I814758

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I814758 B**

(45)公告日： 中華民國 112 (2023) 年 09 月 11 日

(21)申請案號：107144245 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 12 月 07 日

(51)Int. Cl.： *A61K39/385 (2006.01)* *C07K16/28 (2006.01)*
C07K16/30 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*
A61P31/12 (2006.01)

(30)優先權：2017/12/12 美國 62/597,800

(71)申請人：美商宏觀基因股份有限公司 (美國) MACROGENICS, INC. (US)
美國

(72)發明人：迪瑞希 君朵 DIEDRICH, GUNDO (DE) ；劉麗勤 LIU, LIQIN (CN) ；李 花 華 生 LI, HUA WATSON (US) ；強生 萊斯利 JOHNSON, LESLIE S. (US)

(74)代理人：李文賢；盧建川

(56)參考文獻：

US 2016/0280795A1

期刊 Syd Johnson et al. Effector cell recruitment with novel Fv-based dual-affinity re-targeting protein leads to potent tumor cytolysis and in vivo B-cell depletion. J Mol Biol. 399(3). Epub 2010 Apr 9. 436-49.

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：46 項 圖式數：20 共 486 頁

(54)名稱

雙特異性ＣＤ１６-結合分子及其在疾病治療中的用途

(57)摘要

本發明涉及能夠結合人 CD16 的表位的分子(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb 等)(“CD16 結合分子”)。本發明進一步涉及能夠結合人 CD16 的表位和疾病抗原(“DA”)的一個或多個表位的 CD16 結合分子(例如， “CD16 x DA 結合分子”)。本發明特別地涉及這樣的 CD16 x DA 結合分子，其是抗體，或者包含其表位結合結構域，或者是雙抗體(包括 DART®雙抗體)、雙特異性抗體、TandAbs、其它多特異性結合分子(例如，三價 TRIDENT™ 分子)等。本發明特別地涉及除了能夠結合 CD16 外還能夠結合疾病抗原即癌抗原或病原體相關抗原的 CD16 x DA 結合分子。本發明特別地涉及這種 CD16 和 CD16 x DA 結合分子在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包括這種分子的藥物組合物。

The present invention is directed to molecules (e.g., an antibody, a diabody, an scFv, an antibody, a TandAb, etc.) capable of binding an epitope of human CD16 (a “CD16 Binding Molecule”). The present invention is further directed to CD16 Binding Molecules that are capable of binding an epitope of human CD16 and one or more epitope(s) of a Disease Antigen (“DA”) (e.g., a “CD16 x DA Binding Molecule”). The present invention is particularly directed to such CD16 x DA Binding Molecules that are antibodies, or that comprise an Epitope Binding Domain thereof, or are diabodies (including DART® diabodies), bispecific antibodies, TandAbs, other multispecific binding molecules (e.g., trivalent TRIDENT™ molecules), etc.

The invention particularly concerns CD16 x DA Binding Molecules that are capable of binding a Disease Antigen that is a Cancer Antigen or a Pathogen-Associated Antigen in addition to being able to bind CD16. The invention particularly concerns the use of such CD16 and CD16 x DA Binding Molecules in the treatment of cancer and pathogen-associated diseases. The present invention is also directed to pharmaceutical compositions that comprise such molecule(s).

指定代表圖：

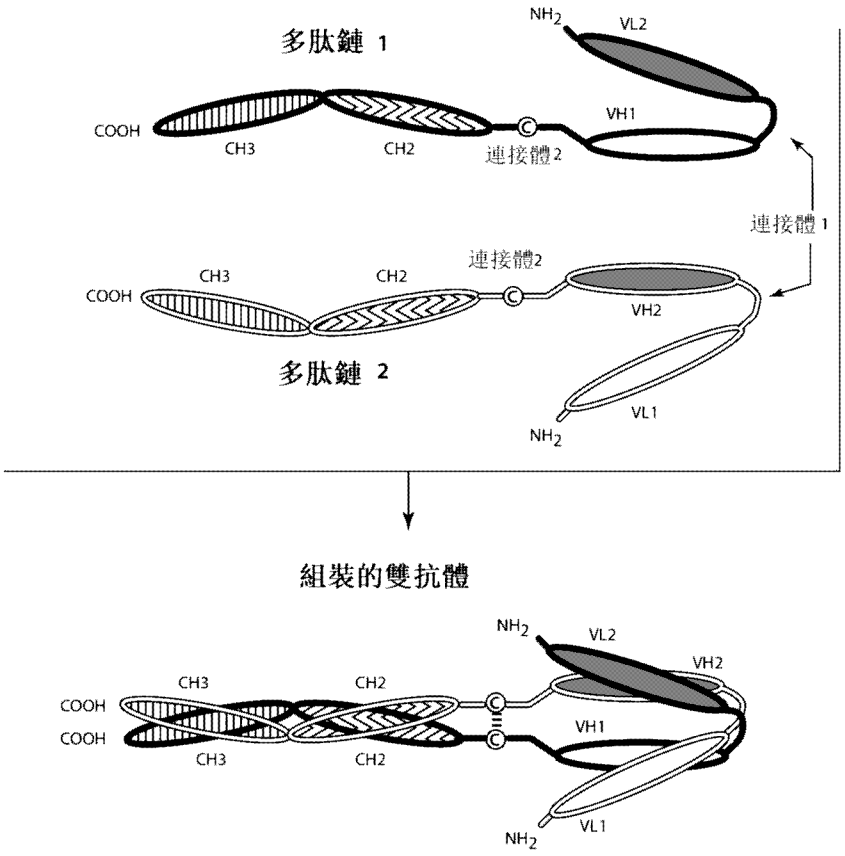


圖 2

112年04月26日 所提修正

公告本

I814758

【發明摘要】

【中文發明名稱】 雙特異性CD16-結合分子及其在疾病治療中的用途

【英文發明名稱】 Bispecific CD16-Binding Molecules and Their Use in the Treatment of Disease

【中文】

本發明涉及能夠結合人CD16的表位的分子(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb等) (“CD16結合分子”)。本發明進一步涉及能夠結合人CD16的表位和疾病抗原(“DA”) 的一個或多個表位的CD16結合分子(例如，“CD16 x DA結合分子”)。本發明特別地涉及這樣的CD16 x DA結合分子，其是抗體，或者包含其表位結合結構域，或者是雙抗體(包括DART®雙抗體)、雙特異性抗體、TandAbs、其它多特異性結合分子(例如，三價TRIDENT™分子)等。本發明特別地涉及除了能夠結合CD16外還能夠結合疾病抗原即癌抗原或病原體相關抗原的CD16 x DA結合分子。本發明特別地涉及這種CD16和CD16 x DA結合分子在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包括這種分子的藥物組合物。

【英文】

The present invention is directed to molecules (e.g., an antibody, a diabody, an scFv, an antibody, a TandAb, etc.) capable of binding an epitope of human CD16 (a “CD16 Binding Molecule”). The present invention is further directed to CD16 Binding Molecules that are capable of binding an epitope of human CD16 and one or more epitope(s) of a Disease Antigen (“DA”) (e.g., a “CD16 x DA Binding Molecule”). The

present invention is particularly directed to such CD16 x DA Binding Molecules that are antibodies, or that comprise an Epitope Binding Domain thereof, or are diabodies (including DART® diabodies), bispecific antibodies, TandAbs, other multispecific binding molecules (e.g., trivalent TRIDENT™ molecules), etc. The invention particularly concerns CD16 x DA Binding Molecules that are capable of binding a Disease Antigen that is a Cancer Antigen or a Pathogen-Associated Antigen in addition to being able to bind CD16. The invention particularly concerns the use of such CD16 and CD16 x DA Binding Molecules in the treatment of cancer and pathogen-associated diseases. The present invention is also directed to pharmaceutical compositions that comprise such molecule(s).

【指定代表圖】　圖2

【代表圖之符號簡單說明】　無

【特徵化學式】　無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 雙特異性CD16-結合分子及其在疾病治療中的用途

【英文發明名稱】 Bispecific CD16-Binding Molecules and Their Use in the Treatment of Disease

【技術領域】

【0001】 [相關申請的交叉引用]

【0002】 本申請案主張美國專利申請序號62/597,800(在2017年12月12日提交；申請中)的優先權，該申請通過引用以其全部併入本文。

【0003】 [序列表的引用]

【0004】 本申請案按照37 C.F.R. 1.821以及以下各條包括一個或多個序列表，其在電腦可讀介質上公開(檔案名：1301_0153PCT_Sequence_Listing_ST25.txt，創建於2018年12月4日，具有276,384個位元組的大小)，其檔案通過引用以其全部併入本文。

【0005】 本發明涉及能夠結合人CD16的表位的分子(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb等)(“CD16結合分子”)。本發明進一步涉及能夠結合人CD16的表位和疾病抗原(“DA”)的一個或多個表位的CD16結合分子(例如，“CD16 x DA結合分子”)。本發明特別地涉及這樣的CD16 x DA結合分子，其為抗體或者包括其表位結合結構域，或者為雙抗體(包括DART®雙抗體)、雙特異性抗體、TandAb、其它多特異性結合分子(例如，三價TRIDENT™分子)等。本發明特別地涉及CD16 x DA結合分子，所述CD16 x DA結合分子除了能夠結合CD16外還能夠結合疾病抗原，所述疾病抗原是癌抗原或病原體相關抗原。本發

明特別地涉及這種CD16和CD16 x DA結合分子在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包括這類分子的藥物組合物。

【先前技術】

【0006】 哺乳動物免疫系統充當抵禦各種病況、包括例如損傷、感染和瘤形成的防衛。人和其它哺乳動物形成對病原體、外來物質和癌抗原的免疫學應答的效率取決於兩種特徵：對抗原識別的免疫應答的高度特異性以及在用相同抗原重新啟動後允許更快且更強的應答的免疫學記憶(Portolés, P.等(2009) "The TCR/CD3 Complex: Opening the Gate to Successful Vaccination," Current Pharmaceutical Design 15:3290-3300；Guy, C.S.等(2009) "Organization of Proximal Signal Initiation at the TCR:CD3 Complex," Immunol Rev. 232(1):7-21；Topalian, S.L.等(2015) "Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy," Cancer Cell 27:450-461)。

【0007】 在健康個體中，免疫系統處於靜息狀態，受到許多不同抑制性受體和受體配體的抑制。一旦識別到癌抗原、微生物病原體或過敏原，一系列啟動受體和受體配體被觸發以誘導免疫系統的啟動。這種啟動導致巨噬細胞、自然殺傷(NK)細胞和抗原特異性的、細胞毒性的T-細胞的啟動，並且促進各種細胞因數的釋放，其全部具有對抗所察覺到的對受試者健康的威脅的作用(Dong, C.等(2003) "*Immune Regulation by Novel Costimulatory Molecules*," Immunolog. Res. 28(1):39-48；Viglietta, V.等(2007) "*Modulating Co-Stimulation*," Neurotherapeutics 4:666-675；Korman, A.J.等(2007) "*Checkpoint Blockade in Cancer*

Immunotherapy," Adv. Immunol. 90:297-339)。當抗衡抑制性免疫信號勝過啟動免疫信號時，免疫系統能夠返回到其正常靜息狀態。

【0008】 因此，癌症的疾病狀態(以及實際上傳染病的疾病狀態)可被認為反映出未能充分啟動受試者的免疫系統。這種故障可反映啟動免疫信號的呈現不足，或者它可反映減弱受試者中的抑制性免疫信號的能力不足。在一些情況下，研究者已經確定癌症細胞可以拉攏免疫系統以避免被免疫系統檢測到(Topalian, S.L.等(2015) "*Immune Checkpoint Blockade: A Common Denominator Approach to Cancer Therapy*," Cancer Cell 27:450-461)。

【0009】 涉及免疫系統啟動的受體有Fc受體：CD16、CD32和CD64。這些Fc受體見於多種類型的免疫系統細胞(例如，B淋巴細胞、濾泡樹突細胞、自然殺傷細胞、巨噬細胞、中性粒細胞、嗜酸性粒細胞、嗜鹼性粒細胞和肥大細胞)的表面上。這種受體具有"**胞外**"部分(其因此能夠連接到Fc區)、"**跨膜**"部分(其延伸通過細胞膜)、和"**細胞質**"部分(位於細胞內部)。已經鑒定了多種類型的FcγR：**CD16A (FcγRIIIA)**、**CD16B (FcγRIIIB)**、**CD32A (FcγRIIA)**、**CD32B (FcγRIIB)**、和**CD64 (FcγRI)**。這些受體結合IgG抗體的Fc部分，由此觸發啟動或抑制性信號轉導至免疫系統。

【0010】 **CD16**是啟動Fc受體**FcγRIIIA (CD16A)**和**FcγRIIIB (CD16B)**的總稱。這些受體結合IgG抗體的Fc部分，由此觸發細胞因數的釋放。如果這種抗體被結合至在細胞(例如，癌症細胞、病原體感染的細胞等)表面上表達的疾病抗原，那麼這種釋放介導殺死靶細胞。

【0011】 **CD16A**由結合聚集的而非單體的人IgG的自然殺傷(NK)細胞和組織巨噬細胞表達(Selvaraj, P.等(2004) "*Functional Regulation Of Human*

Neutrophil Fc Gamma Receptors," Immunol Res. 29(1-3):219-230；Peltz, G.A.等(1989) "*Human Fc Gamma RIII: Cloning, Expression, And Identification Of The Chromosomal Locus Of Two Fc Receptors For IgG*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86(3):1013-1017；Bachanova, V.等(2014) "*NK Cells In Therapy Of Cancer*," Crit. Rev. Oncog. 19(1-2):133-141；Miller, J.S. (2013) "*Therapeutic Applications: Natural Killer Cells In The Clinic*," Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program. 2013:247-253；Youinou, P.等(2002) "*Pathogenic Effects Of Anti-Fc Gamma Receptor IIIB (CD16) On Polymorphonuclear Neutrophils In Non-Organ-Specific Autoimmune Diseases*," Autoimmun Rev. 1(1-2):13-19；Peipp, M.等(2002) "*Bispecific Antibodies Targeting Cancer Cells*," Biochem. Soc. Trans. 30(4):507-511；Unkeless, J.C.等(1995) "*Function Of Human Fc Gamma RIIA And Fc Gamma RIIIB*," Semin. Immunol. 7(1):37-44)。

【0012】 由自然殺傷(NK)細胞表達CD16A尤其與本發明相關，因為這種細胞當它們的CD16分子結合至抗體的Fc區時釋放細胞因數。因此，當天然抗體結合至靶細胞的疾病抗原時，其Fc區可被自然殺傷細胞的CD16分子識別，其然後介導靶細胞的殺傷。因為這種殺傷是抗體依賴性的，所以它被稱為**抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(ADCC)**。ADCC因此依賴於之前的抗體應答，並且如所述，要求表達FcγR的效應細胞(典型地自然殺傷(NK)細胞，以及巨噬細胞、中性粒細胞和嗜酸性粒細胞)的存在和參與。CD16A通過與NK細胞的CD ξ蛋白相互作用發送ADCC信號，並且通過與巨噬細胞FcγR鏈相互作用發送巨噬細胞介導的殺傷的信號。

【0013】 CD16A具有兩種主要的多態形式**F158**和**V158**，其區別在於在殘基158處具有苯丙氨酸或纈氨酸(如CD16A的胞外結構域的殘基160所示(**圖7**)，其對應於全長蛋白的殘基176 (Wu, J.等(1997) "*A Novel Polymorphism of FcγRIIIa (CD16) Alters Receptor Function and Predisposes to Autoimmune Disease*," J. Clin.Invest. 100(5):1059-1070；Ravetch, J. V.等(1989) "*Alternative Membrane Forms Of FcγRIII(CD16) On Human Natural Killer Cells And Neutrophils*," J. Exper. Med. 170:481-497；Koene, H.R.等(1997) "*FcγRIIIa-158V/F Polymorphism Influences the Binding of IgG by Natural Killer Cell FcγRIIIa, Independently of the FcγRIIIa-48L/R/H Phenotype*," Blood, 90(3):1109-1114；van Sorge, N.M. (2003) "*FcgammaR Polymorphisms: Implications For Function, Disease Susceptibility And Immunotherapy*," Tissue Antigens 61(3):189-202；Fijen, C.A. (2000) "*The Role Of Fcgamma Receptor Polymorphisms And C3 In The Immune Defence Against Neisseria Meningitidis In Complement-Deficient Individuals*," Clin. Exp. Immunol. 120(2):338-345)。50%的高加索人對於苯丙氨酸多態性是純合的(F158/F158)，而39%高加索人對於這種多態性是雜合的(F158/V158)以及11%的高加索人對於纈氨酸多態性是純合的(V158/V158)。

【0014】 **CD16B**在中性粒細胞上表達，並且錨定到糖基磷脂醯肌醇("**GPI-錨定的**") (Meknache, N.等(2009) "*Human Basophils Express The Glycosylphosphatidylinositol-Anchored Low-Affinity IgG Receptor FcgammaRIIIB (CD16B)*," J. Immunol. 182(4):2542-2550；Fernandes, M.J.等(2006) "*CD16b Associates With High-Density, Detergent-Resistant Membranes In Human Neutrophils*," Biochem. J. 393(Pt 1):351-359；Selvaraj, P.等(2004) "*Functional*

Regulation Of Human Neutrophil Fc Gamma Receptors," Immunol Res. 29(1-3):219-230；Unkeless, J.C.等(1995) "*Function Of Human Fc Gamma RIIA And Fc Gamma RIIIB*," Semin. Immunol. 7(1):37-44)。儘管被認為是誘餌受體，但是它也可傳遞信號(Fernandes, M.J. (2005) "*Signaling Through CD16b In Human Neutrophils Involves The Tec Family Of Tyrosine Kinases*," J. Leukoc. Biol. 78(2):524-532)，並且在細胞啟動後通過ADAM17下調/切割(Wang, Y.等(2013) "*ADAM17 Cleaves CD16b (FcγRIIIb) In Human Neutrophils*," Biochim. Biophys. Acta 1833(3):680-685；Guo, S.等(2012) "*Role of ADAM10 and ADAM17 in CD16b Shedding Mediated By Different Stimulators*," Chin. Med. Sci. J. 27(2):73-79)。

【0015】 CD16B具有兩種主要的多態形式**NA1**和**NA2**，其對於IgG1和IgG3亞類呈現不同的結合親和力(Bournazos, S.等(2010) "*Fcγ Receptor IIIb (CD16b) Polymorphisms Are Associated With Susceptibility To Idiopathic Pulmonary Fibrosis*," Lung 188(6):475-481；van Sorge, N.M. (2003) "*FcgammaR Polymorphisms: Implications For Function, Disease Susceptibility And Immunotherapy*," Tissue Antigens 61(3):189-202)。13%的高加索人和16%的印度人對於NA1多態性是純合的(NA1/NA1)，而55%的高加索人和28%的印度人對於這種多態性是雜合的(NA1/NA2)以及32%的高加索人和55%的印度人對於NA2多態性是純合的(NA2/NA2)。人CD16A和CD16B同種異型的比對顯示在圖**7**中。

【0016】 **CD32A** (**FcγRIIA**) (Brandsma, A.M. (2015) "*Fc Receptor Inside-Out Signaling And Possible Impact On Antibody Therapy*," Immunol Rev. 268(1):74-87；van Sorge, N.M.等(2003) "*FcgammaR Polymorphisms: Implications For Function, Disease Susceptibility And Immunotherapy*," Tissue Antigens

61(3):189-202；Selvaraj, P.等(2004) "*Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc Gamma Receptors*," Immunol. Res. 29(1-3):219-230)和**CD64** (**FcγRI**) (Lu, S.等(2015) "*Structural Mechanism Of High Affinity FcγRI recognition Of Immunoglobulin G*," Immunol. Rev. 268(1):192-200；Swisher, J.F.等(2015) "T*he Many Faces Of FcγRI: Implications For Therapeutic Antibody Function*," Immunol. Rev. 268(1):160-174；Thepen, T.等(2009) "*Fcgamma Receptor 1 (CD64), A Target Beyond Cancer*," Curr. Pharm. Des. 15(23):2712-2718；Rouard, H.等(1997) "*Fc Receptors As Targets For Immunotherapy*," Int. Rev. Immunol. 16(1-2):147-185)是在巨噬細胞、中性粒細胞、嗜酸性粒細胞和樹突細胞上(對於**CD32A**，也在血小板和朗格罕細胞上)表達的啟動型Fc受體。相反，**CD32B** (**FcγRIIB**)是在B淋巴細胞(巨噬細胞、中性粒細胞和嗜酸性粒細胞)上表達的抑制型Fc受體(Stopforth, R.J.等(2016) "*Regulation of Monoclonal Antibody Immunotherapy by FcγRIIB*," J. Clin. Immunol. [2016 Feb 27 Epub], pp. 1-7；Bruhns, P.等(2009) "*Specificity And Affinity Of Human Fcgamma Receptors And Their Polymorphic Variants For Human IgG Subclasses*," Blood. 113(16):3716-3725；White, A.L.等(2014) "FcγRIIB *As A Key Determinant Of Agonistic Antibody Efficacy*," Curr. Top. Microbiol. Immunol. 382:355-372；Selvaraj, P.等(2004) "*Functional Regulation Of Human Neutrophil Fc Gamma Receptors*," Immunol. Res. 29(1-3):219-230)。

【0017】 不同FcγRs介導截然相反的功能的能力反映了它們的結構不同，尤其是FcγR是否具有免疫受體酪氨酸啟動基序("**ITAM**")或免疫受體酪氨酸抑制基序("**ITIM**")。不同細胞質酶募集到這些結構指示FcγR-介導的細胞應答的結果。含ITAM的FcγR包括FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIIA，並且當結合至Fc區時啟動

免疫系統(例如，存在於免疫複合物中的聚集Fc區)。FcγRIIB是目前已知的唯一天然含ITIM的FcγR；它當結合至聚集的Fc區時起到減弱或抑制免疫系統的作用。

【0018】 儘管針對特定疾病抗原表位的天然IgG抗體具有可與CD16相互作用以啟動受試者的免疫應答的Fc區，但在許多疾病和許多受試者的情況下，這種免疫系統啟動不足以提供對該疾病的有效治療。因此，儘管之前在鑒定涉及哺乳動物免疫應答的分子方面已經有所進步，但是仍然需要用於治療癌症和傳染病的改進療法。本發明的CD16-結合分子以及具體地本發明的**CD16 x DA結合分子**(其包括CD16結合結構域和對在靶細胞上表達的疾病抗原特異性的結合結構域)，能夠將CD16-表達細胞共定位到表達疾病抗原的細胞位點。這種共定位通過增加針對疾病抗原表位的抗體的Fc部分將結合表達CD16的效應細胞的可能性而提高了ADCC-介導的目標細胞的殺傷，並且通過這種Fc-CD16相互作用，觸發免疫系統啟動以及針對靶細胞的細胞因數的釋放。因此，本發明涉及提高受試者對疾病抗原和其他目標的免疫應答的啟動。

【發明內容】

【0019】 本發明涉及能夠結合人CD16的表位的分子(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb等) (“**CD16結合分子**”)。本發明進一步涉及能夠結合人CD16的表位和疾病抗原(“**DA**”)的一個或多個表位的CD16結合分子(例如，“**CD16 x DA結合分子**”)。本發明特別地涉及這樣的**CD16 x DA**結合分子，其為抗體、或者包括抗體的表位結合結構域、或者是雙抗體(包括DART®雙抗體)、雙特異性抗體、TandAb、其它多特異性結合分子(例如，三價TRIDENT™分子)等。本發明特別地涉及**CD16 x DA**結合分子，其除了能夠結合CD16之外還能夠

結合疾病抗原，所述疾病抗原是癌抗原或病原體相關抗原。本發明特別地涉及這種**CD16和CD16 x DA**結合分子在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包括這種分子的藥物組合物。

【0020】 詳細地，本發明提供**CD16 x 疾病抗原(CD16 x DA)**結合分子，其包括能夠結合CD16的表位的CD16結合結構域以及能夠結合疾病抗原的表位的疾病抗原-結合結構域，其中所述CD16結合結構域包括下列中的一種或多種：

(I) (A) 包含**SEQ ID NO:66**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:67**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:68或SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:74**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:70**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含**SEQ ID NO:71或SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；

(II)(A) 包含**SEQ ID NO:77**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含**SEQ ID NO:78**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含**SEQ ID NO:79**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含**SEQ ID NO:80**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含**SEQ ID NO:81**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；**和**

(F) 包含**SEQ ID NO:82**的氨基酸序列的CDR_L3結構域；

(III) 包含**SEQ ID NO:72**、**SEQ ID NO:83**、**SEQ ID NO:84**、或**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域；

(IV) 包含**SEQ ID NO:73**、**SEQ ID NO:85**或**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域；

(V) 包含**SEQ ID NO:72**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:73**的氨基酸序列的VL結構域；和

(VI) 包含**SEQ ID NO:83**或**SEQ ID NO:84**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:85**的氨基酸序列的VL結構域；

(VII) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:73**的氨基酸序列的VL結構域；

(VIII) 包含**SEQ ID NO:72**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域；和

(IX) 包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域。

【0021】 本發明另外涉及這種CD16 x 疾病抗原結合分子的實施方式，其中所述分子是雙特異性抗體、雙特異性雙抗體、雙特異性TandAb、雙特異性三價分子或雙特異性CAR。

【0022】 本發明另外涉及這種CD16 x 疾病抗原結合分子的實施方式，其中所述分子能夠結合多於一個的疾病抗原和/或多於一個的CD16的表位。

【0023】 本發明另外涉及這種CD16 x 疾病抗原結合分子的實施方式，其中所述CD16結合結構域包括：

(A)包含**SEQ ID NO:66**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:67**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C)包含**SEQ ID NO:68**或**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D)包含**SEQ ID NO:69**或**SEQ ID NO:74**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E)包含**SEQ ID NO:70**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F)包含**SEQ ID NO:71**或**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【0024】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述CD16結合結構域包括：

(A)包含**SEQ ID NO:72**或**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:73**或**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域；或

(C)包含**SEQ ID NO:72**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:73**的氨基酸序列的VL結構域；

(D)包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:73**的氨基酸序列的VL結構域；

(E)包含**SEQ ID NO:72**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域；或

(F)包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域。

【0025】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述CD16結合結構域包括：

(A)包含**SEQ ID NO:77**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:78**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C)包含**SEQ ID NO:79**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D)包含**SEQ ID NO:80**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E)包含**SEQ ID NO:81**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F)包含**SEQ ID NO:82**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【0026】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述CD16結合結構域包括：

(A)包含**SEQ ID NO:83**或**SEQ ID NO:84**的氨基酸序列的VH結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:85**的氨基酸序列的VL結構域；或

(C)包含**SEQ ID NO:83**或**SEQ ID NO:84**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:85**的氨基酸序列的VL結構域。

【0027】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述疾病抗原是癌抗原並且所述疾病是癌症。

【0028】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤(Burkett's lymphoma)、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin’s lymphoma)、小淋巴細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【0029】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述癌抗原選自由下列癌抗原組成的組：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原

-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、$D_1$56-22、DR5、E_1系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4 泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R_{24}、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生肽、T_5A_7、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5、和Y半抗原、Le^y。

【0030】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述疾病抗原是5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD19、CD123、EGRF、EphA2、HER2/neu、IL13Rα2或VEGF。

【0031】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述疾病抗原是病原體相關抗原。

【0032】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr

Virus)LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【0033】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述疾病抗原是HIV env抗原。

【0034】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述分子是：

(A)雙抗體，所述雙抗體是包含兩條、或三條、四條或五條多肽鏈的共價結合的複合物；或

(B)三價結合分子，所述三價結合分子是包含三條、四條或五條多肽鏈的共價結合的複合物；或

(C)雙特異性抗體。

【0035】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述分子包含Fc區。

【0036】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式，其中所述Fc區具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4同種型。

【0037】 本發明另外涉及這種CD16 x 疾病抗原結合分子的實施方式，其中所述Fc區是變體Fc區，包含：

(A)一個或多個氨基酸修飾，其減少所述變體Fc區對於FcγR的親和力；和/或

(B)一個或多個氨基酸修飾，其增加所述變體Fc區的血清半衰期。

【0038】 本發明另外涉及這種**CD16 x 疾病抗原**結合分子的實施方式：

(A)減少所述變體Fc區對於FcγR的親和力的所述修飾包括L234A；L235A；或L234A和L235A的置換；和

(B)增加所述變體Fc區的血清半衰期的所述修飾包括M252Y；M252Y和S254T；M252Y和T256E；M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的置換，其中所述編號是如Kabat中EU索引的編號。

【0039】 本發明另外涉及CD16結合分子，其包含：

(A)包含**SEQ ID NO:66**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:67**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C)包含**SEQ ID NO:68**或**SEQ ID NO:60**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D)包含**SEQ ID NO:69**或**SEQ ID NO:74**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E)包含**SEQ ID NO:70**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F)包含**SEQ ID NO:71**或**SEQ ID NO:61**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【0040】 本發明另外涉及這種CD16結合分子的實施方式，其中所述分子包含：

(A)包含**SEQ ID NO:72**或**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:73**或**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域；

(C)包含**SEQ ID NO:72**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:73**的氨基酸序列的VL結構域；或

(D)包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:73**的氨基酸序列的VL結構域；

(E)包含**SEQ ID NO:72**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域；或

(F)包含**SEQ ID NO:58**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:59**的氨基酸序列的VL結構域。

【0041】 本發明另外涉及CD16結合分子，其包含：

(A)包含**SEQ ID NO:77**的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:78**的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C)包含**SEQ ID NO:79**的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D)包含**SEQ ID NO:80**的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E)包含**SEQ ID NO:81**的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F)包含**SEQ ID NO:82**的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【0042】 本發明另外涉及這種CD16結合分子的實施方式，其中所述分子包含：

(A)包含**SEQ ID NO:83**或**SEQ ID NO:84**的氨基酸序列的VH結構域；

(B)包含**SEQ ID NO:85**的氨基酸序列的VL結構域；或

(C)包含**SEQ ID NO:83**或**SEQ ID NO:84**的氨基酸序列的VH結構域和包含**SEQ ID NO:85**的氨基酸序列的VL結構域。

【0043】 本發明另外涉及這種CD16結合分子的實施方式，其中所述分子選自由下列組成的組：抗體、多特異性抗體、Fab'片段、$F(ab')_2$片段、(Fv)片段、單鏈(scFv)、單鏈抗體、二硫化物連接的雙特異性Fv (sdFv)、雙抗體、三價結合分子和CAR-T分子。

【0044】 本發明另外涉及藥物組合物，其包括上述**CD16 x 疾病抗原**結合分子中的任一種或CD16結合分子、和藥學上可接受的載體。

【0045】 本發明另外涉及上述藥物組合物在治療特徵在於疾病抗原的表達的疾病中的用途。

【0046】 本發明另外涉及用於治療特徵在於疾病抗原的表達的疾病的方法，包括向需要其的受試者施用治療有效量的上述藥物組合物。

【0047】 本發明另外涉及這種用途或方法的實施方式，其中所述**CD16 x 疾病抗原**結合分子能夠結合多於一個的疾病抗原和/或多於一個的CD16的表位。

【0048】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述**CD16 x 疾病抗原**結合分子的所述疾病抗原是癌抗原，並且所述疾病是癌症。

【0049】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【0050】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述癌抗原選自由下列癌抗原組成的組：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、

CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、$D_1$56-22、DR5、E_1系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4 泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R_{24}、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生肽、T_5A_7、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5、和Y半抗原、Le^y。

【0051】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述疾病抗原是5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD19、CD123、EGRF、EphA2、HER2/neu、IL13Rα2或VEGF。

【0052】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述CD16 x 疾病抗原結合分子的所述疾病抗原是病原體相關抗原。

【0053】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述病原體相關抗原選自由下列病原體相關抗原組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類

免疫缺陷病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【0054】 本發明另外涉及這種用途或方法，其中所述疾病抗原是HIV env抗原。

【圖式簡單說明】

【0055】 **圖1A-1B**提供由兩條多肽鏈構成的具有兩個表位結合位點的代表性共價結合的雙抗體的示意圖，每條多肽鏈具有E-螺旋(E-coil)或K-螺旋(K-coil)異源二聚體-促進結構域(下面提供可替選的異源二聚體-促進結構域)。半胱氨酸殘基可存在於連接體(**圖1A**)和/或異源二聚體-促進結構域(**圖1B**)。識別相同表位的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。這個圖以及所有提供結合分子結構域的示意圖示的圖中的波浪線(WWW)代表一個或多個任選的異源二聚體-促進結構域，其優選存在。

【0056】 **圖2**提供由兩條多肽鏈構成的具有兩個表位結合位點的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖，每條多肽鏈具有CH2和CH3結構域，使得相關鏈形成Fc區的全部或部分。識別相同表位的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0057】 圖3A-3E提供由兩對多肽鏈(即總共四條多肽鏈)構成的具有四個表位結合位點的代表性共價結合的四價雙抗體的示意圖。每一對的一條多肽鏈具有CH2和CH3結構域，使得相關的鏈形成Fc區的全部或部分。識別相同表位的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。兩對多肽鏈可以相同。在其中所述兩對多肽鏈相同並且VL和VH結構域識別不同表位的這種實施方式中(如**圖**

3A-3B所示)，所得分子具有四個表位結合位點並且關於每個結合的表位是雙特異性的和二價的。在其中所述VL和VH結構域識別相同表位的這種實施方式中(例如，相同VL結構域CDR和相同VH結構域CDR被用於兩條鏈上)，所得分子具有四個表位結合位點並且關於單個表位是單特異性的並且是四價的。可替選地，兩對多肽可能是不同的。在所述兩對多肽鏈不同並且每對多肽的VL和VH結構域識別不同表位的這種實施方式中(如**圖3C**中的不同陰影和圖案所示)，所得分子具有四個表位結合位點並且關於每個結合的表位是四特異性的並且是單價的。**圖3A**顯示含Fc區的雙抗體，其包含含有半胱氨酸殘基的異源二聚體-促進結構域的肽。**圖3B**顯示含Fc區的雙抗體，其包含含有半胱氨酸殘基和連接體(具有任選的半胱氨酸殘基)的E-螺旋和K-螺旋異源二聚體-促進結構域。**圖3C**顯示含Fc區的雙抗體，其包含抗體CH1和CL結構域。**圖3D-3E**示例**圖3B**中顯示的結合結構域的選擇如何能導致具有對CD16的表位特異性的兩個結合位點和對**DA**的表位特異性的兩個結合位點的**CD16 x DA**結合分子。**圖3D-3E**示例如何選擇結構域以產生具有不同取向的**CD16 x DA** 結合分子(即，**圖3D** 採用VL CD16結構域作為結合分子的VL1結構域，VH CD16結構域作為結合分子的VH1結構域，VL **DA**結構域作為結合分子的VL2結構域，以及VH **DA**結構域作為結合分子的VH2結構域。相反，**圖3E**採用VL **DA**結構域作為結合分子的VL1結構域，VH **DA**結構域作為結合分子的VH1結構域，VL CD16結構域作為結合分子的VL2結構域，以及VH CD16結構域作為結合分子的VH2結構域)。如下面所提供的，由多肽鏈的締合所形成的VL/VH結合位點可以相同或不同以便允許四價結合是單特異性的、雙特異性的、三特異性的或四特異性的。

【0058】 **圖4A和4B**提供由三條多肽鏈構成的具有兩個表位結合位點的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖。多肽鏈中的兩條具有CH2和CH3結構域，使得締合的鏈形成Fc區的全部或部分。包含VL和VH結構域的多肽鏈進一步包含異源二聚體-促進結構域。識別相同表位的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0059】 **圖5A-5D**提供由五條多肽鏈構成的具有四個表位結合位點的代表性共價結合的雙抗體分子的示意圖。**圖5A**顯示這種**CD16 x DA**結合分子的一般結構。多肽鏈中的兩條具有CH2和CH3結構域，使得所締合的鏈形成占Fc區的全部或部分的Fc區。包含連接的VL和VH結構域的多肽鏈進一步包含異源二聚體-促進結構域。識別相同表位的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。**圖5B**顯示可替選**CD16 x DA**結合分子的結構，其中**圖5A**中顯示的可變結構域已經被選擇以產生所得的**CD16 x DA**結合分子，其具有對示例性的**DA**、HER2/neu特異性的兩個非雙抗體型結合結構域，以及對CD16特異性的兩個雙抗體型結合結構域。**圖5C**顯示可替選**CD16 x DA**結合分子的結構，其中**圖5A**中顯示的可變結構域已經被選擇以產生所得的**CD16 x DA**結合分子，其具有對CD16特異性的兩個非雙抗體型結合結構域以及對HER2/neu特異性的兩個雙抗體型結合結構域。**圖5D**顯示可替選**CD16 x DA**結合分子的結構，其中**圖5A**中顯示的可變結構域已經被選擇以產生所得的**CD16 x DA**結合分子，其具有對CD16的表位特異性的兩個非雙抗體型結合結構域、對HER2/neu的表位特異性的一個雙抗體型結合結構域以及對CD16的表位特異性的第二雙抗體型結合結構域。這種CD16表位可以相同或不同。如將會理解的，通過適當選擇**圖5A**中顯示的結合結構域，結合結構域中的任意三個可能已經被選擇以結合CD16的表位。同樣，結合結構域中

的任意三個可能已經被選擇以結合HER2/neu的表位。如下面所提供的，由多肽鏈的締合所形成的VL/VH結合位點可以相同或不同以便允許四價結合是單特異性的、雙特異性的、三特異性的或四特異性的。

【0060】 **圖6A-6H**提供代表性的具有三個表位結合位點的含Fc區的三價結合分子的示意圖。**圖6A**示意性地示例包含兩個雙抗體型結合結構域和具有不同結構域取向的Fab型結合結構域的三價結合分子的結構域，其中雙抗體型結合結構域相對於Fc區是N-末端或C-末端的。**圖6B-6C**顯示**CD16 x DA** 結合分子的示例性非限制性實例的結構，其中**圖6A**中顯示的可變結構域已經被選擇以產生所得的**CD16 x DA**結合分子，其具有對CD16特異性的非雙抗體型結合結構域、對示例性**DA**、HER2/neu特異性的雙抗體型結合結構域和對CD16特異性的第二雙抗體型結合結構域。**圖6D**示意性地示例包含兩個雙抗體型結合結構域和具有不同結構域取向的Fab型結合結構域的三價結合分子的結構域，其中雙抗體型結合結構域相對於Fc區是N-末端的或C-末端的。**圖6A-6D** 中的分子包含四條鏈。**圖6E和6F**分別示意性地示例三價結合分子的結構域，其包含相對於Fc區處於N-末端的兩個雙抗體型結合結構域、以及其中輕鏈和重鏈經由多肽間隔子連接的Fab型結合結構域或scFv型結合結構域。**圖6G**和**6H**中的三價結合分子分別示意性地示例三價結合分子的結構域，其包含相對於Fc區處於C-末端的兩個雙抗體型結合結構域、以及其中輕鏈和重鏈經由多肽間隔子連接的Fab型結合結構域或scFv型結合結構域。**圖6E-6H**中的三價結合分子包含三條鏈。識別相同表位的VL和VH結構域用相同的陰影或填充圖案顯示。

【0061】 **圖7**顯示人CD16A的158F異型(**SEQ ID NO:146)**、CD16A的158V異型(**SEQ ID NO:147)**、人CD16B的NA1異型(**SEQ ID NO:148)**、人CD16B的NA2

異型(**SEQ ID NO:149**)和食蟹猴的CD16(**SEQ ID NO:150**)的胞外結構域(ECD)的比對。相對於人CD16A的158F異型的序列差別以底線黑體顯示。在所示的人CD16A分子的部分中，158F/158V多態性見於位置160。

【0062】 **圖8**顯示人IgG的濃度增加對**LNK16**、**DJ130c**和**CD16-M1**的CD16結合結構域結合CD16的能力的影響。

【0063】 **圖9A-9C**顯示與**HIV x CD3雙抗體**(作為經由其CD3結合結構域的T細胞結合的陽性對照)、**HIV x RSV雙抗體**(作為所有結合的陰性對照)和**h3G8 x RSV**雙抗體比較分子相比，CD16結合分子：**DART-F**和**DART-G**結合至供體受試者的全血中的NK細胞(**圖9A**；CD16A: na)、嗜中性粒細胞(**圖9B**；CD16B:na)和T細胞(**圖9C**)的能力。

【0064】 **圖10A-10B**顯示與**HIV x RSV雙抗體**(作為所有結合的陰性對照)和**h3G8 x RSV**雙抗體比較分子相比，CD16結合分子：**DART-F**和**DART-G**結合至設門的(gated)淋巴細胞群(**圖10A**)和設門的粒細胞群(**圖10B**)的CD16A表達細胞的能力。

【0065】 **圖11A-11B**顯示**CD16-M1**和**h3G8**的CD16結合結構域區分糖基化異型NA1(**圖11A**)和NA2(**圖11B**)的能力。

【0066】 **圖12**顯示抗體**hCD16-M1**的CD16結合結構域(存在於DART-C)優先結合至全血中的NK細胞的能力。

【0067】 **圖13**展示人CD16(**SEQ ID NO:183**)、食蟹猴CD16 (**SEQ ID NO:184**)和鼠CD16 (**SEQ ID NO:185**)的氨基酸序列的比對。與人CD16的序列差別以底線黑體顯示。

【0068】 **圖14A-14E**顯示在下列**CD16 x HER2/neu**結合分子：**DART-C**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-D**(具有**hCD16-M2** CD16結合結構域)、**DART-1**(具有**h3G8** CD16結合結構域)、陰性對照**HER2/neu x RSV**雙抗體或陽性**h3G8 x RSV**雙抗體的存在下，表達不同水準的HER2/neu和效應細胞(人PBMC(E:T = 30:1)或純化的人NK細胞(E:T = 2:1))的靶癌細胞的24小時孵育所產生的細胞毒性百分比。**圖14A**：N87 HER2/neu靶細胞(HER2/neu表達：+++)/NK細胞；CD16A異型158F/158F；**圖14B**：MCF7 HER2/neu靶細胞(HER2/neu表達：+/-)/NK細胞；CD16A異型158F/158F；**圖14C**：MDA-MB-231 HER2/neu靶細胞(HER2/neu表達：+/-)/PBMCs；CD16A異型，未評估；**圖14D**：N87 HER2/neu靶細胞(HER2/neu表達：+++)/PBMCs；CD16A異型158F/158V；**圖14E**：Hs700T HER2/neu靶細胞(HER2/neu表達：+/-)/PBMCs；CD16A異型158F/158V。

【0069】 **圖15A-15C顯示**在下列**CD16 x HIV env** CD16結合分子：**DART-F**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-G**(具有**hCD16-M2** CD16結合結構域)或**DART-2**(具有**h3G8** CD16結合結構域)的存在下，表達亞型HIV Env蛋白和效應細胞(人PBMC(E:T = 30:1)或純化的人NK細胞(E:T = 3:1))的HEK/D371靶細胞的24小時孵育所產生的細胞毒性百分比。**圖15A**：293HEK D371靶細胞/PBMCs；CD16A異型158F/158V；**圖15B**：293HEK D371靶細胞/PBMCs；CD16A異型158F/158F；**圖15C**：293HEK D371靶細胞/NK細胞；CD16A異型158F/158V。

【0070】 **圖16A-16B**顯示在效應細胞(Jurkat/CD16A 158F(**圖16A**)或158V/NFAT-Luc細胞(**圖16B**))的存在下表達HIV env蛋白的靶HEK/D371細胞在用**DART-X**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-Y**(具有**hCD16-M2** CD16

結合結構域)、**DART-0**(具有**h3G8** CD16結合結構域)或**DART-3** (具有**hCD16-M1** CD16結合結構域的**CD16 x RSV**雙抗體)孵育後的細胞毒性百分比。

【0071】 **圖17A-17C**顯示與**hCD16-M1的親本**CD16結合結構域(存在於**DART-C**和**DART-3)**和**h3G8**的CD16結合結構域(存在於**DART-1**)相比，**hCD16-M1A**(存在於**DART-I**)、**hCD16-M1B**(存在於**DART-J**)、**hCD16-M1AB**(存在於**DART-K**)的優化的CD16結合結構域結合至PBMC樣品中存在的人NK細胞(**圖17A**)、食蟹猴NK細胞(**圖17B**)和獼猴NK細胞(**圖17C**)的能力。**HER2/neu x RSV**雙抗體(缺少CD16結合結構域)被包括作為陰性對照。

【0072】 **圖18A-18D**顯示**hCD16-M1A**(存在於**DART-I**)、**hCD16-M1B**(存在於**DART-J**)、和**hCD16-M1AB**(存在於**DART-K**)的優化的CD16結合結構域與人和食蟹猴效應細胞兩者介導HER2/neu表達的靶細胞重定向的細胞殺傷的能力。所描繪的是在下列**CD16 x HER2/neu**結合分子：**DART-C**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-I**(具有**hCD16-M1A** CD16結合結構域)、**DART-J**(具有**hCD16-M1B**結合結構域)、**DART-K**(具有**hCD16-M1AB**結合結構域)、**DART-1**(具有**h3G8** CD16結合結構域)、或陰性對照**HER2/neu x RSV**雙抗體的存在下，JIMT-1-Luc靶癌細胞和效應細胞(人PBMCs(**圖18A-18B**)或食蟹猴PMBCs(**圖18C-18D**))(E:T = 30:1)的24小時孵育所產生的細胞毒性，如在LDH重定向的細胞殺傷試驗(以細胞毒性百分比描繪，**圖18A和18C**)或LUM重定向的細胞殺傷試驗(螢光(LUM)以相對光單位(RLU)描繪，**圖18B和18D**)中所測量的。

【0073】 圖19A-19D顯示hCD16-M1B(存在於DART-M)和hCD16-M1AB(存在於**DART-N**)的優化的CD16結合結構域與人效應細胞介導CD19表達靶細胞的重定向的細胞殺傷的能力。在下列**CD16 x CD19**結合分子：

DART-L(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-M**(具有**hCD16-M1B**結合結構域)、**DART-N**(具有**hCD16-M1AB**結合結構域)、duvortuxizumab(陽性對照**CD3 x CD19**雙抗體)或陰性對照**CD16 x RSV**雙抗體**DART-5**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-6** (具有**hCD16-M1B**結合結構域)、**DART-7** (具有**hCD16-M1AB**結合結構域)的存在下，Raji-Luc靶癌細胞和人PBMC效應細胞(E:T = 30:1)的24小時(**圖19A**和**19C**)和48小時孵育(**圖19B**和**19D**)之後測量的細胞毒性，如在LDH重定向的細胞殺傷試驗(以細胞毒性百分比描繪，圖19A和19B)或LUM重定向的細胞殺傷試驗(LUM以RLU描繪，圖19C和19D)中所測量的。

【0074】 **圖20A-20D**顯示在離體人和食蟹猴PBMC樣品中**hCD16-M1B**(存在於**DART-M**)和**hCD16-M1AB**(存在於**DART-N**)的優化的CD16結合結構域介導自體B細胞消耗的能力。在下列**CD16 x CD19**結合分子：**DART-L**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-M**(具有**hCD16-M1B**結合結構域)、**DART-N**(具有**hCD16-M1AB**結合結構域)、或陰性對照**CD16 x RSV**雙抗體**DART-5**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)、**DART-6**(具有**hCD16-M1B**結合結構域)的存在下，人(**圖20A-20B**)或食蟹猴(**圖20C-20D**)的PBMC在72小時(**圖20A和20C**)、96小時(**圖20B**)和144小時(**圖20D**)孵育後的B細胞計數($CD3^-/CD20^+$細胞)，如流式細胞術所測量的。

【實施方式】

【0075】 本發明涉及能夠結合人CD16的表位的分子(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb等) (“**CD16結合分子**”)。本發明進一步涉及能夠結合人CD16的表位和疾病抗原(“**DA**”)的一個或多個表位的CD16 結合分子(例如，

“**CD16 x DA結合分子**”)。本發明特別地涉及這樣的**CD16 x DA** 結合分子，其是抗體、或者包含抗體的表位結合結構域、或者是雙抗體 (包括DART®雙抗體)、雙特異性抗體、TandAb、其它多特異性結合分子(例如，三價TRIDENT™分子)等。本發明特別地涉及**CD16 x DA**結合分子，其除了能夠結合CD16外還能夠結合疾病抗原，所述疾病抗原是癌抗原或病原體相關抗原。本發明特別地涉及這種**CD16**和**CD16 x DA**結合分子在治療癌症和病原體相關疾病中的用途。本發明也涉及包括這種分子(一種或多種)的藥物組合物。

I. 抗體和其它結合分子

A. 抗體

【0076】 本發明的**CD16 x DA**結合分子可以是抗體，或可衍生自抗體(例如，通過抗體多肽的斷裂、切割等，或者來自抗體分子的氨基酸序列或者編碼這種氨基酸序列的多核苷酸(或其序列)等的應用)。

【0077】 抗體是能特異性結合分子，諸如碳水化合物、多核苷酸、脂質、多肽等的特定結構域或部分(moiety)或構造(“**表位**”)的免疫球蛋白分子。含表位的分子可具有免疫原性活性，使得其引起動物中的抗體產生應答；這樣的分子被稱為“**抗原**”。如本文所用，術語“**抗體(antibody)**”和“**抗體(antibodies)**”是指單克隆抗體、多特異性抗體、人抗體、人源化抗體、合成抗體、嵌合抗體、多克隆抗體、駱駝化抗體(camelized antibody)、單鏈Fvs(scFv)、單鏈抗體、Fab片段、F(ab’)片段、二硫鍵連接的雙特異性Fvs(sdFv)、胞內抗體和任意上的表位結合結構域。這種免疫球蛋白分子可以是任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA和IgY)、類別(例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1和IgA_2)或亞類。

