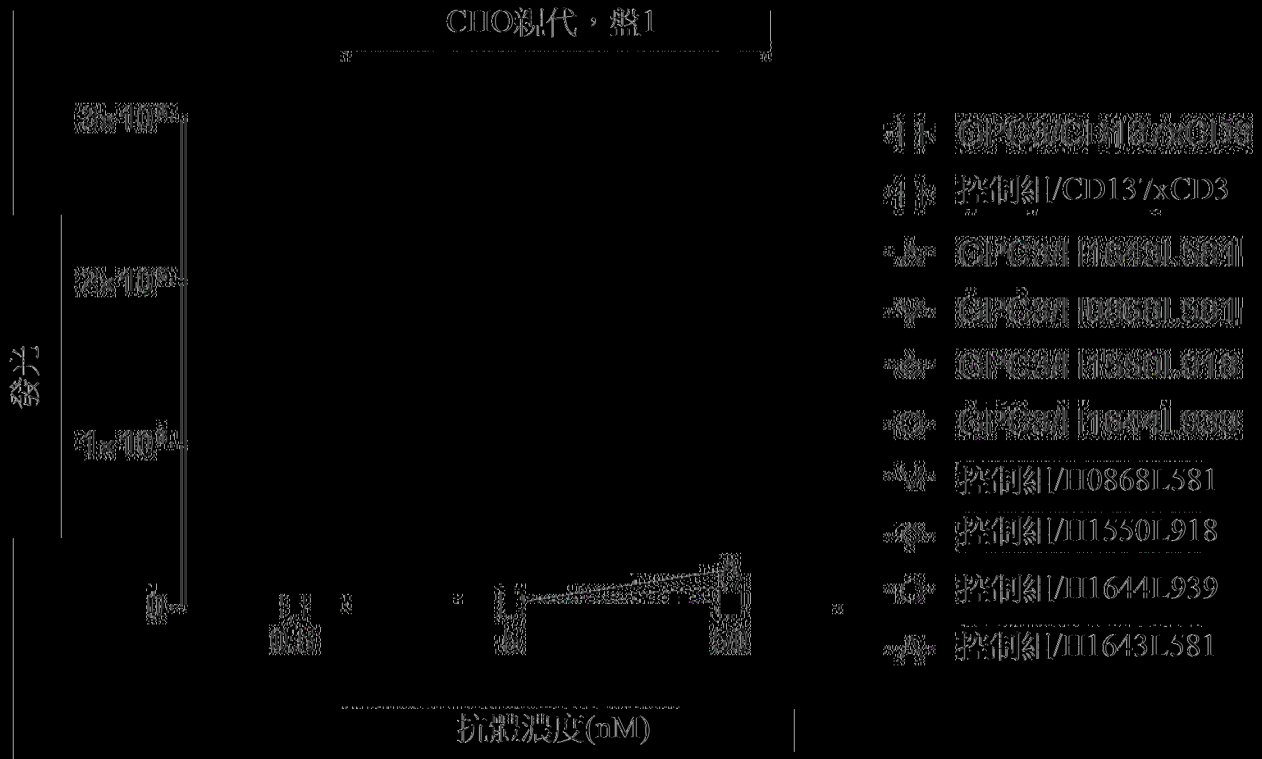

抗體A(單族抗體A)
CrossMab
抗體B(單族抗體B)
抗體AB(單族抗體AB)
Fv A1
(ﾀﾝ)
Fv A2
(ﾀｸ)
FCR
Fv A1
(ﾀﾝ)
Fv A2
(ﾀｸ)
可變重鏈域(VH)
可變輕鏈域(VL)
恆定重鏈域1(CH1)
恆定輕鏈域(CL)