【0078】 術語“**單克隆抗體**”是指同源性抗體群，其中單克隆抗體包括涉及抗原的選擇性結合的氨基酸(天然產生的或非天然產生的)。單克隆抗體是高度特異性的，針對單個表位(或抗原位點)。術語“單克隆抗體”不僅僅涵蓋完整的單克隆抗體和全長單克隆抗體，而且也涵蓋其片段(比如Fab、Fab'、$F(ab')_2$、Fv)、單鏈(scFv)、其突變體、包括抗體部分的融合蛋白、人源化的單克隆抗體、嵌合單克隆抗體和包括具有結合抗原的必要特異性和能力的抗原識別位點的免疫球蛋白分子的任何其它修飾構型。就抗體的來源或其製備的方式(例如，通過雜交瘤、噬菌體選擇、重組表達、轉基因動物等)而言，其不旨在是限制性的。術語包括完整的免疫球蛋白以及上面根據“抗體”的定義描述的片段等。製備單克隆抗體的方法是本領域已知的。可採用的一種方法是Kohler, G.等(1975) “*Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity*,” Nature 256:495-497的方法或其改良。典型地，單克隆抗體在小鼠、大鼠或兔子中開發。通過用免疫原性量的細胞、細胞提取物或包含期望表位的蛋白質製品免疫動物而產生抗體。免疫原可以是但不限於原代細胞、培養細胞系、癌細胞、蛋白質、肽、核酸或組織。在其用作免疫原之前，用於免疫的細胞可被培養一段時間(例如，至少24小時)。細胞可本身或聯合非變性佐劑(比如Ribi)用作免疫原(參見，例如Jennings, V.M. (1995) “*Review of Selected Adjuvants Used in Antibody Production*,” ILAR J. 37(3):119-125)。一般而言，在用作免疫原時，細胞應保持完整並且優選地是活的。相比於破裂的細胞，完整的細胞可允許抗原被免疫的動物更好地檢測到。變性佐劑或烈性佐劑(harsh adjuvants)，例如弗氏佐劑的使用，可使細胞破裂並且因此受阻。免疫原可以週期性間隔被多次施用，諸如兩週一次或一週一次，或者可以以維持在動物(例如，在組織重組體中)中的生存力

這樣的方式被施用。可替選地，對於期望的致病表位是免疫特異性的現有的單克隆抗體和任意其它等效抗體可被測序，並通過本領域中已知的任意手段重組產生。在一個實施方式中，對這樣的抗體測序，然後將多核苷酸序列克隆到載體中用於表達或增殖。編碼感興趣的抗體的序列可在宿主細胞內保持在載體中，然後可擴增和冷凍宿主細胞，用於將來的使用。這樣的抗體的多核苷酸序列可用於基因操作，以生成本發明的單特異性或多特異性(例如，雙特異性、三特異性和四特異性)分子以及親和力優化的嵌合抗體、人源化抗體和/或犬源化(caninized)抗體，以改善抗體的親和力或其它特徵，如下所詳述。

【0079】 本發明的抗體和結合分子以“**免疫特異性**”方式經由它們的結合結構域結合表位。如本文所用，如果一個分子相對於可替選的表位與另一分子的一個表位更頻繁、更迅速、以更長的持續時間和/或以更大的親和力結合或締合，則認為該分子以“**免疫特異性**”方式(或**免疫特異性地**)結合所述另一分子的所述表位。例如，免疫特異性地結合病毒表位的抗體是相比於免疫特異性地結合其它病毒表位或非病毒表位以更大的親和力、親合力、更容易地和/或以更大的持續時間結合該病毒表位的抗體。通過閱讀該定義同樣理解，例如，免疫特異性地結合第一靶標的抗體(或部分或表位)可以特異性地或優先地結合至第二靶標或者可以不特異性地或不優先地結合第二靶標。照此，“**免疫特異性結合**”並不一定要求(儘管其可包括)排他性結合。一般地，但不一定，提及“結合”意味著“免疫特異性”結合。天然抗體能夠結合僅一個表位種類(即，它們是“**單特異性的**”)，雖然它們可免疫特異性地結合那個種類的多個拷貝(即，呈現出“**二價**”或“**多價**”)。如果結合呈現出受體結合其各自的配體的特異性的話，則兩個分子被認為能夠以“生理特異性”方式相互結合。

【0080】 過去幾十年已經看出對抗體的治療潛力的關注的復蘇，並且抗體已經變成生物技術衍生的藥物的主導類別之一(Chan, C.E.等(2009) "*The Use Of Antibodies In The Treatment Of Infectious Diseases*," Singapore Med. J. 50(7):663-666)。超過200種的基於抗體的藥物已經批准使用或在開發中。

1. 抗體的一般結構特徵

【0081】 天然產生的免疫球蛋白(例如IgG)的基本結構單元是四聚體，其由與兩條較長的"**重鏈**"複合的兩條較短的"**輕鏈**"構成；並且通常被表達為約150,000 Da的糖蛋白。每條鏈由含"**可變結構域**"的氨基-末端("**N-末端**")部分和含至少一個"**恆定結構域**"的羧基-末端("**C-末端**")部分構成。IgG輕鏈由單"**輕鏈可變結構域**"("**VL**")和單"**輕鏈恆定結構域**"("**CL**")構成。因此，IgG分子的輕鏈的結構是**n-VL-CL-c** (其中n和c分別代表多肽的N-末端和C-末端)。IgG重鏈由單"**重鏈可變結構域**" ("**VH**")、三個"**重鏈恆定結構域**" ("**CH1**"、"**CH2**"和"**CH3**")和位於**CH1**和**CH2**結構域之間的"鉸鏈"區("**H**")構成。因此，IgG重鏈的結構是**n-VH-CH1-H-CH2-CH3-c** (其中n和c分別代表多肽的N-末端和C-末端)。完整的、未修飾的抗體(例如IgG抗體)結合抗原表位的能力取決於可變結構域的存在和序列。除非另外注明，否則本文描述的蛋白分子的結構域的順序是呈"**N-末端至C-末端**"方向。

(a) 恆定結構域

(i) 輕鏈恆定結構域

【0082】 優選的CL結構域是人IgG CL κ結構域。示例性人CL κ結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:1**)：

RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK

SFNRGEC

【0083】 可替選地，示例性的CL結構域是人IgG CL λ結構域。示例性的人CL λ結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:2**)：

QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP TECS

(ii) 重鏈CH1結構域

【0084】 抗體的兩條重鏈的CH1結構域與抗體的輕鏈的“CL”恆定區複合，並且經由間插鉸鏈結構域連接至重鏈CH2結構域。

【0085】 示例性的CH1結構域是人IgG1 CH1結構域。示例性的人IgG1 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:3**)：

ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV

【0086】 示例性的CH1結構域是人IgG2 CH1結構域。示例性的人IgG2 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:4**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTV

【0087】 示例性的CH1結構域是人IgG3 CH1結構域。示例性的人IgG3 CH1結構域的氨基酸序列是**(SEQ ID NO:5)**：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVNHKPS NTKVDKRV

【0088】 示例性的CH1結構域是人IgG4 CH1結構域。示例性的人IgG4 CH1結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:6**)：

ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV

(b) 重鏈鉸鏈區

【0089】 一個示例性的鉸鏈結構域是人IgG1鉸鏈結構域。示例性的人IgG1鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:7**)：EPKSCDKTHTCPPCP。

【0090】 另一示例性的鉸鏈結構域是人IgG2鉸鏈結構域。示例性的人IgG2鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:8**)：ERKCCVECPPCP。

【0091】 另一示例性的鉸鏈結構域是人IgG3鉸鏈結構域。示例性的人IgG3鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:9**)：

ELKTPLGDTT HTCPRCPEPK SCDTPPPCPR CPEPKSCDTP PPCPRCPEPK SCDTPPPCPR CP。

【0092】 另一示例性的鉸鏈結構域是人IgG4鉸鏈結構域。示例性的人IgG4鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:10**)：ESKYGPPCPSCP。如本文所述的，IgG4鉸鏈結構域可包括穩定化突變，如S228P置換。示例性的穩定化的IgG4鉸鏈結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:11**)：ESKYGPPCPPCP。

(c) 重鏈CH2和CH3結構域

【0093】 兩條重鏈的CH2和CH3結構域相互作用以形成IgG抗體的被細胞Fc受體識別的“**Fc結構域**”，細胞**Fc受體**包括但不限於Fcγ受體(**FcγR**)。如本文所用，術語“**Fc區**”用來限定IgG重鏈的C-末端區。一部分Fc區(包括含全部Fc區的部分)在本文中稱為“**Fc結構域**”。如果Fc區的氨基酸序列相對於其他IgG同種型與該同種型最同源，那麼認為Fc區具有特定的IgG同種型、類別或亞類。除了抗體已知的在診斷中的用途，已經顯示抗體可用作治療劑。

【0094】 示例性的人IgG1的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:12**)：

```
231       240       250       260       270       280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD

          290       300       310       320       330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

          340       350       360       370       380
```

```
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

        390         400         410       420         430
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

        440     447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0095】 示例性的人IgG2的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:13**)：

```
231     240         250         260         270         280
APPVA-GPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD

        290         300         310       320         330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA

        340         350         360         370         380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE

        390         400         410         420       430
WESNGQPENN YKTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE

        440       447
ALHNHYTQKS LSLSPGX
```

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0096】 示例性的人IgG3的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:14**)：

```
231     240         250         260         270         280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFKWYVD

        290         300         310         320         330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTF RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA

        340         350         360         370         380
PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

        390         400         410         420         430
WESSGQPENN YNTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NIFSCSVMHE
```

```
          440      447
ALHNRFTQKS LSLSPGX
```

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0097】 示例性的人IgG4的CH2-CH3結構域的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:15**)：

```
231       240        250        260        270        280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD

          290        300        310        320        330
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS

          340        350        360         370        380
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE

          390        400        410         420        430
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE