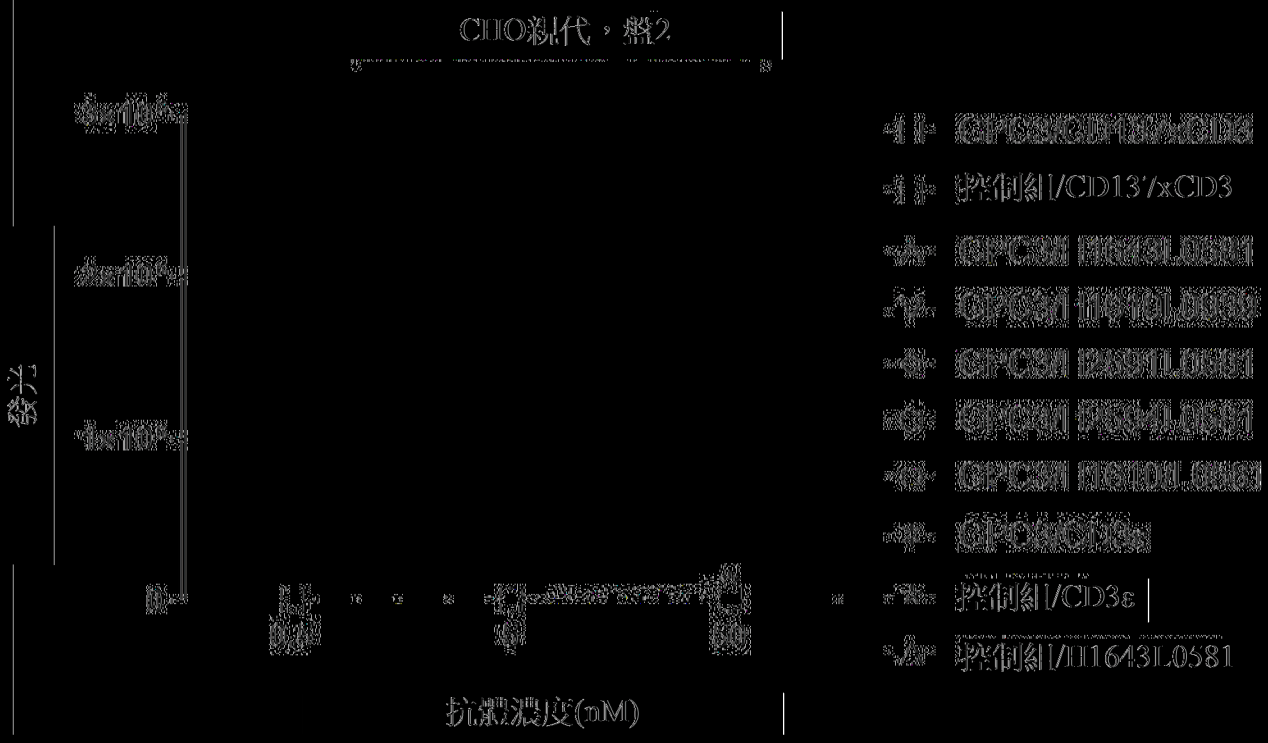
第 12 圖

命名規則

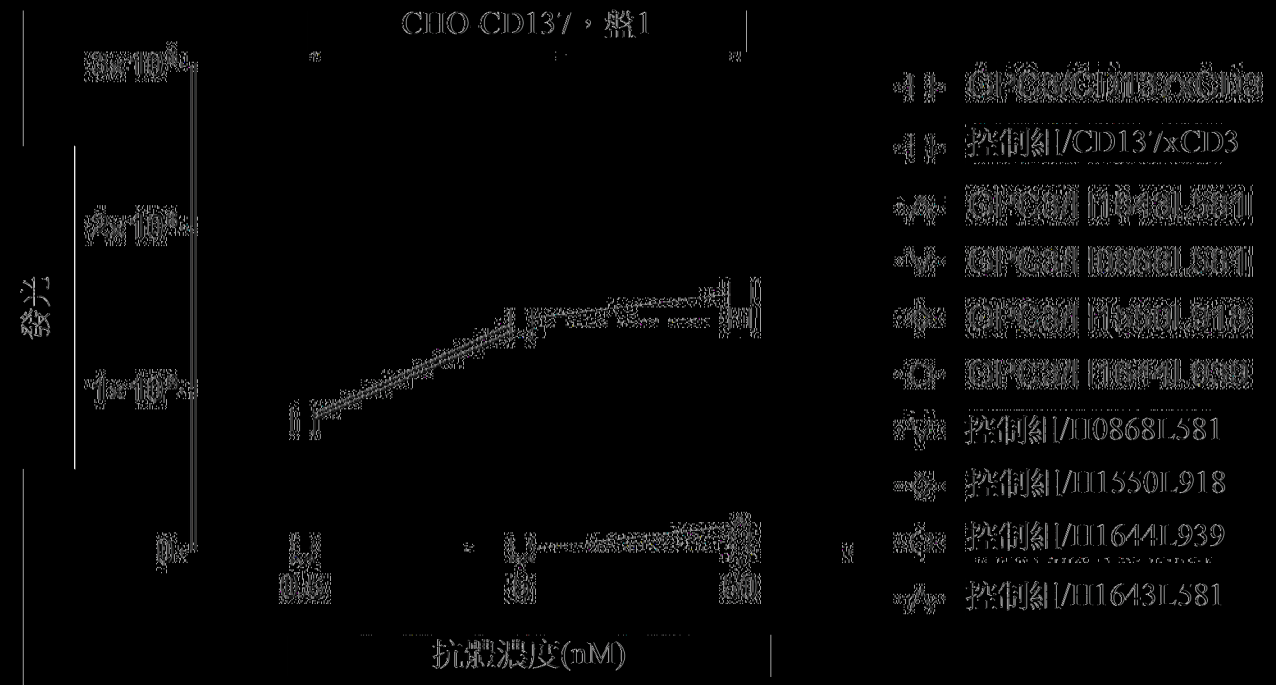

Fv A2的三變輕鍵(VLA2)
Fv A1的三變重域(VHA1)
Fv B3的三變重鍵(VHB3)
Fv A1的三變輕鍵(VLA1)
Fv B3的三變輕鍵(VLB3)
Fv A1
(外)
Fv A2
(內)
Fv A2的三變重鍵(VHA2)
重鍵三變五
輕鍵三變五
鍵
三