          440     447
ALHNHYTQKS LSLSLGX
```

如通過Kabat中所示的EU索引所編號，其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0098】 貫穿本申請說明書，IgG重鏈的恆定區中的殘基的編號是按照Kabat等, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, Public Health Service, NH1, MD(1991) (“**Kabat**”)中EU索引的編號，其通過引用清楚地併入本文。術語 “**如Kabat中的EU索引**” 指人IgG1 EU抗體的恆定結構域的編號。來自免疫球蛋白的成熟重鏈和輕鏈的可變結構域的氨基酸也通過氨基酸在所述鏈中的位置命名。Kabat描述了抗體的許多氨基酸序列，鑒定了對於每個亞組的氨基酸共有序列，並且指定了對每個氨基酸的殘基編號，並且如通過Kabat定義的，CDR被鑒定(應理解，如通過Chothia, C. & Lesk, A. M.所定義的

CDR_H1((1987)“*Canonical Structures For The Hypervariable Regions Of Immunoglobulins*,” J. Mol. Biol. 196:901-917)提前五個殘基開始)。Kabat的編號方

案可通過參照保守氨基酸比對考慮中的抗體與Kabat中的共有序列之一擴展至不包括在其手冊中的抗體。用於指定殘基編號的該方法在本領結構域中已經變得標準化，並且易於鑒定在不同抗體(包括嵌合或人源化變體)中在等同位置處的氨基酸。例如，在人抗體輕鏈的位置50處的氨基酸佔據與小鼠抗體輕鏈的位置50處的氨基酸等同的位置。

【0099】 在抗體恆定區內在許多不同位置(例如Fc位置，包括但不限於通過Kabat中所示的EU索引所編號的位置270、272、312、315、356和358)已經觀察到多態性，並且因此在所呈現的序列和現有技術中的序列之間可存在輕微差異。已經很好地表徵了人免疫球蛋白的多態形式。目前，18個Gm異型是已知的：G1m (1、2、3、17)或G1m (a、x、f、z)、G2m (23)或G2m (n)、G3m (5、6、10、11、13、14、15、16、21、24、26、27、28)或G3m (b1、c3、b3、b0、b3、b4、s、t、g1、c5、u、v、g5) (Lefranc等"*The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation.*" Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990)；Lefranc, G.等1979, Hum. Genet.: 50, 199-211)。具體考慮本發明的抗體可包含任何免疫球蛋白基因的任何同種異型(allotype)、同種型(isoallotype)或單體型(haplotype)，並且不限於本文提供的序列的同種異型、同種型或單體型。而且，在一些表達系統中，CH3結構域的C-末端氨基酸殘基(以上粗體的)可被翻譯後去除。因此，在本發明的**CD16 x DA**結合分子中，CH3結構域的C-末端殘基是任選的氨基酸殘基。具體地，通過本發明涵蓋的是沒有CH3結構域的C-末端殘基的**CD16 x DA**結合分子。同樣具體地，本發明涵蓋的是包括CH3結構域的C-末端賴氨酸殘基的這種構建體。

(d) 可變結構域

【0100】 IgG分子的可變結構域由三個“**互補決定區**” (“**CDR**”)以及稱為“**框架區**”(“**FR**”)的間插非-CDR區段組成，CDR包含抗體的將與表位接觸的氨基酸殘基，FR大體上保持CDR環的結構並且確定CDR環的定位以允許這種接觸(儘管某些框架殘基也可接觸表位)。因此，VL和VH結構域具有結構**n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-c**。CDR的氨基酸序列確定抗體是否將能夠結合特定的表位。抗體輕鏈與抗體重鏈的相互作用，以及特別地它們的VL和VH結構域的相互作用形成抗體的表位結合位點。

【0101】 作為(或可以用作)抗體輕鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分別命名為：**CDR_L1結構域**、**CDR_L2結構域**和**CDR_L3結構域**。類似地，作為(或可以用作)抗體重鏈的第一、第二和第三CDR的多肽在本文中分別命名為：**CDR_H1結構域**、**CDR_H2結構域**和**CDR_H3結構域**。因此，術語CDR_L1結構域、CDR_L2結構域、CDR_L3結構域、CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域涉及這樣的多肽，當其併入蛋白時引起蛋白能夠結合至特定表位，而無論這種蛋白是具有輕鏈和重鏈的抗體還是雙抗體或單鏈結合分子(例如scFv、BiTe等)，或是另一類型蛋白。

【0102】 術語“**表位結合結構域**”意指結合分子的片段或部分(或者具有這種片段或部分的氨基酸序列的多肽)，其有助於結合分子免疫特異性地結合至表位的能力。表位結合結構域可包含抗體的VL或VH結構域，或者抗體的CDR結構域中的1個、2個、3個、4個或5個，或者可包含抗體的CDR結構域中全部的6個，並且，儘管能夠免疫特異性地結合這種表位，但對不同於這種抗體的表位的這種表位可呈現免疫特異性、親和力或選擇性。表位結合結構域可僅僅包含CDR的部分，即結合所需的CDR殘基的子集，被稱為SDR(Kim, J.H.等

(2012)"*Humanization By CDR Grafting And Specificity-Determining Residue Grafting*," Methods Mol. Biol. 907:237-245；Kim, K.S.等(2010) "*Construction Of A Humanized Antibody To Hepatitis B Surface Antigen By Specificity-Determining Residues (SDR)-Grafting And De-Immunization*," Biochem. Biophys. Res. Commun. 396(2):231-237；Kashmiri, S.V.等(2005) "*SDR Grafting – A New Approach To Antibody Humanization*," Methods 36(1):25-34；Gonzales, N.R.等(2004) "*SDR Grafting Of A Murine Antibody Using Multiple Human Germline Templates To Minimize Its Immunogenicity*," Mol. Immunol. 41:863-872)。然而，優選地，表位結合結構域將包含抗體的CDR結構域中全部的6個。表位結合結構域可以是單條多肽鏈(例如，scFv)，或者可包含兩條或更多條多肽鏈，其可各自具有氨基端和羧基端 (例如，雙抗體、Fab片段、Fab_2片段等)，並且其可經由二硫鍵相互共價結合。

2. 抗體的人源化

【0103】 本發明也特別地包括結合分子，所述結合分子包括抗體的VL或VH結構域，並且優選抗體的VL和VH結構域兩者。優選地，這種抗體是人源化抗體。單克隆抗體典型地在非人物種，諸如小鼠和兔子中製備。這種抗體的可變結構域和/或恆定結構域可被識別為免疫原，因此引起針對它們的免疫應答。然而，這種分子可通過引入一個或多個氨基酸置換 "人源化" 以便使得這種抗體更像人所產生的抗體，從而減少或消除它們的免疫原性。術語"**人源化**"抗體是指通常使用重組技術製備的嵌合分子，其具有來自非人物種的免疫球蛋白的表位結合位點和該分子的基於人免疫球蛋白的結構和/或序列的剩餘免疫球蛋白結構。這種抗體的可變結構域的多核苷酸序列可用於基因操縱以產生這種衍生物

並且改善這種抗體的親和力或其它特徵。針對各種抗體的這種方法的應用由下列報導：LoBuglio, A.F.等(1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224；Sato, K.等(1993) Cancer Res 53:851-856. Riechmann, L.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*," Nature 332:323-327；Verhoeyen, M.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity*," Science 239:1534-1536；Kettleborough, C. A.等(1991) "*Humanization Of A Mouse Monoclonal Antibody By CDR-Grafting: The Importance Of Framework Residues On Loop Conformation*," Protein Engineering 4:773-3783；Maeda, H.等(1991) "*Construction Of Reshaped Human Antibodies With HIV-Neutralizing Activity*," Human Antibody Hybridoma 2:124-134；Gorman, S. D.等(1991) "*Reshaping A Therapeutic CD4 Antibody*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:4181-4185；Tempest, P.R.等(1991) "*Reshaping A Human Monoclonal Antibody To Inhibit Human Respiratory Syncytial Virus Infection in vivo*," Bio/Technology 9:266-271；Co, M. S.等(1991) "*Humanized Antibodies For Antiviral Therapy*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 88:2869-2873；Carter, P.等(1992) "*Humanization Of An Anti-p185her2 Antibody For Human Cancer Therapy*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 89:4285-4289；和Co, M.S.等(1992) "*Chimeric And Humanized Antibodies With Specificity For The CD33 Antigen*," J. Immunol. 148:1149-1154。在一些實施方式中，人源化抗體保留所有CDR序列 (例如，包含來自小鼠抗體的全部六個CDR的人源化小鼠抗體)。在其它實施方式中，人源化抗體具有相對於原抗體序列不同的一個或多個CDR (一個、兩個、三個、四個、五個和/或六個)。

【0104】 使抗體人源化的一般原則涉及保留抗體的表位結合結構域的基本序列，同時以人抗體序列交換非人剩餘部分。存在使單克隆抗體人源化的四個常規步驟。這些步驟是：(1)確定起始抗體輕鏈和重鏈可變結構域的核苷酸和預測的氨基酸序列；(2)設計人源化抗體或犬源化抗體，即，決定在人源化或犬源化過程中使用哪個抗體框架區；(3)實際的人源化或犬源化方法/技術；和(4)人源化抗體的轉染和表達。參見，例如，美國專利號4,816,567；5,807,715；5,866,692和6,331,415。

【0105】 已經描述了包含源自非人免疫球蛋白的表位結合結構域的許多人源化抗體分子，包括具有齧齒動物可變結構域或修飾的齧齒動物可變結構域和它們與人恆定結構域融合的相關的互補決定區(CDR)的嵌合抗體(參見，例如Winter等(1991) "*Man-made Antibodies*," Nature 349:293-299；Lobuglio等(1989) "*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989)；Shaw等(1987) "*Characterization Of A Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody (17-1A) To A Colon Cancer Tumor-Associated Antigen*," J. Immunol. 138:4534-4538；和Brown等(1987) "*Tumor-Specific Genetically Engineered Murine/Human Chimeric Monoclonal Antibody*," Cancer Res. 47:3577-3583)。其它參考文獻描述了在與適當的人抗體恆定結構域融合之前移植至人支撐框架區(FR)的齧齒動物的CDR(參見，例如Riechmann, L.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies for Therapy*," Nature 332:323-327； Verhoeyen, M.等(1988) "*Reshaping Human Antibodies: Grafting An Antilysozyme Activity*," Science 239:1534-1536；和Jones等(1986) "*Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A*

Mouse," Nature 321:522-525)。另一參考文獻描述了由重組修飾的齧齒動物框架區支撐的齧齒動物的CDR。參見，例如，歐洲專利公開號519,596。這些"**人源化的**"分子被設計為使得對齧齒動物抗人抗體分子的不利免疫應答最小化，所述不利免疫應答限制了這些部分在人接受者中治療應用的持續時間和效力。也可使用人源化抗體的其它方法，其公開在以下文獻中：Daugherty等(1991) "*Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins*," Nucl. Acids Res. 19:2471-2476和美國專利號 6,180,377；6,054,297；5,997,867和5,866,692。本發明特別地涵蓋這樣的結合分子(包括抗體和雙抗體)，其包含"人源化"抗體的VL和/或VH結構域。

【0106】 儘管這種成功，優化用於治療用途的穩定的、功能的異源二聚體的、非單特異性雙抗體的生產可通過認真考慮和佈置多肽鏈中採用的結構域而進一步改進。因此，本發明涉及提供特異性多肽，其被特別設計以通過共價結合形成能夠同時結合CD16和疾病抗原的穩定和治療有用的異源二聚體雙抗體和異源二聚體Fc雙抗體。

B. 雙特異性抗體

【0107】 如以上指出的，天然抗體能夠結合至僅一個表位種類，雖然它們可結合該種類的多個拷貝。抗體結合抗原的表位的能力取決於抗體的VL和VH結構域的存在和氨基酸序列。抗體的輕鏈和重鏈的相互作用，以及特別地其VL和VH結構域的相互作用形成天然抗體、諸如IgG的兩個表位結合結構域中的一個。天然抗體能夠結合僅僅一個表位種類(即，它們是單特異性的)，儘管它們能夠結合該種類的多個拷貝(即呈現二價或多價)。

【0108】 抗體的功能可通過產生能夠同時結合兩個獨立且不同的抗原(或相同抗原的不同表位)的基於多特異性抗體的分子和/或通過產生對相同表位和/或抗原具有較高價態(即，多於兩個結合結構域)的基於抗體的分子來提高。

【0109】 為了提供比天然抗體具有更大能力的分子，已經開發了廣泛種類的重組雙特異性抗體形式(參見，例如PCT公開號WO 2008/003116、WO 2009/132876、WO 2008/003103、WO 2007/146968、WO 2009/018386、WO 2012/009544、WO 2013/070565)。大多數這樣的方法使用連接體肽以將另外的結合結構域(例如scFv、VL、VH等)與抗體核心(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)融合或融合在抗體核心(IgA、IgD、IgE、IgG或IgM)內，或將多個抗體結合部分相互融合(例如，兩個Fab片段或scFv)。可替選的形式使用連接體肽以將結合蛋白(例如scFv、VL、VH等)與二聚結構域、諸如CH2-CH3結構域或可替選的多肽融合(WO 2005/070966、WO 2006/107786A、WO 2006/107617A、WO 2007/046893)。典型地，這種方法涉及折中(compromises)和取捨(trade-offs)。例如，PCT公開號WO 2013/174873、WO 2011/133886和WO 2010/136172公開了連接體的使用可引起治療設置中的問題，並且教導了三特異性抗體，其中CL和CH1結構域從其各自的天然位置轉換並且已經使得VL和VH結構域多樣化(WO 2008/027236；WO 2010/108127)，以使得它們結合多於一個的抗原。因此，這些文獻中公開的分子用結合特異性換取(trade)用於結合另外的抗原種類的能力。PCT公開號WO 2013/163427和WO 2013/119903公開了修飾CH2結構域以包含包括結合結構域的融合蛋白加合物。文獻指出CH2結構域可能在介導效應子功能中僅起到微小作用。PCT公開號WO 2010/028797、WO2010028796和WO 2010/028795公開了重組抗體，其Fc區已經以另外的VL和VH結構域替換，以形成三價結合分子。PCT公

開號WO 2003/025018和WO2003012069公開了重組雙抗體，其單獨的鏈包含scFv結構域。PCT公開號WO 2013/006544公開了多價Fab分子，其被合成為單多肽鏈且然後經歷蛋白水解以產生異源二聚體結構。因此，這些文獻中公開的分子用介導效應子功能的全部或一些能力換取結合另外的抗原種類的能力。PCT公開號WO 2014/022540、WO 2013/003652、WO 2012/162583、WO 2012/156430、WO 2011/086091、WO 2008/024188、WO 2007/024715、WO 2007/075270、WO 1998/002463、WO 1992/022583和WO 1991/003493公開了將另外的結合結構域或官能團添加至抗體或抗體部分(例如將雙抗體添加至抗體的輕鏈，或將另外的VL和VH結構域添加至抗體的輕鏈和重鏈，或添加異源融合蛋白或將多個Fab結構域相互連結)。因此，這些文獻中公開的分子用天然的抗體結構換取用於結合另外的抗原種類的能力。

C. 嵌合抗原受體

【0110】 本發明的結合分子可以是嵌合抗原受體(“**CAR**”)，其包含能夠結合CD16和疾病抗原的單鏈可變片段(**scFv**)。如上所示，通過經由短連接肽使輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域連接在一起而形成scFv。第一代CAR典型地具有來自CD3 ζ-鏈的胞內結構域，其是來自內源性TCR的信號的初級傳遞介質。第二代CAR具有從各種共激蛋白受體(例如，CD28、41BB、ICOS等)至CAR的胞質尾區的另外胞內信號傳導結構域以便給T-細胞提供另外的信號。第三代CARs組合多個信號傳導結構域，諸如CD3z-CD28-41BB或CD3z-CD28-OX40，以便進一步增加功效(Tettamanti, S.等(2013) “*Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric* Antigen *Receptor*,” Br. J. Haematol. 161:389-401；Gill, S.等(2014) “*Efficacy Against*

Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells," Blood 123(15): 2343-2354；Mardiros, A.等(2013) "*T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia*," Blood 122:3138-3148；Pizzitola, I.等(2014) "*Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo*," Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62。

【0111】 本發明的CAR的胞內結構域優選選自下列任意一種的胞內結構域：41BB-CD3ζ、b2c-CD3ζ、CD28、CD28-4-1BB-CD3ζ、CD28-CD3ζ、CD28-FcεRIγ、CD28mut-CD3ζ、CD28-OX40-CD3ζ、CD28-OX40-CD3ζ、CD3ζ、CD4-CD3ζ、CD4-FcεRIγ、CD8-CD3ζ、FcεRIγ、FcεRIγCAIX、調蛋白-CD3ζ、IL-13-CD3ζ或者Ly49H-CD3ζ(Tettamanti, S.等(2013) "*Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric* Antigen *Receptor*," Br. J. Haematol. 161:389-401；Gill, S.等(2014) "*Efficacy Against Human Acute Myeloid Leukemia And Myeloablation Of Normal Hematopoiesis In A Mouse Model Using Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells*," Blood 123(15): 2343-2354；Mardiros, A.等(2013) "*T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions And Antitumor Effects Against Human Acute Myeloid Leukemia*," Blood 122:3138-3148；Pizzitola, I.等(2014) "*Chimeric Antigen Receptors Against CD33/CD123 Antigens Efficiently Target Primary Acute Myeloid Leukemia Cells in vivo*," Leukemia doi:10.1038/leu.2014.62)。

II・雙特異性雙抗體

【0112】 現有技術已經另外地指出在能夠結合兩個或更多個不同表位種類方面(即，除了二價或多價外，還表現出雙特異性或多特異性)產生不同於天然抗體的**雙抗體**的能力(參見，例如Holliger等(1993) "*Diabodies': Small Bivalent And Bispecific Antibody Fragments,*" Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 90:6444-6448；US 2004/0058400 (Hollinger等)；US 2004/0220388 (Mertens等.)；Alt等(1999) FEBS Lett. 454(1-2):90-94；Lu, D.等(2005) "*A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity*," J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672；WO 02/02781 (Mertens等.)；Olafsen, T.等(2004) "*Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications*," Protein Eng Des Sel. 17(1):21-27；Wu, A.等(2001) "*Multimerization Of A Chimeric Anti-CD20 Single Chain Fv-Fv Fusion Protein Is Mediated Through Variable Domain Exchange*," Protein Engineering 14(2):1025-1033；Asano等(2004) "*A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain*," Abstract 3P-683, J. Biochem. 76(8):992；Takemura, S.等(2000) "*Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,*" Protein Eng. 13(8):583-588；Baeuerle, P.A.等(2009) "*Bispecific T cell Engaging Antibodies For Cancer Therapy*," Cancer Res. 69(12):4941-4944)。

【0113】 雙抗體的設計基於單鏈可變結構域片段(**scFv**)的結構，其中輕鏈和重鏈可變結構域利用短連接肽相互連接。Bird等人(1988) ("*Single-Chain Antigen-Binding Proteins*," Science 242:423-426)描述了在一個可變結構域的羧基

端和另一可變結構域的氨基端之間架起約3.5 nm的橋的連接肽的實例。已經設計和使用了其它序列的連接體(Bird等(1988) "*Single-Chain Antigen-Binding Proteins*," Science 242:423-426)。為了另外的功能、諸如藥物的連接或連接至固體載體，又可對連接體進行修飾。單鏈變體可以重組或合成產生。對於scFv的合成產生，可以使用自動合成器。對於scFv的重組產生，包含編碼scFv的多核苷酸的合適質粒可以被引入到合適的宿主細胞，真核細胞，諸如酵母、植物、昆蟲或哺乳動物細胞，或者原核細胞，諸如大腸桿菌(*E. coli*)。編碼目標scFv的多核苷酸可以通過常規操作、諸如多核苷酸的連接進行製備。所得scFv可以採用本領域已知的標準蛋白質提純技術進行分離。

【0114】 提供非單特異性"**雙抗體**"相對於抗體帶來了顯著的優勢：共連接和共定位表達不同表位的細胞的能力。因此，雙特異性雙抗體具有廣泛範圍的應用，包括治療和免疫診斷。雙特異性允許在各種應用中在雙抗體的設計和改造上具有很大的靈活性，提供對多聚體抗原的增強的親合力、不同抗原的交聯、並且依賴於兩個靶抗原的存在定向靶向特定的細胞類型。由於它們的雙價、低解離率和從迴圈中快速清除(對於小尺寸的雙抗體，處於約50 kDa或低於約50 kDa)，本領域中已知的雙抗體分子還在腫瘤造影領域中顯示出特定用途(Fitzgerald等(1997)*"Improved Tumour Targeting By Disulphide Stabilized Diabodies Expressed In Pichia pastoris,"* Protein Eng. 10:1221-1225)。

【0115】 產生雙特異性雙抗體的能力已經導致它們用於(以"**反式**")將兩個細胞共同連接在一起，例如通過共同連接不同細胞表面上存在的受體(例如，將細胞毒性T-細胞交聯到靶細胞，諸如表達疾病抗原的癌症細胞或病原體感染細胞) (Staerz等(1985) *"Hybrid Antibodies Can Target Sites For Attack By T*

Cells," Nature 314:628-631，和Holliger等(1996) *"Specific Killing Of* Lymphoma *Cells By Cytotoxic T-Cells Mediated By A Bispecific Diabody,"* Protein Eng. 9:299-305；Marvin等(2005) "*Recombinant Approaches To IgG-Like Bispecific Antibodies*," Acta Pharmacol. Sin. 26:649-658；Sloan等(2015) "*Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells*," PLoS Pathog 11(11): e1005233. doi:10.1371/journal.ppat.1005233))。可替選地(或另外地)，雙特異性(或多特異性)雙抗體可用於(以"順式")共同連接存在於相同細胞表面上的分子、諸如受體等。不同細胞和/或受體的共同連接可用於調節效應子功能和/或免疫細胞信號傳導。包含表位結合結構域的多特異性分子(例如，雙特異性雙抗體)可定向於在T淋巴細胞、天然殺傷(NK)細胞、抗原呈遞細胞或其它單核細胞上表達的任何免疫細胞的表面決定子，諸如CD2、CD3、CD8、CD16、TCR、NKG2D等；或者定向於B細胞的表面決定子，諸如CD19、CD20、CD22、CD30、CD37、CD40和CD74 (Moore, P.A.等(2011) "*Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T cell Killing Of B-Cell Lymphoma*," Blood 117(17):4542-4551；Cheson, B.D.等(2008) "*Monoclonal Antibody Therapy For B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma*," N. Engl. J. Med. 359(6):613-626；Castillo, J.等(2008) "*Newer Monoclonal Antibodies For Hematological Malignancies*," Exp. Hematol. 36(7):755-768)。具體地，定向於免疫效應細胞上存在的細胞表面受體的表位結合結構域可用於能夠介導重定向的細胞殺傷的多特異性結合分子的產生。

【0116】 在許多研究中，結合效應細胞決定子、例如Fcγ受體(FcγR)的雙抗體，也發現啟動效應細胞(Holliger等(1996) *"Specific* Killing *Of Lymphoma Cells By Cytotoxic T cells Mediated By A Bispecific Diabody,"* Protein Eng. 9:299-305；Holliger等(1999) *"Carcinoembryonic Antigen (CEA)-Specific T cell Activation In Colon Carcinoma Induced By Anti-CD3 x Anti-CEA Bispecific Diabodies And B7 x Anti-CEA Bispecific Fusion Proteins,"* Cancer Res. 59:2909-2916；WO 2006/113665；WO 2008/157379；WO 2010/080538；WO 2012/018687；WO 2012/162068)。通常，效應細胞啟動經由Fc結構域-FcγR相互作用通過將結合抗原的抗體結合至效應細胞被觸發；因此，在這點上，雙抗體分子可呈現出像Ig一樣的功能性，無論它們是否包括Fc結構域(例如，如本領域已知的或本文例證的任何效應子功能試驗所測試的(例如ADCC試驗))。通過交聯腫瘤細胞和效應細胞，雙抗體不僅將效應細胞帶入靠近腫瘤細胞的位置內，而且引起有效的腫瘤殺傷(參見，例如Cao等(2003) *"Bispecific Antibody Conjugates In Therapeutics,"* Adv. Drug. Deliv. Rev. 55:171-197)。

【0117】 然而，上述雙特異性雙抗體的優勢付出了巨大的代價。這種非單特異性雙抗體的形成需要成功組裝兩個或更多個截然不同的多肽(即，這種形成需要雙抗體通過不同多肽鏈種類的異源二聚化形成)。該事實與單特異性雙抗體相反，單特異性雙抗體通過相同多肽鏈的同源二聚化形成。因為必須提供至少兩個不相似的多肽(即兩個多肽種類)以便形成非單特異性雙抗體，並且因為這種多肽的同源二聚化導致非活性的分子(Takemura, S.等(2000) *"Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,"* Protein Eng. 13(8):583-588)，所以這樣的多肽的產生必須以防止相同種類的多肽之間的

共價結合的方式完成(即，以便防止同源二聚化) (Takemura, S.等(2000) "*Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,*" Protein Eng. 13(8):583-588)。因此，現有技術已經教導了這類多肽的非共價締合(參見，例如，Olafsen等(2004) *"Covalent Disulfide-Linked Anti-CEA Diabody Allows Site-Specific Conjugation And Radiolabeling For Tumor Targeting Applications,"* Prot. Engr. Des. Sel. 17:21-27；Asano等(2004) "*A Diabody For Cancer Immunotherapy And Its Functional Enhancement By Fusion Of Human Fc Domain*," Abstract 3P-683, J. Biochem. 76(8):992；Takemura, S.等(2000) "*Construction Of A Diabody (Small Recombinant Bispecific Antibody) Using A Refolding System,*" Protein Eng. 13(8):583-588；Lu, D.等(2005) "*A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity*," J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672)。

【0118】 然而，現有技術已經認識到由非共價締合的多肽組成的雙特異性雙抗體是不穩定的並且容易解離為非功能單多肽鏈單體(參見，例如Lu, D.等(2005) "*A Fully Human Recombinant IgG-Like Bispecific Antibody To Both The Epidermal Growth Factor Receptor And The Insulin-Like Growth Factor Receptor For Enhanced Antitumor Activity*," J. Biol. Chem. 280(20):19665-19672)。

【0119】 在面對該挑戰時，現有技術已經成功開發出穩定的、共價結合的異源二聚體非單特異性雙抗體，命名為**DART®**雙抗體，參見例如D.D.等(2015) "*Targeting HIV Reservoir in Infected CD4 T Cells by Dual-Affinity Re-targeting Molecules (DARTs) that Bind HIV Envelope and Recruit Cytotoxic T Cells*," PLoS Pathog. 11(11):e1005233. doi: 10.1371/journal.ppat.1005233；Al Hussaini, M.等

(2015) "*Targeting CD123 In AML Using A T-Cell Directed Dual-Affinity Re-Targeting (DART®) Platform*," Blood pii: blood-2014-05-575704；Chichili, G.R.等(2015) "*A CD3xCD123 Bispecific DART For Redirecting Host T Cells To Myelogenous Leukemia: Preclinical Activity And Safety In Nonhuman Primates*," Sci. Transl. Med. 7(289):289ra82；Johnson, S.等(2010) "*Effector Cell Recruitment With Novel Fv-Based Dual-Affinity Re-Targeting Protein Leads To Potent Tumor Cytolysis And In Vivo B-Cell Depletion*," J. Molec. Biol. 399(3):436-449； Veri, M.C.等(2010) "*Therapeutic Control Of B Cell Activation Via Recruitment Of Fcgamma Receptor IIB (CD32B) Inhibitory Function With A Novel Bispecific Antibody Scaffold*," Arthritis Rheum. 62(7):1933-1943；Moore, P.A.等(2011) "*Application Of Dual Affinity Retargeting Molecules To Achieve Optimal Redirected T cell Killing Of B-Cell Lymphoma*," Blood 117(17):4542-4551；美國專利號8,044,180、8,133,982、8,187,593、8,193,318、8,530,627、8,669,349、8,778,339、8,784,808、8,795,667、8,802,091、8,802,093、8,946,387、8,968,730、和8,993,730；美國專利公開號2009/0060910、2010/0174053、2011/0081347、2011/0097323、2011/0117089、2012/0009186、2012/0034221、2012/0141476、2012/0294796、2013/0149236、2013/0295121、2014/0017237和2014/0099318；歐洲專利文獻號EP 1868650、EP 2158221、EP 2247304、EP 2252631、EP 2282770、EP 2328934、EP 2376109、EP 2542256、EP 2601216、EP 2714079、EP 2714733、EP 2786762、EP 2839842、EP 2840091；和PCT公開號WO 2006/113665、WO 2008/157379、WO 2010/027797、WO 2010/033279、WO 2010/080538、WO 2011/109400、WO 2012/018687、WO 2012/162067、WO 2012/162068、WO 2014/159940、WO 2015/021089、WO

2015/026892和WO 2015/026894)。這種雙抗體包括兩個或更多個共價複合的多肽，並且涉及將一個或多個半胱氨酸殘基工程化進入每個採用的多肽種類，其允許二硫鍵形成並且因此將一對或多對這樣的多肽鏈相互共價結合。例如，已經顯示將半胱氨酸殘基添加至這種構建體的C-末端以允許在所涉及的多肽鏈之間二硫鍵鍵合，從而穩定化所得的異源二聚體，而不干擾雙抗體的結合特徵。

【0120】 最簡單的**DART®**雙抗體包括兩條多肽鏈，每條多肽鏈包括三個結構域(**圖1A-1B**)。第一多肽鏈包括：(i)包含第一免疫球蛋白的輕鏈可變結構域的結合區的結構域(VL1)，(ii)包含第二免疫球蛋白的重鏈可變結構域的結合區的第二結構域(VH2)，和(iii)用來促進與第二多肽鏈的異源二聚化(“**異源二聚體促進結構域**”)並且將雙抗體的第一多肽鏈共價結合至第二多肽鏈的第三結構域。第二多肽鏈包含互補第一結構域(VL2結構域)、互補第二結構域(VH1結構域)和與第一多肽鏈的第三結構域複合以促進異源二聚化(“**異源二聚體促進結構域**”)和與第一多肽鏈的共價鍵合的第三結構域。這種分子是穩定的、有效的並且具有同時結合兩個或更多個抗原的能力。在一個實施方式中，第一和第二多肽鏈的第三結構域各自包含半胱氨酸(“C”)殘基，其用來通過二硫鍵將多肽結合在一起。一條或兩條多肽鏈的第三結構域可另外地具有CH2-CH3結構域的序列，以使雙抗體多肽的複合形成能夠結合細胞(如B淋巴細胞、樹突細胞、天然殺傷細胞、巨噬細胞、嗜中性粒細胞、嗜酸性粒細胞、嗜鹼性粒細胞和肥大細胞)的Fc受體的Fc結構域。已經描述了這種分子的許多變型(參見，例如美國專利公開號2013-0295121、2010-0174053、2007-0004909、2009-0060910；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221和PCT公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538、WO 2006/113665)並且在本文中提供。已經

描述了這種分子的許多變型(參見，例如美國專利公開號2015/0175697、2014/0255407、2014/0099318、2013/0295121、2010/0174053、2009/0060910、2007-0004909；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221、EP 1868650；和PCT公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538、WO 2006/113665)並且在本文中提供。

【0121】 對於期望雙特異性或三價分子但是不需要Fc的應用來說可替選構建體在本領域是已知的，包括但不限於雙特異性T細胞接合分子，也被稱為“**BiTE® 抗體**”(參見，例如，PCT公開號WO 1993/11161；和WO 2004/106381)，和四價串聯抗體，也被稱為“**TandAbs®**” (參見，例如美國專利公開號2011-0206672；歐洲專利公開號EP 2371866；和PCT公開號WO 1999/057150、WO 2003/025018和WO 2013/013700)。BiTE由包含串聯連接的scFv的單條多肽鏈形成，而TandAb通過兩條相同多肽鏈的同源二聚化形成，該兩條多肽鏈各自具有VH1、VL2、VH2和VL2結構域。

【0122】 本發明提供能夠增強針對表達疾病抗原的靶細胞(例如，癌症細胞或病原體感染的細胞、病原體等)的殺傷的免疫應答的雙特異性結合分子。這種雙特異性結合分子能夠結合“**第一表位**”和“**第二表位**”，其中這種表位之一是CD16的表位且這種表位中的另一個是疾病抗原(“**DA**”)的表位。特定表位被命名為第一vs.第二表位是沒有關係的；這種標記法僅僅與本發明結合分子的多肽鏈的結構域的存在和取向有關。因此，本發明的雙特異性分子包括能夠結合CD16的表位的“$\mathbf{VL_{CD16}}$”/“$\mathbf{VH_{CD16}}$”結構域和能夠結合疾病抗原的表位的“$\mathbf{VL_{DA}}$”/“$\mathbf{VH_{DA}}$”結構域。本發明尤其包括利用本文提供的任意方法所產生的雙特異性雙抗體、BiTE、抗體和TandAb。

A. 缺少Fc結構域的雙抗體

【0123】 在一種實施方式中，本發明的CD16結合分子將是雙特異性雙抗體並且將包括能夠結合第一和第二表位兩者的結構域，但將缺少Fc結構域，並且因此不能經由Fc-FcγR相互作用結合FcγR分子。然而，這種分子能經由它們的CD16結合結構域的SDR或CDR結合至CD16。Fc結構域的缺乏因此用於防止分子結合至非CD16 FcγR，諸如抑制性受體CD32B。

【0124】 雙特異性雙抗體的這種實施方式的第一多肽鏈在N-末端至C-末端方向上優選包括：N-端、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VL結構域(即，VL_{CD16}或VL_{DA})、第一間插間隔子肽(連接體1)、能夠結合疾病抗原的表位的單克隆抗體的VH結構域(如果這種第一多肽鏈包含VL_{CD16})或能夠結合CD16的單克隆抗體的VH結構域(如果這種第一多肽鏈包含VL_{DA})、任選包含半胱氨酸殘基的第二間插間隔子肽(連接體2)、異源二聚體-促進結構域和C-端(**圖1A-1B**)。

【0125】 雙特異性雙抗體的這種實施方式的第二多肽鏈在N-末端至C-末端方向包括：N-末端、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VL結構域(即，VL_{CD16}或VL_{DA}，並且為不是選擇用於包括在雙抗體的第一多肽鏈中的VL結構域)、間插間隔子肽(連接體1)、能夠結合第一或第二表位的單克隆抗體的VH結構域(即，VH_{CD16}或VH_{DA}，並且為不是選擇用於包括在雙抗體的第一多肽鏈中的VH結構域)、任選包含半胱氨酸殘基的第二間插間隔子肽(連接體2)、異源二聚體-促進結構域和C-端(**圖1A-1B**)。所採用的對於特定表位特異性的VL和VH結構域優選獲自或衍生自相同單克隆抗體。然而，這種結構域可衍生自不同單克隆抗體，條件是它們締合以形成能免疫特異性地結合這種表位的功能夠結合結構域。這種不同的抗體在本文中被稱為“**相應**”抗體。

【0126】 第一多肽鏈的VL結構域與第二多肽鏈的VH結構域相互作用以形成對表位之一(例如，第一表位)特異性的第一功能表位結合結構域。同樣，第二多肽鏈的VL結構域與第一多肽鏈的VH結構域以便形成對另一表位(即，第二表位)特異性的第二功能表位結合結構域。因此，對第一和第二多肽鏈的VL和VH結構域的選擇進行“**協調**”，使得雙抗體的兩條多肽鏈共同地包括能夠結合第一表位和第二表位兩者的VL和VH結構域(即，它們共同地包括VL_{CD16}/VH_{CD16}和VL_{DA}/VH_{DA})。

【0127】 最優選地，對間插間隔子肽(即，“**連接體1**”，其分開這種VL和VH結構域)的長度進行選擇以基本上或完全地防止多肽鏈的VL和VH結構域相互結合(例如，由0個、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個或9個間插連接體氨基酸殘基組成)。因此，第一多肽鏈的VL和VH結構域基本上或完全不能夠相互結合。同樣，第二多肽鏈的VL和VH結構域基本上或完全不能相互結合。優選的間插間隔子肽(連接體1)具有序列(**SEQ ID NO:16**)：GGGSGGGG。

【0128】 第二間插間隔子肽(“**連接體2**”)的長度和組成基於一個或多個促進這種二聚化的多肽結構域(即，“**異源二聚體-促進結構域**”)的選擇進行選擇。典型地，第二間插間隔子肽(連接體2)將包含3-20個氨基酸殘基。具體地，在所採用的異源二聚體-促進結構域包含/不包含半胱氨酸殘基的情況下，使用包含半胱氨酸的第二間插間隔子肽(連接體2)。包含半胱氨酸的第二間插間隔子肽(連接體2)將包含1個、2個、3個或更多個半胱氨酸。優選的含半胱氨酸的間隔子肽(連接體2)具有序列GGCGGG(**SEQ ID NO:17**)。可替選地，連接體2不包含半胱氨酸(例如，GGG、GGGS(**SEQ ID NO:18**)、LGGGSG(**SEQ ID NO:19**)、GGGSGGGSGGG(**SEQ ID NO:20**)、ASTKG(**SEQ ID NO:21**)、LEPKSS(**SEQ ID NO:22**)、APSSS(**SEQ ID**

NO:23)等)並且如下所述使用含半胱氨酸的異源二聚體-促進結構域。任選地，使用含半胱氨酸的連接體2和含半胱氨酸的異源二聚體-促進結構域兩者。

【0129】 異源二聚體-促進結構域可以是一條鏈上的GVEPKSC (**SEQ ID NO:24**)或VEPKSC (**SEQ ID NO:25**)或AEPKSC (**SEQ ID NO:26**)以及另一條多肽鏈上的GFNRGEC (**SEQ ID NO:27**)或FNRGEC (**SEQ ID NO:28**) (US2007/0004909)。

【0130】 在優選的實施方式中，異源二聚體-促進結構域將包括相反電荷的串聯重複螺旋結構域，例如"E-螺旋"異源二聚體-促進結構域(**SEQ ID NO:29**：EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)，其谷氨酸殘基將在pH 7時形成負電荷，或"K-螺旋"異源二聚體-促進結構域(**SEQ ID NO:30**：KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)，其賴氨酸殘基將在pH 7時形成正電荷。這種帶電結構域的存在促進第一和第二多肽之間的締合，並且因而促進異源二聚體形成。可以利用異源二聚體-促進結構域，其包含上述E-螺旋和K-螺旋序列的修飾以便包括一個或多個半胱氨酸殘基。這種半胱氨酸殘基的存在允許一條多肽鏈上存在的螺旋變得與另一條多肽鏈上存在的互補螺旋共價鍵合，由此使多肽鏈相互共價鍵合並且增加雙抗體的穩定性。這種特別優選的異源二聚體-促進結構域的實例包括具有氨基酸序列EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (**SEQ ID NO:31**)的修飾的E-螺旋，和具有氨基酸序列KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (**SEQ ID NO:32**)的修飾的K-螺旋。

【0131】 如在WO 2012/018687中所公開，為了提高雙抗體的體內藥代動力學特性，雙抗體可以進行修飾以在雙抗體的一個或個末端上包含血清結合蛋

白的多肽部分。最優選地，血清結合蛋白的這種多肽部分將被安裝在雙抗體的多肽鏈的C-端。白蛋白是血漿中最豐富的蛋白並且在人中具有19天的半衰期。白蛋白具有幾個小分子結合結構域，這允許其非共價結合其它蛋白並且因此延長其血清半衰期。鏈球菌(Streptococcus)菌株G148的G蛋白的白蛋白-結合結構域3 (ABD3)由形成穩定三螺旋束的46個氨基酸殘基組成並且具有寬的白蛋白結合特異性(Johansson, M.U.等(2002) "*Structure, Specificity, And Mode Of Interaction For Bacterial Albumin-Binding Module*s," J. Biol. Chem. 277(10):8114-8120)。因此，用於提高雙抗體的體內藥物動力學特性的血清結合蛋白的特別優選的多肽部分是來自鏈球菌G蛋白的白蛋白-結合結構域(ABD)，並且更優選地鏈球菌菌株G148的G蛋白的白蛋白-結合結構域3(ABD3) (**SEQ ID NO:33**): LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLIDNAKS AEGVKALIDE ILAALP。

【0132】 如在WO 2012/162068(通過引用併入本文)中所公開，**SEQ ID NO:33的"去免疫"**變體具有減弱或消除MHC II類結合的能力。基於組合的突變結果，下述的置換組合被認為是用於形成這種去免疫ABD的優選置換：66D/70S +71A；66S/70S +71A；66S/70S +79A；64A/65A/71A；64A/65A/71A+66S；64A/65A/71A+66D；64A/65A/71A+66E；64A/65A/79A+66S；64A/65A/79A+66D；64A/65A/79A+66E。變體ABD具有修飾L64A、I65A和D79A或者修飾N66S、T70S和D79A。特別優選的是具有下列氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLI**D**$_{66}$NAK**S**$_{70}$ **A**$_{71}$EGVKALIDE ILAALP (**SEQ ID NO:34**)、

或者氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKN**A**$_{64}$**A**$_{65}$NNAKT VEGVKALI**A**$_{79}$E ILAALP (**SEQ ID NO:35**)、

或者氨基酸序列：

LAEAKVLANR ELDKYGVSDY YKNLI**S**$_{66}$NAK**S**$_{70}$ VEGVKALI**A**$_{79}$E ILAALP

(SEQ ID NO:36)

的變體去免疫的ABD，因為這種去免疫的ABD呈現出基本上野生型的結合，同時提供減弱的MHC II類結合。因此，這種具有ABD的雙抗體的第一多肽鏈包含第三連接體(連接體3)，其優選位於這種多肽鏈的E-螺旋(或K-螺旋)結構域的C-末端以便間插在E-螺旋(或K-螺旋)結構域和ABD(其優選為去免疫的ABD)之間。這種連接體3的優選序列是**SEQ ID NO:18**：GGGS。

B. 包含Fc結構域的雙抗體

【0133】 本發明的一種實施方式涉及多特異性(例如，雙特異性、三特異性、四特異性等)雙抗體，其包含Fc結構域並且能同時結合CD16的表位和疾病抗原的表位。這種分子的Fc結構域可以是任何同種型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)。所述分子可進一步包含CH1結構域和/或鉸鏈結構域。當存在時，CH1結構域和/或鉸鏈結構域可以是任何同種型(例如，IgG1、IgG2、IgG3或IgG4)，並且優選具有與期望Fc結構域相同的同種型。

【0134】 將IgG的CH2-CH3結構域添加至雙抗體多肽鏈中的一者或兩者，使得雙抗體鏈的複合導致Fc結構域的形成、增加了雙抗體的生物學半衰期和/或改變雙抗體的價態。這種雙抗體包含兩條或更多條多肽鏈，其序列允許多肽鏈相互共價結合以形成能同時結合第一表位和第二表位的共價締合的雙抗體。將IgG的CH2-CH3結構域併入到雙抗體多肽的兩者上將允許形成兩鏈雙特異性含Fc結構域的雙抗體(**圖2**)。

【0135】 可替選地，將IgG的CH2-CH3結構域併入雙抗體多肽中的僅僅一個上將允許形成更複雜的四鏈雙特異性含Fc結構域的雙抗體(**圖3A-3C**)。**圖3C**顯

示具有恆定輕(CL)結構域和恆定重CH1結構域的代表性四鏈雙抗體，然而可以可替選地採用這種結構域以及其它多肽的片段(參見，例如**圖3A和3B**，美國專利公開號2013-0295121、2010-0174053和2009-0060910；歐洲專利公開號EP 2714079、EP 2601216、EP 2376109、EP 2158221以及PCT公開號WO 2012/162068、WO 2012/018687、WO 2010/080538)。因此，例如，代替CH1結構域，可以採用衍生自人IgG的鉸鏈結構域的具有氨基酸序列GVEPKSC **(SEQ ID NO:24)**、VEPKSC **(SEQ ID NO:25)**或AEPKSC **(SEQ ID NO:26)**的多肽，並且代替CL結構域，可以採用人κ輕鏈的C-末端的6個氨基酸，GFNRGEC **(SEQ ID NO:27)**或FNRGEC **(SEQ ID NO:28)**。代表性的含肽四鏈雙抗體顯示在**圖3A**中。可替選地或者另外地，可以採用這樣的肽，其包含相反電荷的串聯螺旋結構域，諸如"E-螺旋"螺旋形結構域(**SEQ ID NO:29**：EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK或**SEQ ID NO:31**：EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK)；和"K-螺旋"結構域(**SEQ ID NO:30**：KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE或**SEQ ID NO:32**：KVAACKE-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE)。代表性的包含螺旋結構域的四鏈雙抗體顯示在**圖3B**中。

【0136】 本發明的包含Fc結構域的雙抗體分子可包含另外的間插間隔子肽(連接體)，一般這樣的連接體將被併入在異源二聚體結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3結構域之間和/或併入在CH2-CH3結構域和可變結構域(即，VH或VL)之間。典型地，另外的連接體將包含3-20個氨基酸殘基並且可任選地包含IgG鉸鏈結構域的全部或部分(優選地，IgG鉸鏈結構域的具有1個、2個、3個或更多個半胱氨酸殘基的含半胱氨酸部分)。可用在本發明的雙特異性包含Fc結構域的雙抗體分子中的連接體包括：GGGS **(SEQ ID NO:18)**、LGGGSG **(SEQ ID**

NO:19)、GGGSGGGSGGG (**SEQ ID NO:20**)、ASTKG (**SEQ ID NO:21**)、LEPKSS (**SEQ ID NO:22**)、APSSS (**SEQ ID NO:23**)、APSSSPME (**SEQ ID NO:37**)、VEPKSADKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:38**)、LEPKSADKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:39**)、DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)、scFv連接體：GGGGSGGGGSGGGGS (**SEQ ID NO:41**)；“長”連接體：GGGGSGGGSGGG (**SEQ ID NO:42**)、GGC和GGG。LEPKSS (**SEQ ID NO:22**)可以代替GGG或GGC使用以便於克隆。另外，氨基酸GGG或LEPKSS (**SEQ ID NO:22**)可緊接DKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:40**)以形成可替選的連接體：GGGDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:43**)和LEPKSSDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:44**)。除了連接體外，本發明的雙特異性含Fc結構域的分子可包含IgG鉸鏈結構域，或本發明的雙特異性含Fc結構域的分子可包含代替連接體的IgG鉸鏈結構域。示例性的鉸鏈結構域包括：來自IgG1的EPKSCDKTHTCPPCP (**SEQ ID NO:5**)、來自IgG2的ERKCCVECPPCP(**SEQ ID NO:6**)、來自IgG3的ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP (**SEQ ID NO:7**)、來自IgG4的ESKYGPPCPSCP (**SEQ ID NO:8**)和ESKYGPPCP**P**CP (**SEQ ID NO:9**)，包含穩定化S228P置換(如按照Kabat中所示的EU索引所編號)以減少鏈交換的IgG4鉸鏈變體。

【0137】 如**圖3A-3C**所提供，本發明的包含Fc結構域的雙抗體可包含四條鏈。這種雙抗體的第一和第三多肽鏈包含三個結構域：(i)含VL1的結構域、(ii)含VH2的結構域、(iii)異源二聚體-促進結構域和(iv)含CH2-CH3序列的結構域。第二和第四多肽鏈包含：(i)含VL2的結構域、(ii)含VH1的結構域和(iii)異源二聚體-促進結構域，其中異源二聚體-促進結構域促進第一/第三多肽鏈與第二/第四多肽鏈的二聚化。第三和第四多肽鏈的VL和/或VH結構域以及第一和第二多肽

鏈的VL和/或VH結構域可以相同或不同，以便允許單特異性的、雙特異性的或四特異性的四價結合。符號“**VL3**”和“**VH3**”分別表示結合這種雙抗體的 “第三”表位的輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域。符號“**VL4**”和“**VH4**”分別表示結合這種雙抗體的 “第四” 表位的輕鏈可變結構域和重鏈可變結構域。本發明的代表性四鏈雙特異性含Fc結構域的雙抗體的多肽鏈的一般結構提供在表**1**中：

表 1

雙特異性	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
四特異性	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VL3-VH4-HPD-CH2-CH3-COOH
	第四鏈	NH_2-VL4-VH3-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0138】 在具體實施方式中，本發明的雙抗體是由總計四條多肽鏈構成的雙特異性的、三價的(即，具有四個表位結合結構域)含Fc的雙抗體(**圖3A-3C**)。本發明的雙特異性的、三價的含Fc的雙抗體包含兩個第一表位結合結構域和兩個第二表位結合結構域。

【0139】 在進一步的實施方式中，本發明的含Fc結構域的雙抗體可包含三條多肽鏈。這種雙抗體的第一多肽包含三個結構域：(i)含VL1的結構域、(ii)含VH2的結構域和(iii)含CH2-CH3序列的結構域。這種雙抗體的第二多肽包含：(i)含VL2的結構域、(ii)含VH1的結構域和(iii)促進與雙抗體的第一多肽鏈異源二聚化和共價鍵合的結構域。這種雙抗體的第三多肽包CH2-CH3序列。因此，這種

雙抗體的第一和第二多肽鏈一起締合以形成能夠結合第一或第二表位的VL1/VH1表位結合結構域、以及能夠結合這種表位中的另一表位的VL2/VH2表位結合結構域。第一和第二多肽通過在它們各自的第三結構域中的涉及二硫鍵的半胱氨酸殘基相互鍵合。特別地，第一和第三多肽鏈相互複合以形成經由二硫鍵穩定的Fc結構域。這種雙特異性雙抗體具有增強的功效。**圖4A和4B**示例這種雙抗體的結構。這種含Fc結構域的雙抗體可具有兩種取向的任一種(**表2**)：

表 2		
第一取向	第三鏈	NH_2-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
第二取向	第三鏈	NH_2-CH2-CH3-COOH
	第一鏈	NH_2-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0140】 在具體實施方式中，本發明的雙抗體是由總計三條多肽鏈構成的雙特異性的、二價的(即，具有兩個表位結合結構域)含Fc的雙抗體(**圖4A-4B**)。本發明的雙特異性的、二價的含Fc的雙抗體包含一個對第一或第二表位免疫特異性的表位結合結構域、以及能夠結合這種表位中的另一表位的VL2/VH2表位結合結構域。

【0141】 在進一步的實施方式中，含Fc結構域的雙抗體可包含總計五條多肽鏈。在特定的實施方式中，五條多肽鏈中的兩條具有相同的氨基酸序列。這種雙抗體的第一多肽鏈包含：(i)含VH1的結構域、(ii)含CH1的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域。第一多肽鏈可以是抗體的包含VH1和重鏈恆定區的重

鏈。這種雙抗體的第二和第五多肽鏈包含：(i)含VL1的結構域和(ii)含CL的結構域。這種雙抗體的第二和/或第五多肽鏈可以是抗體的包含與第一/第三多肽鏈的VH1互補的VL1的輕鏈。第一、第二和/或第五多肽鏈可分離自天然發生的抗體。可替選地，它們可重組構建。這種雙抗體的第三多肽鏈包含：(i)含VH1的結構域、(ii)含CH1的結構域、(iii)含CH2-CH3序列的結構域、(iv)含VL2的結構域、(v)含VH3的結構域和(vi)異源二聚體-促進結構域，其中所述異源二聚體-促進結構域促進第三鏈與第四鏈的二聚化。這種雙抗體的第四多肽包含：(i)含VL3的結構域、(ii)含VH2的結構域和(iii)促進與雙抗體的第三多肽鏈的異源二聚化和共價鍵合的結構域。

【0142】 因此，這種雙抗體的第一和第二多肽鏈、以及第三和第五多肽鏈一起締合以形成能夠結合第一表位的兩個VL1/VH1表位結合結構域。這種雙抗體的第三和第四多肽鏈一起締合以形成能夠結合第二表位的VL2/VH2表位結合結構域、以及能夠結合第三表位的VL3/VH3表位結合結構域。第一和第三多肽通過在它們各自的恆定區中的涉及二硫鍵的半胱氨酸殘基相互鍵合。特別地，第一和第三多肽鏈相互複合以形成Fc結構域。這種多特異性雙抗體具有增強的功效。**圖5**示出這種雙抗體的結構。應理解，VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3結構域可以相同或不同，以便允許單特異性的、雙特異性的或三特異性的結合。

【0143】 對多肽鏈的VL和VH結構域進行選擇以便形成對期望表位特異性的VL/VH表位結合結構域。通過多肽鏈的締合形成的VL/VH表位結合結構域可以相同或不同，以便允許單特異性的、雙特異性的、三特異性的或四特異性的四價結合。具體地，VL和VH結構域可以進行選擇，使得多價雙抗體可包含針對第一表位的兩個結合結構域和針對第二表位的兩個結合結構域；或者針對第

一表位的三個結合結構域和針對第二表位的一個結合結構域；或者針對第一表位的兩個結合結構域、針對第二表位的一個結合結構域和針對第三表位的一個結合結構域(如**圖5**中所描繪)。本發明的代表性五鏈含Fc結構域的雙抗體的多肽鏈的一般結構被提供在**表3**中：

表 3		
雙特異性(2x2)	第二鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH2-HPD-COOH
	第五鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH_2-VL2-VH2-HPD-COOH
雙特異性(3x1)	第二鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第五鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
三特異性 (2x1x1)	第二鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第一鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VH1-CH1-CH2-CH3-VL2-VH3-HPD-COOH
	第五鏈	NH_2-VL1-CL-COOH
	第四鏈	NH_2-VL3-VH2-HPD-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0144】 在具體實施方式中，本發明的雙抗體是由總計五條多肽鏈構成的雙特異性的、四價的(即，具有四個表位結合結構域)含Fc的雙抗體，其具有對第一表位免疫特異性的兩個表位結合結構域和對第二表位特異性的兩個表位結合結構域。在另一實施方式中，本發明的雙特異性的、四價的、含Fc的雙抗體包含對第一表位免疫特異性的三個表位結合結構域和對第二表位特異性的一個表

位結合結構域。如上所提供，VL和VH結構域可以進行選擇以允許三特異性結合。因此，本發明也涵蓋三特異性的、四價的、含Fc的雙抗體。本發明的三特異性的、四價的、含Fc的雙抗體包含對第一表位免疫特異性的兩個表位結合結構域、對第二表位免疫特異性的一個表位結合結構域、和對第三表位免疫特異性的一個表位結合結構域。

【0145】 在傳統的免疫功能中，抗體-抗原複合物與免疫系統的細胞的相互作用導致廣泛系列的應答，其範圍從效應子功能，諸如抗體依賴性細胞毒性、肥大細胞脫粒和吞噬作用到免疫調節信號，諸如調節淋巴細胞增殖和抗體分泌。所有這些相互作用通過抗體或免疫複合物的Fc結構域與造血細胞上的專用細胞表面受體的結合而啟動。如上所討論，由抗體和免疫複合物觸發的細胞應答的多樣性起因於三個Fc受體的結構異質性：FcγRI(CD64)、FcγRII(CD32)和FcγRIII(CD16)。FcγRI(CD64)、FcγRIIA(CD32A)和FcγRIII(CD16)是啟動型(即，免疫系統增強型)受體；FcγRIIB(CD32B)是抑制型(即，免疫系統減弱型)受體。此外，與新生Fc受體(FcRn)的相互作用介導IgG分子從內體到細胞表面並且釋放到血液中的再迴圈。上面呈現了示例性野生型IgG1(**SEQ ID NO:12**)、IgG2(**SEQ ID NO:13**)、IgG3(**SEQ ID NO:14**)和IgG4(**SEQ ID NO:15**)的氨基酸序列。

【0146】 Fc結構域的修飾可導致表型改變，例如血清半衰期改變、穩定性改變、細胞酶敏感性改變或效應子功能改變。因此可期望例如就效應子功能而言修飾本發明的含Fc結構域的結合分子，以便增強這種分子在治療癌症方面的有效性。Fc結構域介導的效應子功能的減少或消除在某些情況下是期望的，例如在其作用機理涉及帶有靶抗原的細胞的阻截或對抗而非殺傷的抗體的情況下。增加的效應子功能當針對不期望的細胞、諸如腫瘤和外來細胞時一般是期

望的，其中FcγR以低水準表達，例如具有低水準FcγRIIB的腫瘤特異性B細胞(例如，非霍奇金淋巴瘤、CLL和伯基特淋巴瘤)。本發明的具有這種賦予的或改變的效應子功能的分子可用於疾病、障礙或感染的治療和/或預防，其中效應子功能活性的療效增加是期望的。

【0147】 因此，在某些實施方式中，本發明的含Fc結構域的分子的Fc結構域可以是工程化的變體Fc結構域。儘管本發明的雙特異性的含Fc結構域的分子的Fc結構域可具有結合一種或多種Fc受體(例如，FcγR)的能力，更優選地這種變體Fc結構域具有改變的結合FcγRIA(CD64)、FcγRIIA (CD32A)、FcγRIIB (CD32B)、FcγRIIIA (CD16a)或FcγRIIIB (CD16b)(相對於野生型Fc結構域所呈現的結合)，例如將具有增強的結合啟動型受體和/或將具有基本上減少的或沒有結合一種或多種抑制型受體的能力。因此，本發明的含Fc結構域的分子的Fc結構域可以包括完整Fc結構域的CH2結構域的一些或全部和/或CH3結構域的一些或全部，或者可包含變體CH2和/或變體CH3序列(其相對於完整Fc結構域的CH2或CH3結構域可包括例如一個或多個插入和/或一個或多個缺失)。這種Fc結構域可包含非Fc肽部分，或者可包含非天然的完整Fc結構域的部分，或者可包含CH2和/或CH3結構域的非天然發生的取向(諸如，例如兩個CH2結構域或兩個CH3結構域、或者在N-末端至C-末端方向上，與CH2結構域連接的CH3結構域等)。

【0148】 鑒別為改變效應子功能的Fc結構域修飾在本領域是已知的，包括增加結合啟動型受體(例如，FcγRIIA(CD16A)和減少結合抑制型受體(例如，FcγRIIB(CD32B)的修飾(參見，例如，Stavenhagen, J.B.等(2007) "*Fc Optimization Of Therapeutic Antibodies Enhances Their Ability To Kill Tumor Cells In Vitro And Controls Tumor Expansion In Vivo Via Low-Affinity Activating Fcgamma Receptors*,"

Cancer Res. 57(18):8882-8890)。**表4**列出了增加結合啟動型受體和/或減少結合抑制型受體的示例性修飾的示例性單重、兩重、三重、四重或五重置換(編號(按照EU索引)和置換相對於上面所示的**SEQ ID NO:12**的氨基酸序列)。

表 4

優選的啟動型 Fc 結構域的變異†

單位點變異			
F243L	R292G	D270E	R292P
Y300L	P396L		
雙位點變異			
F243L 和 R292P	F243L 和 Y300L	F243L 和 P396L	R292P 和 Y300L
D270E 和 P396L	R292P 和 V305I	P396L 和 Q419H	P247L 和 N421K
R292P 和 P396L	Y300L 和 P396L	R255L 和 P396L	R292P 和 P305I
K392T 和 P396L			
三位點變異			
F243L、P247L 和 N421K		P247L、D270E 和 N421K	
F243L、R292P 和 Y300L		R255L、D270E 和 P396L	
F243L、R292P 和 V305I		D270E、G316D 和 R416G	
F243L、R292P 和 P396L		D270E、K392T 和 P396L	
F243L、Y300L 和 P396L		D270E、P396L 和 Q419H	
V284M、R292L 和 K370N		R292P、Y300L 和 P396L	
四位點變異			
L234F、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、P247L、D270E 和 N421K	
L234F、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、R255L、D270E 和 P396L	
L235I、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、D270E、G316D 和 R416G	
L235Q、F243L、R292P 和 Y300L		F243L、D270E、K392T 和 P396L	
P247L、D270E、Y300L 和 N421K		F243L、R292P、Y300L 和 P396L	
R255L、D270E、R292G 和 P396L		F243L、R292P、V305I 和 P396L	
R255L、D270E、Y300L 和 P396L		F243L、D270E、P396L 和 Q419H	
D270E、G316D、P396L 和 R416G			

表 4 優選的啟動型 Fc 結構域的變異†	
五位點變異	
L235V、F243L、R292P、Y300L 和 P396L	F243L、R292P、V305I、Y300L 和 P396L
L235P、F243L、R292P、Y300L 和 P396L	
† 按照如 Kabat 中的 EU 索引編號	

【0149】 具有減少的結合CD32B和/或增加的結合CD16A的人IgG1 Fc結構域的示例性變體包含F243L、R292P、Y300L、V305I或P396L置換，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。這些氨基酸置換可以任意組合存在於人IgG1 Fc結構域中。在一種實施方式中，人IgG1 Fc結構域變體包含F243L、R292P和Y300L置換。在另一實施方式中，人IgG1 Fc結構域變體包含F243L、R292P、Y300L、V305I和P396L置換。

【0150】 在某些實施方式中，對於本發明含Fc結構域的結合分子的Fc結構域來說，優選的是呈現減少的(或基本上沒有)結合FcγRIA(CD64)、FcγRIIA(CD32A)、FcγRIIB(CD32B)、FcγRIIIA(CD16a)或FcγRIIIB (CD16b) (相對於野生型IgG1 Fc結構域(**SEQ ID NO:12**)所呈現的結合)。在具體實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含呈現減少的抗體依賴性細胞介導的細胞毒性(ADCC)效應子功能的IgG Fc結構域。在優選的實施方式中，這種結合分子的CH2-CH3結構域包括下列置換中的任意1個、2個、3個或4個：L234A、L235A、D265A、N297Q和N297G，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。在另一實施方式中，CH2-CH3結構域包含N297Q置換、N297G置換、L234A和L235A置換或D265A置換，因為這些突變消除FcR結合。可替選地，利用固有地呈現減少

的(基本上沒有)結合FcγRIIIA(CD16a)和/或減少的效應子功能(相對於由野生型IgG1 Fc結構域(**SEQ ID NO:12**)所呈現的結合和效應子功能)的天然發生的Fc結構域的CH2-CH3結構域。在具體實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含IgG2 Fc結構域(**SEQ ID NO:13**)、IgG3 Fc結構域(**SEQ ID NO:14**)或IgG4 Fc結構域(**SEQ ID NO:15**)。當利用IgG4 Fc結構域時，本發明也包括引入穩定化突變，諸如上述鉸鏈區S228P置換(參見，例如，**SEQ ID NO:11**)。由於N297G、N297Q、L234A、L235A和D265A置換消除了效應子功能，所以在期望效應子功能的環境下，將優選不利用這些置換。

【0151】 對於具有減少或消除的效應子功能的本發明的含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域來說，優選的IgG1序列將包括置換L234A/L235A (**SEQ ID NO:45**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0152】 對於本發明的含Fc區的分子的CH2和CH3結構域來說，第二優選的IgG1序列包含S442C置換(底線所顯示)，以便允許兩個CH3結構域經由二硫鍵相互共價鍵合或允許藥物部分的接合。這種分子的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:46**)：

APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS L**C**LSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0153】 對於本發明的含Fc區的分子的CH2和CH3結構域來說，第三優選的IgG1序列包含L234A/L235A置換(底線所顯示)，其減少或消除效應子功能；以及S442C置換(底線所顯示)，其允許兩個CH3結構域經由二硫鍵相互共價鍵合或允許藥物部分的接合。這種分子的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:47**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS L**C**LSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0154】 包含Fc結構域的蛋白質的血清半衰期可通過增加Fc結構域對FcRn的結合親和力而增加。如本文所用的術語“半衰期”意指分子的藥物動力學特性，其是所述分子在其施用後平均生存時間的度量。半衰期可表示為從受試者(例如，人患者或其它哺乳動物)的身體或其特定區室消除已知量的百分之五十(50%)的分子需要的時間，例如，如在血清中測量的，即迴圈半衰期，或在其他組織中測量的。一般而言，半衰期的增加導致施用的分子在迴圈中的平均停留時間(MRT)的增加。

【0155】 在一些實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含變體Fc結構域，所述變體Fc結構域包含相對於野生型Fc結構域的至少一個氨基酸修飾，使得所述分子具有增加的半衰期(相對於如果包含野生型Fc結構域的這種分子)。在一些實施方式中，本發明的含Fc結構域的結合分子包含變體IgG Fc結構域，所述變體IgG Fc結構域包含在選自由下列組成的組的一個或多個位置處的半衰期延長的氨基酸置換：238、250、252、254、256、257、256、265、272、286、288、303、305、307、308、309、311、312、317、340、356、360、362、376、

378、380、382、413、424、428、433、434、435和436，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。能夠增加含Fc結構域的分子的半衰期的許多突變在本領域是已知的，並且包括例如M252Y、S254T、T256E和其組合。例如，參見下列中描述的突變：美國專利號6,277,375、7,083,784、7,217,797、8,088,376；美國公開號2002/0147311、2007/0148164；和PCT公開號WO 98/23289、WO 2009/058492和WO 2010/033279，其通過引用以其全部內容併入本文。

【0156】 在一些實施方式中，呈現增加的半衰期的本發明的含Fc結構域的結合分子具有變體Fc結構域，所述變體Fc結構域包括在Fc結構域殘基250、252、254、256、257、288、307、308、309、311、378、428、433、434、435和436中的兩個或更多個上的置換。具體地，選自下列的兩個或更多個置換：T250Q、M252Y、S254T、T256E、K288D、T307Q、V308P、A378V、M428L、N434A、H435K和Y436I，其中所述編號是如Kabat中的EU索引的編號。在具體實施方式中，這種分子可具有變體IgG Fc結構域，所述變體IgG Fc結構域包括下列置換：

(A)M252Y、S254T和T256E；

(B)M252Y和S254T；

(C)M252Y和T256E；

(D)T250Q和M428L；

(E) T307Q和N434A；

(F) A378V和N434A；

(G)N434A和Y436I；

(H)V308P和N434A；或

(I) K288D和H435K。

【0157】 在優選的實施方式中，本發明的含Fc結構域的**CD16 x DA**結合分子具有變體IgG Fc區，所述變體IgG Fc區包含下列置換中的1個、2個或3個：M252Y、S254T和T256E。本發明進一步涵蓋具有變體IgG Fc區的**CD16 x DA**結合分子，所述變體IgG Fc區包含：

(A)改變效應子功能和/或FcγR的一個或多個突變；和

(B)延長血清半衰期的一個或多個突變。

【0158】 本發明的含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域的IgG1序列，其提供增加的半衰期(並且其在結合食蟹猴和人FcRn兩者方面具有10倍增加)(Dall'Acqua, W.F.等(2006) "*Properties of Human IgG1s Engineered for Enhanced Binding to the Neonatal Fc Receptor (FcRn)*," J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524)，將包含置換M252Y/S254T/T256E (**SEQ ID NO:48**)：

APELLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0159】 本發明的含Fc結構域的分子的CH2和CH3結構域的可替選IgG1序列，其組合了由置換L234A/L235A所提供的減少或消除的效應子功能和由置換M252Y/S254T/T256E所提供的增加的血清半衰期，由**SEQ ID NO: 49**提供：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0160】 本發明的含Fc區的分子的CH2和CH3結構域的進一步優選的IgG1序列包含L234A/L235A置換(底線所顯示)，其減少或消除效應子功能；和M252Y、S254T和T256E置換(底線所顯示)，以便延長血清半衰期；和S442C置換(底線所顯示)，以便允許兩個CH3結構域經由二硫鍵相互共價鍵合或允許藥物部分的接合。這種分子的氨基酸序列是(**SEQ ID NO:50**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS L**C**LSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0161】 對於期望具有不同氨基酸序列的含Fc結構域的多肽鏈(例如，其含Fc結構域的多肽鏈期望是不相同的)的某些抗體、雙抗體和三價結合分子，期望減少或防止同源二聚化發生在相同鏈的CH2-CH3結構域之間(例如，兩條第一多肽鏈，或者兩條第三多肽鏈的CH2-CH3結構域之間)。這種多肽鏈的CH2和/或CH3結構域在序列上不需要相同，並且有利地被修飾以促進兩條多肽鏈之間的異源二聚體複合。例如，氨基酸置換(優選地，用包含形成“**杵(knob)**”的龐大側基的氨基酸、例如色氨酸置換)可引入到CH2或CH3結構域，使得空間干擾將防止與類似的突變結構域的相互作用，並且將迫使突變的結構域與互補或適應性的突變已經被工程化到其中的結構域、即“**臼(hole)**”(例如，用甘氨酸置換)配對。這樣的突變組可被工程化進入任意對的多肽，其包含形成促進異源二聚化的Fc結構域的CH2-CH3結構域。相對於同源二聚化，支持異源二聚化的蛋白質工程化方法是本領域眾所周知的，特別是關於免疫球蛋白樣的分子的工程化方面，並且該方法涵蓋在本文中(參見，例如Ridgway等(1996) *“‘Knobs-Into-Holes’*

Engineering Of Antibody CH3 Domains For Heavy Chain Heterodimerization," Protein Engr. 9:617-621；Atwell等(1997)*"Stable Heterodimers From Remodeling The Domain Interface Of A Homodimer Using A Phage Display Library,"* J. Mol. Biol. 270: 26-35；和Xie等(2005) *"A New Format Of Bispecific Antibody: Highly Efficient Heterodimerization, Expression And Tumor Cell Lysis,"* J. Immunol. Methods 296:95-101，其各自在此通過引用以其全部內容併入本文)。

【0162】 優選的杵通過修飾IgG Fc結構域以包含修飾T366W形成。優選的臼通過修飾IgG Fc結構域以包含修飾T366S、L368A和Y407V形成。為了有助於從最終的雙特異性異源二聚體的含Fc結構域的分子中純化帶有臼的多肽鏈同源二聚體，多肽鏈的帶有臼的CH2和CH3結構域的蛋白A結合結構域優選地通過在位置435處的氨基酸置換(H435R)而突變。因此，帶有臼的多肽鏈同源二聚體將不會結合蛋白A，而雙特異性異源二聚體將保留其經由蛋白A結合結構域結合蛋白A的能力。在可替選的實施方式中，帶有臼的多肽鏈可在位置434和435處含有氨基酸置換(N434A/N435K)。

【0163】 本發明的含Fc結構域的分子的一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的優選IgG1氨基酸序列將具有**"帶有杵"**的序列(**SEQ ID NO:51**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**W**CLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0164】 本發明的含Fc結構域的分子(其具有M252Y/S254T/T256E置換和“帶有杵”的序列)的一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的可替選IgG1氨基酸序列是**SEQ ID NO:52**：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**W**CLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0165】 本發明的具有兩條多肽鏈的含Fc結構域的分子的另一條含Fc結構域的多肽鏈(或者具有三條、四條或五條多肽鏈的含Fc結構域的分子的第三多肽鏈)的CH2和CH3結構域的優選IgG1氨基酸序列將具有“帶有臼的”序列(**SEQ ID NO:53**)：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**S**C**A**VK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFL**V**SKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHN**R**YTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0166】 本發明的含Fc結構域的分子的另一含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的可替選IgG1氨基酸序列(其具有M252Y/S254T/T256E置換和“帶有臼的”序列)是**SEQ ID NO:54**：

APE**AA**GGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSL**S**C**A**VK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFL**V**SKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE