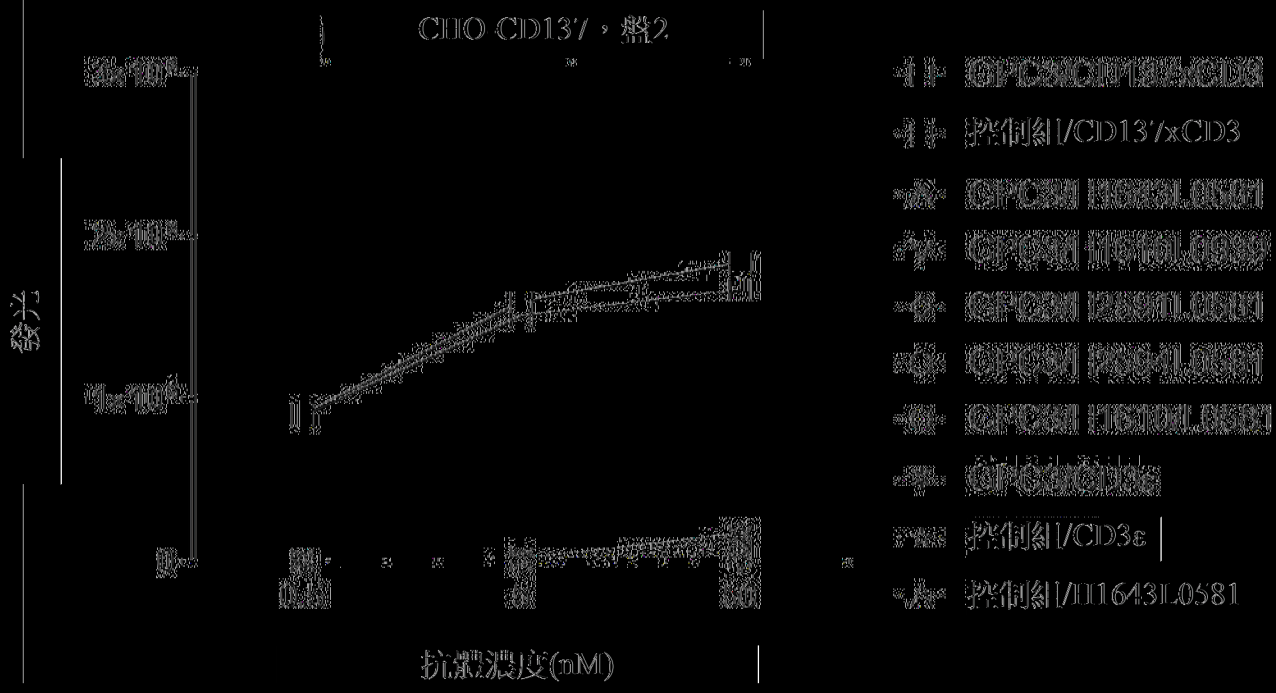
第13圖


CHO親代，盤1
效力
抗體濃度(nM)
GPC3H/CD3ε
控制組/CD13'/xCD3
GPC3H/H0868L581
GPC3H/H1550L918
GPC3H/H1644L939
GPC3H/H1643L581
控制組/H0868L581
控制組/H1550L918
控制組/H1644L939
控制組/H1643L581