ALHN**R**YTQKS LSLSPG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0167】 如將指出的，**SEQ ID NO:51**、**SEQ ID NO:52**、**SEQ ID NO:53**和**SEQ ID NO:54的**CH2-CH3結構域包括在位置234處用丙氨酸的置換和在位置235處用丙氨酸的置換，並且因此形成呈現出減少(或基本上沒有)的結合FcγRIA(CD64)、FcγRIIA(CD32A)、FcγRIIB(CD32B)、FcγRIIIA(CD16a)或FcγRIIIB(CD16b)(相對於由野生型Fc結構域(**SEQ ID NO:12**)呈現出的結合)的Fc結構域。本發明也涵蓋這種CH2-CH3結構域，其包括野生型丙氨酸殘基，改變Fc結構域的效應子功能和/或FγR結合活性的可替選的和/或另外的置換。本發明也涵蓋這種CH2-CH3結構域，其進一步包括一個或多個半衰期延長的氨基酸置換。具體地，本發明包括進一步包含M252Y/S254T/T256E的這種帶有臼和這種帶有杵的CH2-CH3結構域。

【0168】 本發明含Fc結構域的分子的一條含Fc結構域的多肽鏈的CH2和CH3結構域的IgG4氨基酸序列由於其具有Y252/T254/E256而具有增加的血清半衰期(相對於IgG1的CH2和CH3結構域) (**SEQ ID NO:55**)：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0169】 這種IgG4的CH2-CH3氨基酸序列的“帶有杵”的變體具有**SEQ ID NO:56**的氨基酸序列：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSL**W**CLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0170】 這種IgG4的CH2-CH3氨基酸序列的“帶有臼”的變體具有SEQ ID NO:57的氨基酸序列：

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT L**Y**I**T**R**E**PEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSL**S**CA**V**K GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFL**V**SRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHN**R**YTQKS LSLSLG**X**

其中**X**是賴氨酸(K)或不存在。

【0171】 優選地，第一多肽鏈將具有“帶有杵的”CH2-CH3序列，諸如**SEQ ID NO:51**或**SEQ ID NO:52**的序列。然而，如將所認識到的，“帶有臼的”CH2-CH3結構域(例如，**SEQ ID NO:53**或**SEQ ID NO:54**)可以被應用在第一多肽鏈中，在這種情況下，“帶有杵的”CH2-CH3結構域(例如，**SEQ ID NO:51**或**SEQ ID NO:52**)將被應用在本發明的具有兩條多肽鏈的含Fc結構域的分子的第二多肽鏈中(或者被應用在具有三條、四條、或五條多肽鏈的含Fc結構域的分子的第三多肽鏈中)。

【0172】 在其它實施方式中，本發明涵蓋含Fc結構域的結合分子，其包含已經利用本領域已知的突變進行工程化以相比同源二聚化支持異源二聚化的CH2和/或CH3結構域，諸如在PCT公開號WO 2007/110205、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/06867中所公開的那些，所有文獻均以其全部內容通過引用併入本文。

III．包含Fc結構域的三價結合分子

【0173】 本發明進一步的實施方式涉及三價結合分子，其包含能夠同時結合第一表位、第二表位和第三表位的Fc結構域，其中這種表位中的至少一個表位與另一個表位不相同。這種三價結合分子包含三個表位結合結構域，其中兩個是雙抗體型結合結構域，其提供結合結構域A和結合結構域B，且其中之一是

Fab型結合結構域或scFv型結合結構域，其提供結合結構域C(參見，例如，**圖6A-6H**，PCT公開號WO 2015/184207和WO 2015/184203)。這種三價結合分子因此包含能夠結合這種三價結合分子中的第一表位的“**VL1**”/“**VH1**”結構域和能夠結合第二表位的“**VL2**”/“**VH2**”結構域以及能夠結合“第三”表位的“**VL3**”和“**VH3**”結構域。“雙抗體型結合結構域”是存在於雙抗體中的那種表位結合結構域，如上所述。“Fab型結合結構域”和“scFv型結合結構域”中的每一種均是這樣的表位結合結構域，其通過免疫球蛋白輕鏈的VL結構域和免疫球蛋白重鏈的互補VH結構域的相互作用形成。Fab型結合結構域與雙抗體型結合結構域的區別在於形成Fab型結合結構域的兩條多肽鏈僅包含單個表位結合結構域，而形成雙抗體型結合結構域的兩條多肽鏈包含至少兩個表位結合結構域。類似地，scFv型結合結構域與雙抗體型結合結構域的區別也在於它們僅包含單個表位結合結構域。因此，如本文所用，Fab型和scFv型結合結構域與雙抗體型結合結構域是截然不同的。

【0174】 典型地，本發明的三價結合分子將包含四條不同的多肽鏈(參見圖6A-6B)，然而，所述分子可包含更少或更多數目的多肽鏈，例如通過將這樣的多肽鏈相互融合(例如，經由肽鍵)、或者將這樣的多肽鏈分開以形成另外的多肽鏈、或者通過將更少或另外的多肽鏈經由二硫鍵締合。**圖6E-6F**通過示意性地描繪具有三條多肽鏈的這種分子說明本發明的這一方面。如**圖6A-6H**中所提供，本發明的三價結合分子可具有可替選的取向，其中雙抗體型結合結構域是N-末端(**圖6A、6B、6C、6E和6F**)或C-末端(**圖6D、6G和6H**)至Fc結構域 。可用於產生三價結合分子的CH2和CH3結構域在上文提供並且包括帶有杵的和帶有臼的結構域。

【0175】 在某些實施方式中，本發明的這種三價結合分子的第一多肽鏈包含：(i)含VL1的結構域、(ii)含VH2的結構域、(iii)異源二聚體-促進結構域和(iv)含CH2-CH3序列的結構域。VL1和VL2結構域位於至含CH2-CH3的結構域的N-末端或C-末端，如表**4**所示(也參見**圖6A和6B**)。這種實施方式的第二多肽鏈包含：(i)含VL2的結構域、(ii)含VH1的結構域和(iii)異源二聚體-促進結構域。這種實施方式的第三多肽鏈包含：(i)含VH3的結構域、(ii)含CH1的結構域和(iii)含CH2-CH3序列的結構域。第三多肽鏈可以是抗體的包含VH3和重鏈恆定區的重鏈，或者包含這種結構域的多肽。這種實施方式的第四多肽包含：(i)含VL3的結構域和(ii)含CL的結構域。第四多肽鏈可以是抗體的包含與第三多肽鏈的VH3互補的VL3的輕鏈，或者包含這種結構域的多肽。第三或第四多肽鏈可以分離自天然發生的抗體。可替選地，它們可以重組地、合成地或者通過其它手段構建。

【0176】 第一和第二多肽鏈的輕鏈可變結構域通過間插間隔子肽與這種多肽鏈的重鏈可變結構域分開，所述間插間隔子肽的長度太短而不能允許第一和第二多肽鏈的VL1/VH2(或其VL2/VH1)結構域一起締合以形成能夠結合第一或第二表位的表位結合結構域。用於此目的的優選間插間隔子肽(連接體1)具有序列(**SEQ ID NO:16**)：GGGSGGGG。三價結合分子的其它結構域可以通過任選地包含半胱氨酸殘基的間插間隔子肽(連接體)分開。具體地，如上所提供，這種連接體將典型地被併入在可變結構域(即，VH或VL)和肽異源二聚體-促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)之間以及在這樣的肽異源二聚體-促進結構域(例如，E-螺旋或K-螺旋)和CH2-CH3結構域之間。用於產生三價結合分子的示例性連接體被在上文提供並且也被提供在PCT公開號：PCT/US15/33081和PCT/US15/33076中。因此，這種三價結合分子的第一和第二多肽鏈締合在一起以形成能夠結合

第一表位的VL1/VH1結合結構域，以及能夠結合第二表位的VL2/VH2結合結構域。這種三價結合分子的第三和第四多肽鏈締合在一起以形成能夠結合第三表位的VL3/VH3結合結構域。

【0177】 如上所述，本發明的三價結合分子可包含三個多肽。包含三條多肽鏈的三價結合分子可在N-末端通過將第四多肽的結構域連接至第三多肽的含VH3的結構域(例如，利用間插間隔子肽(**連接體4**))獲得。可替選地，使用本發明的三價結合分子的第三多肽鏈，其包含下列結構域：(i)含VL3的結構域、(ii)含VH3的結構域和(iii)包含CH2-CH3序列的結構域，其中所述VL3和VH3通過間插間隔子肽彼此間隔開，所述間插間隔子肽足夠長(至少9個或更多個氨基酸殘基)以便允許這些結構域的締合以形成表位結合結構域。用於此目的的一個優選的間插間隔子肽具有序列：GGGGSGGGGSGGGGS (**SEQ ID NO:41**)。

【0178】 將會理解，這種三價結合分子的VL1/VH1、VL2/VH2和VL3/VH3結構域可以不同以便允許結合是單特異性的、雙特異性的或三特異性的。具體地，VL和VH結構域可以進行選擇以便三價結合分子包含用於第一表位的兩個結合結構域和用於第二表位的一個結合結構域；或者用於第一表位的一個結合結構域和用於第二表位的兩個結合結構域；或者用於第一表位的一個結合結構域、用於第二表位的一個結合結構域和用於第三表位的一個結合結構域。

【0179】 本發明的代表性三價結合分子的多肽鏈的一般結構在**圖6A-6H**和**表5**中提供：

表 5

四條鏈第一取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH

表 5		
	第三鏈	NH_2-VH3-CH1-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL3-CL-COOH
四條鏈第二取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第三鏈	NH_2-VH3-CH1-CH2-CH3-COOH
	第二鏈	NH_2-VL3-CL-COOH
三條鏈第一取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-VL1-VH2-HPD-CH2-CH3-COOH
	第三鏈	NH_2-VL3-VH3-HPD-CH2-CH3-COOH
三條鏈第二取向	第二鏈	NH_2-VL2-VH1-HPD-COOH
	第一鏈	NH_2-CH2-CH3-VL1-VH2-HPD-COOH
	第三鏈	NH_2-VL3-VH3-HPD-CH2-CH3-COOH

HPD = 異源二聚體-促進結構域

【0180】 如上所提供，這種三價結合分子可包含三條、四條、五條或更多條多肽鏈。

IV．本發明的實施方式

【0181】 如上所述，本發明涉及**CD16 x DA結合分子**(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb等)，其包含能夠結合CD16的表位的結合結構域(即，“CD16-結合結構域”)和能夠結合疾病抗原的表位的結合結構域(即，“疾病抗原-結合結構域”)。本發明因此包括這樣的結合分子，其包含抗體的結合至CD16的VH和/或VL結構域中的一個或多個，或者更優選地，這種結構域的CDR_H1、CDR_H2和CDR_H3以及CDR_L1、CDR_L2和CDR_L3部分。在本發明的優選實施方式中，這種結合分子將另外包含結合結構域，其足以允許這種分子結合至一種、

兩種、三種或多於三種的疾病抗原的表位。本發明也涉及包含這種分子(一種或多種)的藥物組合物。

【0182】 通過具有足以免疫特異性地結合CD16和疾病抗原的結合結構域，本發明的分子具有將CD16表達細胞(和尤其天然殺傷細胞)共同定位到表達疾病抗原的細胞的位點的能力，以便提高ADCC-介導的殺傷靶細胞的可能性。如上所討論，這種分子可以是雙特異性的，或者可以能夠結合多於兩個的表位。

【0183】 在一種實施方式中，本發明的CD16結合分子將是單特異性的，以便具有結合至CD16的僅僅單個表位和疾病抗原的僅僅單個表位的能力。

【0184】 可替選地，這種分子可以是多特異性的，即能夠結合一個、兩個、三個或總計四個表位，其可以任何方式分配以結合CD16的一個、兩個或三個表位(其兩個或三個CD16表位可以相同或不同)和一個或多個疾病抗原的三個、兩個或一個表位。

【0185】 因此，在這種分子能免疫特異性地結合至僅僅單個疾病抗原的情況下，它們可以能夠免疫特異性地結合至僅僅一個CD16表位以及疾病抗原中的一個、兩個或三個表位(其兩個疾病抗原表位可以相同或不同，並且其三個表位可以相同、或可以不同、或者可以是相同的兩個表位和不同的一個表位)，或者它們可以能夠免疫特異性地結合至僅僅兩個CD16表位(其兩個表位可以相同或不同)和疾病抗原的一個或兩個表位(其兩個疾病抗原表位可以相同或不同)，或者它們可以能夠免疫特異性地結合至三個CD16表位(其三個表位可以相同、或可以不同、或者可以是相同的兩個表位和不同的一個表位)和疾病抗原的一個表位。

【0186】 類似地，在這種分子能夠免疫特異性結合兩種不同疾病抗原(例如，第一疾病抗原和第二疾病抗原)的情況下，它們可以能夠免疫特異性地結合

至僅僅一個CD16表位以及第一疾病抗原的一個或兩個表位(其兩個第一疾病抗原表位可以相同或不同)和第二疾病抗原的兩個或一個表位(其兩個第二疾病抗原表位可以相同或不同)，或者它們可以能夠免疫特異性地結合至僅僅兩個CD16表位(其兩個表位可以相同或不同)以及第一疾病抗原的一個表位和第二疾病抗原的一個表位。

【0187】 類似地，這種分子可以能夠免疫特異性結合至三個不同的疾病抗原(例如，第一疾病抗原、第二疾病抗原和第三疾病抗原)和僅僅一個CD16表位。

【0188】 因此，例如，這種分子可結合：

(1) CD16的單個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的單個表位；

(2) CD16的單個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的兩個表位；

(3) CD16的單個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的三個表位；

(4) CD16的單個表位、排列在靶細胞表面上的第一疾病抗原的一個表位和排列在靶細胞表面上的第二疾病抗原的一個表位；

(5) CD16的單個表位、排列在靶細胞表面上的第一疾病抗原的兩個表位和排列在靶細胞表面上的第二疾病抗原的一個表位；

(6) CD16的兩個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的單個表位；

(7) CD16的兩個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的兩個表位；

(8) CD16的兩個表位以及排列在靶細胞表面上的第一疾病抗原的一個表位和排列在靶細胞表面上的第二疾病抗原的一個表位；

(9) CD16的三個表位和排列在靶細胞表面上的疾病抗原的一個表位；

在其中結合至CD16或疾病抗原的多於一個表位的所有情況下，這樣的表位可以相同或者可以不同、或者可以與一個這樣的表位相同或者與另一個這樣的表位不同。

【0189】 **表6**示例本發明的示例性分子的可能的組合結合特異性。

表 6

具有能夠介導靶細胞的重定向殺傷的兩個、三個或四個表位結合結構域的本發明的示例性 **CD16 x DA** 結合分子所識別的表位數

結合結構域的總數	CD16 表位數	第一疾病抗原的表位數	第二疾病抗原的表位數	第三疾病抗原的表位數	非 CD16 細胞表位分子的表位數
2	1	1	0	0	0
3	1	1	1	0	0
3	1	1	0	0	1
3	1	2	0	0	0
3	2	1	0	0	0
4	1	1	1	0	1
4	1	1	1	1	0
4	1	2	0	0	1
4	1	2	1	0	0
4	2	1	1	0	0
4	2	1	0	0	1

【0190】 通過形成更複雜的分子，可以獲得能夠結合一個或多個疾病抗原並且具有多於四個表位結合結構域的CD16-結合分子。因此，對可由本發明的分子結合的表位或另外的表位的性質沒有限制，除了這種另外的結合能力不阻止能夠結合CD16的表位的分子或其結合結構域進行這種結合並且不阻止能夠結合疾病抗原的表位的分子或其結合結構域進行這種結合。因此，本發明的CD16結

合分子可具有表位結合結構域可替選的或另外的表位結合結構域。作為實例，本發明考慮這樣的結合分子，其包含能夠免疫特異性地結合CD16的表位的第一表位結合結構域以及能夠免疫特異性地結合排列在靶細胞表面上的疾病抗原的表位的第二表位結合結構域和能夠免疫特異性地結合不同細胞表面分子(諸如天然殺傷細胞的非CD16的細胞表面分子)的第三表位結合結構域。

V. 示例性結合分子

【0191】 本發明涉及由於其具有CD16結合結構域而能夠結合人CD16的分子(例如，抗體、雙抗體、scFv、抗體、TandAb等)。本發明特別地涉及這樣的CD-16結合分子，其為**CD16 x DA結合分子。**下面所列的是可用於產生本發明的結合分子和組合療法的示例性抗體。

A. 示例性抗人CD16抗體

1. CD16-M1和CD16-M2及其人源化衍生物

hCD16-M1和hCD16-M2

【0192】 本發明提供鼠抗人CD16單克隆抗體：**CD16-M1**和**CD16-M2**及其人源化衍生物：**hCD16-M1**和**hCD16-M2**，其是新型的高親和力抗人CD16單克隆抗體，很好地結合至CD16 158F異型和CD16 158V異型兩者，並且在不阻礙CD16-IgG結合的位點結合CD16。這種抗體對於的本發明的目的來說是特別優選的，因為它們可容易地應用在患者群體中，無論其158F/158V CD16A多態性。

（a）抗人CD16 單克隆抗體

CD16-M1

【0193】 鼠抗人CD16單克隆抗體**CD16-M1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:64**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVKLVESGGT LVKPGGSLKL SCAASGFTFN **NYGMS**WVRQT PEKRLEWVA**T**
ISGGGSYTFY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMSSLRSED TALYYCIR**QS**
ARAPEPYWGQ GTLVTVSS

【0194】 鼠抗人CD16單克隆抗體**CD16-M1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:65**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTC**KASQNVG THVA**WYQQKS GQSPKSLLY**S**
ASYRYSGVPD RFSGSGSGTD FTLTISNVQS EDLAEYFC**QQ YKSYPLT**FGA
GTKLELK

【0195】 抗人CD16單克隆抗體**CD16-M1**的CDRs在**表7**中顯示。

表 7

抗人 CD16-單克隆抗體的 CDRs
CD16-M1

CDR	**序列**	**SEQ ID NO**
CDR$_H$1	**NYGMS**	**SEQ ID NO:66**
CDR$_H$2	**TISGGGSYTFYPDSVKG**	**SEQ ID NO:67**
CDR$_H$3	**QSARAPEPY**	**SEQ ID NO:68**
CDR$_L$1	**KASQNVGTHVA**	**SEQ ID NO:69**
CDR$_L$2	**SASYRYS**	**SEQ ID NO:70**
CDR$_L$3	**QQYKSYPLT**	**SEQ ID NO:71**

【0196】 **hCD16-M1**是鼠抗人CD16單克隆抗體**CD16-M1**的人源化衍生物。h**CD16-M1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:72**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS **NYGMS**WVRQA PGKGLEWVA**T**
ISGGGSYTFY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRTED TALYYCVR**QS**
ARAPEPYWGQ GTLVTVSS

【0197】 hCD16-M1的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:73)顯示在下面(CDRL殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITC**RASQNVG THVA**WYQQKP GKAPKSLLY**S**
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYC**QQ YKSYPLT**FGQ
GTKLEIK

【0198】 **hCD16-M1A**是人源化抗人CD16單克隆抗體**hCD16-M1**的優化衍生物。**hCD16-M1A**包含**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:73**)和在CDR_H3中含有突變的優化VH結構域。**hCD16-M1A**的優化VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:58**)顯示在下面(突變的CDR_H3殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS NYGMSWVRQA PGKGLEWVAT ISGGGSYTFY PDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRTED TALYYCVRQS A**NS**P**V**PYWGQ GTLVTVSS

【0199】 **hCD16-M1B**是人源化抗人CD16單克隆抗體**hCD16-M1**的優化衍生物。**hCD16-M1B**包含**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)和在CDR_L3中含有突變的優化VL結構域。**hCD16-M1B**的優化VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:59**)顯示在下面(突變的CDR_L3殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQ**D** Y**TN**YPLTFGQ GTKLEIK

【0200】 **hCD16-M1AB**是人源化抗人CD16單克隆抗體**hCD16-M1**的優化衍生物。**hCD16-M1AB**包含**hCD16-M1A**的優化VH結構域(**SEQ ID NO:58**)和**hCD16-M1B**的優化VL結構域(**SEQ ID NO:59**)。

【0201】 人源化抗人CD16單克隆抗體**hCD16-M1和優化的抗人**CD16單克隆抗體**hCD16-M1A、hCD16-M1B、hCD16-M1AB的**CDRs在**表8**中顯示。

表 8

抗人 CD16-單克隆抗體的 CDRs
hCD16-M1

CDR	序列	**SEQ ID NO**
CDR_H1	NYGMS	**SEQ ID NO:66**
CDR_H2	TISGGGSYTFYPDSVKG	**SEQ ID NO:67**
CDR_H3	QSARAPEPY	**SEQ ID NO:68**
CDR_L1	RASQNVGTHVA	**SEQ ID NO:74**

表 8		
抗人 CD16-單克隆抗體的 CDRs		
hCD16-M1		
CDR_L2	**SASYRYS**	**SEQ ID NO:70**
CDR_L3	**QQYKSYPLT**	**SEQ ID NO:71**
hCD16-M1A		
CDR_H1	NYGMS	**SEQ ID NO:66**
CDR_H2	TISGGGSYTFYPDSVKG	**SEQ ID NO:67**
CDR_H3	QSA**NS**P**V**PY	**SEQ ID NO:60**
CDR_L1	RASQNVGTHVA	**SEQ ID NO:74**
CDR_L2	SASYRYS	**SEQ ID NO:70**
CDR_L3	QQYKSYPLT	**SEQ ID NO:71**
hCD16-M1B		
CDR_H1	NYGMS	**SEQ ID NO:66**
CDR_H2	TISGGGSYTFYPDSVKG	**SEQ ID NO:67**
CDR_H3	QSARAPEPY	**SEQ ID NO:68**
CDR_L1	RASQNVGTHVA	**SEQ ID NO:74**
CDR_L2	SASYRYS	**SEQ ID NO:70**
CDR_L3	Q**D**Y**TN**YPLT	**SEQ ID NO:61**
hCD16-M1AB		
CDR_H1	NYGMS	**SEQ ID NO:66**
CDR_H2	TISGGGSYTFYPDSVKG	**SEQ ID NO:67**
CDR_H3	QSA**NS**P**V**PY	**SEQ ID NO:60**
CDR_L1	RASQNVGTHVA	**SEQ ID NO:74**
CDR_L2	SASYRYS	**SEQ ID NO:70**
CDR_L3	Q**D**Y**TN**YPLT	**SEQ ID NO:61**

【0202】 如將要認識到的，**hCD16-M1**、**hCD16-M1A**、**hCD16-M1B**和**hCD16-M1AB**的CDR_L1(**RASQNVGTHVA; SEQ ID NO:74**)在其第一殘基不同於**CD16-M1**的CDR_L1(**KASQNVGTHVA; SEQ ID NO:69**)。任一CDR_L1可互換地

應用，並且本發明涵蓋人源化且優化的CD16結合分子，其包含具有下列CDR_H中的1個、2個或3個和/或這種CDR_L中的1個、2個或3個的氨基酸序列的CD16表位結合結構域。

（b）抗人CD16單克隆抗體

CD16-M2

【0203】 鼠抗人CD16單克隆抗體**CD16-M2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:75**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLQQSGPE LVKPGASVKM SCKASGYTFT **SSAMH**WVKKN PGQGLEWIG**Y**
INHYNDGIKY **NERFKG**KATL TSDKSSSTAY MELSSLTSED SAVYYCAT**GY**
RYASWFASWG QGTLVTVSS

【0204】 鼠抗人CD16單克隆抗體**CD16-M2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:76**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSC**RASQNIG** **TSIH**WYQQRT DGSPRLLIK**S**
VSESISGIPS RFSGSGSGTD FTLTINGVES GDISDYYC**QQ** **SNSWPLT**FGA
GTKLELK

【0205】 抗人CD16單克隆抗體**CD16-M2的**CDRs在**表9**中顯示：

表 9

抗人 CD16 單克隆抗體的 CDRs
CD16-M2

CDR	**序列**	**SEQ ID NO**
CDR_H1	**SSAMH**	**SEQ ID NO:77**
CDR_H2	**YINHYNDGIKYNERFKG**	**SEQ ID NO:78**
CDR_H3	**GYRYASWFAS**	**SEQ ID NO:79**
CDR_L1	**RASQNIGTSIH**	**SEQ ID NO:80**
CDR_L2	**SVSESIS**	**SEQ ID NO:81**
CDR_L3	**QQSNSWPLT**	**SEQ ID NO:82**

【0206】 **hCD16-M2是**鼠抗人CD16單克隆抗體**CD16-M2**的人源化衍生物。人源化導致兩個合適的VH結構域(**hCD16-M2 VH1和hCD16-M2 VH2**)，其中任何一個均可以與所獲得的人源化VL結構域(**hCD16-M2 VL1**)一起使用。

【0207】 **hCD16-M2 VH1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:83**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SSAMH**WVRQA PGQGLEWMG**Y**
INHYNDGIKY **NERFKG**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAT**GY**
RYASWFASWG QGTLVTVSS

【0208】 **hCD16-M2 VH2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:84**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SSAMH**WVRQA PGQGLEWMG**Y**
INHYNDGIKY **NERFKG**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCA[R]**GY**
RYASWFASWG QGTLVTVSS

【0209】 如將要認識到的，hCD16-M2 VH1的氨基酸序列(SEQ ID NO:83)與hCD16-**M2 VH2**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:84**)的區別在於在緊挨著CDR_H3之前的殘基中具有T98R置換(上面加框顯示)。

【0210】 **hCD16-M2 VL1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:85**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

EIVLTQSPAT LSVSPGERAT LSC**RASQNIG** **TSIH**WYQQKP DQSPKLLIK**S**
VSESISGVPS RFSGSGSGTD FTLTINSLEA EDFATYYC**QQ** **SNSWPLT**FGQ
GTKLEIK

【0211】 人源化抗人CD16單克隆抗體**hCD16-M2**的CDRs在**表10**中顯示。

表 10		
抗人 CD16 單克隆抗體的 CDRs hCD16-M2		
CDR	**序列**	**SEQ ID NO**
CDR_H1	**SSAMH**	**SEQ ID NO:77**

CDR_H2	YINHYNDGIKYNERFKG	**SEQ ID NO:78**
CDR_H3	GYRYASWFAS	**SEQ ID NO:79**
CDR_L1	RASQNIGTSIH	**SEQ ID NO:80**
CDR_L2	SVSESIS	**SEQ ID NO:81**
CDR_L3	QQSNSWPLT	**SEQ ID NO:82**

B. 結合至效應細胞的細胞表面的示例性抗體

【0212】 本發明的**CD16 x DA**結合分子以及尤其本發明的三特異性**CD16 x DA**結合分子可包含用於效應細胞的非CD16細胞表面分子的結合位點。如本文所用，術語“**效應細胞**”表示直接或間接介導靶細胞(例如，外來細胞、感染細胞或癌症細胞)殺傷的細胞。效應細胞的實施例包括輔助性T細胞、細胞毒性T細胞、自然殺傷(NK)細胞、漿細胞(抗體分泌B細胞)、巨噬細胞和粒細胞。這種細胞的優選細胞表面分子包括CD2、CD3、CD8、CD16、TCR和NKG2D受體。因此，能夠免疫特異性地結合這種分子的表位或者結合至其它效應細胞表面分子的分子可以按照本發明的原理進行使用。下面提供了示例性的抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠介導靶細胞的重定向的殺傷的分子。

1. 示例性抗NKG2D抗體

【0213】 天然殺傷效應細胞的優選的非CD16細胞表面分子是NKG2D受體。NKG2D受體在所有的人(和其它哺乳動物)的天然殺傷細胞上表達(Bauer, S.等(1999) “*Activation Of NK Cells And T Cells By NKG2D, A Receptor For Stress-Inducible MICA*,” Science 285(5428):727-729；Jamieson, A.M.等(2002) “*The Role Of The NKG2D Immunoreceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing*,” Immunity 17(1):19-29)以及所有$CD8^+$ T 細胞上(Groh, V.等(2001) “*Costimulation Of CD8αβ T Cells By NKG2D Via Engagement By MIC Induced On*

Virus-Infected Cells," Nat. Immunol. 2(3):255-260；Jamieson, A.M.等(2002) "*The Role Of The NKG2D Immunoreceptor In Immune Cell Activation And Natural Killing*," Immunity 17(1):19-29)。這種結合配體以及特別是不在正常細胞上表達的那些包括組織相容性60(H60)分子、視黃酸早期誘導基因-1的產物(RAE-1)、和鼠UL16-結合蛋白樣轉錄物1(MULT1) (Raulet D.H. (2003) "*Roles Of The NKG2D Immunoreceptor And Its Ligands*," Nature Rev. Immunol. 3:781-790；Coudert, J.D.等(2005) "*Altered NKG2D Function In NK Cells Induced By Chronic Exposure To Altered NKG2D Ligand-Expressing Tumor Cells*," Blood 106:1711-1717)。特異性地結合至NKG2D受體的分子包括抗NKG2D抗體"**KYK-1.0**"和"**KYK-2.0**"(Kwong, KY等(2008) "*Generation, Affinity Maturation, And Characterization Of A Human Anti-Human NKG2D Monoclonal Antibody With Dual Antagonistic And Agonistic Activity*," J. Mol. Biol. 384:1143-1156)。

【0214】 KYK-1.0的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:86**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG VVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SYGMH**WVRQA PGKGLEWVA**F**
IRYDGSNKYY **ADSVKG**RFTI SRDNSKNTKY LQMNSLRAED TAVYYCAK**DR**
FGYYLDYWGQ GTLVTVSS

【0215】 KYK-1.0的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:87**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

QPVLTQPSSV SVAPGETARI PC**GGDDIETK** **SVH**WYQQKPG QAPVLVIY**DD**
DDRPSGIPER FFGSNSGNTA TLSISRVEAG DEADYYC**QVW** **DDNNDEWV**FG
GGTQLTVL

【0216】 KYK-2.0的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:88**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS **SYGMH**WVRQA PGKGLEWVA**F**
IRYDGSNKYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAK**DR**
GLGDGTYFDY WGQGTTVTVS S

【0217】 KYK-2.0的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:89**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

QSALTQPASV SGSPGQSITI SC**SGSSSNIG NNAVN**WYQQL PGKAPKLLIY
YDDLLPSGVS DRFSGSKSGT SAFLAISGLQ SEDEADYYC**A AWDDSLNGPV**
FGGGTKLTVL

【0218】 結合至自然殺傷細胞的細胞表面的其它示例性抗體包括抗體：A1、AC2、EPR3678(2)、EPR20461、EPR20627和IMG17B5F11(其結合**CD39**)；TB01、HNK-1/Leu-7和NK1(其結合**CD57**)；FN50 (其結合**CD69**)；5B5、B-L2、TS82b和C33 (其結合**CD82**)；3B3、B199.2和EP7169(其結合**CD161**)；17D9(其結合**CLEC1B**)；2F9(其結合**KIR2DL1**)；EPR8825(其結合**KIR2DL2**)；mAb 33(其結合**KIR2DL4**)；11E3、17B4、EPR4392(2)、EPR20261和EPR 20627(其結合淋巴細胞啟動基因**3**)；A10、C7、CX5、1D11和MM0489-10R27(其結合**NKG2D**)；BMK13(其結合**PRG2**)；EPR9916(其結合**SLAMF6**)；等。能夠結合各個這種示例性非CD16細胞表面分子的抗體可從Abcam plc和其它來源商購，並且可容易適應於本發明的目的。

2. 示例性抗CD2抗體

【0219】 在一種實施方式中，能夠介導靶細胞的重定向殺傷的本發明分子將通過免疫特異性地結合這種效應細胞表面上存在的CD2的表位而結合效應細胞。特異性地結合CD2的分子包括抗CD2抗體“**CD2 mAb Lo-CD2a**”。

【0220】 **CD2 mAb Lo-CD2a**(ATCC登錄號：11423)的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:90**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLQQSGPE LQRPGASVKL SCKASGYIFT **EYYMY**WVKQR PKQGLELVG**R**
IDPEDGSIDY VEKFKKKATL TADTSSNTAY MQLSSLTSED TATYFCAR**GK**
FNYRFAYWGQ GTLVTVSS

【0221】 **CD2 mAb Lo-CD2a**(ATCC登錄號：11423)的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:91**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示):

DVVLTQTPPT LLATIGQSVS ISC**RSSQSLL HSSGNTYLN**W LLQRTGQSPQ
PLIY**LVSKLE S**GVPNRFSGS GSGTDFTLKI SGVEAEDLGV YYC**MQFTHYP**
YTFGAGTKLE LK

3. 示例性抗CD8抗體

【0222】 在一種實施方式中，能夠介導靶細胞的重定向殺傷的本發明分子將通過免疫特異性地結合這種效應細胞表面上存在的CD8的表位而結合效應細胞。特異性地結合CD8的分子包括抗CD8抗體“**OKT8**”和“**TRX2**”。

【0223】 **OKT8**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:92**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLLESGPE LLKPGASVKM SCKA**SGYTFT DYNMH**WVKQS HGKSLEWIG**Y**
IYPYTGGTGY NQKFKNKATL TVDSSSSTAY MELRSLTSED SAVYYCARNF
RYTYWYFDVW GQGTTVTVSS

【0224】 OKT8的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:93)顯示在下面(CDRL殘基用底線顯示)：

DIVMTQSPAS LAVSLGQRAT ISCRASESVD **SYDNSLMH**WY QQKPGQPPKV
LIY**LASNLES** GVPARFSGSG SRTDFTLTID PVEADDAATY YC**QQNNEDPY**
TFGGGTKLEI KR

【0225】 **TRX2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:94**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFTFS **DFGMN**WVRQA PGKGLEWVA**L**
IYYDGSNKFY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAK**PH**
YDGYYHFFDS WGQGTLVTVS S

【0226】 **TRX2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:95**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KGSQDIN NYLA**WYQQKP GKAPKLLIY**N TDILHT**GVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYYC**YQ YNNGYT**FGQG TKVEIK

VI．示例性的疾病抗原

【0227】 本發明的疾病抗原包括具有癌症細胞特徵的細胞表面抗原(“**癌抗原**”)以及具有病原體細胞或者被病原體感染的細胞特徵的細胞表面抗原(**病原體相關抗原**”)。

A．排列在癌症細胞表面上的示例性癌抗原

【0228】 如本文所用，術語“**癌抗原**”表示典型地在癌細胞表面上表達的並且因此可用抗體基分子或免疫調節分子治療的抗原。癌抗原的實例包括但不限於：**19.9**，如結腸癌、胃癌黏蛋白中發現的；**4.2**；**A33** (結直腸癌抗原；Almqvist, Y. (2006) “*In vitro and in vivo Characterization of 177Lu-huA33: A Radioimmunoconjugate Against Colorectal Cancer*,” Nucl. Med. Biol. 33(8):991-998)；**ADAM-9** (美國專利公開號2006/0172350；PCT公開號WO 06/084075)；**AH6**，如胃癌中發現的；**ALCAM** (PCT公開號WO 03/093443)；**APO-1 (惡性人淋巴細胞抗原)** (Trauth, B.C.等(1989) *“Monoclonal Antibody-Mediated Tumor Regression By Induction Of Apoptosis,”* Science 245:301-304)；**B1** (Egloff, A.M.等(2006) “*Cyclin B1 And Other Cyclins As Tumor Antigens In Immunosurveillance And Immunotherapy Of Cancer*,” *Cancer Res*. 66(1):6-9)；**B7-H3** (Collins, M.等(2005) “*The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands*,” Genome Biol. 6:223.1-223.7). Chapoval, A.等(2001) “*B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN-γ Production*,” Nature Immunol. 2:269–274; Sun, M.等(2002) “*Characterization of Mouse and人B7-H3 Genes*,” J. Immunol. 168:6294-6297)；

BAGE (Bodey, B. (2002) "*Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy*," Expert Opin. Biol. Ther. 2(6):577-584)；**β-聯蛋白** (Prange W.等(2003) "*Beta-Catenin Accumulation In The Progression Of Human Hepatocarcinogenesis Correlates With Loss Of E-Cadherin And Accumulation Of P53, But Not With Expression Of Conventional WNT-1 Target Genes*," J. Pathol. 201(2):250-259)；**血型ALe^b/Le^y**，如在結腸腺癌中發現的；**伯基特淋巴瘤抗原-38.13**；**C14**，如在結腸腺癌中發現的；**CA125 (卵巢癌抗原)** (Bast, R.C. Jr.等(2005) "*New Tumor Markers: CA125 And Beyond*," Int. J. Gynecol. Cancer 15(Suppl 3):274-281；Yu等(1991) *"Coexpression Of Different Antigenic Markers On Moieties That Bear CA 125 Determinants,"* Cancer Res. 51(2):468-475)；**羧肽酶M** (美國專利公開號2006/0166291)；**CD5** (Calin, G.A.等(2006) "*Genomics Of Chronic Lymphocytic Leukemia MicroRNAs As New Players With Clinical Significance*," Semin. Oncol. 33(2):167-173；**CD19** (Ghetie等(1994) *"Anti-CD19 Inhibits The Growth Of Human B-Cell Tumor Lines In Vitro And Of Daudi Cells In SCID Mice By Inducing Cell Cycle Arrest,"* Blood 83:1329-1336；Troussard, X.等1998 *Hematol Cell Ther*. 40(4):139-48)；**CD20** (Reff等(1994) *"Depletion Of B Cells In Vivo By A Chimeric Mouse Human Monoclonal Antibody To CD20,"* Blood 83:435-445；Thomas, D.A.等2006 Hematol Oncol Clin North Am. 20(5):1125-36)；**CD22** (Kreitman, R.J. (2006) "*Immunotoxins For Targeted Cancer Therapy*," AAPS J. 8(3):E532-51)；**CD23** (Rosati, S.等(2005) "*Chronic Lymphocytic Leukaemia: A Review Of The Immuno-Architecture*," Curr. Top. Microbiol. Immunol. 294:91-107)；**CD25** (Troussard, X.等(1998) "*Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After*

The First Description?" Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148)；**CD27** (Bataille, R. (2006) "*The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy*," Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD28** (Bataille, R. (2006) "*The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy*," Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD33** (Sgouros等(1993) *"Modeling And Dosimetry Of Monoclonal Antibody M195 (Anti-CD33) In Acute Myelogenous Leukemia,"* J. Nucl. Med. 34:422-430)；**CD36** (Ge, Y. (2005) "*CD36: A Multiligand Molecule*," *Lab Hematol*. 11(1):31-7)；**CD40/CD154** (Messmer, D.等(2005) "*CD154 Gene Therapy For人B-Cell Malignancies*," Ann. N. Y. Acad. Sci. 1062:51-60)；**CD45** (Jurcic, J.G. (2005) "*Immunotherapy For Acute Myeloid Leukemia*," Curr. Oncol. Rep. 7(5):339-346)；**CD56** (Bataille, R. (2006) "*The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of Many And Multiple Myelomas" And Of New Targets For Myeloma Therapy*," Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD46** (美國專利號7,148,038；PCT 公開號WO 03/032814)；**CD52** (Eketorp, S.S.等(2014) "*Alemtuzumab (Anti-CD52 Monoclonal Antibody) As Single-Agent Therapy In Patients With Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukaemia (CLL)- Single Region Experience On Consecutive Patients*," Ann Hematol. 93(10):1725-1733；Suresh, T.等(2014) "*New Antibody Approaches To Lymphoma Therapy*," J. Hematol. Oncol. 7:58；Hoelzer, D. (2013) "*Targeted Therapy With Monoclonal Antibodies In Acute Lymphoblastic Leukemia*," Curr. Opin. Oncol. 25(6):701-706)；**CD56** (Bataille,

R. (2006) "*The Phenotype Of Normal, Reactive And Malignant Plasma Cells. Identification Of Many And Multiple Myelomas"And Of New Targets For Myeloma Therapy*," Haematologica 91(9):1234-1240)；**CD79a/CD79b** (Troussard, X.等(1998) "*Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?*" Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148；Chu, P.G.等(2001) "*CD79: A Review*," Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 9(2):97-106)；**CD103** (Troussard, X.等(1998) "*Hairy Cell Leukemia. What Is New Forty Years After The First Description?*" Hematol. Cell. Ther. 40(4):139-148)；**CD317** (Kawai, S.等(2008) "*Interferon-A Enhances CD317 Expression And The Antitumor Activity Of Anti-CD317 Monoclonal Antibody In Renal Cell Carcinoma Xenograft Models*," Cancer Science 99(12):2461-2466；Wang, W.等(2009) *HM1.24 (CD317) Is A Novel Target Against Lung Cancer For Immunotherapy Using Anti-HM1.24 Antibody*," Cancer Immunology, Immunotherapy 58(6):967-976; Wang, W.等(2009) "*Chimeric And Humanized Anti-HM1.24 Antibodies Mediate Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Against Lung Cancer Cells. Lung Cancer*," 63(1):23-31；Sayeed, A.等(2013) "*Aberrant Regulation Of The BST2 (Tetherin) Promoter Enhances Cell Proliferation And Apoptosis Evasion In High Grade Breast Cancer Cells*," PLoS ONE 8(6)e67191, pp. 1-10)；**CDK4** (Lee, Y.M.等(2006) "*Targeting Cyclins And Cyclin-Dependent Kinases In Cancer: Lessons From Mice, Hopes For Therapeutic Applications In Human*," Cell Cycle 5(18):2110-2114)；**CEA** (癌胚抗原；Foon等(1995) *"Immune Response To The Carcinoembryonic Antigen In Patients Treated With An Anti-Idiotype Antibody Vaccine,"* J. Clin. Invest. 96(1):334-42)；Mathelin, C. (2006) "*Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer*," Gynecol. Obstet.

Fertil. 34(7-8):638-646；Tellez-Avila, F.I.等(2005) "*The Carcinoembryonic Antigen: Apropos Of An Old Friend*," Rev. Invest. Clin. 57(6):814-819)；**CEACAM5/CEACAM6** (Zheng, C.等(2011) "*A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity*," PLoS One 6(6):e21146, pp. 1-11)；**CO17-1A** (Ragnhammar等(1993) *"Effect Of Monoclonal Antibody 17-1A And GM-CSF In Patients With Advanced Colorectal Carcinoma - Long-Lasting, Complete Remissions Can Be Induced,"* Int. J. Cancer 53:751-758)；**CO-43** (血型Le^b)；**CO-514** (血型Le^a)，如在腺癌中發現的；**CTA-1**；**CTLA-4** (Peggs, K.S.等(2006) "*Principles And Use Of Anti-CTLA4 Antibody In Human Cancer Immunotherapy*," Curr. Opin. Immunol. 18(2):206-13)；**細胞角蛋白8** (PCT公開號WO 03/024191)；**D1.1**；**$D_1$56-22**；**DR5** (Abdulghani, J.等(2010) "*TRAIL Receptor Signaling And Therapeutics*," Expert Opin. Ther. Targets 14(10):1091-1108；Andera, L. (2009) "*Signaling Activated By The Death Receptors Of The TNFR Family*," Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech. Repub. 153(3):173-180；Carlo-Stella, C.等(2007) "*Targeting TRAIL Agonistic Receptors for Cancer Therapy*," Clin, Cancer 13(8):2313-2317；Chaudhari, B.R.等(2006) "*Following the TRAIL to Apoptosis*," Immunologic Res. 35(3):249-262)；**E_1系列** (血型B)，如在胰腺癌中發現的；**EGFR** (表皮生長因數；Adenis, A.等(2003) "*Inhibitors Of Epidermal Growth Factor Receptor And Colorectal Cancer*," Bull. Cancer. 90 Spec No:S228-S232)；**肝配蛋白受體**(尤其是**EphA2** (美國專利號7,569,672；PCT 公開號WO 06/084226)；**Erb** (ErbB1；ErbB3；ErbB4；Zhou, H.等(2002) "*Lung Tumorigenesis Associated With Erb-B-2 And Erb-B-3 Overexpression*

In Human Erb-B-3 Transgenic Mice Is Enhanced By Methylnitrosourea," *Oncogene* 21(57):8732-8740；Rimon, E.等(2004) "*Gonadotropin-Induced Gene Regulation In Human Granulosa Cells Obtained From IVF Patients: Modulation Of Genes Coding For Growth Factors And Their Receptors And Genes Involved In Cancer And Other Diseases*," Int. J. Oncol. 24(5):1325-1338)；**GAGE** (GAGE-1；GAGE-2；Akcakanat, A.等(2006) "*Heterogeneous Expression Of GAGE, NY-ESO-1, MAGE-A and SSX Proteins In Esophageal Cancer: Implications For Immunotherapy*," Int. J. Cancer. 118(1):123-128)；**GD2/GD3/GM2** (Livingston, P.O.等(2005) "*Selection Of GM2, Fucosyl GM1, Globo H And Polysialic Acid As Targets On Small Cell Lung Cancers For Antibody-Mediated Immunotherapy*," Cancer Immunol. Immunother. 54(10):1018-1025)；**神經節苷脂GD2** (G_{D2}；Saleh等(1993) *"Generation Of A Human Anti-Idiotypic Antibody That Mimics The GD2 Antigen,"* J. Immunol., 151, 3390-3398)；**神經節苷脂GD3** (G_{D3}；Shitara等(1993) *"A Mouse/Human Chimeric Anti-(Ganglioside GD3) Antibody With Enhanced Antitumor Activities,"* Cancer Immunol. Immunother. 36:373-380)；**神經節苷脂GM2** (G_{M2}；Livingston等(1994) *"Improved Survival In Stage III Melanoma Patients With GM2 Antibodies: A Randomized Trial Of Adjuvant Vaccination With GM2 Ganglioside,"* J. Clin. Oncol. 12:1036-1044)；**神經節苷脂GM3** (G_{M3}；Hoon等(1993) *"Molecular Cloning Of A Human Monoclonal Antibody Reactive To Ganglioside GM3 Antigen On Human Cancers,"* Cancer Res. 53:5244-5250)；**GICA 19-9** (Herlyn等(1982) *"Monoclonal Antibody Detection Of A Circulating Tumor-Associated Antigen. I. Presence Of Antigen In Sera Of Patients With Colorectal, Gastric, And Pancreatic Carcinoma,"* J. Clin. Immunol. 2:135-140)；**gp100** (Lotem, M.等(2006) "*Presentation Of Tumor*

Antigens By Dendritic Cells Genetically Modified With Viral And Nonviral Vectors," J. Immunother. 29(6):616-27)；**Gp37** (人白血病T細胞抗原；Bhattacharya-Chatterjee等(1988) *"Idiotype Vaccines Against Human T Cell Leukemia. II. Generation And Characterization Of A Monoclonal Idiotype Cascade (Ab1, Ab2, and Ab3),"* J. Immunol. 141:1398-1403)；**gp75** (黑色素瘤抗原；Vijayasardahl等(1990) *"The Melanoma Antigen Gp75 Is The Human Homologue Of The Mouse B (Brown) Locus Gene Product,"* J. Exp. Med. 171(4):1375-1380)；**gpA33** (Heath, J.K.等(1997) "*The Human A33 Antigen Is A Transmembrane Glycoprotein And A Novel Member Of The Immunoglobulin* Superfamily," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474；Ritter, G.等(1997) "*Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium*," Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686；Wong, N.A.等(2006) "*EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia*," J. Clin. Pathol. 59(3):260-263)；**HER2抗原**(HER2/neu, $p185^{HER2}$；Pal, S.K.等(2006) "*Targeting HER2 Epitopes*," Semin. Oncol. 33(4):386-391)；**HMFG** (人乳脂肪球抗原；WO1995015171)；**人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7** (DiMaio, D.等(2006) "*Human Papillomaviruses And Cervical Cancer*," Adv. Virus Res. 66:125-59；**HMW-MAA** (高分子量黑色素瘤抗原；Natali等(1987) *"Immunohistochemical Detection Of Antigen In Human Primary And Metastatic Melanomas By The Monoclonal Antibody 140.240 And Its Possible Prognostic Significance,"* Cancer 59:55-63；Mittelman等(1990) *"Active Specific Immunotherapy In Patients With Melanoma. A Clinical Trial With Mouse Antiidiotypic Monoclonal Antibodies Elicited*

With Syngeneic Anti-High-Molecular-Weight-Melanoma-Associated Antigen Monoclonal Antibodies," J. Clin. Invest. 86:2136-2144)；**I抗原** (分化抗原；Feizi (1985) *"Demonstration By Monoclonal Antibodies That Carbohydrate Structures Of Glycoproteins And Glycolipids Are Onco-Developmental Antigens,"* Nature 314:53-57)；**IL13Rα2** (PCT 公開號WO 2008/146911；Brown, C.E.等(2013) "*Glioma IL13Rα2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis*," PLoS One. 18;8(10):e77769； Barderas, R.等(2012) "*High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis*," Cancer Res. 72(11):2780-2790；Kasaian, M.T.等(2011) "*IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13Rα2*," J. Immunol. 187(1):561-569； Bozinov, O.等(2010) "*Decreasing Expression Of The 白介素-13 Receptor IL-13Ralpha2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas*," Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621；Fujisawa, T.等(2009) "*A novel role of 白介素-13 receptor alpha2 in pancreatic cancer invasion and metastasis*," Cancer Res. 69(22):8678-8685)；**整聯蛋白β6** (PCT公開號WO 03/087340)； **JAM-3** (PCT公開號WO 06/084078)； **KID3** (PCT公開號WO 05/028498)；**KID31** (PCT公開號WO 06/076584)；**KS 1/4 泛癌抗原** (Perez等(1989) *"Isolation And Characterization Of A cDNA Encoding The Ks1/4 Epithelial Carcinoma Marker,"* J. Immunol. 142:3662-3667； Möller等(1991) *"Bispecific-Monoclonal-Antibody-Directed Lysis Of Ovarian Carcinoma Cells By Activated Human T Lymphocytes,"* Cancer Immunol. Immunother. 33(4):210-216； Ragupathi, G. 2005 *Cancer Treat Res*. 123:157-80)；**L6**和**L20** (人肺癌抗原；

Hellström等(1986) *"Monoclonal Mouse Antibodies Raised Against Human Lung Carcinoma,"* Cancer Res. 46:3917-3923)；**LEA**；**LUCA-2** (美國專利公開號2006/0172349；PCT公開號WO 06/083852)；**M1:22:25:8**；**M18**；**M39**；**MAGE** (MAGE-1；MAGE-3；(Bodey, B. (2002) "*Cancer-Testis Antigens: Promising Targets For Antigen Directed Antineoplastic Immunotherapy*," Expert Opin. Biol. Ther. 2(6):577-584)；**MART** (Kounalakis, N.等(2005) "*Tumor Cell And Circulating Markers In Melanoma: Diagnosis, Prognosis, And Management*," Curr. Oncol. Rep. 7(5):377-382；**間皮素** (Chang, K.等(1996) "*Molecular Cloning Of Mesothelin, A Differentiation Antigen Present On Mesothelium, Mesotheliomas, And Ovarian Cancers*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 93:136-140)；**MUC-1** (Mathelin, C. (2006) "*Circulating Proteinic Biomarkers And Breast Cancer*," Gynecol. Obstet. Fertil. 34(7-8):638-646)；**MUM-1** (Castelli, C.等(2000) "*T-Cell Recognition Of Melanoma-Associated Antigens*," J. Cell. Physiol. 182(3):323-331)；**Myl**；**N-乙醯葡糖胺基轉移酶**(Dennis, J.W. (1999) "*Glycoprotein Glycosylation And Cancer Progression*," Biochim. Biophys. Acta. 6;1473(1):21-34)；**擬糖蛋白**；**NS-10**，如在腺癌中發現的；**OFA-1**；**OFA-2**；**制瘤素M** (制瘤素受體β；美國專利號7,572,896；PCT公開號WO 06/084092)；**p15** (Gil, J.等(2006) "*Regulation Of The INK4b-ARF-INK4a Tumour Suppressor Locus: All For One Or One For All*," Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 7(9):667-677)；**p97** (黑色素瘤相關抗原；Estin等(1989) *"Transfected Mouse Melanoma Lines That Express Various Levels Of Human Melanoma-Associated Antigen p97,"* J. Natl. Cancer Instit. 81(6):445-454)；**PEM** (多態性上皮黏蛋白；Hilkens等(1992) *"Cell Membrane-Associated Mucins And Their*

Adhesion-Modulating Property," Trends in Biochem. Sci. 17:359-363)；**PEMA (多態性上皮黏蛋白抗原)**；**PIPA** (美國專利號7,405,061；PCT 公開號WO 04/043239)；**PSA** (前列腺特異性抗原；Henttu等(1989) *"cDNA Coding For The Entire Human Prostate Specific Antigen Shows High Homologies To The Human Tissue Kallikrein Genes,"* Biochem. Biophys. Res. Comm. 10(2):903-910；Israeli等(1993) *"Molecular Cloning Of A Complementary DNA Encoding A Prostate-Specific Membrane Antigen,"* Cancer Res. 53:227-230；Cracco, C.M.等(2005) "*Immune Response In Prostate Cancer*," Minerva Urol. Nefrol. 57(4):301-311)；**PSMA** (前列腺特異性膜抗原；Ragupathi, G. (2005) "*Antibody Inducing Polyvalent Cancer Vaccines*," Cancer Treat. Res. 123:157-180)；**前列腺酸磷酸鹽** (Tailor等(1990) *"Nucleotide Sequence Of Human Prostatic Acid Phosphatase Determined From A Full-Length cDNA Clone,"* Nucl. Acids Res. 18(16):4928)；**R_{24}**，如在黑色素瘤中發現的；**ROR1** (美國專利號5,843,749)；**鞘脂類**；**SSEA-1**；**SSEA-3**；**SSEA-4**；**sTn** (Holmberg, L.A. (2001) "*Theratope Vaccine (STn-KLH)*," Expert Opin. Biol. Ther. 1(5):881-91)；來自皮膚T細胞淋巴瘤的**T細胞受體衍生肽**(參見Edelson (1998) *"Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Model For Selective Immunotherapy,"* Cancer J. Sci. Am. 4:62-71)；**T_5A_7**，發現於骨髓細胞；**TAG-72** (Yokota等(1992) *"Rapid Tumor Penetration Of A Single-Chain Fv And Comparison With Other Immunoglobulin Forms,"* Cancer Res. 52:3402-3408)；**TL5** (血型A)；**TNF-受體** (TNF-α受體，TNF-ß受體；**TNF-γ 受體** (van Horssen, R.等(2006) "*TNF-Alpha In Cancer Treatment: Molecular Insights, Antitumor Effects, And Clinical Utility*," Oncologist 11(4):397-408；Gardnerova, M.等(2000) "*The Use Of TNF Family Ligands And Receptors And Agents Which Modify*

Their Interaction As Therapeutic Agents," Curr. Drug Targets 1(4):327-364)；**TRA-1-85** (血型H)；**轉鐵蛋白受體** (美國專利號7,572,895；PCT 公開號WO 05/121179)；**5T4** (TPBG，滋養層糖蛋白；Boghaert, E.R.等(2008) "*The Oncofetal Protein,* 5T4*, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin*," Int. J. Oncol. 32(1):221-234；Eisen, T.等(2014) "*Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin*," Curr. Oncol. Rep. 16:370, pp. 1-6)；**TSTA (腫瘤特異性移植抗原)** 諸如病毒誘導的腫瘤抗原，其包括DNA腫瘤病毒的T-抗原和RNA腫瘤病毒的包被抗原，癌胚抗原-α-胎蛋白，諸如結腸的CEA、膀胱腫瘤癌胚抗原(Hellström等(1985) *"Monoclonal Antibodies To Cell Surface Antigens Shared By Chemically Induced Mouse Bladder Carcinomas,"* Cancer. Res. 45:2210-2188)；**VEGF** (Pietrantonio, F.等(2015) "*Bevacizumab-Based Neoadjuvant Chemotherapy For Colorectal Cancer Liver Metastases: Pitfalls And Helpful Tricks In A Review For Clinicians*," Crit. Rev. Oncol. Hematol. 95(3):272-281；Grabowski, J.P. (2015) "*Current Management Of Ovarian Cancer*," Minerva Med. 106(3):151-156；Field, K.M. (2015) "*Bevacizumab And Glioblastoma: Scientific Review, Newly Reported Updates, And Ongoing Controversies*," Cancer 121(7):997-1007；Suh, D.H.等(2015) "*Major Clinical Research Advances In Gynecologic Cancer In 2014*," J. Gynecol. Oncol. 26(2):156-167；Liu, K.J.等(2015) "*Bevacizumab In Combination With Anticancer Drugs For Previously Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer*," Tumour Biol. 36(3):1323-1327；Di Bartolomeo, M.等(2015) "*Bevacizumab Treatment In The Elderly Patient With Metastatic Colorectal Cancer*," Clin. Interv. Aging 10:127-133)；**VEGF**受體

(O'Dwyer. P.J. (2006) "*The Present And Future Of Angiogenesis-Directed Treatments Of Colorectal Cancer*," Oncologist 11(9):992-998)；**VEP8**；**VEP9**；**VIM-D5**；和**Y半抗原, Le^y**，如在胚胎癌細胞中發現的。癌抗原和結合它們的分子(例如，抗體)被公開在**表11**中。5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD123、DR5、EGFR、肝配蛋白受體、gpA33、HER2/neu、IL13Rα2、ROR1和VEGF是本發明特別優選的"**癌抗原**"。

表 11
抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
3F8	Gd2	成神經細胞瘤
8H9	B7-H3	成神經細胞瘤、肉瘤、轉移性腦癌
阿巴伏單抗 (Abagovomab)	CA-125	卵巢癌
阿德木單抗 (Adecatumumab)	Epcam	前列腺和乳腺癌
阿托珠單抗 (Afutuzumab)	CD20	淋巴瘤
阿賽珠單抗 (Alacizumab)	VEGFR2	癌症
阿妥莫單抗 (Altumomab)	CEA	結直腸癌
阿麥妥昔 (Amatuximab)	間皮素	癌症
麻安莫單抗 (Anatumomab Mafenatox)	TAG-72	非小細胞肺癌
阿尼魯單抗 (Anifrolumab)	干擾素 A/B 受體	系統性紅斑狼瘡
安蘆珠單抗 (Anrukinzumab)	IL-13	癌症
阿泊珠單抗 (Apolizumab)	HLA-DR	血液癌症
阿西莫單抗 (Arcitumomab)	CEA	胃腸癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
阿提努單抗 (Atinumab)	RTN4	癌症
貝妥莫單抗 (Bectumomab)	CD22	非霍奇金淋巴瘤(檢測)
貝利木單抗 (Belimumab)	BAFF	非霍奇金淋巴瘤
貝伐珠單抗 (Bevacizumab)	VEGF-A	轉移癌，早產兒視網膜病
比伐珠單抗 (Bivatuzumab)	CD44 V6	鱗狀細胞癌
博納吐單抗 (Blinatumomab)	CD19	癌症
布侖妥昔單抗 (Brentuximab)	CD30 (TNFRSF8)	血液癌症
坎妥珠單抗 (Cantuzumab)	MUC1	癌症
莫坎妥珠單抗 (Cantuzumab Mertansine)	黏蛋白 Canag	結直腸癌
卡普賽珠單抗 (Caplacizumab)	VWF	癌症
卡羅單抗 (Capromab)	前列腺癌細胞	前列腺癌(檢測)
卡蘆單抗 (Carlumab)	MCP-1	腫瘤學/免疫指征
卡妥索單抗 (Catumaxomab)	Epcam、CD3	卵巢癌、惡性腹水、胃癌
Cc49	標籤-72	腫瘤檢測
西妥昔單抗 (Cetuximab)	EGFR	轉移性結直腸癌和頭頸癌
Ch.14.18	未確定的	成神經細胞瘤
西他土珠單抗 (Citatuzumab)	Epcam	卵巢癌和其他實體腫瘤
西妥木單抗 (Cixutumumab)	IGF-1 受體	實體腫瘤
克立瓦妥珠單抗 (Clivatuzumab)	MUC1	胰腺癌

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
可那木單抗 (Conatumumab)	TRAIL-R2	癌症
達西珠單抗 (Dacetuzumab)	CD40	血液癌症
達洛珠單抗 (Dalotuzumab)	胰島素樣生長因數 I 受體	癌症
達雷木單抗 (Daratumumab)	CD38	癌症
登西珠單抗 (Demcizumab)	DLL4	癌症
地莫單抗 (Detumomab)	B-淋巴瘤細胞	淋巴瘤
卓齊妥單抗 (Drozitumab)	DR5	癌症
度利戈妥單抗 (Duligotumab)	HER3	癌症
杜氏圖單抗 (Dusigitumab)	ILGF2	癌症
依美昔單抗 (Ecromeximab)	GD3 神經節苷脂	惡性黑素瘤
依庫珠單抗 (Eculizumab)	C5	陣發性睡眠性血紅蛋白尿症
依決洛單抗 (Edrecolomab)	Epcam	結直腸癌
依洛珠單抗 (Elotuzumab)	SLAMF7	多發性骨髓瘤
艾西莫單抗 (Elsilimomab)	IL-6	癌症
依納妥珠單抗 (Enavatuzumab)	TWEAK 受體	癌症
恩莫單抗 (Enlimomab)	ICAM-1 (CD54)	癌症
依諾吉珠單抗 (Enokizumab)	IL9	哮喘
依諾蘇單抗 (Enoticumab)	DLL4	癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
恩司昔單抗 (Ensituximab)	5AC	癌症
西依匹莫單抗 (Epitumomab Cituxetan)	上皮唾蛋白(Episialin)	癌症
依帕珠單抗 (Epratuzumab)	CD22	癌症、SLE
厄馬索單抗 (Ertumaxomab)	HER2/neu，CD3	乳腺癌
艾達珠單抗 (Etaracizumab)	整聯蛋白 $A_v\beta_3$	黑素瘤、前列腺癌症、卵巢癌
法拉莫單抗 (Faralimomab)	干擾素受體	癌症
法勒珠單抗 (Farletuzumab)	葉酸鹽受體 1	卵巢癌
法西努單抗 (Fasinumab)	HNGF	癌症
Fbta05	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
菲拉妥珠單抗 (Ficlatuzumab)	HGF	癌症
芬妥木單抗 (Figitumumab)	IGF-1 受體	腎上腺皮質癌，非小細胞肺癌
夫蘭妥單抗 (Flanvotumab)	TYRP1 (糖蛋白 75)	黑素瘤
芳妥珠單抗 (Fontolizumab)	IFN-γ	克羅恩氏病
瑞索利木單抗 (Fresolimumab)	TGF-B	特發性肺纖維化、局灶性節段性腎小球硬化症、癌症
伏妥昔單抗 (Futuximab)	EGFR	癌症
加利昔單抗 (Galiximab)	CD80	B 細胞淋巴瘤
甘尼妥單抗 (Ganitumab)	IGF-I	癌症
吉妥珠單抗-奧佐米星	CD33	急性骨髓性白血病

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Gemtuzumab Ozogamicin)		
吉伏珠單抗 (Gevokizumab)	IL-1β	糖尿病