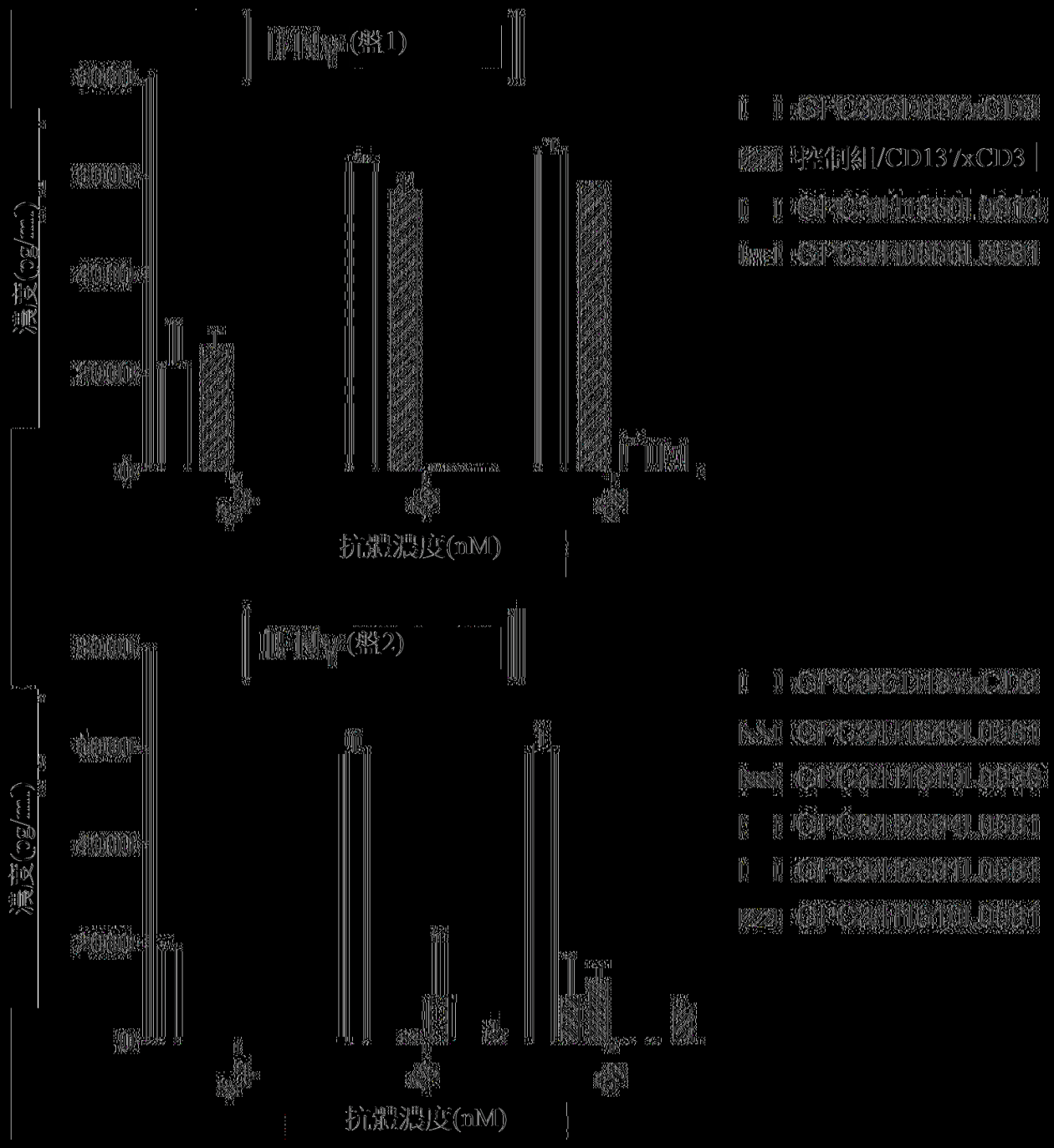

CHO親代，盤2
效力
抗體濃度(nM)
GPC3H/CD3ε
控制組/CD13'/xCD3
GPC3H/H0868L581
GPC3H/H1550L918
GPC3H/H1644L939
GPC3H/H1643L581
GPC3H/H0868L581
GPC3H/H1550L918
GPC3H/H1644L939
GPC3H/H1643L581
GPC3H/CD3ε
控制組/CD3ε
控制組/H1643L0581

第 14 圖

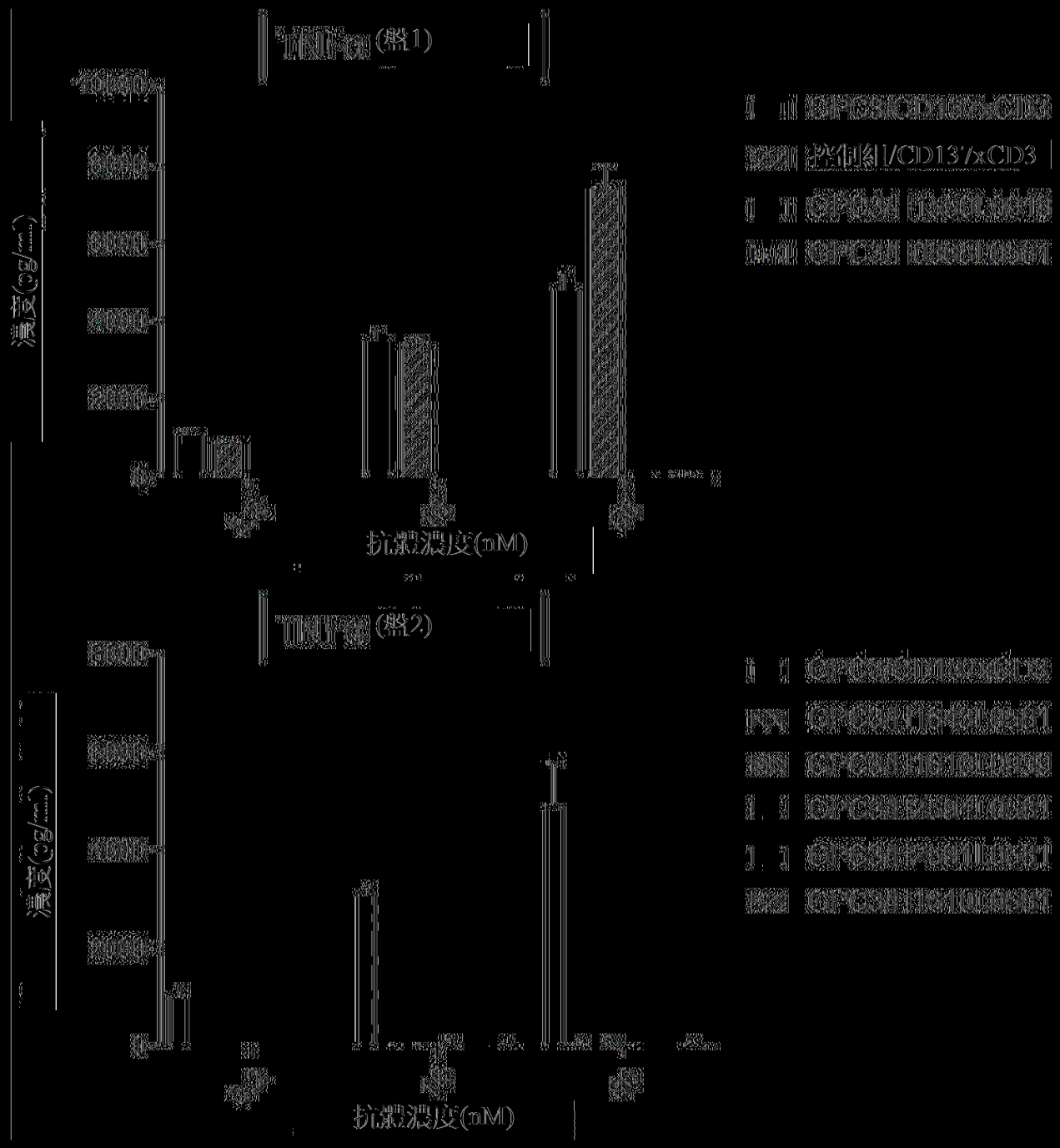

CHO-CD137，盤1
螢光
抗體濃度(nM)
控制組/CD137xCD3
控制組/H0868L581
控制組/H1550L918
控制組/H1644L939
控制組/H1643L581