吉瑞昔單抗 (Girentuximab)	碳酸酐酶 9 (CA-IX)	透明細胞腎細胞癌
格萊木單抗-維多汀 (Glembatumumab Vedotin)	GPNMB	黑素瘤、乳腺癌
戈利木單抗 (Golimumab)	TNF-A	風濕性關節炎、牛皮癬關節炎、關節強硬性脊椎炎
替伊莫單抗 (Ibritumomab Tiuxetan)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
艾盧蘇單抗 (Icrucumab)	VEGFR-1	癌症
伊戈伏單抗 (Igovomab)	CA-125	卵巢癌(診斷)
Imab362	Cldn18.2	胃腸腺癌和胰臟腫瘤
英加妥珠單抗 (Imgatuzumab)	EGFR	癌症
英拉蘇單抗 (Inclacumab)	選擇素 P	癌症
拉-英達西單抗 (Indatuximab Ravtansine)	SDC1	癌症
伊珠單抗-奧佐米星(Inotuzumab Ozogamicin)	CD22	癌症
英妥木單抗 (Intetumumab)	CD51	實體腫瘤(前列腺癌症、黑素瘤)
伊匹木單抗 (Ipilimumab)	CD152	黑素瘤
伊妥木單抗 (Iratumumab)	CD30 (TNFRSF8)	霍奇金淋巴瘤
伊曲珠單抗	CD6	癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Itolizumab)		
拉貝珠單抗 (Labetuzumab)	CEA	結直腸癌
蘭羅利珠單抗 (Lambrolizumab)	PDCD1	抗腫瘤劑
蘭帕利珠單抗 (Lampalizumab)	CFD	癌症
來沙木單抗 (Lexatumumab)	TRAIL-R2	癌症
利韋單抗 (Libivirumab)	乙型肝炎表面抗原	乙型肝炎
利格利珠單抗 (Ligelizumab)	IGHE	癌症
林妥珠單抗 (Lintuzumab)	CD33	癌症
利瑞魯單抗 (Lirilumab)	KIR2D	癌症
洛妥珠單抗 (Lorvotuzumab)	CD56	癌症
魯卡木單抗 (Lucatumumab)	CD40	多發性骨髓瘤、非霍奇金淋巴瘤、霍奇金淋巴瘤
魯昔單抗 (Lumiliximab)	CD23	慢性淋巴細胞性白血病
馬帕木單抗 (Mapatumumab)	TRAIL-R1	癌症
瑪格妥昔單抗 (Margetuximab)	Ch4d5	癌症
馬妥珠單抗 (Matuzumab)	EGFR	結直腸癌、肺癌和胃癌
米拉珠單抗 (Milatuzumab)	CD74	多發性骨髓瘤和其他血液學惡性腫瘤
明瑞莫單抗 (Minretumomab)	TAG-72	癌症
米妥莫單抗 (Mitumomab)	GD3 神經節苷脂	小細胞肺癌
莫加珠單抗	CCR4	癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Mogamulizumab)		
莫羅木單抗 (Morolimumab)	獼猴因數	癌症
帕蘇托-莫塞妥莫單抗 (Moxetumomab Pasudotox)	CD22	癌症
他那可單抗 (Nacolomab Tafenatox)	C242 抗原	結直腸癌
奈米布單抗 (Namilumab)	CSF2	癌症
他那莫單抗 (Naptumomab Estafenatox)	5T4	非小細胞肺癌、腎細胞癌
納那妥單抗 (Narnatumab)	RON	癌症
奈巴庫單抗 (Nebacumab)	內毒素	敗血症
奈昔木單抗 (Necitumumab)	EGFR	非小細胞肺癌
奈瑞莫單抗 (Nerelimomab)	TNF-A	癌症
耐斯伐庫單抗 (Nesvacumab)	血管生成素 2	癌症
尼妥珠單抗 (Nimotuzumab)	EGFR	鱗狀細胞癌、頭頸癌、鼻咽癌、神經膠質瘤
尼魯單抗 (Nivolumab)	PD-1	癌症
莫坦-諾非妥莫單抗(Nofetumomab Merpentan)	未確定的	癌症
奧卡拉妥珠單抗 (Ocaratuzumab)	CD20	癌症
奧法妥木單抗 (Ofatumumab)	CD20	慢性淋巴細胞性白血病
奧拉妥單抗	PDGF-R A	癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Olaratumab)		
奧洛珠單抗 (Olokizumab)	IL6	癌症
奧納妥珠單抗 (Onartuzumab)	人散射因數受體激酶	癌症
昂妥昔珠單抗 (Ontuxizumab)	TEM1	癌症
莫-奧珠單抗 (Oportuzumab monatox)	Epcam	癌症
奧戈伏單抗 (Oregovomab)	CA-125	卵巢癌
奧替庫單抗 (Orticumab)	Oxldl	癌症
奧樂妥珠單抗 (Otlertuzumab)	CD37	癌症
帕尼單抗 (Panitumumab)	EGFR	結直腸癌
帕尼庫單抗 (Pankomab)	MUC1 的腫瘤特異性糖基化	卵巢癌
巴薩妥珠單抗 (Parsatuzumab)	EGFL7	癌症
帕曲妥單抗 (Patritumab)	HER3	癌症
派姆單抗 (Pembrolizumab)	PD-1	癌症
培妥莫單抗 (Pemtumomab)	MUC1	癌症
培拉珠單抗 (Perakizumab)	IL17A	關節炎
帕妥株單抗 (Pertuzumab)	HER2/neu	癌症
皮地珠單抗 (Pidilizumab)	PD-1	癌症和傳染病
皮那妥珠單抗-維多汀 (Pinatuzumab	CD22	癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
Vedotin)		
平妥莫單抗 (Pintumomab)	腺癌抗原	腺癌
普拉庫魯單抗 (Placulumab)	人 TNF	癌症
泊拉妥珠單抗-維多汀 (Polatuzumab Vedotin)	CD79B	癌症
普立托昔單抗 (Pritoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
普立妥木單抗 (Pritumumab)	波形蛋白	腦癌
奎利珠單抗 (Quilizumab)	IGHE	癌症
雷妥莫單抗 (Racotumomab)	N-羥乙醯神經氨糖酸 (N-Glycolylneuraminic Acid)	癌症
雷得妥單抗 (Radretumab)	纖連蛋白額外結構域-B	癌症
雷莫蘆單抗 (Ramucirumab)	VEGFR2	實體腫瘤
利妥木單抗 (Rilotumumab)	HGF	實體腫瘤
利妥昔單抗 (Rituximab)	CD20	淋巴瘤、白血病(Leukemias)、一些自身免疫性病症
羅妥木單抗 (Robatumumab)	IGF-1 受體	癌症
羅度單抗 (Roledumab)	RHD	癌症
沙馬珠單抗 (Samalizumab)	CD200	癌症
沙妥莫單抗噴地肽(Satumomab Pendetide)	TAG-72	癌症
司裡班妥單抗	ERBB3	癌症

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Seribantumab)		
司托昔抗 (Setoxaximab)	大腸桿菌志賀氏毒素類型-1	癌症
Sgn-CD19a	CD19	急性成淋巴細胞性白血病和 B 細胞非-霍奇金淋巴瘤
Sgn-CD33a	CD33	急性髓細胞樣白血病
西羅珠單抗 (Sibrotuzumab)	FAP	癌症
司妥昔單抗 (Siltuximab)	IL-6	癌症
索利托單抗 (Solitomab)	Epcam	癌症
松妥珠單抗 (Sontuzumab)	上皮唾蛋白	癌症
他巴魯單抗 (Tabalumab)	BAFF	B 細胞癌
替他珠單抗 (Tacatuzumab Tetraxetan)	甲胎蛋白	癌症
帕-他莫單抗 (Taplitumomab Paptox)	CD19	癌症
替莫單抗 (Telimomab)	未確定的	癌症
替妥莫單抗 (Tenatumomab)	生腱蛋白 C	癌症
替奈昔單抗 (Teneliximab)	CD40	癌症
替妥木單抗 (Teprotumumab)	CD221	血液腫瘤
替昔木單抗 (Ticilimumab)	CTLA-4	癌症
替加珠單抗 (Tigatuzumab)	TRAIL-R2	癌症
Tnx-650	Il-13	霍奇金淋巴瘤
托西莫單抗	CD20	濾泡淋巴瘤

表 11

抗體和基於抗體的分子

抗體名稱	癌抗原	治療靶應用
(Tositumomab)		
托維妥單抗 (Tovetumab)	CD140a	癌症
曲妥珠單抗 (Trastuzumab)	HER2/neu	乳腺癌
Trbs07	Gd2	黑素瘤
曲美木單抗 (Tremelimumab)	CTLA-4	癌症
西莫白介素單抗 (Tucotuzumab Celmoleukin)	Epcam	癌症
優利妥昔單抗 (Ublituximab)	MS4A1	癌症
烏瑞魯單抗 (Urelumab)	4-1BB	癌症
萬替妥單抗 (Vantictumab)	捲曲受體(Frizzled Receptor)	癌症
伐利昔單抗 (Vapaliximab)	AOC3 (VAP-1)	癌症
伐特珠單抗 (Vatelizumab)	ITGA2	癌症
維妥珠單抗 (Veltuzumab)	CD20	非霍奇金淋巴瘤
維森庫單抗 (Vesencumab)	NRP1	癌症
伏洛昔單抗 (Volociximab)	整聯蛋白 A5β1	實體腫瘤
伏司妥珠單抗 (Vorsetuzumab)	CD70	癌症
伏妥昔單抗 (Votumumab)	腫瘤抗原 CTAA16.88	結直腸腫瘤
紮蘆木單抗 (Zalutumumab)	EGFR	頭頸的鱗狀細胞癌
紮妥昔單抗 (Zatuximab)	HER1	癌症
齊拉木單抗 (Ziralimumab)	CD147	癌症

【0229】 表11列出了示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建本發明的能夠結合排列在癌症細胞表面上的癌抗原並且介導這種癌症細胞的重定向的殺傷的結合分子，下面提供了可用於構建能夠結合排列在癌症細胞表面上的癌抗原並且介導這種癌症細胞的重定向的殺傷的分子的另外抗體。

1. 示例性抗B7-H3抗體

【0230】 **B7-H3**是在各種實體腫瘤類型上過表達的癌抗原並且是涉及免疫調節的分子的B7家族的成員(參見美國專利號8,802,091；US 2014/0328750；US 2013/0149236；Loo, D.等(2012) "*Development Of An Fc-Enhanced Anti-B7-H3 Monoclonal Antibody With Potent Antitumor Activity*," Clin. Cancer Res. 18(14):3834-3845)。具體地，數個獨立的研究已經顯示人惡性癌症細胞(例如，成神經細胞瘤以及胃癌、卵巢癌和非小細胞肺癌的癌症細胞)呈現B7-H3蛋白表達的顯著增加以及該增加的表達與增加的疾病嚴重性相關(Zang, X.等(2007) "*The B7 Family And Cancer Therapy: Costimulation And Coinhibition*," Clin. Cancer Res. 13:5271-5279)，表明B7-H3被腫瘤利用為免疫逃逸路徑(Hofmeyer, K.等(2008) "*The Contrasting Role Of B7-H3*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 105(30):10277-10278)。

【0231】 B7-H3也已經被發現共同刺激CD4+和CD8+ T細胞增殖。B7-H3也刺激IFN-γ產生和CD8+溶解活性(Chapoval, A.等(2001) "*B7-H3: A Costimulatory Molecule For T Cell Activation and IFN-γ Production*," Nature Immunol. 2:269–274；Sharpe, A.H.等(2002) "*The B7-CD28 Superfamily*," Nature Rev. Immunol. 2:116-126)。然而，該蛋白也可能通過NFAT(啟動的T細胞的核因數)、NF-κB(核因數κB)、和AP-1(啟動蛋白-1)因數作用以抑制T細胞啟動(Yi. K.H.

等(2009) “Fine *Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4*,” Immunol. Rev. 229:145-151)。B7-H3也被認為體內抑制Th1、Th2或Th17(Prasad, D.V.等(2004) “*Murine B7–H3 Is A Negative Regulator Of T Cells*,” J. Immunol. 173:2500-2506；Fukushima, A.等(2007) “*B7–H3 Regulates The Development Of Experimental Allergic Conjunctivitis In Mice*,” Immunol. Lett. 113:52-57；Yi. K.H.等(2009) “Fine *Tuning The Immune Response Through B7-H3 And B7-H4*,” Immunol. Rev. 229:145-151)。

【0232】 優選的B7-H3-結合分子具有人源化抗人B7-H3單克隆抗體“**B7-H3 mAb-B**”、“**B7-H3 mAb-C**”、“**B7-H3 mAb-D**”的VL和/或VH結構域，並且更優選地具有這種抗B7-H3單克隆抗體的VL區的CDR_L中的1個、2個或所有的3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有的3個。

【0233】 在人源化後，抗體**B7-H3 mAb-B**產生兩個變體VH結構域：**B7-H3 mAb-B VH1**和**B7-H3 mAb-B VH2**；和兩個變體VL結構域：**B7-H3 mAb-B VL1**和**B7-H3 mAb-B VL2**，其可以以VH/VL結構域的任何組合來產生功能性的B7-H3結合結構域。

【0234】 **B7-H3 mAb-B VH1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:96**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SYWMQ**WVRQA PGQGLEWMG**T**
IYPGDGDTRY **TQKFKG**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**RG**
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

【0235】 **B7-H3 mAb-B VH2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:97**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **SYWMQ**WVRQA PGQGLEWMG**T**
IYPGGGDTRY **TQKFQG**RVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**RG**
IPRLWYFDVW GQGTTVTVSS

【0236】 **B7-H3 mAb-B VL1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:98**)

顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQDIS NYLN**WYQQKP GKAPKLLIY**Y TSRLHS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYC**QQ GNTLPPT**FGG GTKLEIK

【0237】 **B7-H3 mAb-B VL2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:99**)

顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQSIS SYLN**WYQQKP GKAPKLLIY**Y TSRLQS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDIATYYC**QQ GNTLPPT**FGG GTKLEIK

【0238】 人源化**B7-H3 mAb-C**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:100**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS **SYGMS**WVRQA PGKGLEWVA**T INSGGSNTYY PDSLKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**HD GGAMDY**WGQG TTVTVSS

【0239】 人源化**B7-H3 mAb-C**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:101**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASESIY SYLA**WYQQKP GKAPKLLVY**N TKTLPE**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QH HYGTPPWT**FG QGTRLEIK

【0240】 **B7-H3 mAb-D**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:102**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SFGMH**WVRQA PGKGLEWVA**Y ISSGSGTIYY ADTVKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**HG YRYEGFDY**WG QGTTVTVSS

【0241】 **B7-H3 mAb-D**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:103**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITC**KASQNVD TNVA**WYQQKP GKAPKALIY**S ASYRYS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFAEYFC**QQ YNNYPFT**FGQ GTKLEIK

【0242】 特別優選的是具有人源化VH和/或VL結構域的B7-H3-結合分子，其包括但不限於“恩比利珠單抗(Enoblituzumab)” (也被稱為MGA271；CAS登錄號1353485-38-7)。恩比利珠單抗是結合至HER2/neu並且介導提高的ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。恩比利珠單抗的完整的重鏈和輕鏈的氨基酸序列在本領域是已知的(參見，例如，WHO Drug Information, 2017, 推薦的INN:列表77, 31(1):49)。

【0243】 恩比利珠單抗的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:104**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS **SFGMH**WVRQA PGKGLEWVA**Y ISSDSSAIYY ADTVKG**RFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRDED TAVYYCGR**GR ENIYYGSRLD Y**WGQGTTVTV SS

【0244】 恩比利珠單抗的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:105**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITC**KASQNVD TNVA**WYQQKP GKAPKALIY**S ASYRYS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YNNYPFT**FGQ GTKLEIK

【0245】 除了上面所鑒定的優選抗B7-H3結合分子，本發明還考慮使用下列抗B7-H3結合分子中的任一種：**LUCA1；BLA8；PA20；或SKN2** (參見美國專利號7,527,969；8,779,098和PCT專利公開WO 2004/001381)；**M30；cM30；M30-H1-L1；M30-H1-L2；M30-H1-L3；M30-H1-L4；M30-H1-L5；M30-H1-L6；M30-H1-L7；M30-H4-L1；M30-H4-L2；M30-H4-L3；和M30-H4-L4** (參見US專利公開2013/0078234和PCT專利公開WO 2012/147713)；和**8H9** (參見美國專利號7,666,424；7,737,258；7,740,845；8,148,154；8,414,892；8,501,471；9,062,110；US專利公佈2010/0143245和PCT專利公佈WO 2008/116219)。

【0246】 本發明具體地包括並涵蓋**CD16 x B7-H3 結合分子**，其包含**B7-H3 mAb-B**、**B7-H3 mAb-B VH1**、**B7-H3 mAb-B VH2**、**B7-H3 mAb-B VL1**、**B7-H3 mAb-B VL2**、**B7-H3 mAb-C**、**B7-H3 mAb-D**、或恩比利珠單抗中的任一種或者本文提供的其它抗B7-H3抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個；並且更優選地具有這種抗B7-H3單克隆抗體的VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

2. 示例性抗CEACAM5和抗CEACAM6抗體

【0247】 癌胚抗原相關的細胞黏附分子5(CEACAM5)和細胞黏附分子6(CEACAM6)已經發現與各種類型的癌症相關，所述各種類型的癌症包括甲狀腺髓樣癌、結直腸癌、胰腺癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸癌、膀胱癌、前列腺癌、子宮癌、子宮內膜癌、乳腺癌、造血系統癌症、白血病和卵巢癌(PCT公開號WO 2011/034660)，以及特別地，結直腸癌、胃腸癌、胰腺癌、非小細胞肺癌(NSCL)、乳腺癌、甲狀腺癌、胃癌、卵巢癌和子宮癌(Zheng, C.等(2011) "*A Novel Anti-CEACAM5 Monoclonal Antibody, CC4, Suppresses Colorectal Tumor Growth and Enhances NK Cells-Mediated Tumor Immunity*," PLoS One 6(6):e21146, pp. 1-11)。

【0248】 CEACAM5已經發現在90%的胃腸癌、結直腸癌和胰腺癌、70%的非小細胞肺癌細胞和50%的乳腺癌中過表達(Thompson, J.A.等(1991) "*Carcinoembryonic Antigen Gene Family: Molecular Biology And Clinical Perspectives*," J. Clin. Lab. Anal. 5:344-366)。過表達的癌胚抗原相關的細胞黏附分子6 (CEACAM6)在各種人癌症的侵襲和轉移中起著重要作用，其包括甲狀腺

髓樣癌、結直腸癌、胰腺癌、肝細胞癌、胃癌、肺癌、頭頸癌、膀胱癌、前列腺癌、子宮癌、子宮內膜癌、乳腺癌、造血系統癌症、白血病和卵巢癌(PCT公開號WO 2011/034660；Deng, X.等(2014) "*Expression Profiling Of CEACAM6 Associated With The Tumorigenesis And Progression In Gastric Adenocarcinoma*," Genet. Mol. Res. 13(3):7686-7697；Cameron, S.等(2012) "*Focal Overexpression Of CEACAM6 Contributes To Enhanced Tumourigenesis In Head And Neck Cancer Via Suppression Of Apoptosis*," Mol. Cancer 11:74, pp. 1-11；Chapin, C.等(2012) "*Distribution And Surfactant Association Of Carcinoembryonic Cell Adhesion Molecule 6 In Human Lung*," Amer. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 302(2):L216-L25；Riley, C.J.等(2009) "*Design And Activity Of A Murine And Humanized Anti-CEACAM6 Single-Chain Variable Fragment In The Treatment Of Pancreatic Cancer*," Cancer Res. 69(5):1933-1940；Lewis-Wambi, J.S.等(2008) "*Overexpression Of CEACAM6 Promotes Migration And Invasion Of Oestrogen-Deprived Breast Cancer Cells*," Eur. J. Cancer 44(12):1770-1779；Blumenthal, R.D.等(2007) "*Expression Patterns Of CEACAM5 And CEACAM6 In Primary And Metastatic Cancers*," BMC Cancer. 7:2, pp. 1-15)。免疫特異性地結合CEACAM5和CEACAM6的抗體是可商購的(Santa Cruz Biotechnology, Inc.；Novus Biologicals LLC；Abnova Corporation)。

【0249】 人源化抗CEACAM5/抗CEACAM6抗體**16C3**(EP 2585476)的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:106**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLQQSGPE VVRPGVSVKI SCKGS**GYTFT DYAMH**WVKQS HAKSLEWIG**L**
ISTYSGDTKY NQNFKGKATM TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**GD**
YSGSRYWFAY WGQGTLVTVS S

【0250】 人源化抗CEACAM5/抗CEACAM6抗體**16C3**(EP 2585476)的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:107**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**GASENIY GALN**WYQRKP GKSPKLLIW**G**
ASNLADGMPS RFSGSGSGRQ YTLTISSLQP EDVATYY**CQN VLSSPYT**FGG
GTKLEIK

【0251】 人源化抗CEACAM5/CEACAM6抗體**hMN15**(WO 2011/034660)的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:108**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SC**SSSGFALT DYYMS**WVRQA PGKGLEWLG**F**
IANKANGHTT DYSPSVKGRF TISRDNSKNT LFLQMDSLRP EDTGVYFCAR
DMGIRWNFDV WGQGTPVTVS S

【0252】 人源化抗CEACAM5/CEACAM6抗體hMN15 (WO 2011/034660)的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:109**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQLTQSPSS LSASVGDRVT MTC**SASSRVS YIH**WYQQKPG KAPKRWIY**GT**
STLASGVPAR FSGSGSGTDF TFTISSLQPE DIATYYC**QQW SYNPPT**FGQG
TKVEIKR

【0253】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x CEACAM5/CEACAM6結合分子**，其包含抗CEACAM5/CEACAM6單克隆抗體**16C3**或**hMN15**的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。

3. 示例性抗EGRF抗體

【0254】 表皮生長因數受體(EGFR)是某些轉移性結直腸癌、轉移性非小細胞肺癌和頭頸癌的癌抗原。示例性的結合人EGRF的抗體是“**西妥昔單抗**”和“**帕尼單抗**”。西妥昔單抗是重組人-小鼠嵌合表皮生長因數受體(EGFR)IgG1單克隆抗體(Govindan R. (2004) “*Cetuximab In Advanced Non-Small Cell Lung Cancer*,”

Clin. Cancer Res. 10(12 Pt 2):4241s-4244s；Bou-Assaly, W.等(2010) "*Cetuximab (Erbitux)*," Am. J. Neuroradiol. 31(4):626-627)。帕尼單抗(Vectibix®，Amgen)是全人源化表皮生長因數受體(EGFR)IgG2單克隆抗體(Foon, K.A.等(2004) "*Preclinical And Clinical Evaluations Of ABX-EGF, A Fully Human Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody*," Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 58(3):984-990；Yazdi, M.H.等(2015) "*A Comprehensive Review of Clinical Trials on EGFR Inhibitors Such as Cetuximab and Panitumumab as Monotherapy and in Combination for Treatment of Metastatic Colorectal Cancer*," Avicenna J. Med. Biotechnol. 7(4):134-144)。

【0255】 嵌合抗EGFR抗體**西妥昔單抗**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:110**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLKQSGPG LVQPSQSLSI TCTVS**GFSLT NYGVH**WVRQS PGKGLEWLG**V IWSGGNTDYN TPFTS**RLSIN KDNSKSQVFF KMNSLQSNDT AIYYCAR**ALT YYDYEFAY**WG QGTLVTVSA

【0256】 嵌合抗EGFR抗體**西妥昔單抗**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:111**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DILLTQSPVI LSVSPGERVS FSC**RASQSIG TNIH**WYQQRT NGSPRLLIK**Y ASESIS**GIPS RFSGSGSGTD FTLSINSVES EDIADYYC**QQ NNNWPTT**FGA GTKLELKR

【0257】 帕尼單抗的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:112**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVS**GGSVS SGDYY**WTWIR QSPGKGLEWI G**HIYYSGNTN YNPSLKS**RLT ISIDTSKTQF SLKLSSVTAA DTAIYYCVR**D RVTGAFDI**WG QGTMVTVSS

【0258】 帕尼單抗的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:113**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**QASQDIS** **NYLN**WYQQKP GKAPKLLIY**D**
ASNLETGVPS RFSGSGSGTD FTFTISSLQP EDIATYFC**QH** **FDHLPLA**FGG
GTKVEIKR

【0259】 本發明具體地包括並且涵蓋CD16 x EGFR結合分子，其包含抗EGFR單克隆抗體西妥昔單抗或帕尼單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

4. 示例性抗EphA2抗體

【0260】 受體酪氨酸激酶——肝配蛋白型-A受體2(**EphA2**)在成年人上皮組織中的細胞與細胞接觸位點正常表達，然而最近的研究已經表明它在各種類型的上皮癌中過表達，其中最大水準的EphA2表達在轉移病灶中被觀察到。EphA2的高表達水準已經在大範圍的癌症和許多癌細胞系中發現，其包括前列腺癌、乳腺癌、非小細胞肺癌和黑色素瘤(Xu, J.等(2014) "*High EphA2 Protein Expression In Renal Cell Carcinoma Is Associated With A Poor Disease Outcome*," Oncol. Lett. Aug 2014; 8(2): 687-692；Miao, B.等(2014) "*EphA2 is a Mediator of Vemurafenib Resistance and a Novel Therapeutic Target in Melanoma*," Cancer Discov. pii: CD-14-0295)。EphA2並非似乎僅僅是癌症的標記物，而是似乎在許多人癌症中持續過表達並且功能上發生改變(Chen, P.等(2014) "*EphA2 Enhances The Proliferation And Invasion Ability Of LnCap Prostate Cancer Cells*," Oncol. Lett. 8(1):41-46)。示例性的結合人EphA2的抗體是"**EphA2 mAb 1**"、"**EphA2 mAb 2**"和"**EphA2 mAb 3**"。

【0261】 **EphA2 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:114**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLKESGPG LVAPSQSLSI TCTVSGFSLS **RYSVH**WVRQP PGKGLEWLG**M**
IWGGGSTDYN SALKSRLSIS KDNSKSQVFL KMNSLQTDDT AMYYCAR**KHG**
NYYTMDYWGQ GTSVTVSS

【0262】 **EphA2 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:115**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQTTSS LSASLGDRIT ISC**RASQDIS NYLN**WYQQKP DGTVKLLIY**Y TSRLHS**GVPS RFSGSGSGTD YSLTISNLEQ EDIATYFC**QQ GYTLYT**FGGG TKLEIK

【0263】 **EphA2 mAb 2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:116**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

QIQLVQSGPE LKKPGETVKI SCKASGFTFT **NYGMN**WVKQA PGKGLKWMG**W INTYIGEPTY ADDFKG**RFVF SLETSASTAY LQINNLKNED MATYFCAR**EL GPYYFDY**WGQ GTTLTVSS

【0264】 **EphA2 mAb 2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:117**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DVVMTQTPLS LPVSLGDQAS ISC**RSSQSLV HSSGNTYLH**W YLQKPGQSPK LLIY**KVSNRF S**GVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YFC**SQSTHVP T**FGSGTKLEI K

【0265】 **EphA2 mAb 3**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:118**)顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG SVKPGGSLKL SCAASGFTFT **DHYMY**WVRQT PEKRLEWVA**T ISDGGSFTSY PDSVKG**RFTI SRDIAKNNLY LQMSSLKSED TAMYYCTR**DE SDRPFPY**WGQ GTLVTVSS

【0266】 **EphA2 mAb 3**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:119**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIVLTQSHRS MSTSVGDRVN ITC**KASQDVT TAVA**WYQQKP GQSPKLLIF**W ASTRHA**GVPD RFTGSGSGTD FTLTISSVQA GDLALYYC**QQ HYSTPYT**FGG GTKLEIK

【0267】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x EphA2結合分子**，其包含抗EphA2單克隆抗體**EphA2 mAb 1**、**EphA2 mAb 2**和**EphA2 mAb 3**的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。

5. 示例性抗gpA33抗體

【0268】 43 kD的跨膜糖蛋白A33(**gpA33**)在>95%的所有結直腸癌中表達(Heath, J.K.等(1997) "*The Human A33 Antigen Is A Transmembrane* Glycoprotein *And A Novel Member Of The Immunoglobulin* Superfamily," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 94(2):469-474；Ritter, G.等(1997) "*Characterization Of Posttranslational Modifications Of Human A33 Antigen, A Novel Palmitoylated Surface Glycoprotein Of Human Gastrointestinal Epithelium*," Biochem. Biophys. Res. Commun. 236(3):682-686；Wong, N.A.等(2006) "*EpCAM and gpA33 Are Markers Of Barrett's Metaplasia*," J. Clin. Pathol. 59(3):260-263)。示例性的結合人gpA33的抗體是"**gpA33 mAb 1**"。

【0269】 **gpA33 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:120**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT **GSWMN**WVRQA PGQGLEWIG**R**
IYPGDGETNY NGKFKDRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**IY**
GNNVYFDVWG QGTTVTVSS

【0270】 **gpA33 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:121**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITC**SARSSIS FMY**WYQQKPG KAPKLLIY**DT**
SNLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLEAE DAATYYC**QQW SSYPLT**FGQG
TKLEIK

【0271】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x gpA33結合分子**，其包含抗gpA33單克隆抗體**gpA33 mAb 1**、或者WO 2015/026894中提供的抗gpA33單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

6. 示例性抗HER2/neu抗體

【0272】 HER2/neu是185 kDa受體蛋白，其最初被鑒定為來自化學處理的大鼠的成神經細胞瘤的轉化基因的產物。HER2/neu由於其在數種人癌症和哺乳動物發育中的作用而已經被進行了廣泛的研究(Hynes等(1994) Biochim. Biophys. Acta 1198:165-184；Dougall等(1994) Oncogene 9:2109-2123；Lee等(1995) Nature 378:394-398)。示例性的結合人HER2/neu的抗體包括"**瑪格妥昔單抗(Margetuximab)**"、"**曲妥珠單抗(Trastuzumab)**"和"**帕妥株單抗(Pertuzumab)**"。瑪格妥昔單抗(也被稱為MGAH22；CAS登錄號1350624-75-7)是結合至HER2/neu並且介導提高的ADCC活性的Fc-優化的單克隆抗體。曲妥珠單抗(也被稱為rhuMAB4D5，並且作為Herceptin®出售；CAS登錄號180288-69-1；參見美國專利號5,821,337)是抗體4D5的人源化版本，具有IgG1/κ恆定區。帕妥株單抗(也被稱為rhuMAB2C4，並且作為PERJETA™出售；CAS登錄號380610-27-5；參見例如WO2001/000245)是抗體2C4的人源化版本，具有IgG1/κ恆定區。

【0273】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x HER2/neu結合分子**，其包含抗HER2/neu單克隆抗體瑪格妥昔單抗、曲妥珠單抗、或帕妥株單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

【0274】 瑪格妥昔單抗的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:122**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVQLQQSGPE LVKPGASLKL SCTASGFNIK **DTYIH**WVKQR PEQGLEWIG**R IYPTNGYTRY DPKFQD**KATI TADTSSNTAY LQVSRLTSED TAVYYCSR**WG GDGFYAMDY**W GQGASVTVSS

【0275】 瑪格妥昔單抗的VL結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:123)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIVMTQSHKF MSTSVGDRVS ITC**KASQDVN TAVA**WYQQKP GHSPKLLIY**S ASFRYT**GVPD RFTGSRSGTD FTFTISSVQA EDLAVYYC**QQ HYTTPPT**FGG GTKVEIK

【0276】 瑪格妥昔單抗的完整的重鏈和輕鏈的氨基酸序列在本領域是已知的(參見，例如，WHO Drug Information, 2014,推薦的INN:列表71, 28(1):93-94)。

【0277】 曲妥珠單抗的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:124**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFNIK **DTYIH**WVRQA PGKGLEWVA**R IYPTNGYTRY ADSVKG**RFTI SADTSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCSR**WG GDGFYAMDY**W GQGTLVTVSS

【0278】 曲妥珠單抗的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:125**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQDVN TAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASFLY**SGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ HYTTPPT**FGQ GTKVEIK

【0279】 帕妥株單抗的VH結構域的氨基酸序列(SEQ ID NO:126)顯示在下面(CDRH殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFT **DYTMD**WVRQA PGKGLEWVA**D VNPNSGGSIY NQRFKG**RFTL SVDRSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**NL GPSFYFDY**WG QGTLVTVSS

【0280】 帕妥株單抗的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:127**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KASQDVS IGVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASYRYT**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YYIYPYT**FGQ GTKVEIK

【0281】 除了上面所鑒定的優選抗HER2/neu結合分子外，本發明還包括並且涵蓋**CD16 x HER2/neu結合分子**，其包含下列抗HER2/neu結合分子中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個：**1.44.1；1.140；1.43；1.14.1；1.100.1；**

1.96；1.18.1；1.20；1.39；1.24；和**1.71.3**(美國專利號8,350,011；8,858,942和PCT公開號WO 2008/019290)；**F5和C1**(美國專利號7,892,554；8,173,424；8,974,792和PCT公開號WO 99/55367)；以及美國專利公開號US2013017114和PCT公開號WO2011/147986和WO 2012/143524的抗HER2/neu結合分子。

【0282】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x HER2/neu結合分子**，其包含瑪格妥昔單抗、曲妥珠單抗、或帕妥株單抗中的任一種或者本文提供的其它抗HER2/neu抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個；並且更優選地具有這種抗HER2/neu單克隆抗體的VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

7. 示例性抗VEGF抗體

【0283】 VEGF-A是刺激多種疾病，尤其某些轉移癌，諸如轉移性結腸癌，以及某些肺癌、腎癌、卵巢癌和腦的多形性成膠質細胞瘤中的血管生成的化學信號。示例性的結合至人VEGF-A的抗體是“**貝伐珠單抗(Bevacizumab)**”(Avastin®)。**貝**伐珠單抗是重組人源化IgG1單克隆抗體 (Midgley, R.等(2005) “*Bevacizumab – Current Status And Future Directions*,” Ann. Oncol. 16(7):999-1004；Hall, R.D.等(2015) “*Angiogenesis Inhibition As A Therapeutic Strategy In Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)*,” Transl. Lung Cancer Res. 4(5):515-523；Narita, Y. (2015) “*Bevacizumab For Glioblastoma*,” Ther. Clin. Risk Manag. 11:1759-1765)。

【0284】 **貝伐珠單抗**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:128**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYTFT **NYGMN**WVRQA PGKGLEWVG**W**
INTYTGEPTY AADFKRRFTF SLDTSKSTAY LQMNSLRAED TAVYYCA**KYP**
HYYGSSHWYF DVWGQGTLVT VSS

【0285】 **貝伐珠單抗**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:129**)顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**SASQDIS NYLN**WYQQKP GKAPKVLIY**F**
TSSLHSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QQ YSTVPWT**FGQ
GTKVEIKR

【0286】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x VEGF結合分子**，其包含抗VEGF單克隆抗體**貝**伐珠單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。

8. 示例性抗5T4抗體

【0287】 癌胚蛋白**5T4**是在許多癌症(包括腎癌、結腸癌、前列腺癌、肺癌)的細胞膜上以及在急性淋巴細胞性白血病中呈現的腫瘤相關蛋白(參見Boghaert, E.R.等(2008) "*The Oncofetal Protein, 5T4, Is A Suitable Target For Antibody-Guided Anti-Cancer Chemotherapy With Calicheamicin*," Int. J. Oncol. 32(1):221-234；Eisen, T.等(2014) "*Naptumomab Estafenatox: Targeted Immunotherapy with a Novel Immunotoxin*," Curr. Oncol. Rep. 16:370, pp. 1-6)。示例性的結合至人5T4的抗體包括"**5T4 mAb 1**"和"**5T4 mAb 2**"。

【0288】 **5T4 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:130**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKAS**GYTFT SFWMH**WVRQA PGQGLEWMG**R**
IDPNRGGTEY NEKAKSRVTM TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAG**GN**
PYYPMDYWGQ GTTVTVSS

【0289】 **5T4 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:131**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**RASQGIS NYLA**WFQQKP GKAPKSLIY**R ANRLQS**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDVATYYC**LQ YDDFPWT**FGQ GTKLEIK

【0290】 **5T4 mAb 2**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:132**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLQQPGAE LVKPGASVKM SCKAS**GYTFT SYWIT**WVKQR PGQGLEWIG**D IYPGSGRANY NEKFKS**KATL TVDTSSSTAY MQLSSLTSED SAVYNCAR**YG PLFTTVVDPN SYAMDY**WGQG TSVTVSS

【0291】 **5T4 mAb 2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:133**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DVLMTQTPLS LPVSLGDQAS ISC**RSSQSIV YSNGNTYLE**W YLQKPGQSPK LLIY**KVSNRF S**GVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDLGV YYC**FQGSHVP FT**FGSGTKLE IK

【0292】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x 5T4結合分子**，其包含抗5T4單克隆抗體**5T4 mAb 1**或**5T4 mAb 2**或者WO 2013/041687或WO 2015/184203中提供的抗5T4抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

【0293】 本申請案另外具體地包括並且涵蓋能夠結合至5T4、CD16和CD8的**CD16 x 5T4三特異性結合分子**，以及尤其這樣的三特異性結合分子，其包含抗5T4單克隆抗體**5T4 mAb 1**或**5T4 mAb 2**或者WO 2015/184203中提供的抗5T4單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個，和/或本文提供的抗CD8單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

9．示例性抗IL13Rα2抗體

【0294】 白介素-13受體α2(**IL13Rα2**)在多種癌症中過表達，所述癌症包括成膠質細胞瘤、結直腸癌、宮頸癌、胰腺癌、多發性黑素瘤、骨肉瘤、白血病、淋巴瘤、前列腺癌和肺癌(PCT公開號WO 2008/146911；Brown, C.E.等(2013) "*Glioma IL13Rα2 Is Associated With Mesenchymal Signature Gene Expression And Poor Patient Prognosis*," PLoS One. 18;8(10):e77769；Barderas, R.等(2012) "*High Expression Of IL-13 Receptor A2 In Colorectal Cancer Is Associated With Invasion, Liver Metastasis, And Poor Prognosis*," Cancer Res. 72(11):2780-2790；Kasaian, M.T.等(2011) "*IL-13 Antibodies Influence IL-13 Clearance In Humans By Modulating Scavenger Activity Of IL-13Rα2*," J. Immunol. 187(1):561-569；Bozinov, O.等(2010) "*Decreasing Expression Of The Interleukin-13 Receptor IL-13Ralpha2 In Treated Recurrent Malignant Gliomas*," Neurol. Med. Chir. (Tokyo) 50(8):617-621；Fujisawa, T.等(2009) "*A Novel Role Of Interleukin-13 Receptor Alpha2 In Pancreatic Cancer Invasion And Metastasis*," Cancer Res. 69(22):8678-8685)。免疫特異性地結合至IL13Rα2的抗體是可商購的並且已經被描述在下列文獻中(Abnova Corporation, Biorbyt, LifeSpan BioSciences, United States Biologicals；也參見PCT公開號WO 2008/146911)。示例性的結合至人IL13Rα2的抗體包括"**hu08**"(參見，例如PCT公開號WO 2014/072888)。

【0295】 **hu08**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:134**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAAS**GFTFS RNGMS**WVRQA PGKGLEWVA**T**
VSSGGSYIYY ADSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCAR**QG**
TTALATRFFD VWGQGTLVTV SS

【0296】 **hu08**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:135**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITC**KASQDVG TAVA**WYQQKP GKAPKLLIY**S ASYRST**GVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC**QH HYSAPWT**FGG GTKVEIK

【0297】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x IL13Rα2結合分子**，其包含抗IL13Rα2單克隆抗體**hu08**的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

10. 示例性抗CD123抗體

【0298】 CD123(白介素3受體α，IL-3Ra)是40 kDa分子並且是白介素3受體複合物的一部分(Stomski, F.C.等(1996) "*Human Interleukin-3 (IL-3) Induces Disulfide-Linked IL-3 Receptor Alpha- And Beta-Chain Heterodimerization, Which Is Required For Receptor Activation But Not High-Affinity Binding*," Mol. Cell. Biol. 16(6):3035-3046)。白介素3(IL-3)驅動多能幹細胞早期分化成紅系祖細胞、髓系祖細胞和淋巴樣祖細胞的細胞。已經報導CD123在大範圍的血液學惡性腫瘤(包括急性髓細胞樣白血病(AML)和脊髓增生異常綜合征(MDS))中的惡性細胞上過表達(Muñoz, L.等(2001) "*Interleukin-3 Receptor Alpha Chain (CD123) Is Widely Expressed In Hematologic Malignancies*," Haematologica 86(12):1261-1269)。CD123的過表達與AML中的較差的預後有關(Tettamanti, M.S.等(2013) "*Targeting Of Acute Myeloid Leukaemia By Cytokine-Induced Killer Cells Redirected With A Novel CD123-Specific Chimeric Antigen Receptor*," Br. J. Haematol. 161:389-401)。

【0299】 示例性的結合至人CD123並且可用於本發明的抗體是"**CD123 mAb 1**"(參見，例如PCT公開號WO 2015/026892)。

【0300】 **CD123 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列**(SEQ ID NO:136)**顯示在下面(CDR$_H$殘基用底線顯示)：

EVQLVQSGAE LKKPGASVKV SCKASGYTFT **DYYMK**WVRQA PGQGLEWIG**D**
IIPSNGATFY **NQKFKG**RVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAR**SH**
LLRASWFAYW GQGTLVTVSS

【0301】 **CD123 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列**(SEQ ID NO:137)**顯示在下面(CDR$_L$殘基用底線顯示)：

DFVMTQSPDS LAVSLGERVT MSC**KSSQSLL NSGNQKNYLT** WYQQKPGQPP
KLLIY**WASTR ES**GVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYC**QNDYSY**
PYTFGQGTKL EIK

【0302】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x CD123結合分子**，其包含抗CD123單克隆抗體**CD123 mAb 1**或者US 2017/081424和WO 2016/036937中公開的抗CD123抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR$_L$中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR$_H$中的1個、2個或所有3個。

11. 示例性抗CD19抗體

【0303】 CD19(B淋巴細胞表面抗原B4，Genbank登錄號M28170)是B細胞受體(BCR)複合物的組分，並且是調節B細胞啟動和體液免疫的閾值的B細胞信號傳導的正調節物。CD19是在B細胞譜系中最普遍存在表達的抗原之一並且在>95%的B細胞惡性腫瘤上表達，包括急性成淋巴細胞性白血病(ALL)、慢性淋巴細胞性白血病(CLL)和非霍奇金淋巴瘤(NHL)。特別地，CD19表達維持在對抗-CD20療法變得抗性的B細胞淋巴瘤上(Davis等(1999) "*Therapy of B-cell Lymphoma With Anti-CD20 Antibodies Can Result In The Loss Of CD20 Antigen Expression.*" Clin Cancer Res, 5:611-615, 1999)。此外，建議CD19作為治療自體免疫疾病的靶標(Tedder (2009) "*CD19: A Promising B Cell Target For Rheumatoid Arthritis*," Nat. Rev. Rheumatol. 5:572-577)。

【0304】 示例性的結合至人CD19並且可用於本發明中的抗體是WO 2016/048938中公開的抗CD19抗體(本文也稱為"**CD19 mAb 1**")。

【0305】 **CD19 mAb 1**的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:138**)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS **TSGMGVG**WIR QPPGKALEWL A**HIWWDDDKR** **YNPALKS**RLT ISKDTSKNQV FLTMTNMDPV DTATYYCAR**M ELWSYYFDY**W GQGTTVTVSS

【0306】 **CD19 mAb 1**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:139**)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITC**RASQSVS YMH**WYQQKPG QAPRLLIY**DA SNRAS**GVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYC**FQG SVYPFT**FGQG TKLEIK

【0307】 本發明具體地包括並且涵蓋CD16 x CD19結合分子，其包含抗CD19單克隆抗體**CD19 mAb 1**或者美國專利US 7,112,324中公開的抗CD19抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

B. 示例性的病原體相關抗原

【0308】 如本文所用，術語"**病原體相關抗原**"意指被典型地表達在病原體感染細胞的表面上並且因此可用基於抗體的分子或免疫調節分子治療的抗原。病原體相關抗原的實例包括但不限於在用下列感染的細胞的表面上表達的抗原：單純皰疹病毒(例如，感染的細胞蛋白(ICP)47、gD等)、水痘-帶狀皰疹病毒、柯氏肉瘤相關的皰疹病毒(kaposi's sarcoma associated herpes virus)、愛潑斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr Virus)(例如，LMP-1、LMP-2A、LMP-2B等)、巨細胞病毒(例如，UL11等)、人免疫缺陷病毒(例如，env蛋白gp160、gp120、gp41等)、人乳頭瘤病毒(例如，E6、E7等)、人T細胞白血病病毒(例如，env蛋白gp64、gp46、gp21

等)、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、水泡性口炎病毒(VSV)、芽孢桿菌綱(Bacilli)細菌、檸檬酸桿菌屬*(Citrobacter)*細菌、霍亂菌*(Cholera)*、白喉菌*(Diphtheria)*、腸桿菌屬*(Enterobacter)*細菌、淋球菌*(Gonococci)*、幽門螺桿菌*(Helicobacter pylori)*、克雷伯氏菌屬*(Klebsiella)*細菌、軍團菌屬*(Legionella)*細菌、腦膜炎球菌*(Meningococci)*、分枝桿菌*(*mycobacteria*)*、假單胞菌屬*(Pseudomonas)*細菌、肺炎球菌*(Pneumonococci)*、立克次氏體細菌*(*rickettsia bacteria*)*、沙門氏菌屬*(Salmonella)*細菌、沙雷氏屬*(Serratia)*細菌、葡萄球菌*(Staphylococci)*、鏈球菌屬*(Streptococci)*細菌、破傷風*(Tetanus)*、麴黴屬真菌*(Aspergillus)(*煙麴黴*(*fumigatus*)*、黑麴黴*(*niger*)*等*)*、皮膚芽孢桿菌*(Blastomyces dermatitidis)*、念珠菌屬(*Candida*)(白色念珠菌(albicans)、克柔念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、熱帶念珠菌(tropicalis)等)、新生隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、毛黴菌目屬*(*Genus *Mucorales)*(毛黴菌(mucor)、犁頭黴(absidia)、根黴(rhizopus))、申克氏胞絲菌(*Sporothrix schenkii*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)、莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)、鉤端螺旋體病(*Leptospirosis*)、伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)、寄生蠕蟲病(helminth parasite)(鉤蟲、絛蟲、吸蟲、扁蟲(例如血吸蟲(*Schistosomia*))、賈第蟲(*Giardia lambia*)、旋毛蟲(*trichinella*)、脆雙核阿米巴(*Dientamoeba Fragilis*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)和杜氏利什曼原蟲(*Leishmania donovani*))。這種抗體可從多種來源商購，或者可以通過用這種抗原使小鼠或其它動物免疫獲得(包括產生單克隆抗體)。

【0309】 下面提供了示例性抗體，其VH和VL結構域可用於構建能夠結合排列在病原體感染**細胞**的表面上的病原體相關抗原的分子，另外的抗體在本領域是已知的。

1. 示例性抗HIV抗體

【0310】 HIV的env蛋白是示例性的病原體相關抗原，並且結合HIV的env蛋白的抗體是示例性的能夠結合病原體相關抗原的抗體。

【0311】 HIV-1感染的初始步驟伴隨著細胞表面CD4結合至三聚體HIV-1包膜糖蛋白(env)、跨膜糖蛋白(gp41)和表面糖蛋白(gp120)的異源二聚體發生。gp120和gp41糖蛋白初始被合稱為單個gp160多肽，其隨後被切割以產生非共價締合的gp120/gp41複合物。Env的胞外結構域是品質約140 kDa的異源二聚體，由整個gp120組分和約20 kDa的gp41構成(Harris, A.等(2011) "*Trimeric HIV-1 Glycoprotein Gp140 Immunogens And Native HIV-1 Envelope Glycoproteins Display The Same Closed And Open Quaternary Molecular Architectures*," Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 108(28):11440-11445)。免疫特異性地結合至env蛋白的抗體可商購並且已經描述在下列文獻中(參見，例如GenBank登錄號AFQ31503；Buchacher, A.等(1994) "*Generation Of Human Monoclonal Antibodies Against HIV-1 Proteins; Electrofusion And Epstein-Barr Virus Transformation For Peripheral Blood Lymphocyte Immortalization*," AIDS Res. Hum. Retroviruses 10(4):359-369；Shen, R. (2010) "*GP41-Specific Antibody Blocks Cell-Free HIV Type 1 Transcytosis Through Human Rectal Mucosa And Model Colonic Epithelium*," J. Immunol. 184(7):3648-3655；WO 2012/162068；和WO 2016/054101)。結合至HIV env的示

例性抗體包括“**7B2**”(GenBank登錄號AFQ31503)和“**A32**”(PCT公開號WO 2014/159940)。

【0312】 **抗體7B2**(Genbank登錄號JX188438和JX188439)是抗HIV env的人IgG1抗體，其在該分子的免疫顯性螺旋-環-螺旋區中在598-604處結合HIV gp41(Sadraeian, M.等(2017) “*Selective Cytotoxicity Of A Novel Immunotoxin Based On Pulchellin A Chain For Cells Expressing HIV Envelope*,” Sci. Rep. 7(1):7579 doi: 10.1038/s41598-017-08037-3)。利用愛潑斯坦-巴爾(EB)病毒B細胞轉化和異源雜交瘤產生從HIV-1慢性感染的受試者分離抗體(Pincus, S.H.等(2003) “*In Vivo Efficacy Of Anti-Glycoprotein 41, But Not Anti-Glycoprotein 120, Immunotoxins In A Mouse Model Of HIV Infection*,” J. Immunol. 170(4):2236-2241)。抗體7B2已經發現能夠識別病毒顆粒和感染細胞兩者(Santra, S.等(2015) “*Human Non-neutralizing HIV-1 Envelope Monoclonal Antibodies Limit the Number of Founder Viruses during SHIV Mucosal Infection in Rhesus Macaques*,” PLoS Pathog. 11(8):e1005042. doi: 10.1371/journal.ppat.1005042；Tay, M.Z.等(2016) “*Antibody-Mediated Internalization of Infectious HIV-1 Virions Differs among Antibody Isotypes and Subclasses*,” PLoS Pathog. 12(8):e1005817. doi: 10.1371/journal.ppat.1005817)。

【0313】 **7B2**的**VH**結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:140**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLVQSGGG VFKPGGSLRL SCEASGFTFT **EYYMT**WVRQA PGKGLEWLAY **ISKNGEYSKY** **SPSSNG**RFTI SRDNAKNSVF LQLDRLSADD TAVYYCAR**AD** **GLTYFSELLQ** **YIFDL**WGQGA RVTVSS

【0314】 **7B2**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:141**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCK**SSQTLL YSSNNRHSIA** WYQQRPGQPP KLLLY**WASMR LS**GVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYC**HQYSSH PPT**FGHGTRV EIK

【0315】 單克隆抗體A32識別HIV-1 Env gp120的C1區中的構象表位(Wyatt等(1995) "*Involvement Of The V1/V2 Variable Loop Structure In The Exposure Of Human Immunodeficiency Virus Type 1 gp120 Epitopes Induced By Receptor Binding*," J. Virol. 69:5723-5733)、介導強效的ADCC活性並且能阻斷相當大比例的HIV-1感染個體中可檢測的ADCC-介導的Ab活性(Ferrari, G.等(2011) "*An HIV-1 gp120 Envelope Human Monoclonal Antibody That Recognizes a C1 Conformational Epitope Mediates Potent Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC) Activity and Defines a Common ADCC Epitope in Human HIV-1 Serum*," J. Virol. 85(14):7029-7036)。

【0316】 在現有技術中已經報導了抗體A32的多個VH結構域，其具有所報導的構架區1和/或4中的最小變化(參見，例如Protein Data Base登錄號PDB: 4YBL_H，US 2015/0239961和WO 2006/044410)。這些變體抗體A32的VH結構域中的任何一個可根據本發明進行使用。**A32**的示例性VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:142**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVQLQESGPG LVKPSQTLSL SCTVSGGSSS **SGAHYWS**WIR QYPGKGLEWI G**YIHYSGNTY YNPSLKS**RIT ISQHTSENQF SLKLNSVTVA DTAVYYCAR**G TRLRTLRNAF DI**WGQGTLVT VSS

【0317】 **A32**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:143**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SC**TGTSSDVG GYNYVS**WYQH HPGKAPKLII S**EVNNRPS**GV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC **SSYTDIHNFV** FGGGTKLTVL

【0318】 **A32**的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:143**)可與A32的示例性VH結構域(**SEQ ID NO:142**)或者與變體抗體A32的VH結構域中的任一種(參

見，例如Protein Data Base登錄號PDB: 4YBL_H，US 2015/0239961和WO 2006/044410)一起使用以形成抗HIV-1 Env gp120的表位結合位點。

【0319】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x HIV結合分子**，其包含抗HIV單克隆抗體**7B2**或**A32**、或者在WO 2016196975、WO 2016/149710、WO 2016/149698、WO 2016/149695、WO 2015/048610、WO 2012/030904、WO 2013/163427、WO 2013/192589、WO 2014/063059、WO 20170/11413、WO 2016/054101、WO 2014/159940或WO 2017/011414中公開的抗HIV抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

【0320】 本申請案另外具體地包括並且涵蓋能夠結合至HIV、CD16和CD8的CD16 x HIV結合分子，尤其是這樣的三特異性結合分子，其包含抗HIV單克隆抗體**7B2**或**A32**或者在WO 2015/184203、WO 2016/054101、WO 2017/011413、WO 2017/011414中公開的抗HIV單克隆抗體中的任一種的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

2. 示例性抗RSV抗體

【0321】 進一步例證性的病原體相關抗原是RSV糖蛋白F。示例性抗RSV糖蛋白F抗體是帕利珠單抗(Palivizumab)(參見，例如Protein Data Bank (PDB) ID號2HWZ)。可替選的抗RSV糖蛋白F抗體包括莫維珠單抗(motavizumab)(參見，例如PDB ID號3IXT)以及帕利珠單抗變體(本文也被稱為"**v帕利珠單抗**"，其已經被改造以從帕利珠單抗的CDR_L1中去除半胱氨酸殘基。帕利珠單抗變體的VH結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:144**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS **TSGMSVG**WIR QPPGKALEWL A**DIWWDDKKD YNPSLKS**RLT ISKDTSKNQV VLKVTNMDPA DTATYYCAR**S MITNWYFDV**W GAGTTVTVSS

【0322】 帕利珠單抗變體的VL結構域的氨基酸序列(**SEQ ID NO:145**)顯示在下面(CDR殘基用底線顯示)：

DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITC**RASQSVG YMH**WYQQKPG KAPKLLIY**DT SKLAS**GVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLQPD DFATYYC**FQG SGYPFT**FGGG TKLEIK

【0323】 本發明具體地包括並且涵蓋**CD16 x RSV結合分子**，其包含抗RSV單克隆抗體帕利珠單抗或v帕利珠單抗的VL和/或VH結構域，和/或VL區的CDR_L中的1個、2個或所有3個和/或VH結構域的CDR_H中的1個、2個或所有3個。

VII. 本發明的示例性結合分子

【0324】 本發明的原理通過一系列示例性**CD16 x DA結合分子**闡明，所述一系列示例性CD16 x DA結合分子含有不同的鼠或人源化抗CD16結合結構域並且具有對疾病抗原免疫特異性的結合結構域。這種示例性**CD16 x DA結合分子的**共價雙抗體結構和序列匯總在**表12**中並且在下面進行詳細描述。如將要認識到的，可同樣構建類似的雙抗體和其它雙特異性分子(通過利用期望抗體的VL和VH結構域代替示例性**CD16 x DA結合分子**的VL和VH結構域)。

表 12

雙抗體名稱	**多肽鏈**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**
DART-A	1	**151**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**CD16-M1**	VH	**64**
	2	**152**	**CD16-M1**	VL	**65**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**

表 12								
雙抗體名稱	**多肽鏈**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-B	1	**154**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**CD16-M2**	VH	**75**
	2	**155**	**CD16-M2**	VL	**76**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-C	1	**156**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**157**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-D	1	**158**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**hCD16-M2**	VH1	**83**
	2	**159**	**hCD16-M2**	VL	**85**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-E	1	**160**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**hCD16-M2**	VH2	**84**
	2	**159**	**hCD16-M2**	VL	**85**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-F	1	**161**	**A32**	VL	**143**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**162**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**A32**	VH	**142**

表 12

雙抗體名稱	多肽鏈	SEQ ID NO	抗體	結構域	SEQ ID NO	抗體	結構域	SEQ ID NO
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-G	1	**163**	**A32**	VL	**143**	**hCD16-M2**	VH1	**83**
	2	**164**	**hCD16-M2**	VL	**85**	**A32**	VH	**142**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-H	1	**165**	**7B2**	VL	**141**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**166**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**7B2**	VH	**140**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-I	1	**186**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**hCD16-M1A**	VH	**58**
	2	**157**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-J	1	**156**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**187**	**hCD16-M1B**	VL	**59**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-K	1	**186**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**hCD16-M1A**	VH	**58**
	2	**187**	**hCD16-M1B**	VL	**59**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**

表 12

雙抗體名稱	多肽鏈	SEQ ID NO	抗體	結構域	SEQ ID NO	抗體	結構域	SEQ ID NO
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-L	1	**188**	**CD19 mAb 1**	VL	**139**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**189**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**CD19 mAb 1**	VH	**138**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-M	1	**188**	**CD19 mAb 1**	VL	**139**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**190**	**hCD16-M1 B**	VL	**59**	**CD19 mAb 1**	VH	**138**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-N	1	**191**	**CD19 mAb 1**	VL	**139**	**hCD16-M1 A**	VH	**58**
	2	**190**	**hCD16-M1 B**	VL	**59**	**CD19 mAb 1**	VH	**138**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-1	1	**167**	**曲妥珠單抗**	VL	**125**	**h3G8**	VH	**62**
	2	**168**	**h3G8**	VL	**63**	**曲妥珠單抗**	VH	**124**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-2	1	–	**v帕利珠單抗**	VL	**145**	**h3G8**	VH	**62**
	2	–	**h3G8**	VL	**63**	**v帕利珠單抗**	VH	**144**

表 12								
雙抗體名稱	**多肽鏈**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-3	1	**169**	**v 帕利珠單抗**	VL	**145**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**170**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**v 帕利珠單抗**	VH	**144**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-4	1	–	**7B2**	VL	**141**	**h3G8**	VH	**62**
	2	–	**h3G8**	VL	**63**	**7B2**	VH	**140**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-5	1	-	**v 帕利珠單抗**	VL	**145**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	-	**hCD16-M1**	VL	**73**	**v 帕利珠單抗**	VH	**144**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-6	1	-	**v 帕利珠單抗**	VL	**145**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	-	**hCD16-M1B**	VL	**59**	**v 帕利珠單抗**	VH	**144**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-7	1	-	**v 帕利珠單抗**	VL	**145**	**hCD16-M1A**	VH	**58**
	2	-	**hCD16-M1B**	VL	**59**	**v 帕利珠單抗**	VH	**144**
	3	**153**	共同的雙抗體多肽鏈					
DART-	1	**171**	**7B2**	VL	**141**	**CD16-M1**	VH	**64**

表 12								
雙抗體名稱	**多肽鏈**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**	**抗體**	**結構域**	**SEQ ID NO**
X	2	**172**	**CD16-M1**	VL	**65**	**7B2**	VH	**140**
DART--Y	1	**173**	**7B2**	VL	**141**	**CD16-M2**	VH	**75**
	2	**174**	**CD16-M2**	VL	**76**	**7B2**	VH	**140**
DART-Z	1	–	**A32**	VL	**143**	**4-LSN1**	VH	**175**
	2	–	**4-LSN1**	VL	**176**	**A32**	VH	**142**
DART-0	1	–	**7B2**	VL	**141**	**h3G8**	VH	**62**
	2	–	**h3G8**	VL	**63**	**7B2**	VH	**140**

A. CD16 x HER2/neu結合分子，DART-A

【0325】 被命名為“**DART-A**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是第一示例性**CD16 x DA結合分子**。**DART-A是**能夠結合CD16和HER2/neu癌抗原的含Fc結構域的雙特異性雙抗體。**DART-A**由三條多肽鏈構成並且具有包含抗人CD16抗體**CD16-M1的**VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對CD16的表位是免疫特異性的)和包含曲妥珠單抗的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對HER2/neu癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HER2/neu癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0326】 **DART-A**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:151**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
GTKVEIK**GGG** **SGGGG**EVKLV ESGGTLVKPG GSLKLSCAAS GFTFNNYGMS
WVRQTPEKRL EWVATISGGG SYTFYPDSVK GRFTISRDNA KNSLYLQMSS
LRSEDTALYY CIRQSARAPE PYWGQGTLVT VSS**ASTKG**EV AACEKEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKGGGD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL

MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

【0327】 這種示例性**CD16 x DA結合分子的**第一多肽鏈(**SEQ ID NO:151**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線的)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-233對應於抗人CD16抗體**CD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:64**)。殘基234-23對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線的)。第一多肽鏈的殘基239-266對應於含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基267-279對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基280-496對應於“帶有杵的”(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0328】 **DART-A**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:152**的氨基酸序列：

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQNVG THVAWYQQKS GQSPKSLLYS
ASYRYSGVPD RFSGSGSGTD FTLTISNVQS EDLAEYFCQQ YKSYPLTFGA
GTKLELK**GGG SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFNIKDTYIH
WVRQAPGKGL EWVARIYPTN GYTRYADSVK GRFTISADTS KNTAYLQMNS
LRAEDTAVYY CSRWGGDGFY AMDYWGQGTL VTVSS**ASTKG** KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE

【0329】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:152**)的殘基1-107對應於抗人CD16抗體**CD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:65**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線的)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**曲妥珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:124**)。第二多肽鏈的殘基236-240對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線的)。第二多肽鏈的殘基241-268對應於含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0330】 **DART-A**的第三多肽鏈具有**SEQ ID NO:153**的氨基酸序列：

DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED
PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK
CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLSCAVK
GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS DGSFFLVSKL TVDKSRWQQG
NVFSCSVMHE ALHN**R**YTQKS LSLSPGK

【0331】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第三多肽鏈(**SEQ ID NO:153**)的殘基1-10對應於連接體(**SEQ ID NO:40**)。第三多肽鏈的殘基11-227對應於“帶有臼的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:53**)，其包含H435R置換(加底線顯示)，並且其中最後的殘基是賴氨酸。如上所述，H435R置換消除了該分子結合至結合蛋白A的能力。

【0332】 如將要認識的，**DART-A**的第三多肽鏈不包含任何表位結合位點並且可因此用於各種**CD16 x DA結合分子**中。因此，**DART-A**的第三多肽鏈被稱為“**共同的雙抗體多肽鏈**”。

B. CD16 x HER2/neu結合分子，“DART-B”

【0333】 被稱為“**DART-B**”的**CD16 x Her2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-B**是能夠結合CD16和HER2/neu癌抗原的含Fc結構域的雙特異性雙抗體。**DART-B**由三條多肽鏈構成，並且具有包含抗人CD16抗體**CD16-M2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對CD16的表位是免疫特異性的)和包含**曲妥珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對HER2/neu癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能免疫特異性地結合CD16的表位和HER2/neu癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0334】 **DART-B**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:154**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ

GTKVEIK**GGG** **SGGGG**EVQLQ QSGPELVKPG ASVKMSCKAS GYTFTSSAMH
WVKKNPGQGL EWIGYINHYN DGIKYNERFK GKATLTSDKS SSTAYMELSS
LTSEDSAVYY CATGYRYASW FASWGQGTLV TVSS**ASTKG**E VAACEKEVAA
LEKEVAALEK EVAALEKGGG DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT
LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS
DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK

【0335】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:154**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多肽鏈的殘基108-115(帶有雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-234對應於抗人CD16抗體**CD16-M2**的VH結構域(**SEQ ID NO:75**)。殘基235-239對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基240-267對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基268-280對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基281-497對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0336】 **DART-B**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:155**的氨基酸序列：

DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQNIG TSIHWYQQRT DGSPRLLIKS
VSESISGIPS RFSGSGSGTD FTLTINGVES GDISDYYCQQ SNSWPLTFGA
GTKLELK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFNIKDTYIH
WVRQAPGKGL EWVARIYPTN GYTRYADSVK GRFTISADTS KNTAYLQMNS
LRAEDTAVYY CSRWGGDGFY AMDYWGQGTL VTVSS**ASTKG** KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE

【0337】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:155**)的殘基1-107對應於抗人CD16抗體**CD16-M2**的VL結構域(**SEQ ID NO:76**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**曲妥珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:124**)。第二多肽鏈的殘基236-240對應於連接體(**SEQ ID NO: 21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基241-268對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0338】 **DART-B**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

C. CD16 x HER2/neu結合分子，“DART-C”

【0339】 被命名為“**DART-C**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA**結合**分子。DART-C**是能夠結合CD16和HER2/neu癌抗原的包含Fc結構域的雙特異性雙抗體。**DART-C**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**曲妥珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HER2/neu癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HER2/neu癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0340】 **DART-C**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:156**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
GTKVEIK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVKPG GSLRLSCAAS GFTFSNYGMS
WVRQAPGKGL EWVATISGGG SYTFYPDSVK GRFTISRDNA KNSLYLQMNS
LRTEDTALYY CVRQSARAPE PYWGQGTLVT VSS**ASTKG**EV AACEKEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKGGGD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

【0341】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:156**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-233對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)。殘基234-238對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多

肽鏈的殘基239-266對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基267-279對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基280-496對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0342】 **DART-C**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:157**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQQ YKSYPLTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFNIKDTYIH
WVRQAPGKGL EWVARIYPTN GYTRYADSVK GRFTISADTS KNTAYLQMNS
LRAEDTAVYY CSRWGGDGFY AMDYWGQGTL VTVSS**ASTKG** KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE

【0343】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:157**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:73**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**曲妥珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:124**)。第二多肽鏈的殘基236-240對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基241-268對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0344】 **DART-C**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

D. CD16 x HER2/neu結合分子，“DART-D”

【0345】 **被命名為“DART-D”的CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-D**是能夠結合CD16和HER2/neu癌抗原的包含Fc結構域的雙特異性雙抗體。**DART-D**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**曲妥珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HER2/neu癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合

以形成能免疫特異性地結合CD16的表位和HER2/neu癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0346】 **DART-D**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:158**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
GTKVEIK**GGG SGGGG**QVQLV QSGAEVKKPG ASVKVSCKAS GYTFTSSAMH
WVRQAPGQGL EWMGYINHYN DGIKYNERFK GRVTITADKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CATGYRYASW FASWGQGTLV TVSS**ASTKG**E VAACEKEVAA
LEKEVAALEK EVAALEKGGG DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT
LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS
DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK

【0347】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:158**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-234對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VH1結構域(**SEQ ID NO:83**)。殘基235-239對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基240-267對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基268-280對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基281-497對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0348】 **DART-D**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:159**的氨基酸序列：

EIVLTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQNIG TSIHWYQQKP DQSPKLLIKS
VSESISGVPS RFSGSGSGTD FTLTINSLEA EDFATYYCQQ SNSWPLTFGQ
GTKLEIK**GGG SGGGG**EVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFNIKDTYIH
WVRQAPGKGL EWVARIYPTN GYTRYADSVK GRFTISADTS KNTAYLQMNS
LRAEDTAVYY CSRWGGDGFY AMDYWGQGTL VTVSS**ASTKG** KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE

【0349】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:159**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VL1結構域(**SEQ**

ID NO:85)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**曲妥珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:124**)。第二多肽鏈的殘基236-240對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基241-268對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0350】 **DART-D**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

E. CD16 x HER2/neu結合分子，“DART-E”

【0351】 被命名為“**DART-E**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-E**是能夠結合CD16和HER2/neu癌抗原的雙特異性雙抗體。**DART-E**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**曲妥珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HER2/neu癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能免疫特異性地結合CD16的表位和HER2/neu癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0352】 **DART-E**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:160**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
GTKVEIK**GGG** **SGGGG**QVQLV QSGAEVKKPG ASVKVSCKAS GYTFTSSAMH
WVRQAPGQGL EWMGYINHYN DGIKYNERFK GRVTITADKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CARGYRYASW FASWGQGTLV TVSS**ASTKG**E VAACEKEVAA
LEKEVAALEK EVAALEKGGG DKTHTCPPCP APEAAGGPSV FLFPPKPKDT
LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLWCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTPPVLDS
DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK

【0353】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:160**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-234對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VH2結構域(**SEQ ID NO:84**)。殘基235-239對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基240-267對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基268-280對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基281-497對應於“帶有杵的” IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0354】 **DART-E**的第二多肽鏈在序列上與**DART-D**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:159**)相同。

【0355】 **DART-E**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

F. CD16 x HIV env結合分子，“DART-F”

【0356】 被命名為“**DART-F**”的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-F**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-F**由三條多肽鏈構成，具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含抗體**A32**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HIV env蛋白的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0357】 **DART-F**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:161**的氨基酸序列：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL GGGSGGGGEV QLVESGGGLV KPGGSLRLSC AASGFTFSNY
GMSWVRQAPG KGLEWVATIS GGGSYTFYPD SVKGRFTISR DNAKNSLYLQ
MNSLRTEDTA LYYCVRQSAR APEPYWGQGT LVTVSSASTK GEVAACEKEV
AALEKEVAAL EKEVAALEKG GGDKTHTCPP CPAPEAAGGP SVFLFPPKPK
DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
YTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

【0358】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:161**)的殘基1-110對應於抗體**A32**的VL結構域(**SEQ ID NO:143**)。第一多肽鏈的殘基111-118(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基119-236對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)。殘基237-241對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基242-269對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基270-282對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基283-499對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0359】 **DART-F**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:162**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQQ YKSYPLTFGQ
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLQ ESGPGLVKPS QTLSLSCTVS GGSSSSGAHY
WSWIRQYPGK GLEWIGYIHY SGNTYYNPSL KSRITISQHT SENQFSLKLN
SVTVADTAVY YCARGTRLRT LRNAFDIWGQ GTLVTVSSAS TKGKVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

【0360】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:162**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:73**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-238對應於抗體**A32**的VH結構域(**SEQ ID**

NO:142)。第二多肽鏈的殘基239-243對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基244-271對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0361】 **DART-F**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

G. CD16 x HIV env結合分子，“DART-G”

【0362】 **CD16 x HIV env結合分子**被命名為“**DART-G**”是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-G**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-G**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含抗體**A32**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能免疫特異性地結合CD16的表位和HIV env蛋白的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0363】 **DART-G**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:163**的氨基酸序列：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL **GGGSGGGG**QV QLVQSGAEVK KPGASVKVSC KASGYTFTSS
AMHWVRQAPG QGLEWMGYIN HYNDGIKYNE RFKGRVTITA DKSTSTAYME
LSSLRSEDTA VYYCATGYRY ASWFASWGQG TLVTVSS**AST KG**EVAACEKE
VAALEKEVAA LEKEVAALEK GGGDKTHTCP PCPAPEAAGG PSVFLFPPKP
KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN
STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ
VYTLPPSREE MTKNQVSLWC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV
LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK

【0364】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:163**)的殘基1-110對應於抗體**A32**的VL結構域(**SEQ ID NO:143**)。第一多肽鏈的殘基111-118(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多

肽鏈的殘基119-237對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VH結構域(**SEQ ID NO:83**)。殘基238-242對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基243-270對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基271-283對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基284-500對應於"帶有杵的"IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0365】 **DART-G**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:164**的氨基酸序列：

EIVLTQSPAT LSVSPGERAT LSCRASQNIG TSIHWYQQKP DQSPKLLIKS
VSESISGVPS RFSGSGSGTD FTLTINSLEA EDFATYYCQQ SNSWPLTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**QVQLQ ESGPGLVKPS QTLSLSCTVS GGSSSSGAHY
WSWIRQYPGK GLEWIGYIHY SGNTYYNPSL KSRITISQHT SENQFSLKLN
SVTVADTAVY YCARGTRLRT LRNAFDIWGQ GTLVTVSS**AS** **TKG**KVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

【0366】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:164**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M2**的VL結構域(**SEQ ID NO:85**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-238對應於抗體**A32**的VH結構域(**SEQ ID NO:142**)。第二多肽鏈的殘基239-243對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基244-271對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0367】 **DART-G**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

H. CD16 x HIV env結合分子，"DART-H"

【0368】 被命名為"**DART-H**"的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-H**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-H**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免

疫特異性的)和包含抗體**7B2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HIV env蛋白的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0369】 **DART-H**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:165**的氨基酸序列：

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCKSSQTLL YSSNNRHSIA WYQQRPGQPP
KLLLYWASMR LSGVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYCHQYSSH
PPTFGHGTRV EIKGGGSGGG GEVQLVESGG GLVKPGGSLR LSCAASGFTF
SNYGMSWVRQ APGKGLEWVA TISGGGSYTF YPDSVKGRFT ISRDNAKNSL
YLQMNSLRTE DTALYYCVRQ SARAPEPYWG QGTLVTVSSA STKGEVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EKGGGDKTHT CPPCPAPEAA GGPSVFLFPP
KPKDTLMISR TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ
YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE
PQVYTLPPSR EEMTKNQVSL WCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP
PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP
GK

【0370】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:165**)的殘基1-113對應於抗體**7B2**的VL結構域(**SEQ ID NO:141**)。第一多肽鏈的殘基114-121(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基122-239對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)。殘基240-244對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基245-272對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基273-285對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基286-502對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0371】 **DART-H**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:166**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQQ YKSYPLTFGQ
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV QSGGGVFKPG GSLRLSCEAS GFTFTEYYMT
WVRQAPGKGL EWLAYISKNG EYSKYSPSSN GRFTISRDNA KNSVFLQLDR

LSADDTAVYY CARADGLTYF SELLQYIFDL WGQGARVTVS S**ASTKG**KVAA
CKEKVAALKE KVAALKEKVA ALKE

【0372】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:166**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:73**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-241對應於抗體**7B2**的VH結構域(**SEQ ID NO:140**)。第二多肽鏈的殘基242-246對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基247-274對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0373】 **DART-H**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

I. CD16 x HER2/neu結合分子，“DART-I”

【0374】 被命名為“**DART-I**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-I**類似於上述的**DART-C**，但包含**hCD16-M1A**的VH(包含突變的CDR_H3)。如上所示，**hCD16-M1A**的VL結構域具有與**hCD16-M1**的VL結構域相同的氨基酸序列。

【0375】 **DART-I**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:186**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ
GTKVEIK**GGG SGGGG**EVQLV ESGGGLVKPG GSLRLSCAAS GFTFSNYGMS
WVRQAPGKGL EWVATISGGG SYTFYPDSVK GRFTISRDNA KNSLYLQMNS
LRTEDTALYY CVRQSANSPV PYWGQGTLVT VSS**ASTKG**EV AACEKEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKGGGD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

【0376】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:186**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多

肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-233對應於優化抗人CD16抗體**hCD16-M1A**的VH結構域(**SEQ ID NO:58**)。殘基234-238對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基239-266對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基267-279對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基280-496對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0377】 因為**hCD16-M1A**的VL結構域與**hCD16-M1**的VL結構域相同，所以**DART-I**的第二多肽鏈的氨基酸序列與**DART-C的**第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:157**)。類似地，**DART-I**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

J. CD16 x HER2/neu結合分子“DART-J”

【0378】 被命名為“**DART-J**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-J類似於上述DART-C**，但包含hCD16-**M1B**的VL(包含突變的CDR_L3)。如上所示，**hCD16-M1B**的VH結構域具有與**hCD16-M1**的VH結構域相同的氨基酸序列。

【0379】 因為**hCD16-M1B**的VH結構域與**hCD16-M1**的VH結構域相同，所以**DART-J**的第一多肽鏈的氨基酸序列與**DART-C**的第一多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:156**)。

【0380】 **DART-J**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:187**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQD YTNYPLTFGQ
GTKLEIKGGG SGGGGEVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFNIKDTYIH
WVRQAPGKGL EWVARIYPTN GYTRYADSVK GRFTISADTS KNTAYLQMNS

LRAEDTAVYY CSRWGGDGFY AMDYWGQGTL VTVSS**ASTKG** KVAACKEKVA ALKEKVAALK EKVAALKE

【0381】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:157**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1B**的VL結構域(**SEQ ID NO:59**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線的)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**曲妥珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:124**)。第二多肽鏈的殘基236-240對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線的)。第二多肽鏈的殘基241-268對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0382】 **DART-J**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

K. CD16 x HER2/neu結合分子“DART-K”

【0383】 被命名為“**DART-K**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-K**類似於上述**DART-J**，但也包含**hCD16-M1A**的VH(包含突變的CDR_H3)。因此，**DART-K**包含**hCD16-M1AB**的VL和VH(包含突變的CDR_L3和突變的CDR_H3)。

【0384】 因為**DART-K**包含**hCD16-M1A**的VH，所以**DART-K**的第一多肽鏈的氨基酸序列與**DART-I**的第一多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:186**)。

【0385】 因為**DART-K**包含**hCD16-M1B**的VL結構域，所以**DART-K**第二多肽鏈的的氨基酸序列與**DART-J**的第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:187**)。

【0386】 **DART-J**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

L. CD16 x CD19結合分子“DART-L”

【0387】 被命名為“**DART-L**”的**CD16 x CD19結合分子**是另一示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-L**是能夠結合CD16和CD19 B細胞腫瘤抗原的包含Fc結構域的雙特異性雙抗體。**DART-L**由三條多肽鏈構成，並且具有包含抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**CD19 mAb 1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD19癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能免疫特異性地結合CD16的表位和CD19癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0388】 **DART-L**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:188**的氨基酸序列：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIKGGGS GGGGEVQLVE SGGGLVKPGG SLRLSCAASG FTFSNYGMSW
VRQAPGKGLE WVATISGGGS YTFYPDSVKG RFTISRDNAK NSLYLQMNSL
RTEDTALYYC VRQSARAPEP YWGQGTLVTV SSGGCGGGEV AACEKEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKGGGD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

【0389】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:188**)的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的VL結構域(**SEQ ID NO:139**)。第一多肽鏈的殘基107-114 (帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基115-232對應於抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)。殘基233-238對應於連接體(**SEQ ID NO:17**，帶底線)。第一多肽鏈的殘

基239-266對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基267-279對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基280-496對應於“帶有杵的”(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0390】 **DART-L**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:189**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQQ YKSYPLTFGQ
GTKLEIK**GGG SGGGG**QVTLR ESGPALVKPT QTLTLTCTFS GFSLSTSGMG
VGWIRQPPGK ALEWLAHIWW DDDKRYNPAL KSRLTISKDT SKNQVFLTMT
NMDPVDTATY YCARMELWSY YFDYWGQGTT VTVSS**GGCGG G**KVAACKEKV
AALKEKVAAL KEKVAALKE

【0391】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:189**)的殘基1-107對應於抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:73**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**CD19 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:138**)。第二多肽鏈的殘基236-241對應於連接體(**SEQ ID NO:17**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基242-269對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0392】 **DART-L**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

M. CD16 x CD19結合分子“DART-M”

【0393】 被命名為“**DART-M**”的**CD16 x CD19結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-M**類似於上述**DART-L**，但包含**hCD16-M1B**的VL(包含突變的CDR_L3)。如上所示，**hCD16-M1B**的VH結構域具有與**hCD16-M1**的VH結構域相同的氨基酸序列。

【0394】 因為**hCD16-M1B**的VH結構域與**hCD16-M1**的VH結構域相同，所以**DART-M**的第一多肽鏈的氨基酸序列與**DART-L**的第一多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:188**)。

【0395】 **DART-M**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:190**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQD YTNYPLTFGQ
GTKLEIK**GGG SGGGG**QVTLR ESGPALVKPT QTLTLTCTFS GFSLSTSGMG
VGWIRQPPGK ALEWLAHIWW DDDKRYNPAL KSRLTISKDT SKNQVFLTMT
NMDPVDTATY YCARMELWSY YFDYWGQGTT VTVSS**GGCGG G**KVAACKEKV
AALKEKVAAL KEKVAALKE

【0396】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:190**)的殘基1-107對應於抗人CD16抗體**hCD16-M1B**的VL結構域(**SEQ ID NO:59**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**CD19 mAb 1**的VH結構域(**SEQ ID NO:138**)。第二多肽鏈的殘基236-241對應於連接體(**SEQ ID NO:17**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基242-269對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0397】 **DART-M**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

N. CD16 x CD19結合分子 “DART-N”

【0398】 被命名為“**DART-N**”的**CD16 x CD19結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-N**類似於上述**DART-M**，但也包含**hCD16-M1A**的VH(包含突變的CDR_H3)。因此，**DART-N**包含**hCD16-M1AB**的VL和VH(包含突變的CDR_L3和突變的CDR_H3))。

【0399】 **DART-N**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:191**的氨基酸序列：

ENVLTQSPAT LSVTPGEKAT ITCRASQSVS YMHWYQQKPG QAPRLLIYDA
SNRASGVPSR FSGSGSGTDH TLTISSLEAE DAATYYCFQG SVYPFTFGQG
TKLEIK**GGGS** **GGGG**EVQLVE SGGGLVKPGG SLRLSCAASG FTFSNYGMSW
VRQAPGKGLE WVATISGGGS YTFYPDSVKG RFTISRDNAK NSLYLQMNSL
RTEDTALYYC VRQSANSPVP YWGQGTLVTV SS**GGCGGG**EV AACEKEVAAL
EKEVAALEKE VAALEKGGGD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

【0400】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:191**)的殘基1-106對應於**CD19 mAb 1**的VL結構域(**SEQ ID NO:139**)。第一多肽鏈的殘基107-114(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基115-232對應於抗人CD16抗體**hCD16-M1A**的VH結構域(**SEQ ID NO:58**)。殘基233-238對應於連接體(**SEQ ID NO:17**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基239-266對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基267-279對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基280-496對應於“帶有杵的”(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0401】 因為**DART-N**包含**hCD16-M1B**的VL結構域，所以**DART-N**的第二多肽鏈的氨基酸序列與**DART-M**的第二多肽鏈的氨基酸序列相同(即，**SEQ ID NO:190**)。

【0402】 **DART-N**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

O. CD16 x HER2/neu結合分子“DART-1”

【0403】 被命名為“**DART-1**”的**CD16 x HER2/neu結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-1**是能夠結合CD16和HER2/neu癌抗原的雙特異性雙抗體。**DART-1**與**DART-A**實質上相同，除了它具有人源化抗人CD16抗體

h3G8的VL和VH結構域(參見，例如美國專利公開號2004/0010124；PCT公開號WO 2017/142928；Li, W.等(2016) "*Identification Of High-Affinity Anti-CD16A Allotype-Independent Hum Antibody Domains*," Exp. Mol. Pathol. 101(2):281-289)：

人源化抗人CD16 mAb h3G8的VH結構域(SEQ ID NO:62)顯示在下面(CDR_H殘基用底線顯示)：

QVTLRESGPA LVKPTQTLTL TCTFSGFSLS **TSGMGVG**WIR QPPGKALEWL A**HIWWDDDKR** **YNPALKS**RLT ISKDTSKNQV VLTMTNMDPV DTATYYCAQ**I NPAWFAY**WGQ GTLVTVSS

人源化CD16 mAb h3G8的VL結構域(SEQ ID NO:63)顯示在下面(CDR_L殘基用底線顯示)：

DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INC**KASQSVD** **FDGDSFMN**WY QQKPGQPPKL LIY**TTSNLES** GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YC**QQSNEDPY T**FGQGTKLEI K

而不是存在於**DART-A**中的抗人CD16抗體**CD16-M1**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:64**和**SEQ ID NO:65**)。**h3G8**的VH和VL結構域在本文中被用作比較物(comparator)CD16結合位點。**DART-1**由三條多肽鏈構成，其具有包含抗人CD16抗體**CD16-M1**的VL和VH結構域的兩個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含曲妥珠單抗的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HER2/neu癌抗原的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HER2/neu癌抗原的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0404】 **DART-1**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:167**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVN TAVAWYQQKP GKAPKLLIYS ASFLYSGVPS RFSGSRSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ HYTTPPTFGQ GTKVEIK**GGG** **SGGGG**QVTLR ESGPALVKPT QTLTLTCTFS GFSLSTSGMG VGWIRQPPGK ALEWLAHIWW DDDKRYNPAL KSRLTISKDT SKNQVVLTMT NMDPVDTATY YCAQINPAWF AYWGQGTLVT VSS**ASTKG**EV AACEKEVAAL

EKEVAALEKE VAALEKGGGD KTHTCPPCPA PEAAGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQYNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSREEMTKN QVSLWCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD
GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK

【0405】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:167**)的殘基1-107對應於**曲妥珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:125**)。第一多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基116-233對應於人源化抗人CD16抗體**h3G8**的VH結構域(**SEQ ID NO:62**)。殘基234-238對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基239-266對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基267-279對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基280-496對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0406】 **DART-1**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:168**的氨基酸序列：

DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKASQSVD FDGDSFMNWY QQKPGQPPKL
LIYTTSNLES GVPDRFSGSG SGTDFTLTIS SLQAEDVAVY YCQQSNEDPY
TFGQGTKLEI K**GGGSGGGG**E VQLVESGGGL VQPGGSLRLS CAASGFNIKD
TYIHWVRQAP GKGLEWVARI YPTNGYTRYA DSVKGRFTIS ADTSKNTAYL
QMNSLRAEDT AVYYCSRWGG DGFYAMDYWG QGTLVTVSS**A** **STKG**KVAACK
EKVAALKEKV AALKEKVAAL KE

【0407】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:168**)的殘基1-111對應於人源化抗人CD16抗體**h3G8**的VL結構域(**SEQ ID NO:63**)。第二多肽鏈的殘基112-119(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基120-239對應於**曲妥珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:124**)。第二多肽鏈的殘基240-244對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基244-272對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0408】 **DART-1**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

P. CD16 x RSV結合分子 “DART-2”

【0409】 被命名為“**DART-2**”的**CD16 x RSV結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-2**是能夠結合CD16和RSV糖蛋白F的雙特異性雙抗體。**DART-2**與**DART-1**實質上相同，除了它具有抗RSV糖蛋白F抗體**v帕利珠單抗**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:144**和**SEQ ID NO:145**)，而不是存在於**DART-1雙抗體**中的**曲妥珠單抗**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:124**和**SEQ ID NO:125**)。因此，**DART-2**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**h3G8**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於RSV糖蛋白F的表位是免疫特異性的)。第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。三條多肽鏈締合以形成能免疫特異性地結合CD16的表位和RSV糖蛋白F的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。如上所示，**h3G8**的VH和VL結構域在本文被用作比較物CD16結合位點。

Q. CD16 x RSV結合分子“DART-3”

【0410】 被命名為“**DART-3**”的**CD16 x RSV結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**CD16 x RSV DART-3**是能夠結合CD16和RSV糖蛋白F的雙特異性雙抗體。**DART-3**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於RSV糖蛋白F的表位是免疫特異性的)。三條多肽鏈締合以形成能免疫特異

性地結合CD16的表位和RSV糖蛋白F的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

【0411】 **DART-3**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:169**的氨基酸序列：

DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSVG YMHWYQQKPG KAPKLLIYDT
SKLASGVPSR FSGSGSGTEF TLTISSLQPD DFATYYCFQG SGYPFTFGGG
TKLEIK**GGGS GGGG**EVQLVE SGGGLVKPGG SLRLSCAASG FTFSNYGMSW
VRQAPGKGLE WVATISGGGS YTFYPDSVKG RFTISRDNAK NSLYLQMNSL
RTEDTALYYC VRQSARAPEP YWGQGTLVTV SS**ASTKG**EVA ACEKEVAALE
KEVAALEKEV AALEKGGGDK THTCPPCPAP EAAGGPSVFL FPPKPKDTLM
ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV
VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP
PSREEMTKNQ VSLWCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG
SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK

【0412】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:169**)的殘基1-106對應於**v帕利珠單抗**的VL結構域(**SEQ ID NO:145**)。第一多肽鏈的殘基107-114(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基115-232對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)。殘基233-237對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基238-265對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基266-278對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基279-495對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0413】 **DART-3**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:170**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQQ YKSYPLTFGQ
GTKLEIK**GGG SGGGG**QVTLR ESGPALVKPT QTLTLTCTFS GFSLSTSGMS
VGWIRQPPGK ALEWLADIWW DDKKDYNPSL KSRLTISKDT SKNQVVLKVT
NMDPADTATY YCARSMITNW YFDVWGAGTT VTVSS**ASTKG** KVAACKEKVA
ALKEKVAALK EKVAALKE

【0414】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:170**)的殘基1-107對應於人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ**

ID NO:73)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-235對應於**v帕利珠單抗**的VH結構域(**SEQ ID NO:144**)。第二多肽鏈的殘基236-240對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基241-268對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0415】 **DART-3**的第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。

R. CD16 x HIV env結合分子"DART-4

【0416】 被命名為"**DART-4**"的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子。DART-4**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-4**與**DART-1**實質上相同，除了它具有抗HIV env蛋白抗體**7B2**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:140**和**SEQ ID NO:141**)，而不是存在於**DART-1中的曲妥珠單抗**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:124**和**SEQ ID NO:125**)。因此，**DART-4**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**h3G8**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**7B2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列(**SEQ ID NO:153**)。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HIV env蛋白的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。如上所示，**h3G8**的VH和VL結構域在本文被用作比較物CD16結合位點。

S. CD16 x RSV結合分子 "DART-5"

【0417】 被命名為“**DART-5**”的CD16 x RSV結合分子是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-5**是能夠結合CD16和RSV糖蛋白F的雙特異性雙抗體。**DART-5**與**DART-L**實質上相同，除了它具有抗RSV糖蛋白F抗體**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域(分別地，**SEQ ID NO:144**和**SEQ ID NO:145**)，而不是存在於**DART-L**中的**CD19 mAb 1**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:138**和**SEQ ID NO:139**)。因此，**DART-5**由三條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於RSV糖蛋白F的表位是免疫特異性的)。第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列**(SEQ ID NO:153)**。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和RSV糖蛋白F的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

T. CD16 x RSV結合分子 “DART-6”

【0418】 被命名為“**DART-6**”的**CD16 x RSV結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-6**是能夠結合CD16和RSV糖蛋白F的雙特異性雙抗體。**DART-6**與**DART-M**實質上相同，除了它具有抗RSV糖蛋白F抗體**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域(分別地，**SEQ ID NO:144**和**SEQ ID NO:145**)，而不是存在於**DART-M**中的**CD19 mAb 1**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:138**和**SEQ ID NO:139**)。因此，**DART-6**由三條多肽鏈構成，並且具有包含優化的抗人CD16抗體**hCD16-M1B**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於RSV糖蛋白F的表位是免疫特異性的)。第三多肽鏈具有**共同的雙抗體**

多肽鏈的氨基酸序列**(SEQ ID NO:153)**。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和RSV糖蛋白F的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

U. CD16 x RSV結合分子 “DART-7”

【0419】 被命名為“**DART-7**”的**CD16 x RSV結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-7**是能夠結合CD16和RSV糖蛋白F的雙特異性雙抗體。**DART-7**與**DART-N**實質上相同，除了它具有抗RSV**糖蛋白**F抗體**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域(分別地，**SEQ ID NO:144**和**SEQ ID NO:145**)，而不是存在於**DART-N**中的**CD19 mAb 1**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:138**和**SEQ ID NO:139**)。因此，**DART-7**由三條多肽鏈構成，並且具有包含優化的抗人CD16抗體**hCD16-M1AB**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**v帕利珠單抗**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於RSV糖蛋白F的表位是免疫特異性的)。第三多肽鏈具有**共同的雙抗體多肽鏈**的氨基酸序列**(SEQ ID NO:153)**。三條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和RSV糖蛋白F的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖4A**)。

V. CD16 x HIV env分子“DART-X”

【0420】 被命名為“**DART-X**”的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-X**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-X**由兩條多肽鏈構成，並且具有包含抗人CD16抗體**CD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**7B2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表

位是免疫特異性的)。兩條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HIV env蛋白的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖1A-1B**)。

【0421】 **DART-X**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:171**的氨基酸序列：

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCKSSQTLL YSSNNRHSIA WYQQRPGQPP
KLLLYWASMR LSGVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYCHQYSSH
PPTFGHGTRV EIK**GGGSGGG** **G**EVKLVESGG TLVKPGGSLK LSCAASGFTF
NNYGMSWVRQ TPEKRLEWVA TISGGGSYTF YPDSVKGRFT ISRDNAKNSL
YLQMSSLRSE DTALYYCIRQ SARAPEPYWG QGTLVTVSS**A** **STKG**EVAACE
KEVAALEKEV AALEKEVAAL EK

【0422】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:171**)的殘基1-113對應於**7B2**的VL結構域(**SEQ ID NO:141**)。第一多肽鏈的殘基114-121(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基122-239對應於抗人CD16抗體**CD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:64**)。殘基240-244對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基245-272對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。