CHO-CD137，盤2
螢光
抗體濃度(nM)
控制組/CD137xCD3
控制組/CD3ε
控制組/H1643L0581

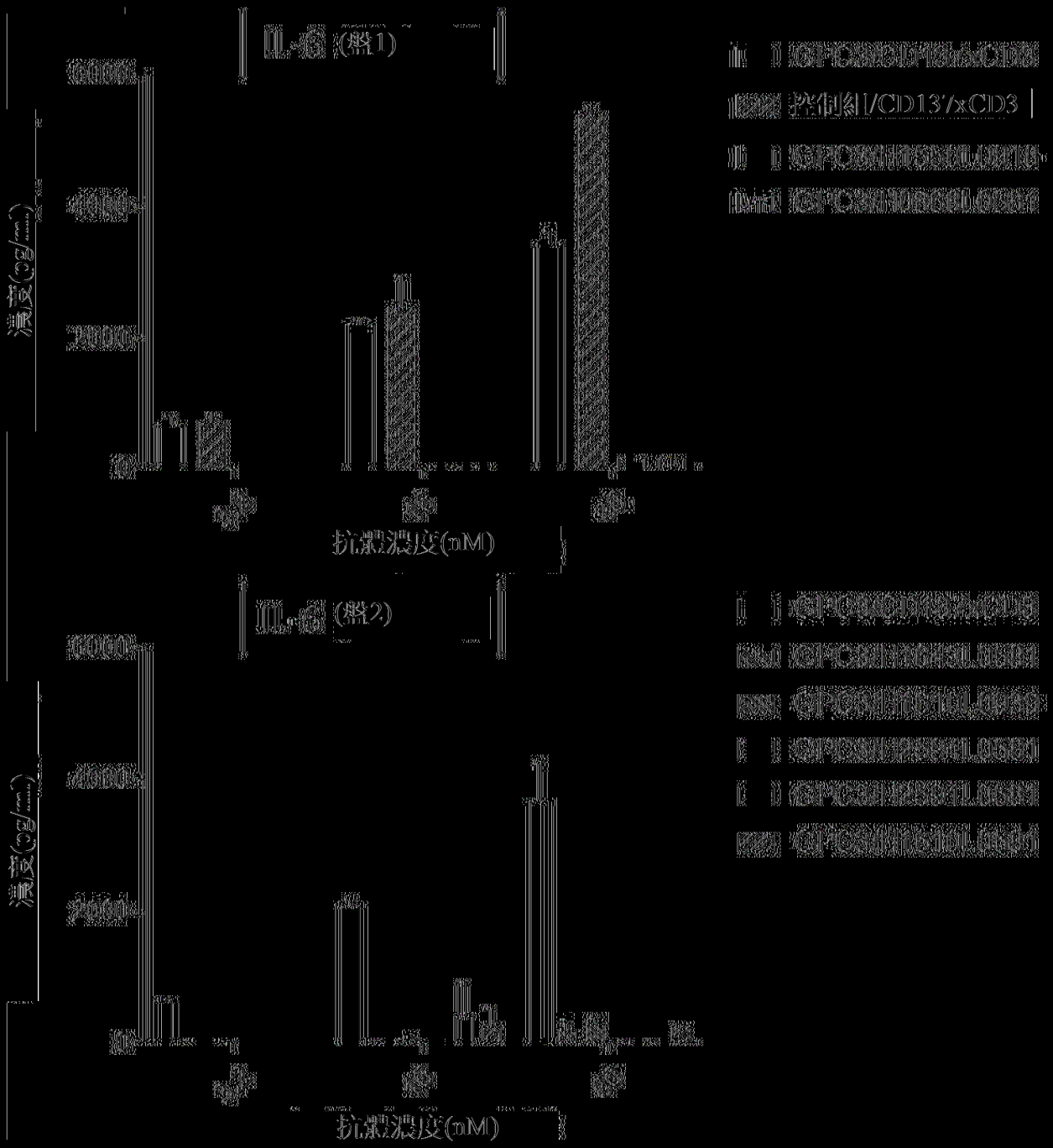
第 15 圖



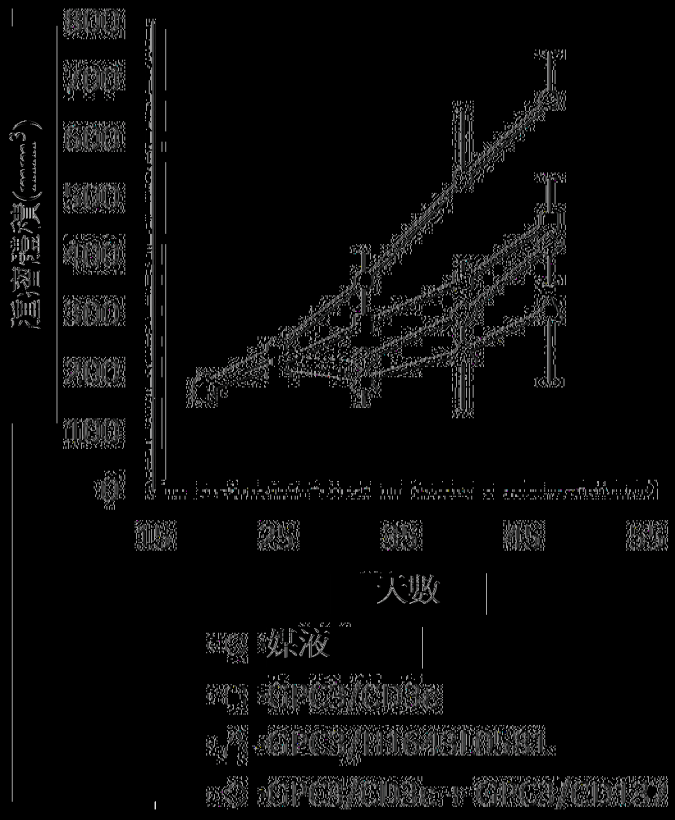
第16圖



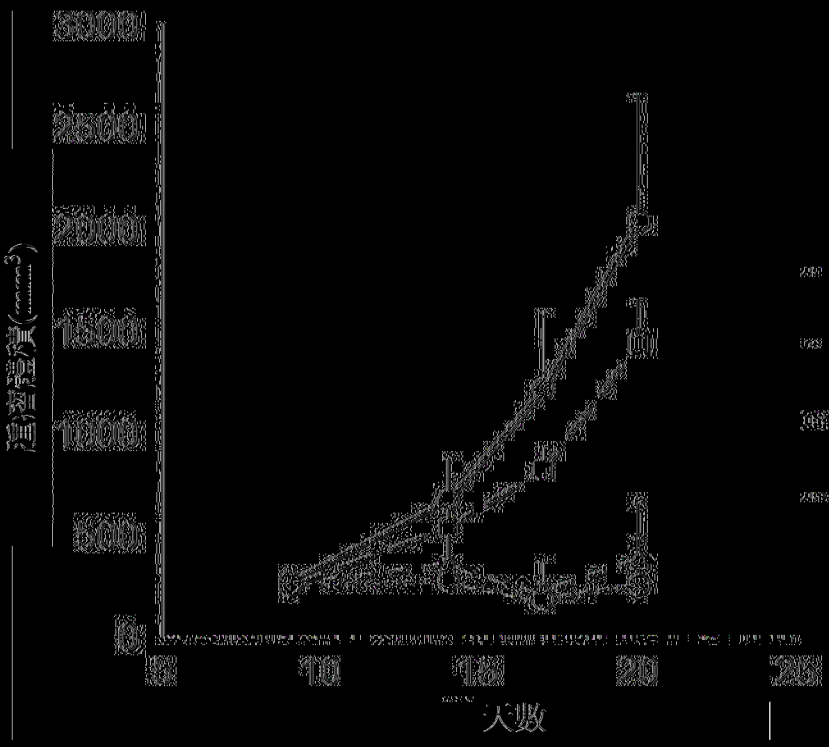
第17圖



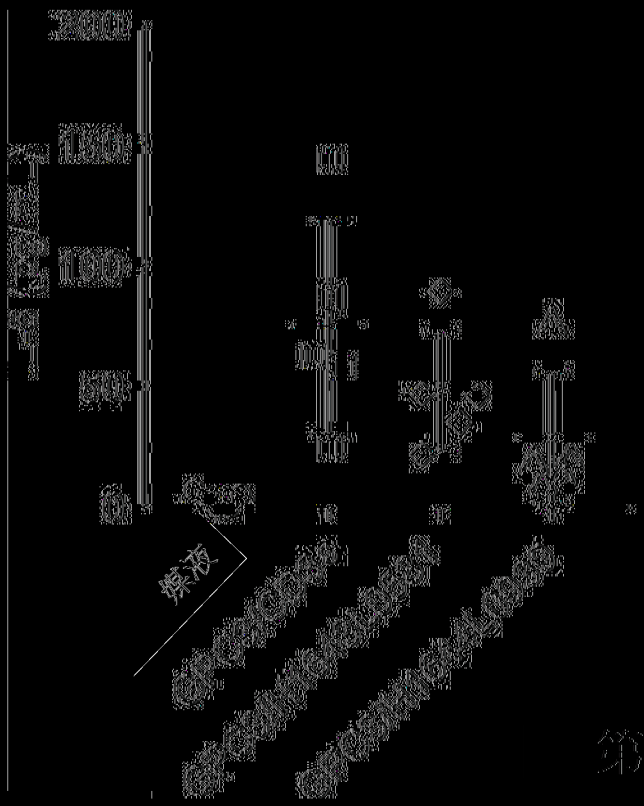
第18圖


1400
1300
1200
1100
1000
900
800
700
600
菌落直徑(mm)
0
5
10
15
20
25
天數
媒液
GPC3/PBS
GPC3/PBS+SDS
GPC3/PBS+SDS+DTT