【0423】 **DART-X**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:172**的氨基酸序列：

DIVMTQSQKF MSTSVGDRVS VTCKASQNVG THVAWYQQKS GQSPKSLLYS
ASYRYSGVPD RFSGSGSGTD FTLTISNVQS EDLAEYFCQQ YKSYPLTFGA
GTKLELK**GGG** **SGGGG**QVQLV QSGGGVFKPG GSLRLSCEAS GFTFTEYYMT
WVRQAPGKGL EWLAYISKNG EYSKYSPSSN GRFTISRDNA KNSVFLQLDR
LSADDTAVYY CARADGLTYF SELLQYIFDL WGQGARVTVS S**ASTKG**KVAA
CKEKVAALKE KVAALKEKVA ALKE

【0424】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:172**)的殘基1-107對應於抗人CD16抗體**CD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:65**)。第二多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-241對應於**7B2**的VH結構域(**SEQ ID NO:140**)。第二多肽鏈的殘基242-246對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基247-274對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

W. CD16 x HIV env結合分子 “DART-Y”

【0425】 被命名為“**DART-Y**”的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-Y**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-Y**由兩條多肽鏈構成，並且具有包含抗人CD16抗體**CD16-M2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**7B2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。兩條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合CD16的表位和HIV env蛋白的表位的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖1B**)。

【0426】 **DART-Y**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:173**的氨基酸序列：

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCKSSQTLL YSSNNRHSIA WYQQRPGQPP
KLLLYWASMR LSGVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYCHQYSSH
PPTFGHGTRV EIK**GGGSGGG** **G**EVQLQQSGP ELVKPGASVK MSCKASGYTF
TSSAMHWVKK NPGQGLEWIG YINHYNDGIK YNERFKGKAT LTSDKSSSTA
YMELSSLTSE DSAVYYCATG YRYASWFASW GQGTLVTVSS **ASTKG**EVAAC
EKEVAALEKE VAALEKEVAA LEK

【0427】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:173**)的殘基1-113對應於**7B2**的VL結構域(**SEQ ID NO:141**)。第一多肽鏈的殘基114-121(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基122-240對應於抗人CD16抗體**CD16-M2**的VH結構域(**SEQ ID NO:75**)。殘基241-245對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基246-273對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。

【0428】 **DART-Y**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:174**的氨基酸序列：

DILLTQSPAI LSVSPGERVS FSCRASQNIG TSIHWYQQRT DGSPRLLIKS
VSESISGIPS RFSGSGSGTD FTLTINGVES GDISDYYCQQ SNSWPLTFGA
GTKLELK**GGG** **SGGGG**QVQLV QSGGGVFKPG GSLRLSCEAS GFTFTEYYMT
WVRQAPGKGL EWLAYISKNG EYSKYSPSSN GRFTISRDNA KNSVFLQLDR

LSADDTAVYY CARADGLTYF SELLQYIFDL WGQGARVTVS S**ASTKG**KVAA CKEKVAALKE KVAALKEKVA ALKE

【0429】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:174**)的殘基1-107對應於抗人CD16抗體**CD16-M2**的VL結構域(**SEQ ID NO:76**)。第二多肽鏈的殘基**108**-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-241對應於**7B2**的VH結構域(**SEQ ID NO:140**)。第二多肽鏈的殘基242-246對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第二多肽鏈的殘基247-274對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

X. CD16 x HIV env結合分子 “DART-0”

【0430】 被命名為“**DART-0**的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-0**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-0**與**DART-X**實質上相同，除了它具有人源化抗人CD16抗體**h3G8**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:62**和**SEQ ID NO:63**)，而不是存在於**DART-X**中的抗人CD16抗體**CD16-M1**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:64**和**SEQ ID NO:65**)。因此，**DART-0**由兩條多肽鏈構成，並且具有包含人源化抗人CD16抗體**h3G8**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**7B2**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV Env蛋白的表位是免疫特異性的)。這些多肽鏈締合以形成具有對於CD16的表位免疫特異性的一個結合結構域和對於HIV env蛋白的表位免疫特異性的一個結合結構域的由兩條多肽鏈構成的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖1A-1B**)。如上所示，**h3G8**的VH和VL結構域在本文被用作比較物CD16結合位點。

Y. CD16 x HIV env結合分子 “DART-Z”

【0431】 被命名為“**DART-Z**”的**CD16 x HIV env結合分子**是進一步示例性的**CD16 x DA結合分子**。**DART-Z**是能夠結合CD16和HIV env蛋白的雙特異性雙抗體。**DART-Z**與**DART-X**實質上相同，除了它具有抗HIV env抗體A32的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NOs:142和143**)而不是抗HIV env抗體7B2的VH和VL結構域；並且它具有抗人CD16A scFv **4-LS21**的VH和VL結構域(U.S.專利公開號2015/0218275)：

抗人CD16A scFv 4-LS21的VH結構域(SEQ ID NO:175)：

EEVQLVQSGA EVKKPGESLK VSCKASGYTF TSYYMHWVRQ APGQGLEWMG IINPSGGSTS YAQKFQGRVT MTRDTSTSTV YMELSSLRSE DTAVYYCARG SAYYYDFADY WGQGTLVTVS S

抗人CD16A scFv 4-LS21的VL結構域(SEQ ID NO:176)：

QPVLTQPSSV SVAPGQTATI SCGGHNIGSK NVHWYQQRPG QSPVLVIYQD NKRPSGIPER FSGSNSGNTA TLTISGTQAM DEADYYCQVW DNYSVLFGGG TKLTVL

而不是存在於**DART-X**中的抗人CD16抗體**CD16-M1**的VH和VL結構域(分別地，**SEQ ID NO:64**和**SEQ ID NO:65**)。因此，**DART-Z**由兩條多肽鏈構成，其具有包含抗人CD16A scFv **4-LS21**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和包含**A32**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。這些多肽鏈締合以形成具有對於CD16的表位免疫特異性的一個結合結構域和對於HIV env蛋白的表位免疫特異性的一個結合結構域的由兩條多肽鏈構成的共價結合的DART®雙抗體(參見，例如**圖1A-1B**)。**4-LS21**的VH和VL結構域在本文被用作比較物CD16結合位點。

Z. CD16 x HIV env x HIV env 三價分子

【0432】 本發明的**CD16 x DA 結合分子**進一步通過包含Fc結構域的雙特異性或三特異性的**CD16 x HIV env x HIV env三價分子**示例，其包含能夠結合至HIV env蛋白的表位的兩個結合結構域和能夠結合至CD16的表位的一個結合結構域。HIV env蛋白的這種表位可以相同(如在**CD16 x HIV env x HIV env三價分子“TRIDENT-A”**中)，或者它們可以不同(如在**CD16 x HIV env x HIV env三價分子“TRIDENT-B”**中)。示例性的三價TRIDENT™分子的結構和序列被匯總在**表13**中，並且在下面進行詳細描述。

表 13

三價分子名稱	多肽鏈	SEQ ID NO	抗體	結構域	SEQ ID NO	抗體	結構域	SEQ ID NO
TRIDENT-A	1	**177**	**A32**	VL	**143**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**178**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**A32**	VH	**142**
	3	**179**	**A32**	VH	**142**			
	4	**180**	**A32**	VL	**143**			
TRIDENT-B	1	**177**	**A32**	VL	**143**	**hCD16-M1**	VH	**72**
	2	**178**	**hCD16-M1**	VL	**73**	**A32**	VH	**142**
	3	**181**	**7B2**	VH	**140**			
	4	**182**	**7B2**	VL	**141**			

1. CD16 x HIV env x HIV env三價分子“TRIDENT-A”

【0433】 被命名為“**TRIDENT-A**”的**CD16 x HIV env x HIV env三價分子**由四條多肽鏈構成，並且具有包含抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的)和各自包含**A32**的VL和VH結構域的兩個結合結構域(並且因此對於由抗體**A32**識別的HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。四條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合由抗

體**A32**識別的HIV env蛋白表位的一個或兩個拷貝以及CD16的表位的共價結合的TRIDENT™分子(參見**圖6A**)。

【0434】 **TRIDENT-A**的第一多肽鏈具有**SEQ ID NO:177**的氨基酸序列：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL **GGGSGGGG**EV QLVESGGGLV KPGGSLRLSC AASGFTFSNY
GMSWVRQAPG KGLEWVATIS GGGSYTFYPD SVKGRFTISR DNAKNSLYLQ
MNSLRTEDTA LYYCVRQSAR APEPYWGQGT LVTVSS**ASTK** **G**EVAACEKEV
AALEKEVAAL EKEVAALEKG GGDKTHTCPP CPAPEAAGGP SVFLFPPKPK
DTLMISRTPE VTCVVVDVSH EDPEVKFNWY VDGVEVHNAK TKPREEQYNS
TYRVVSVLTV LHQDWLNGKE YKCKVSNKAL PAPIEKTISK AKGQPREPQV
YTLPPSREEM TKNQVSLWCL VKGFYPSDIA VEWESNGQPE NNYKTTPPVL
DSDGSFFLYS KLTVDKSRWQ QGNVFSCSVM HEALHNHYTQ KSLSLSPGK

【0435】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:177**)的殘基1-110對應於抗體**A32**的VL結構域(**SEQ ID NO:143**)。第一多肽鏈的殘基111-118(帶雙**底線**)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第一多肽鏈的殘基119-236對應於抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VH結構域(**SEQ ID NO:72**)。殘基237-241對應於連接體(**SEQ ID NO:21**，帶底線)。第一多肽鏈的殘基242-269對應於包含半胱氨酸的E-螺旋(**SEQ ID NO:31**)。第一多肽鏈的殘基270-282對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第一多肽鏈的殘基283-499對應於“帶有杵的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:51**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0436】 **TRIDENT-A**的第二多肽鏈具有**SEQ ID NO:178**的氨基酸序列：

DIQMTQSPSF LSASVGDRVT ITCRASQNVG THVAWYQQKP GKAPKSLLYS
ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQS EDIATYYCQQ YKSYPLTFGQ
GTKLEIK**GGG** **SGGGG**QVQLQ ESGPGLVKPS QTLSLSCTVS GGSSSSGAHY
WSWIRQYPGK GLEWIGYIHY SGNTYYNPSL KSRITISQHT SENQFSLKLN
SVTVADTAVY YCARGTRLRT LRNAFDIWGQ GTLVTVSS**AS** **TKG**KVAACKE
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

【0437】 這種示例性的**CD16 x DA結合分子**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:178**)的殘基1-107對應於抗體**hCD16-M1**的VL結構域(**SEQ ID NO:73**)。第二

多肽鏈的殘基108-115(帶雙底線)對應於連接體1(GGGSGGGG；**SEQ ID NO:16**)。第二多肽鏈的殘基116-238對應於抗體**A32**的VH結構域(**SEQ ID NO:142**)。第二多肽鏈的殘基239-243對應於連接體(**SEQ ID NO:43**)。第二多肽鏈的殘基244-271對應於包含半胱氨酸的K-螺旋(**SEQ ID NO:32**)。

【0438】 **TRIDENT-A**的第三多肽鏈具有**SEQ ID NO:179**的氨基酸序列：

QVQLQESGPG LVKPSQTLSL SCTVSGGSSS SGAHYWSWIR QYPGKGLEWI
GYIHYSGNTY YNPSLKSRIT ISQHTSENQF SLKLNSVTVA DTAVYYCARG
TRLRTLRNAF DIWGQGTLVT VSSASTKGPS VFPLAPSSKS TSGGTAALGC
LVKDYFPEPV TVSWNSGALT SGVHTFPAVL QSSGLYSLSS VVTVPSSSLG
TQTYICNVNH KPSNTKVDKR V**EPKSCDKTH** **TCPPCP**APEA AGGPSVFLFP
PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVK FNWYVDGVEV HNAKTKPREE
QYNSTYRVVS VLTVLHQDWL NGKEYKCKVS NKALPAPIEK TISKAKGQPR
EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LSCAVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT
PPVLDSDGSF FLVSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN RYTQKSLSLS
PGK

【0439】 第三多肽鏈(**SEQ ID NO:179**)的殘基1-123對應於抗體**A32**的VH結構域(**SEQ ID NO:142**)。第三多肽鏈的殘基124-221對應於人IgG1 CH1結構域(**SEQ ID NO:3**)。第三多肽鏈的殘基222-236對應於IgG鉸鏈結構域(**SEQ ID NO:7**，帶底線)。第三多肽鏈的殘基237-453對應於“帶有臼的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:53**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0440】 **TRIDENT-A**的第四多肽鏈具有**SEQ ID NO:180**的氨基酸序列：

QSALTQPPSA SGSPGQSVTI SCTGTSSDVG GYNYVSWYQH HPGKAPKLII
SEVNNRPSGV PDRFSGSKSG NTASLTVSGL QAEDEAEYYC SSYTDIHNFV
FGGGTKLTVL RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ
WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLSKADYE KHKVYACEVT
HQGLSSPVTK SFNRGEC

【0441】 第四多肽鏈(**SEQ ID NO:180**)的**殘基**1-110對應於抗體**A32**的VL結構域(**SEQ ID NO:143**)。第四多肽鏈的殘基111-217對應於人CL κ結構域(**SEQ ID NO:1**)。

2. CD16 x HIV env x HIV env三價分子“TRIDENT-B”

【0442】 被命名為“**TRIDENT-B**”的示例性**CD16 x HIV env x HIV env三價分子**也由四條多肽鏈構成。它具有包含抗人CD16抗體**hCD16-M1**的VL和VH結構域的一個結合結構域(並且因此對於CD16的表位是免疫特異性的),包含**A32**的VL和VH結構域的結合結構域(並且因此對於由抗體**A32**識別的HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)和包含**7B2**的VL和VH結構域的另外的結合結構域(並且因此對於由抗體**7B2**識別的HIV env蛋白的表位是免疫特異性的)。四條多肽鏈締合以形成能夠免疫特異性地結合由抗體**A32**識別的HIV env蛋白的表位和/或由抗體**7B2**識別的HIV env蛋白的表位、和CD16的表位的共價結合的TRIDENT™分子(參見**圖6A**)。

【0443】 **TRIDENT-B**的第一多肽鏈與**TRIDENT-A**的第一多肽鏈(**SEQ ID NO:177**)相同。

【0444】 **TRIDENT-B**的第二多肽鏈與**TRIDENT-A**的第二多肽鏈(**SEQ ID NO:178**)相同。

【0445】 **TRIDENT-B**的第三多肽鏈具有**SEQ ID NO:181**的氨基酸序列:

QVQLVQSGGG VFKPGGSLRL SCEASGFTFT EYYMTWVRQA PGKGLEWLAY
ISKNGEYSKY SPSSNGRFTI SRDNAKNSVF LQLDRLSADD TAVYYCARAD
GLTYFSELLQ YIFDLWGQGA RVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA
LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS
SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKRV**EPKSCD KTHTCPPCP**A PEAAGGPSVF
LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG
QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLSCAVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY
KTTPPVLDSD GSFFLVSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNRYTQKSL
SLSPGK

【0446】 第三多肽鏈(**SEQ ID NO:181**)的殘基1-126對應於抗體**7B2**的VH結構域(**SEQ ID NO:140**)。第三多肽鏈的殘基127-224對應於人IgG1 CH1結構域

(**SEQ ID NO:3**)。第三多肽鏈的殘基225-239對應於IgG鉸鏈結構域(**SEQ ID NO:7**，帶底線)。第三多肽鏈的殘基240-456對應於“帶有臼的”IgG1 CH2-CH3結構域(**SEQ ID NO:53**)，其中最後的殘基是賴氨酸。

【0447】 **TRIDENT-B**的第四多肽鏈具有**SEQ ID NO:182**的氨基酸序列：

DIVMTQSPDS LAVSPGERAT IHCKSSQTLL YSSNNRHSIA WYQQRPGQPP
KLLLYWASMR LSGVPDRFSG SGSGTDFTLT INNLQAEDVA IYYCHQYSSH
PPTFGHGTRV EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ LKSGTASVVC LLNNFYPREA
KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC
EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

【0448】 第四多肽鏈(**SEQ ID NO:182**)的殘基1-113對應於抗體**7B2**的VL結構域(**SEQ ID NO:141**)。第四多肽鏈的殘基114-220對應於人CL κ結構域(**SEQ ID NO:1**)。

VIII. 生產方法

【0449】 本發明的分子最優選地通過編碼這種多肽的核酸分子的重組表達生產，如本領域所熟知的。

【0450】 本發明的多肽可方便地利用固相肽合成製備(Merrifield, B. (1986) “S*olid Phase Synthesis*,” Science 232(4748):341-347; Houghten, R.A. (1985) “*General Method For The Rapid Solid-Phase Synthesis Of Large Numbers Of Peptides: Specificity Of Antigen-Antibody Interaction At The Level Of Individual Amino Acids*,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 82(15):5131-5135；Ganesan, A. (2006) “*Solid-Phase Synthesis In The Twenty-First Century*,” Mini Rev. Med. Chem. 6(1):3-10)。

【0451】 抗體可利用本領域已知的任何方法重組製備並且表達。抗體可通過首先分離從宿主動物製備的抗體、獲得基因序列、和利用該基因序列在宿主細胞(例如CHO細胞)中重組表達抗體而重組製備。可以採用的另一方法是在植物

(例如，煙草)或轉基因牛奶中表達抗體序列。在植物或牛奶中重組表達抗體的合適方法已經被公開(參見，例如Peeters等(2001) "*Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants*," Vaccine 19:2756；Lonberg, N.等(1995) "*Human Antibodies From Transgenic Mice*," Int. Rev. Immunol 13:65-93；和Pollock等(1999) "*Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies*," J. Immunol. Methods 231:147-157)。製備抗體衍生物(例如人源化、單鏈等)的合適方法在本領域是已知的，並且在上面已經進行描述。在另一替選方案中，抗體可通過噬菌體展示技術重組製備(參見，例如美國專利號5,565,332、5,580,717、5,733,743、6,265,150；和Winter, G.等(1994) "*Making Antibodies By Phage Display Technology*," Annu. Rev. Immunol. 12.433-455)。

【0452】 包含目標多核苷酸(例如，編碼本發明的結合分子的多肽鏈的多核苷酸)的載體可通過許多合適手段中的任何一種引入到宿主細胞中，所述手段包括電穿孔；利用氯化鈣、氯化銣、磷酸鈣、DEAE-葡聚糖或其它物質的轉染；微粒轟擊；脂質轉染和感染(例如，其中載體是感染劑，諸如牛痘病毒)。引入載體或多核苷酸的選擇將經常取決於宿主細胞的特徵。

【0453】 能夠過表達異源DNA的任何宿主細胞可用於表達目標多肽或蛋白的目的。合適的哺乳動物宿主細胞的非限制性實施例包括但不限於COS、HeLa和CHO細胞。

【0454】 本發明包括包含本發明的結合分子的氨基酸序列的多肽。本發明的多肽可通過本領域已知的程式製備。多肽可通過抗體的蛋白水解或其它降解、通過如上所述的重組方法(即，單個多肽或融合多肽)或通過化學合成產生。

抗體的多肽、尤其高達約50個氨基酸的較短多肽，通過化學合成方便製備。化學合成的方法在本領域是已知的並且是可商購的。

【0455】 本發明包括所公開的結合分子的變體，其包括不顯著影響這種分子的性能的功能上等同的多肽以及具有增加的或減少的活性的變體。多肽的修飾在本領域是常規實踐並且不需要在本文進行詳細描述。修飾的多肽的實例包括具有氨基酸殘基的保守置換、沒有顯著影響或沒有不利地改變化學類似物的功能活性或用途的氨基酸的一個或多個缺失或添加的多肽。可彼此保守置換的氨基酸殘基包括但不限於：甘氨酸/丙氨酸；絲氨酸/蘇氨酸；纈氨酸/異亮氨酸/亮氨酸；天冬醯胺/穀氨醯胺；天冬氨酸/谷氨酸；賴氨酸/精氨酸；和苯丙氨酸/酪氨酸。這些多肽也包括糖基化和非糖基化的多肽，以及具有其它翻譯後修飾(諸如，例如用不同糖糖基化、乙醯化和磷酸化)的多肽。優選地，氨基酸置換將是保守的，即置換的氨基酸將具有與原始氨基酸相似的化學性能。這種保守置換是本領域已知的並且已經在上面提供實例。氨基酸修飾的範圍可從改變或修飾一個或多個氨基酸至區域諸如可變結構域的完全重新設計。可變結構域的變化可改變結合親和性和/或特異性。修飾的其它方法包括利用本領域已知的偶聯技術，其包括但不限於酶促方式、氧化置換和螯合。修飾可用於，例如連接用於免疫測試的標籤，諸如連接用於放射性免疫測試的放射性部分。修飾的多肽利用本領域建立的程式製備並且可利用本領域已知的標準測試篩選。

【0456】 在一種實施方式中，提供了包含輕鏈、重鏈或者輕鏈和重鏈兩者的融合多肽。在另一實施方式中，融合多肽包含異源免疫球蛋白恆定區。在另一實施方式中，融合多肽包含從表面上沉積的雜種瘤中生產的抗體的VH和VL結構域。為了本發明的目的，抗體融合蛋白包含能使蛋白質免疫特異性地結合

CD16和疾病抗原兩者的多肽結構域，並且其包含天然分子中未連接到其上的另一氨基酸序列，例如來自另一區的異源序列或同源序列(例如，去免疫化白蛋白-結合結構域、蛋白A識別序列、肽標籤等)。

【0457】 本發明特別地涵蓋綴合到診斷或治療部分的這種結合分子(例如，抗體、雙抗體、三價結合分子等)。為了診斷目的，本發明的結合分子可被偶聯到可檢測物質。這種結合分子可用於監測和/或預後疾病的發展或進展作為臨床測試程式的部分，諸如測定特定療法的功效。可檢測物質的實例包括各種酶(例如，辣根過氧化物酶、β-半乳糖苷酶等)、輔基(例如，抗生物素蛋白/生物素)、螢光物質(例如，傘形酮、螢光素、或藻紅蛋白)、發光物質(例如，魯米諾)、生物發光物質(例如，螢光素酶或發光蛋白質)、放射性物質(例如，碳14、錳54、鍶85或鋅65)、正電子發光金屬、和非放射性順磁金屬離子。可檢測物質可被利用本領域已知的技術直接地或者通過中間體(例如連接體)間接地偶聯或綴合至結合分子。

【0458】 為了治療目的，本發明的結合分子可被綴合至治療部分，諸如細胞毒素(例如，細胞靜止劑或殺細胞劑)、治療劑或放射性金屬離子，例如、α-發射劑。細胞毒素或細胞毒性劑包括對**細胞**有害的任何試劑，諸如，例如假單胞菌外毒素、白喉毒素、肉毒桿菌毒素A至F、篦麻毒素、相思豆毒素、皂草素、和這種試劑的細胞毒素片段。治療劑包括具有治療效果以預防性地或治療性地治療障礙的任何試劑。這種治療劑可以是化學治療劑、蛋白質或多肽治療劑，並且包括具有期望的生物學活性和/或改變給定的生物學應答的治療劑。治療劑的實例包括烷基化劑、血管生成抑制劑、抗有絲分裂劑、激素治療劑和可用於

治療細胞增生性障礙的抗體。治療部分可被利用本領域已知的技術直接地或者間接地通過中間體(例如連接體)偶聯或綴合至結合分子。

IX. 本發明的結合分子的用途

【0459】 如上所討論，能夠結合CD16和疾病抗原的分子能夠介導靶細胞(即，癌細胞或病原體感染細胞)的重定向的細胞殺傷，所述靶細胞(即，癌細胞或病原體感染細胞)在其細胞表面上表達這種疾病抗原。這種分子可用於治療目的，例如在患有癌症或感染的受試者中。因此，本發明的結合分子具有治療在這種靶細胞的表面上與疾病抗原(尤其癌抗原或病原體相關抗原)的表達相關或特徵在於疾病抗原(尤其癌抗原或病原體相關抗原)的表達的任何疾病或病況的能力。因此，沒有限制地，本發明的結合分子可用於治療癌症，尤其特徵在於表達癌抗原的癌症。本發明的結合分子可用於治療感染，尤其特徵在於表達病原體相關抗原的感染。

【0460】 具體地，本發明涵蓋這樣的方法，其中所述能夠結合CD16的分子包含能夠結合CD16的抗體的表位-結合結構域並且也包含能夠結合靶細胞表上的疾病抗原(具體地，癌抗原或病原體相關抗原)的表位-結合結構域以便介導靶細胞的重定向的殺傷(例如，通過介導重定向的細胞殺傷(例如，重定向的T細胞或重定向的NK細胞細胞毒性))。

【0461】 在具體實施方式中，能夠結合CD16和疾病抗原的分子是雙特異性抗體、或其結合部分、(包括scFv)、BiTe、TandAb和CAR。

【0462】 在具體實施方式中，能夠結合CD16和疾病抗原的分子是雙特異性雙抗體。

【0463】 在具體實施方式中，能夠結合CD16和疾病抗原的分子是三價結合分子。

【0464】 如本文所用，術語“**提供治療(providing a therapy)**”和“**治療(treating)**”是指與任何有利或期望結果的指征相關的組合物的任何施用，所述結果包括但不限於任何臨床結果，諸如減少疾病所引起的症狀；減輕感染的症狀(例如，病毒載量、發燒、疼痛、膿毒症等)；腫瘤(在癌症背景下，例如乳腺癌、胃癌或前列腺癌的腫瘤)尺寸的縮小；癌症細胞生長的減緩；轉移的開始、形成或進展的延遲；疾病所引起的症狀的減少；受體受試者生活品質的增加；提供以治療受試者疾病的其它藥物劑量的減少；另一藥物效果諸如經由靶向和/或內化的增強；疾病進展的延遲；和/或受試者存活的延長。

【0465】 用於治療的受試者包括動物，最優選地哺乳動物物種，諸如非靈長類(例如，牛、馬、貓、犬、齧齒動物等)或靈長類(例如，猴子，如食蟹猴，人等)。在優選的實施方式中，受試者是人。

【0466】 可通過本發明的各種實施方式治療的示例性障礙包括但不限於增生性障礙、細胞增殖性障礙、和癌症(尤其是表達由能夠介導重定向細胞殺傷的分子所結合的癌抗原的癌症)、病原體相關的疾病(尤其是與由能夠介導重定向細胞殺傷的分子所結合的病原體相關抗原的表達相關的慢性病毒感染)。在各種實施方式中，本發明涵蓋用於治療、預防或管理受試者中的疾病或障礙的方法或組合物，其包括向受試者施用治療有效量的本發明的結合分子。這種分子尤其可用於預防、抑制、減少原發腫瘤的生長或進展和腫瘤的轉移，以及用於減少病原體載量或消除病原體感染細胞。儘管不意欲受特定作用機理的束縛，但是這種分子可介導針對靶細胞的效應子功能、促進免疫系統對靶細胞的啟動、

使細胞表面抗原和/或受體交聯在靶細胞上和增強細胞凋亡或負增長調節信號、或其組合，導致靶細胞的清除和/或數量減少。

【0467】 可以由本發明的分子和由本發明的方法治療的癌症包括但不限於：**腎上腺癌**，包括但不限於：嗜鉻細胞瘤或腎上腺皮質癌；**愛滋病相關癌症；腺泡狀軟組織肉瘤；星形細胞瘤；基底癌；膀胱癌**，包括但不限於，移行細胞癌、鱗狀細胞癌、腺癌或癌肉瘤；**骨和結締組織肉瘤**，例如但不限於，骨瘤(bone sarcoma)、骨肉瘤(osteosarcoma)、軟骨肉瘤、尤因氏肉瘤、惡性巨細胞瘤、骨的纖維肉瘤、脊索瘤、骨膜肉瘤、軟組織肉瘤、血管肉瘤(angiosarcoma)(血管內皮瘤(hemangiosarcoma))、纖維肉瘤、卡波濟氏肉瘤、平滑肌肉瘤、脂肪肉瘤、淋巴管肉瘤、神經鞘瘤、橫紋肌肉瘤、或滑膜肉瘤；**腦癌，**包括但不限於，神經膠質瘤、星形細胞瘤、腦幹膠質瘤、室管膜瘤、少突神經膠質瘤、非膠質瘤(nonglial tumor)、聽神經鞘瘤、顱咽管瘤、髓母細胞瘤、腦膜瘤、松果體瘤、成松果體細胞瘤、或原發性腦淋巴瘤；**腦和脊髓癌；乳腺癌**，包括但不限於，腺癌、小葉(小細胞)癌、導管內癌、髓樣乳腺癌、黏液乳腺癌、管狀乳腺癌、乳頭狀乳腺癌、佩吉特氏病、或炎性乳腺癌；**頸動脈體瘤；宮頸癌**，包括但不限於，鱗狀細胞癌或腺癌；膽管癌，包括但不限於，乳頭狀、結節性、或彌漫性膽管癌；**軟骨肉瘤；脊索瘤；嫌色性腎細胞癌；透明細胞癌；結腸癌；結直腸癌；皮膚良性纖維組織細胞瘤；促結締組織增生性小圓細胞腫瘤；室管膜瘤；眼癌**，包括但不限於，眼黑色素瘤諸如虹膜黑色素瘤、脈絡膜黑色素瘤、和睫狀體黑色素瘤和視網膜母細胞瘤；**食道癌**，包括但不限於，鱗狀癌、腺癌、腺樣囊性癌、黏液表皮樣癌、腺鱗癌、肉瘤、黑素瘤、漿細胞瘤、疣狀癌和燕麥細胞(小細胞)癌；**尤文氏瘤**；**骨外黏液樣軟骨肉瘤；骨纖維生成不良；骨纖維異常增殖症；**

膽囊癌或膽管癌，包括但不限於，腺癌；**胃癌；妊娠滋養細胞疾病；生殖細胞瘤；頭頸癌**；**肝細胞癌**；**重鏈疾病；胰島細胞瘤；卡波西肉瘤(Kaposi's sarcoma)；白血病**，包括但不限於急性白血病；急性淋巴細胞性白血病；急性髓細胞樣白血病，諸如，但不限於成髓細胞白血病、早幼粒細胞白血病、髓單核細胞白血病、單核細胞白血病、紅白血病白血病或骨髓增生異常綜合征；**慢性白血病**，例如但不限於，慢性髓細胞(粒細胞)樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、毛細胞白血病；脂肪瘤/良性脂肪瘤；脂肪肉瘤/惡性脂肪瘤；**肝癌**，包括但不限於，肝細胞癌或肝母細胞癌；**淋巴瘤**，例如但不限於，霍奇金病(Hodgkin's disease)；非霍奇金病；**肺癌**，包括但不限於，非小細胞肺癌、鱗狀細胞癌(表皮樣癌)、腺癌、大細胞癌或小細胞肺癌；髓母細胞瘤；黑素瘤；腦膜瘤；良性單克隆丙種球蛋白病；一種意義不明的單克隆丙種球蛋白病；多發性內分泌腺瘤；**多發性骨髓瘤**、例如但不限於，鬱積型多發性骨髓瘤、非分泌型骨髓瘤、骨硬化性骨髓瘤、漿細胞白血病、孤立性漿細胞瘤和髓外漿細胞瘤；**骨髓增生異常綜合征；神經母細胞瘤；神經內分泌腫瘤；口腔癌**，包括但不限於鱗狀細胞癌；**卵巢癌**，包括但不限於，卵巢上皮癌、交界性腫瘤、生殖細胞腫瘤、和間質瘤；**胰腺癌**，包括但不限於，胰島瘤、促胃液素瘤、高血糖素瘤、血管活性腸肽瘤、生長激素抑制素-分泌瘤、或良性腫瘤或胰島細胞瘤；**甲狀旁腺腫瘤；兒科癌症；陰莖癌(penal cancer)；外周神經鞘腫瘤；嗜鉻細胞瘤；咽癌**，包括但不限於鱗狀細胞癌、或疣狀癌；**垂體腺癌**，包括但不限於，庫欣病(Cushing's disease)、催乳激素-分泌腫瘤；肢端肥大症、或**尿崩症腫瘤(diabetes insipius tumor)；前列腺癌**，包括但不限於，腺癌、平滑肌肉瘤、或橫紋肌肉瘤；**真性紅細胞增多症；後葡萄膜黑色素瘤**(posterious uveal melanoma)；**罕見血液病；腎癌**，包括但不限於，

腺癌、腎上腺樣瘤、纖維肉瘤、腎轉移性癌、或移行細胞癌(腎盂和/或子宮)；橫紋肌樣瘤；**橫紋肌肉瘤；唾腺癌**，包括但不限於，腺癌、黏液表皮樣癌、或腺樣囊性癌；**肉瘤；皮膚癌**，包括但不限於，基底細胞癌、鱗狀細胞癌和黑色素瘤、淺表擴散性黑色素瘤、結節性黑色素瘤、小痣惡性黑色素瘤或肢端黑色素瘤(acral lentiginous melanoma)；**軟組織肉瘤**；**鱗狀細胞癌；胃癌**，包括但不限於，腺癌，真菌樣(息肉型)、潰瘍型、淺表擴散性、彌漫擴散性、或惡性淋巴瘤，脂肪肉瘤，纖維肉瘤，和癌肉瘤；**滑膜肉瘤；睾丸癌**，包括但不限於，胚組織瘤，精原細胞瘤，退行發育性、經典的(典型的)、精母細胞性、非精原細胞瘤，胚胎性癌，畸胎癌，或絨毛膜癌(卵黃囊瘤)；**胸腺癌；胸腺瘤；甲狀腺癌**，諸如但不限於，乳頭狀或濾泡性甲狀腺癌、轉移性甲狀腺癌、甲狀腺髓樣癌或未分化甲狀腺癌；**子宮癌**，包括但不限於，子宮內膜癌或子宮肉瘤；**陰道癌**，包括但不限於，鱗狀細胞癌、腺癌或黑色素瘤；**外陰癌，包括但不限於，**鱗狀細胞癌、黑色素瘤、腺癌、基底細胞癌、肉瘤、或佩吉特病；**瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenström's macroglobulinemia)；或維爾姆斯瘤(Wilms' tumor)**。此外，癌症包括黏液肉瘤、骨原性肉瘤、內皮肉瘤、淋巴管內皮肉瘤、間皮瘤、滑膜瘤、成血管細胞瘤、上皮癌、囊腺癌、支氣管癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭狀癌和乳頭狀腺癌(對於這些疾病的綜述，參見Fishman等, 1985, Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia和Murphy 等., 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc.)。

【0468】 具體地，本發明的結合分子可用於治療腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性

白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【0469】 可通過本發明的CD16結合分子治療的病原體-相關疾病包括慢性的病毒性、細菌性、真菌性和寄生蟲性的感染。可通過本發明的CD16結合分子治療的慢性感染包括愛潑斯坦-巴爾病毒、甲型肝炎病毒(HAV)；乙型肝炎病毒(HBV)；丙型肝炎病毒(HCV)；皰疹病毒(例如，HSV-1、HSV-2、HHV-6、CMV)、人免疫缺陷病毒(HIV)、水泡性口炎病毒(VSV)、桿菌(*Bacilli)*、檸檬酸桿菌屬*(Citrobacter)*、霍亂(*Cholera*)、白喉(*Diphtheria*)、腸桿菌屬(*Enterobacter*)、淋球菌(*Gonococci*)、幽門螺桿菌(*Helicobacter pylori*)、克雷伯氏菌屬(*Klebsiella*)、軍團菌屬(*Legionella*)、腦膜炎球菌(*Meningococci*)、分枝桿菌(mycobacteria)、假單胞菌屬(*Pseudomonas*)、肺炎球菌屬(*Pneumonococci*)、立克次氏體細菌(rickettsia bacteria)、沙門氏菌屬(*Salmonella*)、沙雷氏菌屬(*Serratia*)、葡萄球菌屬(*Staphylococci*)、鏈球菌屬(*Streptococci*)、破傷風(*Tetanus*)、麴黴屬(*Aspergillus*)(煙麴黴、黑麴黴等)、皮膚芽孢桿菌(*Blastomyces dermatitidis*)、念珠菌屬(*Candida*)(白色念珠菌(albicans)、克柔念珠菌(krusei)、光滑念珠菌(glabrata)、熱帶念珠菌等(tropicalis)等)、新生隱球菌(*Cryptococcus neoformans*)、毛黴菌屬(Genus *Mucorales*)(毛黴菌(mucor)、犁頭黴(absidia)、根黴菌(rhizopus))、申克氏胞絲菌(*Sporothrix schenkii*)、巴西副球孢子菌(*Paracoccidioides brasiliensis*)、粗球孢子菌(*Coccidioides immitis*)、莢膜組織胞漿菌(*Histoplasma capsulatum*)、鉤端螺旋體病(*Leptospirosis*)、伯氏疏螺旋體(*Borrelia burgdorferi*)、寄生蠕蟲病

(helminth parasite) (鉤蟲、絛蟲、吸蟲、扁蟲(例如血吸蟲(*Schistosomia*))、賈第蟲(*Giardia lambia*)、旋毛蟲(*trichinella*)、脆雙核阿米巴(*Dientamoeba Fragilis*)、布氏錐蟲(*Trypanosoma brucei*)、克氏錐蟲(*Trypanosoma cruzi*)和杜氏利什曼原蟲(*Leishmania donovani*))。

X. 藥物組合物

【0470】 本發明涵蓋包括能夠結合CD16並且也能夠結合至疾病抗原的分子的組合物。本發明的組合物包括可用於製備藥物組合物的原料藥組合物(例如，不純或非滅菌的組合物)和可以以單位劑型的製劑使用的藥物組合物(即，適合於施用至受試者或患者的組合物)。這種組合物包括預防或治療有效量的能夠結合CD16並且也能夠結合至疾病抗原以便能夠介導靶細胞(例如，癌症細胞、病原體感染細胞等)的重定向的殺傷的分子，或者這種試劑和藥學上可接受的載體的組合。優選地，本發明的組合物包括預防或治療有效量的本發明的結合分子和藥學上可接受的載體。在優選的方面，這種組合物是基本上純化的(即，基本上不含限制其效果或產生不期望的副作用的物質)。

【0471】 這種組合物的各種製劑可用於施用。除了藥理活性劑之外，本發明的組合物可包含合適的藥學上可接受的載體(包括賦形劑和輔料)，其是本領域熟知的並且其是有助於藥學有效物質的施用或者有助於將活性化合物加工成可藥學上用於遞送至作用位點的製劑的相對惰性物質。例如，賦形劑可給予形狀或稠度、或者充當稀釋劑。合適的賦形劑包括但不限於穩定劑、潤濕和乳化劑、用於改變滲透壓的鹽、膠囊化劑、緩衝劑、和皮膚滲透增強劑。

【0472】 在具體實施方式中，術語**“藥學上可接受的”**指獲得聯邦政府或州政府管理機構的許可或列於美國藥典或其他通常獲得認可的藥典中，用於動

物，特別是用於人類。術語“**載體**”指與治療劑一起施用的稀釋劑、佐劑(例如弗氏佐劑(完全和不完全)、賦形劑或媒介。通常，本發明組合物的成分被單獨提供或以單位劑型的形式混合在一起，例如作為標明活性劑量的氣封容器(如安瓿或袋(sachette))中的凍乾粉或無水濃縮物。當通過輸注施用組合物時，其可以用含有無菌的藥物級水或生理鹽水(saline)的輸注瓶分配。當通過注射施用所述組合物時，則可以提供注射用無菌水或生理鹽水的安瓿，以便可以在施用前混合所述成分。

【0473】 本發明也提供了藥物包(pack)或試劑盒，其包括一個或多個容器，所述容器填充有單獨的本發明的結合分子或填充有本發明的結合分子與這種藥學上可接受的載體。另外，用於治療疾病的一種或多種其他預防或治療的試劑也可包括在藥物包或試劑盒中。本發明也提供了這樣的藥物包或試劑盒，其包括一個或多個容器，所述容器填充有本發明藥物組合物中的一種或多種成分。任選地與這類容器關聯的可以是以由管理藥物或生物製品的製造、使用或銷售的政府機構規定的形式的告示(notice)，所述告示反映了管理機構許可製造、使用或銷售，供人類施用。

【0474】 本發明提供可用於上述方法的試劑盒。試劑盒可包括本發明的結合分子中的任一種。試劑盒還可在一個或多個容器中包括用於治療癌症的一種或多種其他預防和/或治療的試劑。

XI. 施用方法

【0475】 本發明的組合物可提供為通過向受試者施用有效量的本發明的**CD16 x DA** 藥物組合物，用於治療、預防和改善與疾病、障礙或感染相關的一種或多種症狀。在優選的方面中，這類組合物是基本上純的(即基本上不含限制

其效果或產生不期望的副作用的物質)。在具體實施方式中，受試者是動物，優選哺乳動物，如非靈長類(例如牛科動物、馬、貓科動物、犬科動物、齧齒動物等)或靈長類(例如，猴子，如食蟹猴、人等)。在優選的實施方式中，受試者是人。

【0476】 施用本發明的**CD16 x DA**結合分子或藥物組合物的方法包括但不限於，腸胃外施用(例如皮內、肌內、腹膜內、靜脈內和皮下)、硬膜外和黏膜(例如鼻內和口服路徑)。在具體實施方式中，肌內、靜脈內或皮下施用本發明的結合分子。可通過任何方便的路徑，例如通過輸注或彈丸注射、通過經上皮或黏膜皮膚保護層(例如，口腔黏膜、直腸和腸道黏膜等)吸收，施用所述組合物，並且所述組合物可與其他生物活性試劑一起施用。施用可以是全身的或局部的。

【0477】 本發明也提供了本發明的結合分子的製劑被包裝在指示分子的數量的氣密密封容器，如安瓿或袋中。在一個實施方式中，這種分子作為乾燥滅菌的凍幹粉末或無水濃縮物提供在氣密密封容器中並且可以例如用水或生理鹽水重構至適當的濃度，以施用至受試者。優選地，本發明的結合分子作為乾燥無菌的凍幹粉末提供在氣密密封容器中。

【0478】 本發明的結合分子的凍幹製劑應在它們的初始容器中儲存在2℃和8℃之間並且該分子應在重構之後的12小時內、優選地6小時內、5小時內、3小時內、或1小時內施用。在可替選的實施方式中，這種分子以液體形式提供在指示分子、融合蛋白或綴合分子的數量和濃度的氣密密封容器中。優選地，液體形式提供的這種結合分子提供在氣密密封的容器中。

【0479】 可通過標準臨床技術確定本發明的這種製劑有效治療、預防或改善與障礙相關的一種或多種症狀的量。製劑中採用的精確劑量也取決於施用的

路徑和病症的嚴重性，並且應根據醫師的判斷和每個患者的情況決定。有效的劑量可從源自體外或動物模型測試系統的劑量回應曲線外推。

【0480】 如本文使用的，藥物組合物的“**有效量**”是足夠實現有益的或期望的結果的量，所述結果包括但不限於臨床結果，如減輕疾病引起的症狀、緩解感染的症狀(例如，病毒載量、發燒、疼痛、敗血症等)或癌症的症狀(例如癌症細胞的增殖、腫瘤存在、腫瘤轉移等)，從而提高患有該疾病的那些人的生活品質、減少治療該疾病需要的其它藥物的劑量、增強另一藥物治療的效果(諸如經靶向和/或內化)、延遲疾病的進展、和/或延長個體的存活。當應用於單個活性成分、單獨施用時，該術語是指單獨這個成分。當應用於組合時，該術語是指無論組合地、連續地或者同時地施用，導致治療效果的活性成分的組合量。

【0481】 有效量可在一次或多次施用中施用。為了本發明的目的，藥物、化合物或藥物組合物的有效量是這樣的量：其足以直接地或間接地殺死癌症細胞和/或減少癌症細胞的增殖，和/或消除、減少和/或延遲從癌症原發部位轉移的發展；或降低傳染性病原體的增殖(或效果)和降低和/或延遲病原體介導的疾病的發展。在一些實施方式中，藥物、化合物或藥物組合物的有效量可以結合或不結合另一藥物、化合物或藥物組合物而實現。因此，“有效量”可在施用一種或多種化療劑的背景下考慮，並且如果結合一種或多種其他試劑，期望的結果可以實現或被實現，則可以考慮以有效量給予單一試劑。儘管個體需求不同，但是確定每個組分的有效量的最佳範圍在本領域技術人員的技能範圍內。

【0482】 對於本發明涵蓋的結合分子，優選基於接收受試者的體重(kg)確定施用至患者的劑量。對於本發明涵蓋的結合分子，施用至患者的劑量通常是約0.01 μg/kg受試者的體重至約30 mg/kg受試者的體重、或更高。

【0483】 可通過修飾、比如例如脂質化增強所述分子的吸收和組織滲透而降低或改變施用本發明的結合分子的劑量和頻率。

【0484】 可計算用作單一試劑療法的施用至患者的本發明的結合分子的劑量。可替選地，所述分子可以結合其它治療性組合物使用，並且施用至患者的劑量小於當所述分子用作單一試劑療法時使用的劑量。

【0485】 本發明的藥物組合物可局部施用至需要治療的區域；這可通過例如且無限制性地局部輸注、通過注射或者通過移植物實現，所述移植物是多孔的、無孔的或膠狀的材料，其包括膜，諸如SIALASTIC®膜，或纖維。優選地，當施用本發明的分子時，必須注意使用所述分子不吸附至其上的材料。

【0486】 本發明的組合物可以在囊泡、尤其脂質體中遞送(參見Langer (1990) *"New Methods Of Drug Delivery,"* Science 249:1527-1533)；Treat等, in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989)；Lopez-Berestein, ibid., pp. 317-327)。

【0487】 利用治療或預防有效量的本發明的結合分子治療受試者可包括單次治療，或優選地可包括一系列治療。在優選的實例中，用本發明的藥物組合物治療受試者約1至10周之間，優選地2至8周之間，更優選地約3至7周之間，甚至更優選地約4周、5周或6周。本發明的藥物組合物可以施用每天一次，其中這種施用一周發生一次、一周發生兩次、每兩周發生一次、一月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、一年發生兩次或一年發生一次等。可替選地，本發明的藥物組合物可以施用一天兩次，其中這種施用一周發生一次、一周發生兩次、每兩周發生一次、一月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、

一年發生兩次或一年發生一次等。可替選地，本發明的藥物組合物可以施用一天三次，其中這種施用一周發生一次、一周發生兩次、每兩周發生一次、一月發生一次、每六周發生一次、每兩月發生一次、一年發生兩次或一年發生一次等。也將認識到用於治療的分子的有效劑量可隨著特定治療過程的推移而增加或減少。

實施例

【0488】 已經總體上描述了本發明之後，通過參考下列實施例將更容易理解本發明，下列實施例通過例證的方式提供並且不意欲限制本發明，除非指明。

實施例1

CD16結合分子的表徵

【0489】 如上所討論，產生了一系列DART®雙抗體**CD16 x DA結合分子**，其併入了不同的鼠、人源化或優化抗CD16結合結構域並且具有對下列任一種免疫特異性的結合結構域：(1)HER2/neu腫瘤抗原(來自**曲妥珠單抗**的結合結構域)、(2)對HIV抗原免疫特異性的結合結構域(來自**A32或7B2**的結合結構域)、(3)CD19 B-細胞抗原(來自**CD19 mAb** 1的結合結構域)或(4)對RSV抗原免疫特異性的結合結構域(來自**帕利珠單抗**的結合結構域)(**表14**)。

表 14

命名	特異性	CD16 VH/VL	靶 VH/VL
DART-A	CD16 x HER2/neu	CD16-M1	曲妥珠單抗
DART-B	CD16 x HER2/neu	CD16-M2	曲妥珠單抗
DART-C	CD16 x HER2/neu	hCD16-M1	曲妥珠單抗
DART-D	CD16 x HER2/neu	hCD16-M2 (VH1)	曲妥珠單抗
DART-E	CD16 x HER2/neu	hCD16-M2 (VH2)	曲妥珠單抗
DART-F	CD16 x HIV	hCD16-M1	A32

DART-G	CD16 x HIV	hCD16-M2 (VH1)	A32
DART-H	CD16 x HIV	hCD16-M1	7B2
DART-I	CD16 x HER2/neu	hCD16-M1A	曲妥珠單抗
DART-J	CD16 x HER2/neu	hCD16-M1B	曲妥珠單抗
DART-K	CD16 x HER2/neu	hCD16-M1AB	曲妥珠單抗
DART-L	CD16 x CD19	hCD16-M1	CD19 mAb 1
DART-M	CD16 x CD19	hCD16-M1B	CD19 mAb 1
DART-N	CD16 x CD19	hCD16-M1AB	CD19 mAb 1
DART-1	CD16 x HER2/neu	h3G8	曲妥珠單抗
DART-2	CD16 x RSV	h3G8	帕利珠單抗變體
DART-3	CD16 x RSV	hCD16-M1	帕利珠單抗變體
DART-4	CD16 x HIV	h3G8	7B2
DART-5	CD16 x RSV	hCD16-M1	帕利珠單抗變體
DART-6	CD16 x RSV	hCD16-M1B	帕利珠單抗變體
DART-7	CD16 x RSV	hCD16-M1AB	帕利珠單抗變體
DART-X	CD16 x HIV	CD16-M1	7B2
DART-Y	CD16 x HIV	CD16-M2	7B2
DART-Z	CD16 x HIV	4-LSN1	A32
DART-0	CD16 x HIV	h3G8	7B2

【0490】 用兩鏈雙抗體(**DART-X**、**DART-Y**和**DART-0**)(包括鼠抗體**CD16-M1**、鼠抗體**CD16-M2**、人源化抗體**3G8**和兩種普遍可商購的抗體：**LNK16**和**DJ130c**(Abcam等))進行競爭研究。進行ProteOn分析以評定測試製品與已經固定在晶片上的CD16分子的結合。CD16分子首先用捕獲的5 nM CD16-Fc(人IgG2)

融合蛋白孵育，接著用10 nM第一測試製品(測試製品1)孵育，接著用10 nM第二測試製品(測試製品2)孵育。利用抗人Fc F(ab')$_2$片段檢測結合。

【0491】 該研究揭示**CD16-M1**、**CD16-M2**、**LNK16**和**3G8**結合結構域各自結合CD16的不同表位。**CD16-M2**被發現與用於結合CD16的抗體**DJ130c**競爭；**DJ130c**已經被報導在與CD16的Fc結合位點不重疊的位點結合CD16 (Tamm, A.等(1996) "*The Binding Epitopes Of Human CD16 (Fc Gamma RIII) Monoclonal Antibodies. Implications For Ligand Binding*," J. Immunol. 157(4):1576-1581；Tamm, A.等(1996) "*The Igg Binding Site Of Human FcgammaRIIIB Receptor Involves CC' And FG Loops Of The Membrane-Proximal Domain*," J. Biol. Chem. 271(7):3659-3666)。

【0492】 對**CD16-M1**、**DJ130c**和**LNK16**在IgG存在下結合CD16A的能力進行評價。發現IgG存在抑制LNK16的結合，但是IgG存在不抑制CD16A和**CD16-M1**之間的結合。**3G8**表位已經被報導與CD16的Fc結合位點重疊(Tamm, A.等(1996) J. Biol. Chem. 271(7):3659-3666)。

【0493】 增加人IgG (hIgG)的濃度降低抗體LNK16至CD16的結合，因此表明被**LNK16**識別的表位與CD16的Fc結合位點重疊；相反，通過**DJ130c**或**CD16-M1**的CD16結合結構域的結合基本上不受影響，因此表明被這些分子識別的CD16表位不與CD16的Fc結合位點重疊(**圖8**)。

【0494】 如上所討論，CD16A具有兩種主要的同種異型，反映了158F對158V多態性。如表**15**所示，**CD16-M1**和**CD16-M2**的CD16結合結構域被發現以類似的高親和力結合至兩種CD16同種異型(比**h3G8**好大約3-25倍，其相對於CD16 158V同種異型，具有對CD16 158F同種異型10倍低的親和力。**h3G8**的結合

結構域被發現呈現快的解離率(off-rate)。利用BIACORE®格式進行分析，其中雙抗體分子被捕獲在山羊$(Fab')_2$抗人Fc表面上，並且人CD16A V/F分子(用Avitag標記)越過(passed over)捕獲的雙抗體(標準化；1:1結合擬合)。

表 15

分子	ka	kd	K_D (nM)
	人 CD16A 158F		
DART-1	1.7×10^6	1.1×10^{-1}	65.9
DART-C	1.6×10^6	3.0×10^{-4}	0.2
DART-D	4.7×10^5	1.2×10^{-3}	2.5
DART-F	1.5×10^6	3.4×10^{-4}	0.2
DART-G	4.7×10^5	1.2×10^{-3}	2.6
	人 CD16A 158V		
DART-1	1.3×10^6	9.0×10^{-3}	6.9
DART-C	1.4×10^6	3.9×10^{-4}	0.3
DART-D	5.2×10^5	1.2×10^{-3}	2.3
DART-F	1.4×10^6	3.7×10^{-4}	0.3
DART-G	5.4×10^5	1.2×10^{-3}	2.2

【0495】 進行ProteOn分析以評估所構建的雙抗體的CD16結合結構域對已經固定在晶片上的CD16-His標記的分子(R&D Systems)的結合。CD16分子經由抗PentaHis抗體固定，然後用雙抗體孵育。CD16結合研究的結果被匯總在**表16**中(DART-Z的CD16結合結構域衍生自scFv 4-LS21，其對CD16A是特異性的)。

表 16

分子	ka	kd	K_D (nM)
	人 CD16A V158F		
DART-A	4.2×10^6	3.3×10^{-4}	0.1
DART-B	2.9×10^5	4.8×10^{-4}	1.7
DART-1	5.3×10^5	3.4×10^{-2}	63.1

表 16			
分子	ka	kd	K_D (nM)
DART-C	2.8×10^{6}	2.6×10^{-4}	0.1
DART-D	4.3×10^{5}	1.0×10^{-3}	2.4
DART-E	2.3×10^{5}	1.6×10^{-3}	7.2
DART-F	4.2×10^{6}	2.4×10^{-4}	0.1
DART-G	4.7×10^{5}	8.9×10^{-4}	1.9
DART-H	4.5×10^{6}	1.9×10^{-4}	0.04
DART-4	6.1×10^{5}	4.7×10^{-2}	76.8
DART-Z	2.9×10^{5}	4.3×10^{-3}	15.2
	人 CD16A 158V		
DART-A	3.9×10^{6}	4.5×10^{-4}	0.1
DART-B	3.2×10^{5}	4.1×10^{-4}	1.3
DART-1	2.4×10^{5}	6.5×10^{-3}	26.7
DART-C	2.4×10^{6}	3.2×10^{-4}	0.1
DART-D	5.6×10^{5}	7.1×10^{-4}	1.3
DART-E	3.3×10^{5}	1.1×10^{-3}	3.3
DART-F	4.0×10^{6}	4.0×10^{-4}	0.1
DART-G	6.6×10^{5}	5.5×10^{-4}	0.8
DART-H	3.9×10^{6}	3.7×10^{-4}	0.1
DART-4	2.9×10^{6}	6.9×10^{-3}	23.3
DART-Z	2.6×10^{5}	4.2×10^{-3}	15.7
	人 CD16B		
DART-A	2.6×10^{6}	1.3×10^{-3}	0.5
DART-B	2.2×10^{5}	7.4×10^{-4}	3.3
DART-1	8.9×10^{5}	5.5×10^{-3}	6.1
DART-C	1.5×10^{6}	6.9×10^{-4}	0.5
DART-D	3.5×10^{5}	1.3×10^{-3}	3.6
DART-E	1.5×10^{5}	1.9×10^{-3}	12.5
DART-F	2.8×10^{6}	1.1×10^{-3}	0.4

表 16			
分子	ka	kd	K_D (nM)
DART-G	4.6×10^5	1.2×10^{-3}	2.6
DART-H	2.5×10^6	8.9×10^{-4}	0.4
DART-4	7.8×10^5	6.1×10^{-3}	7.8
DART-Z	N/A*	N/A*	N/A*
***DART-Z** 的 CD16 結合結構域衍生自 scFv 4-LS21，其對 CD16A 是特異性的。			

【0496】 結果表明包含**CD16-M1或CD16-M2**CD16結合結構域的雙抗體對CD16A的兩個等位基因都呈現較高的親和力並且與比較分子相比呈現較高的親和力。包含**hCD16-M2** (VH1) CD16結合結構域的雙抗體相比包含hCD16-M2 (VH2) CD16結合結構域的雙抗體呈現稍微更好的結合(比較**DART-D**與**DART-E**)。

實施例2

DART-F和**DART-G CD16結合分子對NK細胞、嗜中性粒細胞和T細胞的結合**

【0497】 為了證明本發明的**CD16 x DA結合分子**結合CD16的能力，供體受試者的全血在CD16結合雙抗體的存在下進行孵育：**DART-F**和**DART-G**、**HIV x CD3雙抗體**(作為經由其CD3結合結構域的T細胞結合的陽性對照)、**HIV x RSV雙抗體**(作為對於所有結合的陰性對照)和**h3G8 x RSV**雙抗體比較分子。孵育後，細胞用下列進行標記：抗CD56-別藻藍蛋白(CD56 APC，NK細胞標記物)、抗CD66b-異硫氰酸螢光素(CD66b FITC，嗜中性粒細胞標記物)和抗CD3-多甲藻葉綠素蛋白-Cy5.5(CD3 PerCP Cy5.5，T細胞標記物)和抗人Fc-藻紅蛋白(αhFc PE)，以檢測雙抗體結合和細胞表面。標記的細胞通過對NK細胞設門的流式細胞儀進

行分析。對第一受試者研究的共染色結果顯示在**圖9A-9C**中，並且表明**DART-F**(hCD16-M1)相對於**DART-G**(hCD16-M2)在NK細胞表面上對CD16A具有更高的親和力，這兩者相比**h3G8 x RSV**雙抗體比較分子均具有較高的親和力(**圖9A**)。相反，儘管**h3G8 x RSV**雙抗體比較分子能夠結合嗜中性粒細胞的CD16B，但**DART-G**具有較低的結合能力並且**DART-F**基本上沒有結合能力(**圖9B**)。如**圖9C**所示，CD16結合分子不能夠結合至T細胞。

【0498】 利用第二供體受試者的全血觀察到類似的結合。淋巴細胞結合(CD16A F/V)和嗜中性粒細胞結合(CD16B，未確定的同種異型)基本上如所描述的利用**DART-F**(hCD16-M1)、**DART-G**(hCD16-M1)和**h3G8 x RSV**雙抗體比較物進行評價。研究結果顯示在**圖10A-10B**中。如**圖10A**所示，**DART-F**(hCD16-M1)和**DART-G**(hCD16-M1)兩者呈現對設門的淋巴細胞群的CD16A表達細胞的結合，其中**DART-F**呈現較大的結合；**h3G8 x RSV**雙抗體比較分子呈現較弱的結合。如**圖10B**所示，與均呈現結合的**DART-G和h3G8 x RSV**雙抗體比較分子相反，**DART-F**不能夠結合設門的淋巴細胞系的CD16B表達細胞。

實施例3

抗CD16結合分子CD16-M1和CD16-M2的CD16B同種異型特異性

【0499】 為了證明本發明的**CD16 x DA結合分子**區分CD16B的糖基化同種異型NA1和NA2的能力，**DART-F**(hCD16-M1)和**h3G8 x RSV**雙抗體比較物在全血存在下進行孵育並且基本上如上所述進行分析。結果示出已經對CD66b+細胞(即嗜中性粒細胞和嗜酸粒細胞)設門的全血的雙抗體染色。**圖11A-11B**顯示這種分析的結果，並且表明**h3G8 x RSV**雙抗體比較物呈現對NA1的強結合和對NA2的中等結合。相反，**DART-F**呈現對NA2的強結合和對NA1的弱結合。

實施例4

CD16結合分子CD16-M1和CD16-M2的CD16B同種異型特異性

【0500】 為了進一步評估本發明的**CD16 x DA結合分子**結合白細胞的能力，對**CD16-M1的**CD16結合結構域結合來自全血的NK細胞和粒細胞的能力進行評價。**DART-C**在全血白細胞的存在下進行孵育並且基本上如上所述進行分析。結果示出已經對NK細胞(0.6%的白細胞)或粒細胞(49%的白細胞)設門的全血的雙抗體染色。**圖12**顯示這種分析的結果，並且表明**CD16-M1**優先結合至NK細胞。

實施例5

CD16結合分子對人CD16、食蟹猴CD16和鼠CD16的結合

【0501】 因為人CD16、食蟹猴CD16和鼠CD16的氨基酸序列享有不同程度的同源性(**圖13；分別地SEQ ID NOs:183、184和185**)，所以研究了具有抗體**CD16-M1**、**CD16-M2**和**3G8**的CD16結合結構域的**CD16 x DA結合分子**結合至人CD16、食蟹猴CD16和鼠CD16的能力。利用BIACORE®格式進行分析，其中雙抗體分子被捕獲在Her2-His-標籤表面上並且CD16分子(IgG2-Fc融合蛋白，25 nM和100 nM)越過捕獲的雙抗體(標準化；二價結合擬合估計)。研究的結果匯總在**表17**中。

表 17

CD16 結合分子	CD16 結合結構域	人 CD16 158F	食蟹猴 CD16	鼠 CD16
		K_D (nM)	K_D (nM)	K_D (nM)
DART-1	h3G8	13	29	未結合
DART-C	hCD16-M1	12	571	未結合

DART-D	hCD16-M2	4	597	未結合

【0502】 **h3G8**的CD16結合結構域被發現能夠結合食蟹猴的CD16a，其中相對於其與人CD16a的結合親和力略微下降。**DART-C**(hCD16-M1)和**DART-D**(hCD16-M2)的CD16結合結構域被發現對食蟹猴CD16具有低的親和力。所測試的CD16結合分子中沒有一個被發現能夠結合至鼠CD16，與其對人CD16的較低同源性相應。

實施例6

CD16結合分子介導的HER2/Neu陽性細胞的細胞毒性的評價

【0503】 為了證明本發明的**CD16 x DA結合分子**介導細胞殺傷的能力，**CD16 x HER2/neu結合分子**：

DART-C(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)；

DART-D(具有**hCD16-M2** CD16結合結構域)；

DART-1(具有**h3G8** CD16結合結構域)；

或**HER2/Neux RSV**雙抗體(陰性對照)在效應細胞(人PBMC(E:T = 30:1)或純化的人NK細胞(E:T = 2:1))的存在下分別以表達不同水準的HER2/neu的靶癌細胞孵育24小時。通過測量損傷細胞引起的乳酸脫氫酶(LDH)到介質中的釋放測定細胞毒性(即，重定向的細胞殺傷)百分比，基本上如下所述。該研究的結果顯示在**圖14A-14E**中。**圖14A**顯示由純化的NK細胞對N87 HER2/neu靶細胞所呈現的細胞毒性((HER2/neu表達：+++)；這種NK細胞的CD16A同種異型是158F/158F。**圖14B**顯示由純化的NK細胞對MCF7 HER2/neu靶細胞所呈現的細胞毒性(HER2/neu表達：+/-)。**圖14C**顯示由PBMCs對MDA-MB-231 HER2/neu靶細胞所呈現的細胞毒性(HER2/neu表達：+/-)；未評價這種PBMC製劑的NK細胞的CD16A同種異型。

圖14D顯示由PBMCs對N87 HER2/neu靶細胞所呈現的細胞毒性(HER2/neu表達：+++)；這種PBMC製劑的NK細胞的CD16A同種異型是158F/158V。**圖14E**顯示由PBMCs對Hs700T HER2/neu靶細胞所呈現的細胞毒性(HER2/neu表達：+/-)；這種PBMC製劑的NK細胞的CD16A同種異型是158F/158V。結果表明包含**hCD16-M1** CD16結合結構域的**CD16 x DA結合分子**相比包含**hCD16-M2** CD16結合結構域**的CD16 x DA結合分子**對HER2/neu-表達癌症細胞呈現更大的細胞毒性；並且包含這種CD16結合結構域的分子相比包含**h3G8** CD16結合結構域的**CD16 x DA結合分子**呈現更大的細胞毒性。

實施例7

CD16結合分子介導的對HIV-感染細胞的細胞毒性的評價

【0504】 為了進一步證明本發明的**CD16 x DA結合分子**介導細胞殺傷的能力，**CD16 x HIV env結合分子:**

DART-F(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)；

DART-G(具有**hCD16-M2** CD16結合結構域)；

或**DART-2**(**h3G8 x RSV**雙抗體，在這裡被用作陰性對照))在效應細胞(人PBMC(E:T = 30:1)或純化人NK細胞(E:T = 3:1)的存在下分別用表達HIV Env的靶293HEK D371孵育24小時。使用LDH重定向的細胞殺傷試驗，通過測量損傷細胞引起的乳酸脫氫酶(LDH)到介質中的釋放測定細胞毒性(即，重定向的細胞殺傷)百分比，基本上如下所述。該研究的結果顯示在**圖15A-15C**中。**圖15A**顯示由第一供體的PBMC對293HEK D371靶細胞所呈現的細胞毒性；這種PBMC製劑的NK細胞的CD16A同種異型是158F/158V。**圖15B**顯示由第二供體的PBMC對293HEK D371靶細胞所呈現的細胞毒性；這種PBMC製劑的NK細胞的CD16A同

種異型是158F/158V。**圖15C**顯示由純化的NK細胞對293HEK D371靶細胞MC所呈現的細胞毒性；NK細胞的CD16A同種異型是158F/158V。結果再次表明，包含**hCD16-M1** CD16結合結構域的**CD16 x DA結合分子**相比包含**hCD16-M2** CD16結合結構域的**CD16 x DA結合分子**對HIV env表達細胞呈現更大的細胞毒性。

【0505】 如上所示，**DART-F**和**DART-G**均是由三條多肽鏈構成的含Fc結構域的雙抗體。為了證明本發明的缺少Fc結構域的**CD16 x DA結合分子**介導細胞殺傷的能力，**CD16 x HIV env結合分子**：

DART-X(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)；

DART-Y(具有**hCD16-M2** CD16結合結構域)；

DART-0(具有**h3G8** CD16結合結構域)；

或**DART-3**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域的**CD16 x RSV**雙抗體，在這裡被用作陰性對照)在效應細胞(Jurkat/CD16A 158F(**圖16A**)或158V/NFAT-Luc細胞(**圖16B**))的存在下分別用表達HIV env蛋白的靶HEK/D371細胞孵育。利用LDH重定向的細胞殺傷試驗通過測量損傷細胞引起的乳酸脫氫酶(LDH)到介質中的釋放測定細胞毒性(即，細胞殺傷)百分比，基本上如下所述。該研究的結果顯示在**圖16A-16B**中。

【0506】 **圖16A-16B**顯示**DART-X**(具有**hCD16-M1** CD16結合結構域)呈現比**DART-Y**(具有**hCD16-M2** CD16結合結構域)更大的細胞毒性百分比。**DART-0**(具有**h3G8** CD16結合結構域)發現比**DART-Y**介導更高水準的細胞毒性，但是該效果取決於具有158V同種異型的效應細胞(**圖16A**與**圖16B**)。相反，

DART-X或**DART-Y**所介導的細胞毒性不依賴於CD16A同種異型(**圖16A**與**圖16B**)。

實施例8

與非人靈長類CD16結合的優化

【0507】 如上所示，hCD16-M1被發現對食蟹猴CD16(cynoCD16)具有低的親和力。隨機誘變被用於在hCD16-M1的CDR_L3(Kabat位置90-95)和CDR_H3(Kabat位置96-100)結構域內引入置換。對突變體進行篩選以鑒定對非人靈長類CD16(例如，cynoCD16)具有增強的結合並且對人CD16的兩個等位基因保持結合親和力的克隆。選擇被命名為"**hCD16-M1A**"的具有突變的CDR_H3的變體和被命名為"**hCD16-M1B**"的具有突變的CDR_L3的變體用於進一步分析。此外，生成組合CDR_H3和CDR_L3突變的第三變體並且將其命名為"**hCD16-M1AB**"。CDR以及VH和VL結構域的氨基酸序列已經提供在上面(**參見，例如表8**)。生成示例性的**CD16 x DA結合分子**，其併入了優化的抗CD16結合結構域：**hCD16-M1A**、**hCD16-M1B**或**hCD16-M1AB**，並具有抗HER2/neu結合結構域；並且將其分別命名為**DART-I**、**DART-J**和**DART-K**(對於總結參見**表12**並且對於詳細描述和完整的氨基酸序列參見上面)。

【0508】 包含優化的**hCD16-M1A**、**hCD16-M1B**和**CD16-M1AB**的示例性**CD16 x HER2/neu結合分子**用於結合在人(**圖17A**)、食蟹猴(**圖17B**)和獼猴(rhesus monkey)(**圖17C**)的NK細胞的表面上表達的CD16的能力通過流式細胞儀進行檢查。簡言之，將PBMC分離並且在CD16-結合雙抗體：**DART-C**(具有親本hCD16-M1 VH和VL結構域)、**DART-I**、**DART-J**、**DART-K**(分別具有優化的**hCD16-M1A**、**hCD16-M1B**和**hCD16-M1AB** VH/VL結構域)、**HER2/neu x RSV**

雙抗體(作為用於CD16結合的陰性對照)、**DART-3**(具有親本hCD16-M1 VH和VL結構域的**CD16 x RSV**雙抗體對照)或**DART-1(**h3G8 x HER2/neu雙抗體)比較分子的存在下孵育。孵育後，細胞用下列進行標記：抗CD56-別藻藍蛋白(CD56 APC，NK細胞標記物)和抗CD3-多甲藻葉綠素蛋白-Cy5.5(CD3 PerCP Cy5.5，T-細胞標記物)和抗人Fc-藻紅蛋白(αhFc PE)，以檢測雙抗體結合和細胞表面。標記的細胞通過對NK細胞設門的流式細胞儀進行分析。

【0509】 該研究的共染色結果顯示在**圖17A-17C**中並且顯示包含優化變體尤其是**hCD16-M1AB (DART-K)**的**CD16 x DA結合分子**對非人靈長類CD16呈現提高的親和力(**圖17B-17C**)，儘管包含**hCD16-M1B(DART-J)**和**hCD16-M1AB(DART-K)**的分子在該試驗中在與人CD16的結合方面呈現一些下降(**圖17A**)。觀察到陰性對照沒有結合。

【0510】 利用兩種不同的重定向的細胞殺傷試驗，評估具有優化的**hCD16-M1A**、**hCD16-M1B**、和**hCD16-M1AB**結合結構域的**CD16 x DA結合分子**與來自幾個供體的人PBMCs(huPBMCs)或食蟹猴PBMC(cynoPBMCs)效應細胞一起介導JIMT-1-Luc靶細胞的重定向的細胞殺傷的能力。來自這些研究的代表性資料呈現在**圖18A-18D**中，並且匯總在**表18**中。在兩種試驗中，**DART-C**(具有親本hCD16-M1的VH和VL結構域)、**DART-I**、**DART-J**或**DART-K**(分別具有優化的**hCD16-M1A**、**hCD16-M1B**和**hCD16-M1AB**的VH/VL結構域)；陰性對照(**HER2/neu x RSV雙抗體**或**CD16 x RSV**雙抗體，**DART-3**)；或**DART-1(**h3G8 x HER2/neu雙抗體)比較分子與以30:1的E:T比例的huPMBCs(**圖18A-18B**)或cynoPBMCs(**圖18C-18D**)和JIMT-1-Luc靶腫瘤細胞一起孵育並且測定細胞毒性(即，細胞殺傷)百分比。在一個試驗中，利用LDH重定向的細胞殺傷試驗通過測

量損傷細胞引起的乳酸脫氫酶(LDH)到介質的釋放測定細胞殺傷，基本上如上所述(**圖18A**和**18C**)。在另一試驗中，利用LUM重定向的細胞殺傷試驗通過螢光(LUM)試驗測量靶細胞的細胞螢光素酶活性測定細胞毒性，基本上如下所述(**圖18B**和**18D**)。24小時和48小時孵育後LDH試驗的EC50值(ng/mL)呈現在**表18**中。

表 18

	24 小時試驗/LDH		48 小時試驗/LDH	
	EC50，ng/mL		EC50，ng/mL	
	HuPBMCs	CynoPBMCs	HuPBMCs	CynoPBMCs
DART-1	131	170	156.1	101
DART-C	1.42	51.47	0.822	70.6
DART-I	1.05	36.98	0.492	13.31
DART-J	4.4	39.91	1.06	10.88
DART-K	10.8	29.44	2.24	6.66

【0511】 這些資料表明，儘管包含**hCD16-M1(DART-C**)的CD16結合結構域的**CD16 x DA結合分子**以**明顯**低的親和力結合cynoCD16，但是它能夠介導重定向的細胞殺傷。此外，與包含**hCD16-M1**的相同分子(**DART-C**)相比，包含優化的CD16結合結構域**hCD16-M1A**(**DART-I**)、**hCD16-M1B**(**DART-J**)或**hCD16-M1AB**(**DART-K**)的**CD16 x DA結合分子**與CynoPBMCs一起呈現提高的細胞毒性，而與huPBMCs一起呈現僅僅輕微的下降。

實施例9

CD16 x CD19結合分子

【0512】 在進一步的研究中，生成了具有抗CD19結合結構域並且併入**hCD16-M1**的抗CD16結合結構域或者**hCD16-M1B**或**hCD16-M1AB**的優化的抗CD16結合結構域的示例性**CD16 x DA結合分子**，並且分別將其命名為**DART-L**、**DART-M**和**DART-N**(對於匯總參見**表12**並且對於詳細描述和完整的氨基酸序列參見上面)。生成了三種另外的分子並且將其命名為**DART-5**(包含**hCD16-M1**)、**DART-6**(包含**hCD16-M1A**)和**DART-7**(包含**hCD16-M1AB**)，其中CD19結合結構域用抗RSV結合結構域替換(對於匯總參見表12並且對於詳細描述參見上面)，這種示例性**CD16 x RSV結合分子**在下面被用作用於CD19結合的陰性對照。

【0513】 **DART-L**、**DART-M**和**DART-N**；對照分子：**DART-5**、**DART-6**和**DART-7**；或**CD3 x CD19** DART®雙抗體duvortuxizumab(也被稱為MGD011；在WHO Drug Information, 2016, 推薦的INN: 列表116, 30(4):627-629中發現的氨基酸序列)與人PBMCs(huPBMCs)效應細胞(E:T = 30:1)一起用於介導Raji-Luc靶細胞的重定向的細胞殺傷的能力在LDH和LUM細胞殺傷試驗中進行評價，基本上如下所述。來自這些研究的代表性資料呈現在**圖19A-19D**中。LDH試驗的結果表明在24小時(**圖19A**)和48小時(**圖19B**)孵育後，**CD16 x DA結合分子**呈現與MGD011類似的細胞毒性活性，其中包含優化的CD16結合結構域**hCD16-M1B**(**DART-M**)或**hCD16-M1AB**(**DART-N**)的**CD16 x DA結合分子**相比包含**hCD16-M1**的相同分子(**DART-L**)與huPBMCs一起呈現類似的細胞毒性。在LUM試驗中，24小時(**圖19C**)和48小時(**圖19D**)之後觀察到類似結果。在這些研究中對於缺少CD19結合結構域的對照分子(**DART-5**、**DART-6**和**DART-7**)觀察到最小的細胞毒性。

【0514】 對於示例性**CD16 x DA結合分子DART-L**、**DART-M**、**DART-N**(具有對於B細胞抗原CD19的結合位點)和陰性對照：**DART-5**和**DART-6**(具有對於CD16的結合位點和對於RSV的結合位點)，評價其在體外介導自體B細胞消耗的能力。簡言之，分離自人或食蟹猴的PMBCs在增加濃度的**DART-L**、**DART-M**、**DART-N**以及缺少CD19結合結構域的對照分子**DART-5**和**DART-6**的存在下在補充介質中進行孵育。對於huPBMCs來說在孵育後的72小時和96小時(分別地，**圖20A-20B**)以及對於cynoPBMCs來說在孵育後的72小時和144小時(分別地，**圖20C-20D**)通過流式細胞儀分析B細胞水準(將CD3用於陰性選擇以及CD20用作B細胞標記物；$CD3/CD20^{+}$)。這些研究的代表性資料呈現在**圖20A-20D**中，並且表明所有**CD16 x DA結合分子**都能消耗來自huPBMCs(**圖20A-20B**)和cynoPBMCs(**圖20C-20D**)的自體B細胞。與包含**hCD16-M1**的相同分子(**DART-L**)相比，包含優化的CD16結合結構域**hCD16-M1B**(**DART-M**)或**hCD16-M1AB**(**DART-N**)的**CD16 x DA結合分子**與huPBMCs和cynoPBMCs兩者一起介導B細胞更大的減少。然而，需要更大的濃度以消耗來自cynoPBMCs的B細胞。對於多個PBMC供體，觀察到這一趨勢。對於缺少CD19結合結構域的對照分子(**DART-5**和**DART-6**)，觀察到最小的B細胞消耗。

實施例10

示例性重定向的細胞殺傷試驗

【0515】 **LDH重定向的細胞殺傷試驗**：這些試驗可以利用CytoTox 96®非放射性細胞毒性試驗試劑盒(Promega)或者定量測量LDH釋放的類似物進行，基本上如下所述。靶細胞(例如，腫瘤靶細胞)以$4x10^{5}$細胞/mL的密度(或者合適的密度以達到期望的E:T比)再懸浮在試驗介質(例如，沒有酚紅的RPMI 1640，10%

FBS，1% pen/strep)中，並且優選地，使用在試驗開始時存活率高於90%並且以合適的密度(例如，$4x10^5$細胞/mL)懸浮在試驗介質中以達到10:1或30:1的效應子對靶(E:T)細胞比例(或其它期望的E:T比)的分離的純化效應細胞(例如，從人或非人靈長類(例如，食蟹猴)供體純化的PBMC或NK細胞)。將靶細胞懸浮液的等分試樣(例如，50 μL，約20,000個細胞)、效應細胞懸浮液的等分試樣(例如，100 μL，對於10:1 E:T比，約20,000個細胞)和連續稀釋的測試製品(例如，5倍或10倍)的等分試樣(例如，50 μL)加入到微量滴定板的複製孔(duplicate wells)中並且孵育(37°C，含有5% CO_2)24-96小時、或者更長時間，如果期望的話。在孵育結束時，將裂解溶液的等分試樣(例如，30 μL)加入並且將板孵育約10分鐘以使靶細胞完全裂解。然後使板離心以將細胞碎片粒化(例如，212 x g，5分鐘)，並且將上清液的等分試樣(例如，40 μL)從試驗板的各孔轉移到平底ELISA板以及將LDH底物溶液的等分試樣(例如，40 μL)加入到各孔中。將板在黑暗中室溫下孵育10-20分鐘並且將終止液(Promega Cat # G183A)的等分試樣(例如，40 μL)加入。在Victor2 Multilabel平板閱讀器(Perkin Elmer # 1420-014)或類似物上在490 nm在1小時內測量光學密度。具體的的細胞裂解利用下式由光學密度(OD)資料進行計算：

$$\text{細胞毒性 (\%)} = \frac{100 \times (\text{樣品的 OD - AICC 的OD})}{\text{MR的OF - SR的OD}}$$

其中，“**AICC**”是抗體非依賴性細胞毒性，“**MR**”是最大釋放，並且“**SR**”是自發釋放。劑量回應曲線利用GraphPad Prism 6軟體(或類似物)通過將細胞毒性數值曲線擬合成S形劑量響應函數而產生。

【0516】 **發光(LUM)重定向的細胞殺傷試驗**：這些試驗可利用Steady-Glo螢光素酶底物(Promega)或類似底物進行，並且在改造成表達螢光素酶(luc)報告基因的活靶細胞(例如，JIMT-1-Luc，Raji-Luc細胞)中定量測量細胞螢光素酶活性，基本上如下所述。用於這些試驗的製劑和設置基本上與上述LDH試驗相同。孵育後，培養基的等分試樣(例如，100 μL)從各孔去除並且將Steady-Glo螢光素酶底物((Promega)或類似物)的等分試樣(例如，100 μL)隨後加入各孔，接著上下移液幾次以使靶細胞完全裂解。板在黑暗中室溫下孵育10分鐘，然後利用VictorX4 Multilabel平板閱讀器(Perkin Elmer # 1420-014或類似物)測量發光強度，其中發光相對光單位(RLU)作為輸出讀出。RLU指示靶細胞的相對存活率。劑量回應曲線利用GraphPad Prism 6軟體(或類似物)通過將RLU值曲線擬合成S形劑量回應函數而產生。

【0517】 本說明書中提及的所有出版品和專利以相同的程度通過引用併入本文，如同每個出版品或專利申請被明確且單獨地指出以其全部內容通過引用併入一樣。儘管本發明已經結合其具體實施方式進行了描述，但是應當理解它能進一步改變，並且本申請案意欲涵蓋本發明的任何變化、應用或改編，其總體上遵循本發明的原理並且包括落入本發明所屬領域內的已知或慣常實踐內的並且可適用於前文所提出的實質特徵的這種偏離。

【符號說明】

【0518】 無

【序列表】

<110> 美商宏觀基因股份有限公司(MacroGenics, Inc.)

<120> 雙特異性 CD16-結合分子及其在疾病治療中的用途

<130> 1301.0153PCT

<140> 107144245
<140> 2018-12-07

<150> US 62/597,800
<151> 2017-12-12

<160> 191

<170> PatentIn 版本 3.5

<210> 1
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 人 IgG CL κ 結構域

<400> 1