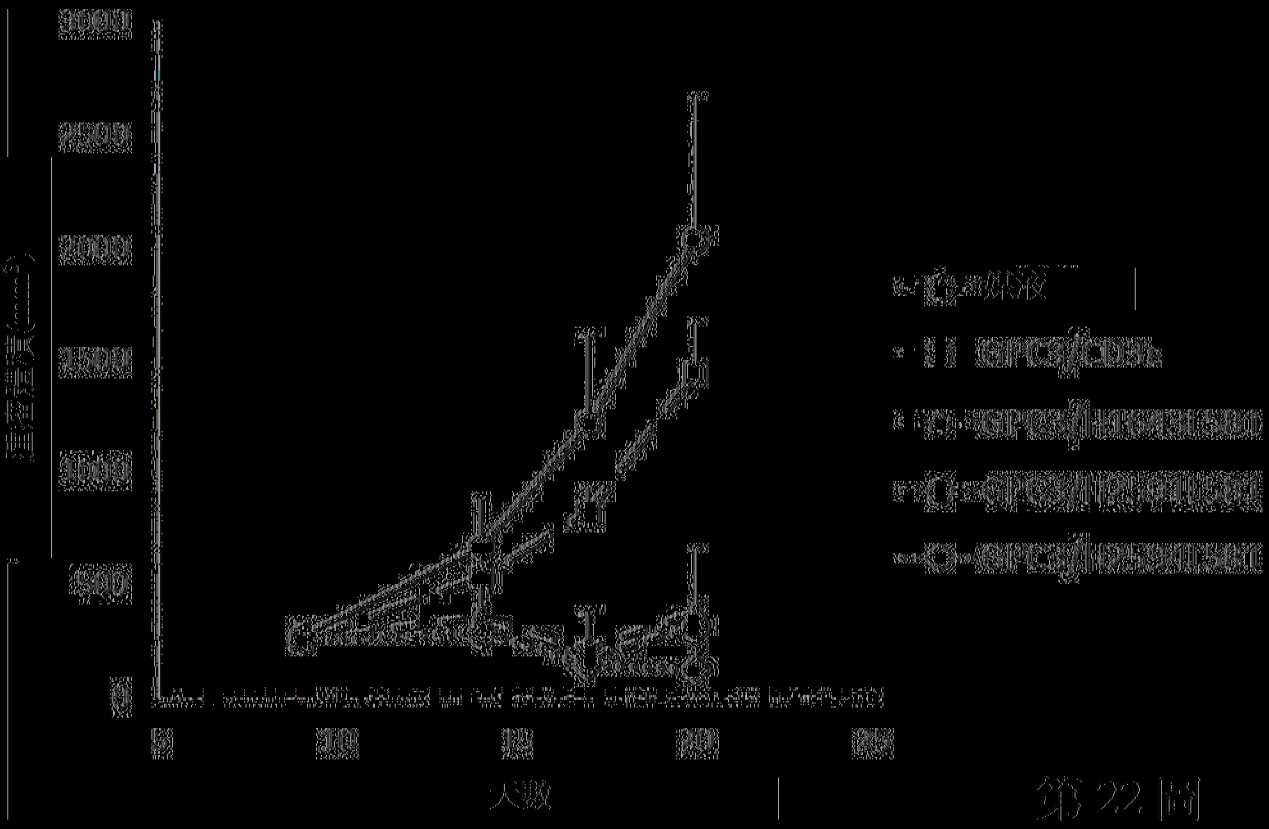
第19圖


3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
菌落直徑(mm)
0
5
10
15
20
25
天數
媒液
GPC3/PBS
GPC3/PBS+SDS
GPC3/PBS+SDS+DTT

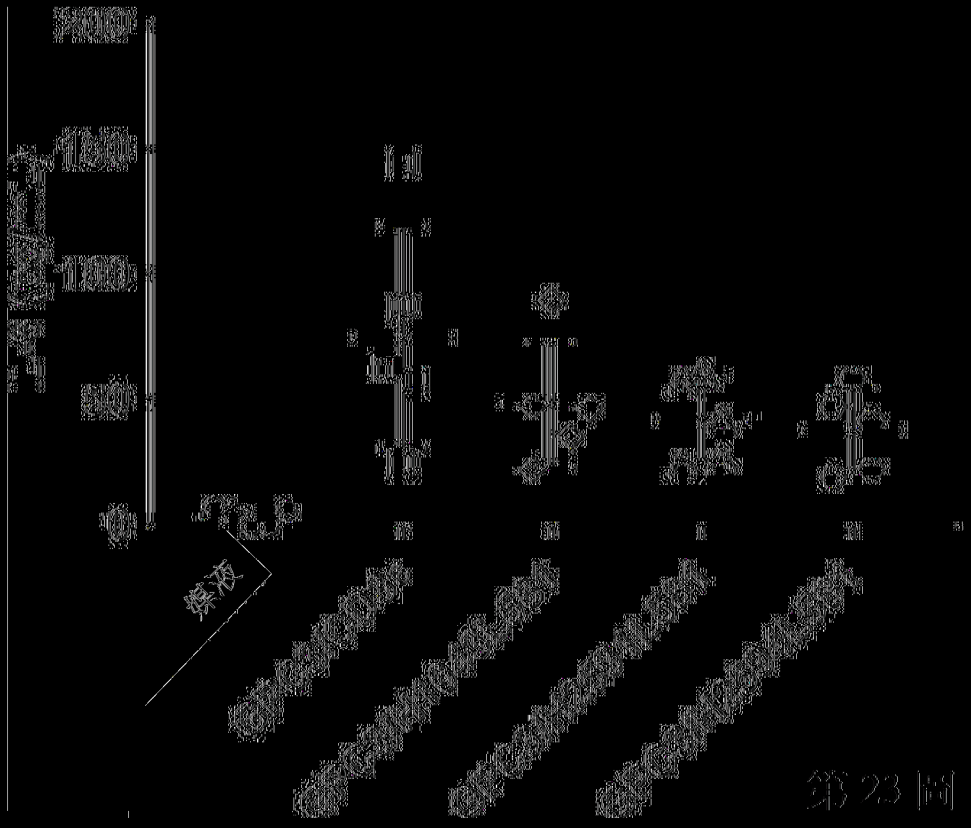
第20圖


2000
1500
1000
500
0
煤液

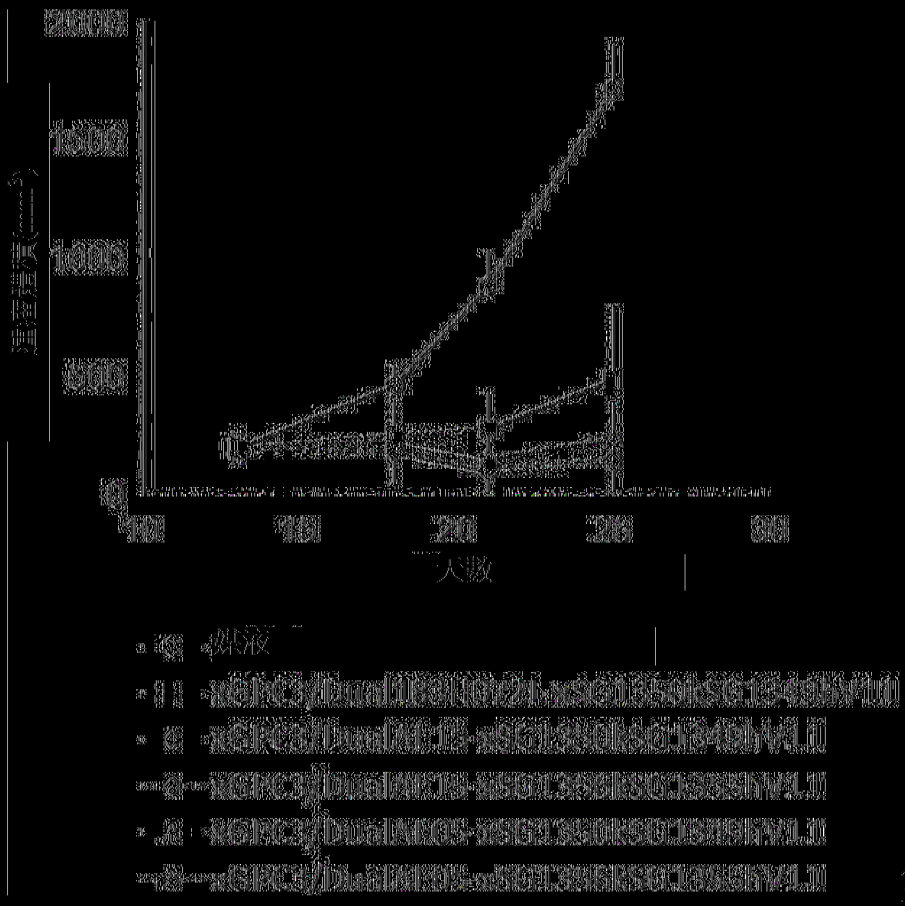
第21圖


3000
2500
2000
1500
1000
500
0
煤液
10
20
30
40
50
天數

第22圖


1500
1000
500
0
溶液
0
5
10
15
20

第 23 圖


2000
1500
1000
500
0
100
150
200
250
300
人數
溶液
SBC3/Dual/W28-s5G1S0R5C0I5S0S1N/4.0
SBC3/Dual/W28-s5G1S0R5C0I5S0S1N/4.0
SBC3/Dual/W28-s5G1S0R5C0I5S0S1N/4.0
SBC3/Dual/W28-s5G1S0R5C0I5S0S1N/4.0
SBC3/Dual/W28-s5G1S0R5C0I5S0S1N/4.0
SBC3/Dual/W28-s5G1S0R5C0I5S0S1N/4.0

第 24 圖

沿程阻力(mm3)
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
10
20
30
40
天數
漿液
GPC3/HCG-mRNA-LSD1ab
GPC3/dual/HCG-mRNA-LSD1ab

第25圖

注射後第4天的濃度(μg/m3)
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
GPC3/HCG-mRNA-LSD1ab
GPC3/dual/HCG-mRNA-LSD1ab

第26圖

第27章