```
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1               5                  10                  15

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

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
        35                  40                  45
```

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 2
<211> 104
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(104)
<223> 人 IgG CL λ 結構域

<400> 2

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

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
50 55 60

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
65 70 75 80

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
85 90 95

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100

<210> 3
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 人 IgG1 CH1 結構域

<400> 3

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

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 4
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 人 IgG2 CH1 結構域

<400> 4

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val

<210> 5
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 人 IgG3 CH1 結構域

<400> 5

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 6
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(98)
<223> 人 IgG4 CH1 結構域

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val

<210> 7
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(15)
<223> 人 IgG1 鉸鏈結構域

<400> 7

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 8
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> 人 IgG2 鉸鏈結構域

<400> 8

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 9
<211> 62
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(62)

<223> 人 IgG3 鉸鏈結構域

<400> 9

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

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
50 55 60

<210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(12)
<223> 人 IgG4 鉸鏈結構域

<400> 10

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

<210> 11
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 包含穩定 S228P 置換的 IgG4 鉸鏈結構域

<400> 11

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

<210> 12
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 示例性 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 12

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

〈210〉 13
〈211〉 216
〈212〉 PRT
〈213〉 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(216)
<223> 示例性 IgG2 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (216)..(216)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 13

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
50 55 60

Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln
65 70 75 80

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly
85 90 95

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
100 105 110

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
115 120 125

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

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
180 185 190

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 14
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 示例性 IgG3 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 14

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 15
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(217)
<223> 示例性 IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 15

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

〈210〉 16
〈211〉 8
〈212〉 PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體 1 間隔肽

<400> 16

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 優選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 17

Gly Gly Cys Gly Gly Gly
1 5

<210> 18
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 18

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 19
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 19

Leu Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 20

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

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 21

Ala Ser Thr Lys Gly
1 5

<210> 22
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 可選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 22

Leu Glu Pro Lys Ser Ser
1 5

<210> 23
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體 2 含半胱氨酸間隔肽

<400> 23

Ala Pro Ser Ser Ser
1 5

<210> 24
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> 含半胱氨酸異源二聚體-促進結構域

<400> 24

Gly Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 25
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(6)
<223> 含半胱氨酸異源二聚體-促進結構域

<400> 25

Val Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 26
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(6)
<223> 含半胱氨酸異源二聚體-促進結構域

<400> 26

Ala Glu Pro Lys Ser Cys
1 5

<210> 27
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> 含半胱氨酸異源二聚體-促進結構域

<400> 27

Gly Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 28
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(6)
<223> 含半胱氨酸異源二聚體-促進結構域

<400> 28

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
1 5

<210> 29
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> "E-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 29

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 30
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> "K-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 30

Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 31
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 含半胱氨酸 "E-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 31

Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
20 25

<210> 32
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 含半胱氨酸 "K-螺旋"異源二聚體-促進結構域

<400> 32

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
1 5 10 15

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
20 25

<210> 33
<211> 46
<212> PRT
<213> 停乳鏈球菌

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(46)
<223> 鏈球菌菌株G148的蛋白G的白蛋白-結合結構域 3 (ABD3)

<400> 33

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asp Asn Ala Lys Ser Ala Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 34
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鏈球菌菌株G148的蛋白G的變體去免疫白蛋白-結合結構域 3 (ABD3)

<400> 34

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Asp Asn Ala Lys Ser Ala Glu

20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Asp Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 35
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鏈球菌菌株G148的蛋白G的變體去免疫白蛋白-結合結構域 3 (ABD3)

<400> 35

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Ala Ala Asn Asn Ala Lys Thr Val Glu
20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 36
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鏈球菌菌株G148的蛋白G的變體去免疫白蛋白-結合結構域 3 (ABD3)

<400> 36

Leu Ala Glu Ala Lys Val Leu Ala Asn Arg Glu Leu Asp Lys Tyr Gly
1 5 10 15

Val Ser Asp Tyr Tyr Lys Asn Leu Ile Ser Asn Ala Lys Ser Val Glu

20 25 30

Gly Val Lys Ala Leu Ile Ala Glu Ile Leu Ala Ala Leu Pro
35 40 45

<210> 37
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體肽

<400> 37

Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Glu
1 5

<210> 38
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體肽

<400> 38

Val Glu Pro Lys Ser Ala Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 39
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體肽

<400> 39

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

<210> 40
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體肽

<400> 40

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> scFv 連接體肽

<400> 41

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

<210> 42
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> "長" 連接體肽

<400> 42

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

1 5 10

<210> 43
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體肽

<400> 43

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 可選連接體肽

<400> 44

Leu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 45
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A 置換的 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

〈400〉 45

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175
```

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 46
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 S442C 置換的 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 46

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

〈210〉 47
〈211〉 217

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A/S442C 置換的 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 47

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 48
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 M252Y/S254T/T256E 置換的 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 48

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 49
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 置換的 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 49

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 50
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 具有 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E/S442C 置換的 IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 50

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Cys Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 51
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> "帶有杵的"IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 51

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 52
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 置換的"帶有杵的"IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 52

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

```
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            180                 185                 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
        195                 200                 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
    210                 215
```

<210> 53
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A 置換的"帶有臼的"IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)

<223> Xaa是賴氨酸(K)或不存在

<400> 53

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

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160
```

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
210 215

<210> 54
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 L234A/L235A/M252Y/S254T/T256E 置換的"帶有臼的" IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 54

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

```
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
        115                 120                 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175

Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
            180                 185                 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln
        195                 200                 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Xaa
    210                 215
```

<210> 55
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 M252Y/S254T/T256E 置換的 IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 55

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
```

115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 56
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 M252Y/S254T/T256E 置換的"帶有杵的" IgG4 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 56

Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

```
1               5                   10                  15

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
            20                  25                  30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
        35                  40                  45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
    50                  55                  60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
65                  70                  75                  80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
                85                  90                  95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
            100                 105                 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
        115                 120                 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
    130                 135                 140

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145                 150                 155                 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
                165                 170                 175

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
```

180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 57
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 具有 M252Y/S254T/T256E 置換的"帶有臼的" IgG1 CH2-CH3 結構域

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (217)..(217)
<223> Xaa 是賴氨酸(K)或不存在

<400> 57

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

Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
115 120 125

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

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Xaa
210 215

<210> 58
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1A 的優化 VH 結構域

<400> 58

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

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

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

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

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

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

Val Arg Gln Ser Ala Asn Ser Pro Val Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 59
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1B 的優化 VL 結構域

<400> 59

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asp Tyr Thr Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

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

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 優化抗人 CD16 單克隆 hCD16-M1A 和 hCD16-M1AB 的重鏈的 CDR3

<400> 60

Gln Ser Ala Asn Ser Pro Val Pro Tyr
1 5

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 優化抗人CD16單克隆抗體hCD16-M1B和hCD16-M1AB的人源化抗人CD16單克隆抗體的輕鏈的的CDR3

<400> 61

Gln Asp Tyr Thr Asn Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 62
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人CD16 mAb h3G8的VH結構域

<400> 62

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

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

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

Cys Ala Gln Ile Asn Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 63
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 mAb h3G8 的 VL 結構域

<400> 63

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 64
<211> 118
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(118)
<223> 鼠抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M1 的 VH 結構域

<400> 64

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

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

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

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

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

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

Ile Arg Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 65
<211> 107
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 鼠抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M1 的 VH 結構域

<400> 65

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1、hCD16-M1A、hCD16-M1B 和 HCD16-M1AB 的重鏈的 CDR1

<400> 66

Asn Tyr Gly Met Ser
1 5

<210> 67
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1、hCD16-M1A、hCD16-M1B 和 HCD16-M1AB 的重鏈的 CDR2

<400> 67

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

Gly

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1 和 HCD16-M1B 的重鏈的 CDR3

<400> 68

Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr
1 5

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(11)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M1 的人源化抗人 CD16 單克隆抗體的輕鏈的的 CDR1

<400> 69

Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His Val Ala
1 5 10

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1、hCD16-M1A、hCD16-M1B 和 HCD16-M1AB 的輕鏈的 CDR2

<400> 70

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1 和 hCD16-M1A 的輕鏈的 CDR3

<400> 71

Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 72
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M1 的人源化衍生物的 VH 結構域

<400> 72

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

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

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

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

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

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

Val Arg Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鼠抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M1 的人源化衍生物的 VL 結構域

<400> 73

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

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

<210> 74
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 hCD16-M1、hCD16-M1A、hCD16-M1B 和 HCD16-M1AB 的輕鏈的 CDR1

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His Val Ala
1 5 10

<210> 75
<211> 119
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(119)
<223> 鼠抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 的 VH 結構域

<400> 75

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 76
<211> 107
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(107)
<223> 鼠抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 的 VL 結構域

<400> 76

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asp Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Gly Asp Ile Ser Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 77
<211> 5
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 和 hCD16-M2 的重鏈的 CDR1

<400> 77

Ser Ser Ala Met His
1 5

<210> 78
<211> 17
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(17)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 和 hCD16-M2 的重鏈的 CDR2

<400> 78

Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 79
<211> 10
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(10)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 和 hCD16-M2 的重鏈的 CDR3

<400> 79

Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe Ala Ser
1 5 10

<210> 80
<211> 11
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(11)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 和 hCD16-M2 的輕鏈的 CDR1

<400> 80

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser Ile His
1 5 10

<210> 81
<211> 7
<212> PRT

<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(7)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 和 hCD16-M2 的輕鏈的 CDR2

<400> 81

Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 82
<211> 9
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(9)
<223> 抗人 CD16 單克隆抗體 CD16-M2 和 hCD16-M2 的輕鏈的 CDR3

<400> 82

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu Thr
1 5

<210> 83
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體的 VH 結構域
hCD16-M2 VH1

<400> 83

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

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

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

Ala Thr Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 84
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗人 CD16 單克隆抗體的 VH 結構域
hCD16-M2 VH2

<400> 84

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn Glu Arg Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

〈210〉 85
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 人源化抗人 CD16 單克隆抗體的 VL 結構域
hCD16-M2 VL1

〈400〉 85

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 86
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗NKG2D單克隆抗體KYK-1.0的VH結構域

<400> 86

Glu 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 Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 87
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗NKG2D單克隆抗體KYK-1.0的VL結構域

<400> 87

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

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

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

Asp Asp Asp Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Phe Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Ser Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Asp Asn Asn Asp Glu
85 90 95

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

<210> 88
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗NKG2D單克隆抗體KYK-2.0的VH結構域

<400> 88

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

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

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

Ala Phe Ile Arg Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 89
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗NKG2D單克隆抗體KYK-2.0的VL結構域

<400> 89

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Phe Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 90
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD2 單克隆抗體 CD2 mAb Lo-CD2a 的 VH 結構域

<400> 90

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asp Gly Ser Ile Asp Tyr Val Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人CD2單克隆抗體CD2 mAb Lo-CD2a的VL結構域

<400> 91

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

Gln Ser Val Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Ser Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Arg Thr Gly Gln Ser
35 40 45

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

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

Ser Gly Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Phe
85 90 95

Thr His Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 92
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD8 單克隆抗體 OKT8 的 VH 結構域

<400> 92

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

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

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 93
<211> 112

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD8 單克隆抗體 OKT8 的 VL 結構域

<400> 93

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

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

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

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

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

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

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

<210> 94
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD8 單克隆抗體 TRX2 的 VH 結構域

<400> 94

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Pro His Tyr Asp Gly Tyr Tyr His Phe Phe Asp Ser Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD8 單克隆抗體 TRX2 的 VL 結構域

<400> 95

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

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

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

Tyr Asn Thr Asp Ile Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Tyr Gln Tyr Asn Asn Gly Tyr Thr
                85                  90                  95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100                 105
```

<210> 96
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體的 VH 結構域 B7-H3 mAb-B VH1

<400> 96

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 97
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體的 VH 結構域 B7-H3 mAb-B VH2

<400> 97

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 98
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體的 VL 結構域 B7-H3 mAb-B VL1

<400> 98

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

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

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體的 VL 結構域 B7-H3 mAb-B VL2

<400> 99

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Pro
85 90 95

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

<210> 100
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體 B7-H3 mAb-C 的 VH 結構域

<400> 100

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

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

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

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

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

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

Ala Arg His Asp Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 101
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體 B7-H3 mAb-C 的 VL 結構域

<400> 101

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

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

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

Tyr Asn Thr Lys Thr Leu Pro Glu Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 102
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體 B7-H3 mAb-D 的 VH 結構域

<400> 102

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體 B7-H3 mAb-D 的 VL 結構域

<400> 103

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

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

<210> 104
<211> 122
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體恩比利珠單抗的 VH 結構域

<400> 104

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

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

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

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

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

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

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 B7-H3 單克隆抗體恩比利珠單抗的 VL 結構域

<400> 105

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

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

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

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

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

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

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

<210> 106
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗 CEACAM5 / CEACAM6 單克隆抗體 16C3 的 VH 結構域

<400> 106

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

1 5 10 15

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

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Ala Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Ser Gly Asp Thr Lys Tyr Asn Gln Asn Phe
50 55 60

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

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 107
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 人源化抗 CEACAM5 / CEACAM6 單克隆抗體 16C3 的 VL 結構域

〈400〉 107

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

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

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

Trp Gly Ala Ser Asn Leu Ala Asp Gly Met Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Arg Gln Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

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

<210> 108
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗 CEACAM5 / CEACAM6 單克隆抗體 hMN15 的 VH 結構域

<400> 108

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

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

Tyr Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu

35 40 45

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

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

Leu Phe Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr
85 90 95

Phe Cys Ala Arg Asp Met Gly Ile Arg Trp Asn Phe Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Pro Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 109
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人源化抗 CEACAM5 / CEACAM6 單克隆抗體 hMN15 的 VL 結構域

<400> 109

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

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

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

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

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

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

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 110
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗人 EGFR 單克隆抗體西妥昔單抗的 VH 結構域

<400> 110

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

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

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

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

Ser Arg Leu Ser Ile Asn Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe

65 70 75 80

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115

<210> 111
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗人 EGFR 單克隆抗體西妥昔單抗的 VL 結構域

<400> 111

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Thr Asn
20 25 30

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

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Asn Asn Trp Pro Thr
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 112
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗人 EGFR 單克隆抗體帕尼單抗的 VH 結構域

<400> 112

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

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

Asp Tyr Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln Ser Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly His Ile Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

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

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95

Cys Val Arg Asp Arg Val Thr Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 113
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 嵌合抗人 EGFR 單克隆抗體帕尼單抗的 VL 結構域

<400> 113

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

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

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

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

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

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

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

<210> 114
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 EphA2 單克隆抗體 EphA2 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 114

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

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

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

Gly Met Ile Trp Gly Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ser Ala Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

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

Ser Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 115

<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 EphA2 單克隆抗體 EphA2 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 115

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

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

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

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Tyr Thr Leu Tyr Thr
85 90 95

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

<210> 116
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 抗人 EphA2 單克隆抗體 EphA2 mAb2 的 VH 結構域

<400> 116

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 117
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 EphA2 單克隆抗體 EphA2 mAb2 的 VL 結構域

<400> 117

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

Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

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

Pro Lys 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 Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Ser
85 90 95

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

<210> 118
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 EphA2 單克隆抗體 EphA2 mAb3 的 VH 結構域

<400> 118

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

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

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

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

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

Thr Arg Asp Glu Ser Asp Arg Pro Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 119
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 EphA2 單克隆抗體 EphA2 mAb3 的 VL 結構域

<400> 119

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

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

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

Phe Trp Ala Ser Thr Arg His Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
50 55 60

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

Gly Asp Leu Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Thr Pro Tyr
85 90 95

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

<210> 120
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 gpA33 單克隆抗體 gpA33 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 120

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

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

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

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

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 121
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 gpA33 單克隆抗體 gpA33 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 121

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Arg Ser Ser Ile Ser Phe Met
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 122
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 HER2/neu 單克隆抗體瑪格妥昔單抗的 VH 結構域

<400> 122

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

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

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

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

Gln Asp Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

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

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 123
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 HER2/neu 單克隆抗體瑪格妥昔單抗的 VL 結構域

<400> 123

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 124
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 HER2/neu 單克隆抗體曲妥珠單抗的 VH 結構域

<400> 124

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 125
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 HER2/neu 單克隆抗體曲妥珠單抗的 VL 結構域

<400> 125

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

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

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

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

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

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

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

<210> 126
<211> 119

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 HER2/neu 單克隆抗體帕妥株單抗的 VH 結構域

<400> 126

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

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

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

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

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 127
<211> 107
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 HER2/neu 單克隆抗體帕妥株單抗的 VL 結構域

<400> 127

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

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

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

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

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

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

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

<210> 128
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 VEGF 單克隆抗體貝伐珠單抗的 VH 結構域

<400> 128

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Tyr Pro His Tyr Tyr Gly Ser Ser His Trp Tyr Phe Asp Val
100 105 110

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

<210> 129
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 VEGF 單克隆抗體貝伐珠單抗的 VL 結構域

<400> 129

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

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

Tyr Phe Thr Ser Ser Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 130
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 5T4 單克隆抗體 5T4 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 130

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

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

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

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

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

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

Ala Gly Gly Asn Pro Tyr Tyr Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 131
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 5T4 單克隆抗體 5T4 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 131

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

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

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

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

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

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

<210> 132
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 5T4 單克隆抗體 5T4 mAb 2 的 VH 結構域

<400> 132

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Tyr Gly Pro Leu Phe Thr Thr Val Val Asp Pro Asn Ser Tyr
100 105 110

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

<210> 133
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 5T4 單克隆抗體 5T4 mAb 2 的 VL 結構域

<400> 133

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

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

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

Pro Lys 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 Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95

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

<210> 134
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 IL13R(α)2 單克隆抗體 hu08 的 VH 結構域

<400> 134

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 135
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 IL13R(α)2 單克隆抗體 hu08 的 VL 結構域

<400> 135

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 136
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD123 單克隆抗體 CD123 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 136

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser His Leu Leu Arg Ala Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 137
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD123 單克隆抗體 CD123 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 137

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

Glu Arg Val Thr Met Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Asn
85 90 95

Asp Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 138

<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD19 單克隆抗體 CD19 mAb 1 的 VH 結構域

<400> 138

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

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

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

Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala
50 55 60

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 139
<211> 106
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD19 單克隆抗體 CD19 mAb 1 的 VL 結構域

<400> 139

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

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

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

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

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

<210> 140
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 HIV env 單克隆抗體 7B2 的 VH 結構域

<400> 140

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 141
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗 HIV env 單克隆抗體 7B2 的 VL 結構域

<400> 141

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

Lys

〈210〉 142
〈211〉 123
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 抗 HIV env gp120 單克隆抗體 A32 的 VH 結構域

〈400〉 142

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala Phe Asp Ile
100 105 110

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

<210> 143
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗HIV env gp120單克隆抗體A32的VL結構域

<400> 143

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 144
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 帕利珠單抗的抗 RSV 糖蛋白 F 單克隆抗體變體的 VH 結構域

<400> 144

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

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

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

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

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

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

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

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 145
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 帕利珠單抗的抗 RSV 糖蛋白 F 單克隆抗體變體的 VL 結構域

<400> 145

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

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

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

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

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

<210> 146
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(192)
<223> 人 CD16A 的 158F 異型的胞外結構域 (ECD)

<400> 146

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
50 55 60

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
65 70 75 80

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Phe
145 150 155 160

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

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
180 185 190

<210> 147
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(192)
<223> 人 CD16A 的 158V 異型的胞外結構域 (ECD)

<400> 147

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
50 55 60

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
65 70 75 80

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
145 150 155 160

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

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
180 185 190

<210> 148
<211> 184
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(184)
<223> 人CD16B的NA1異型的胞外結構域（ECD）

<400> 148

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Asn
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
50 55 60

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
65 70 75 80

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Val Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Asp Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe His Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
145 150 155 160

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

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser
180

<210> 149
<211> 184
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(184)
<223> 人 CD16B 的 NA2 異型的胞外結構域 (ECD)

<400> 149

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
50 55 60

Asn Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
65 70 75 80

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Asp Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe His Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
145 150 155 160

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

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser
180

<210> 150
<211> 184
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(184)
<223> 食蟹猴的 CD16 的胞外結構域 (ECD)

<400> 150

Gly Met Arg Ala Glu Asp Leu Pro Arg Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Arg Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Arg Trp Phe His Asn Glu
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Thr Ser Ser Tyr Phe Ile Ala Ala Ala Arg
50 55 60

Val Asn Asn Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Ser Leu Ser Thr Leu
65 70 75 80

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Glu Ser Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

His Ser Trp Lys Asn Thr Leu Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His Gln Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Ile
145 150 155 160

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

Asp Leu Ala Val Ser Ser Ile Ser
180

<210> 151
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-A"的第一多肽鏈

<400> 151

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

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

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

Asn Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Thr Pro Glu Lys Arg Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro
165 170 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
180 185 190

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

Tyr Tyr Cys Ile Arg Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr Trp Gly
210 215 220

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val
225 230 235 240

Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr
260 265 270

```
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
        275                 280                 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
    290                 295                 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305                 310                 315                 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
            340                 345                 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
        355                 360                 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
    370                 375                 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385                 390                 395                 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
                405                 410                 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
            420                 425                 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
        435                 440                 445
```

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

<210> 152
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-A"的第二多肽鏈

<400> 152

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
115 120 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile
130 135 140

Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala
165 170 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn
180 185 190

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 153
<211> 227
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子 "DART-A"的第三多肽鏈("共同的雙抗體多肽鏈")

<400> 153

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Pro Gly Lys
225

<210> 154
<211> 497
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-B"的第一多肽鏈

<400> 154

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

```
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala
            20                  25                  30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys
        115                 120                 125

Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
    130                 135                 140

Thr Ser Ser Ala Met His Trp Val Lys Lys Asn Pro Gly Gln Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn
                165                 170                 175

Glu Arg Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Ser
            180                 185                 190
```

```
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ala Thr Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe Ala Ser Trp
    210                 215                 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu
225                 230                 235                 240

Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
                245                 250                 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys
            260                 265                 270

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
        275                 280                 285

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
    290                 295                 300

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
305                 310                 315                 320

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
                325                 330                 335

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
        355                 360                 365
```

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
370 375 380

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
385 390 395 400

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
405 410 415

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
420 425 430

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
435 440 445

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
450 455 460

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
465 470 475 480

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
485 490 495

Lys

<210> 155
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-B"的第二多肽鏈

〈400〉 155

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser
            20                  25                  30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asp Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
        35                  40                  45

Lys Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

Gly Asp Ile Ser Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
        115                 120                 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile
    130                 135                 140

Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala
                165                 170                 175
```

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn
180 185 190

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 156
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-C"的第一多肽鏈

<400> 156

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
115 120 125

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

Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro
165 170 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
180 185 190

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

Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr Trp Gly
210 215 220

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val
225 230 235 240

Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr
260 265 270

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
275 280 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
290 295 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305 310 315 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
325 330 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
340 345 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
355 360 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
370 375 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385 390 395 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
405 410 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
420 425 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
435 440 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

<210> 157
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-C"的第二多肽鏈

<400> 157

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
        115                 120                 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile
    130                 135                 140

Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala
                165                 170                 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205
```

Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 158
<211> 497
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-D"的第一多肽鏈

<400> 158

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

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

Thr Ser Ser Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn
165 170 175

Glu Arg Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
180 185 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

Tyr Tyr Cys Ala Thr Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe Ala Ser Trp
210 215 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu
225 230 235 240

Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys
260 265 270

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
275 280 285

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
290 295 300

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
305 310 315 320

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
325 330 335

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
355 360 365

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
370 375 380

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
385 390 395 400

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
405 410 415

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
420 425 430

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
435 440 445

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
450 455 460

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
465 470 475 480

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
485 490 495

Lys

<210> 159
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-D"的第二多肽鏈

<400> 159

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
115 120 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile
130 135 140

Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala
165 170 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn
180 185 190

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 160
<211> 497
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-E"的第一多肽鏈

<400> 160

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
115 120 125

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

Thr Ser Ser Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile Lys Tyr Asn
165 170 175

Glu Arg Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser
180 185 190

Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val
195 200 205

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe Ala Ser Trp
210 215 220

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu
225 230 235 240

Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys
260 265 270

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro
275 280 285

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
290 295 300

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
305 310 315 320

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
325 330 335

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
355 360 365

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
370 375 380

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
385 390 395 400

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp
405 410 415

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
420 425 430

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
435 440 445

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
450 455 460

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
465 470 475 480

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
485 490 495

Lys

<210> 161
<211> 499
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-F"的第一多肽鏈

<400> 161

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
130 135 140

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr
165 170 175

Phe Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
180 185 190

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

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

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
225 230 235 240

Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu
245 250 255

Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly
260 265 270

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
275 280 285

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
290 295 300

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
305 310 315 320

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
325 330 335

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
340 345 350

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
355 360 365

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
405 410 415

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
450 455 460

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
485 490 495

Pro Gly Lys

<210> 162
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-F"的第二多肽鏈

<400> 162

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
115 120 125

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ser
130 135 140

Ser Ser Gly Ala His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Tyr Pro Gly Lys
145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr
165 170 175

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu
180 185 190

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala
210 215 220

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
225 230 235 240

Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
245 250 255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 163
<211> 500
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-G"的第一多肽鏈

<400> 163

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu
115 120 125

Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly
130 135 140

Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn Asp Gly Ile
165 170 175

Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys
180 185 190

Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Gly Tyr Arg Tyr Ala Ser Trp Phe
210 215 220

Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
225 230 235 240

Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
245 250 255

Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly
260 265 270

Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
275 280 285

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
290 295 300

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
305 310 315 320

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
325 330 335

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
340 345 350

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
355 360 365

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
370 375 380

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
385 390 395 400

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
405 410 415

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
420 425 430

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
435 440 445

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
450 455 460

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
465 470 475 480

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
485 490 495

Ser Pro Gly Lys
500

<210> 164
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-G"的第二多肽鏈

<400> 164

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

```
Lys Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
        115                 120                 125

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ser
    130                 135                 140

Ser Ser Gly Ala His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Tyr Pro Gly Lys
145                 150                 155                 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr
                165                 170                 175

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu
            180                 185                 190

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala
        195                 200                 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala
    210                 215                 220
```

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
225 230 235 240

Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
245 250 255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 165
<211> 502
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-H"的第一多肽鏈

<400> 165

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

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
130 135 140

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln
145 150 155 160

Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly
165 170 175

Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
180 185 190

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
195 200 205

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

Pro Glu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225 230 235 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
275 280 285

Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
290 295 300

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
305 310 315 320

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
325 330 335

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
340 345 350

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
355 360 365

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
370 375 380

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
385 390 395 400

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
405 410 415

Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
420 425 430

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
435 440 445

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
450 455 460

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
465 470 475 480

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
485 490 495

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 166
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-H"的第二多肽鏈

<400> 166

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Phe Lys
115 120 125

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

Thr Glu Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Leu Ala Tyr Ile Ser Lys Asn Gly Glu Tyr Ser Lys Tyr Ser
165 170 175

Pro Ser Ser Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
180 185 190

Ser Val Phe Leu Gln Leu Asp Arg Leu Ser Ala Asp Asp Thr Ala Val
195 200 205

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

Gln Tyr Ile Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Ala Arg Val Thr Val Ser
225 230 235 240

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala
245 250 255

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
260 265 270

Lys Glu

<210> 167
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-1"的第一多肽鏈

<400> 167

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

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

Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
145 150 155 160

Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr
165 170 175

Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys
180 185 190

Asn Gln Val Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala
195 200 205

Thr Tyr Tyr Cys Ala Gln Ile Asn Pro Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly
210 215 220

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val
225 230 235 240

Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr
260 265 270

```
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
        275                 280                 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
    290                 295                 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305                 310                 315                 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
                325                 330                 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
            340                 345                 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
        355                 360                 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
    370                 375                 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385                 390                 395                 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
                405                 410                 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
            420                 425                 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
        435                 440                 445
```

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

<210> 168
<211> 272
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-1"的第二多肽鏈

<400> 168

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Phe Asp
20 25 30

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

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

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

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

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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
115 120 125

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

Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro
145 150 155 160

Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr
165 170 175

Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp
180 185 190

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

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr
210 215 220

Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225 230 235 240

Ser Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
245 250 255

Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 169
<211> 495
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x RSV 結合分子"DART-3"的第一多肽鏈

<400> 169

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

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

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

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

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

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp
165 170 175

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
180 185 190

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

Tyr Cys Val Arg Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr Trp Gly Gln
210 215 220

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala
225 230 235 240

Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His
260 265 270

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
275 280 285

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
290 295 300

```
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
305                 310                 315                 320

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
                325                 330                 335

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
            340                 345                 350

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
        355                 360                 365

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
    370                 375                 380

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

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
                405                 410                 415

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
            420                 425                 430

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
        435                 440                 445

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
    450                 455                 460

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
465                 470                 475                 480
```

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

<210> 170
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x RSV結合分子"DART-3"的第二多肽鏈

<400> 170

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

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

Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
145 150 155 160

Ala Leu Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr
165 170 175

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys
180 185 190

Asn Gln Val Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala
195 200 205

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val
210 215 220

Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
225 230 235 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
245 250 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 171
<211> 272
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-X"的第一多肽鏈

<400> 171

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

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Lys Leu Val Glu Ser
115 120 125

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

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln

145 150 155 160

Thr Pro Glu Lys Arg Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly
165 170 175

Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
180 185 190

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg
195 200 205

Ser Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ile Arg Gln Ser Ala Arg Ala
210 215 220

Pro Glu Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
225 230 235 240

Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
245 250 255

Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys
260 265 270

〈210〉 172
〈211〉 274
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 CD16 x HIV env 結合分子"DART-X"的第二多肽鏈

〈400〉 172

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Phe Lys
115 120 125

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

Thr Glu Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Leu Ala Tyr Ile Ser Lys Asn Gly Glu Tyr Ser Lys Tyr Ser
165 170 175

Pro Ser Ser Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
180 185 190

Ser Val Phe Leu Gln Leu Asp Arg Leu Ser Ala Asp Asp Thr Ala Val
195 200 205

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

Gln Tyr Ile Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Ala Arg Val Thr Val Ser
225 230 235 240

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala
245 250 255

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
260 265 270

Lys Glu

<210> 173
<211> 273
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-Y"的第一多肽鏈

<400> 173

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

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser
115 120 125

Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met Ser Cys Lys
130 135 140

Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Ser Ala Met His Trp Val Lys Lys
145 150 155 160

Asn Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asn His Tyr Asn
165 170 175

Asp Gly Ile Lys Tyr Asn Glu Arg Phe Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr
180 185 190

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

Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Gly Tyr Arg Tyr Ala

210 215 220

Ser Trp Phe Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu
260 265 270

Lys

<210> 174
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env 結合分子"DART-Y"的第二多肽鏈

<400> 174

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

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Thr Ser
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asp Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Ser Val Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Gly Asp Ile Ser Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Val Phe Lys
115 120 125

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

Thr Glu Tyr Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Leu Ala Tyr Ile Ser Lys Asn Gly Glu Tyr Ser Lys Tyr Ser
165 170 175

Pro Ser Ser Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
180 185 190

Ser Val Phe Leu Gln Leu Asp Arg Leu Ser Ala Asp Asp Thr Ala Val
195 200 205

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

Gln Tyr Ile Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Ala Arg Val Thr Val Ser
225 230 235 240

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala
245 250 255

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
260 265 270

Lys Glu

<210> 175
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD16A scFv 4-LS21 的 VH 結構域

<400> 175

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

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

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

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

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

Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 176
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗人 CD16A scFv 4-LS21 的 VL 結構域

<400> 176

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

Thr Ala Thr Ile Ser Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Gln Asp Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

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

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

<210> 177
<211> 499
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env x HIV env 三價結合分子 "TRIDENT-A"的第一多肽鏈

<400> 177

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
100 105 110

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

115 120 125

Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
130 135 140

Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr
165 170 175

Phe Tyr Pro Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
180 185 190

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

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

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
225 230 235 240

Gly Glu Val Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu
245 250 255

Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly
260 265 270

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
275 280 285

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

290 295 300

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
305 310 315 320

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
325 330 335

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
340 345 350

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
355 360 365

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
370 375 380

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
385 390 395 400

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
405 410 415

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
420 425 430

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
435 440 445

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
450 455 460

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

465 470 475 480

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
485 490 495

Pro Gly Lys

<210> 178
<211> 271
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env x HIV env 三價結合分子 "TRIDENT-A"的第二多肽鏈

<400> 178

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
115 120 125

Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ser
130 135 140

Ser Ser Gly Ala His Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Tyr Pro Gly Lys
145 150 155 160

Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr
165 170 175

Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu
180 185 190

Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala
195 200 205

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala
210 215 220

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
225 230 235 240

Thr Lys Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys
245 250 255

Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265 270

<210> 179
<211> 453
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env x HIV env 三價結合分子 "TRIDENT-A"的第三多肽鏈

<400> 179

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

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

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

Trp Ile Gly Tyr Ile His Tyr Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Ile Thr Ile Ser Gln His Thr Ser Glu Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Val Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Gly Thr Arg Leu Arg Thr Leu Arg Asn Ala Phe Asp Ile
100 105 110

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

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly

130 135 140

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

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

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

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

Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys
210 215 220

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

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

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

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

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

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu

305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

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

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

Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 180
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> CD16 x HIV env x HIV env 三價結合分子 "TRIDENT-A"的第四多肽鏈

<400> 180

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Ile Ile Ser Glu Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Asp Ile
85 90 95

His Asn Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Arg Thr
100 105 110

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

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

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

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

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

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

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 181
<211> 456
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env x HIV env 三價結合分子 "TRIDENT-B"的第三多肽鏈

<400> 181

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

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

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

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

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

65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

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

Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220

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

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

245 250 255

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
260 265 270

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

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
290 295 300

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
305 310 315 320

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
325 330 335

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

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

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

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 182
<211> 220
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HIV env x HIV env 三價結合分子 "TRIDENT-B"的第四多肽鏈

<400> 182

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

Glu Arg Ala Thr Ile His Cys Lys Ser Ser Gln Thr Leu Leu Tyr Ser
20 25 30

Ser Asn Asn Arg His Ser Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Leu Tyr Trp Ala Ser Met Arg Leu Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Asn Asn Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Ile Tyr Tyr Cys His Gln
85 90 95

Tyr Ser Ser His Pro Pro Thr Phe Gly His Gly Thr Arg Val Glu Ile
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 183
<211> 254
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(254)
<223> 人CD16

<400> 183

```
Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala
1               5                  10                  15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
            20                  25                  30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
        35                  40                  45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
    50                  55                  60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65                  70                  75                  80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
            100                 105                 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
        115                 120                 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
    130                 135                 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145                 150                 155                 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
                165                 170                 175
```

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 184
<211> 254
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(254)
<223> 食蟹猴 CD16

<400> 184

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

Gly Met Arg Ala Glu Asp Leu Pro Arg Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Arg Val Thr Leu Lys Cys Gln

```
         35                  40                  45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Arg Trp Phe His Asn Glu
     50                  55                  60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Thr Ser Ser Tyr Phe Ile Ala Ala Ala Arg
65                  70                  75                  80

Val Asn Asn Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Ser Leu Ser Thr Leu
                85                  90                  95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
            100                 105                 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Glu Ser Ile His Leu Arg Cys
        115                 120                 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
    130                 135                 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His Gln Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145                 150                 155                 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Ile
                165                 170                 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
            180                 185                 190

Asp Leu Ala Val Ser Ser Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
        195                 200                 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
```

210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Met Lys Lys Ser Ile Pro Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240

Glu Asp His Lys Phe Lys Trp Ser Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 185
<211> 267
<212> PRT
<213> 家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(267)
<223> 鼠 CD16

<400> 185

Met Thr Leu Asp Thr Gln Met Phe Gln Asn Ala His Ser Gly Ser Gln
1 5 10 15

Trp Leu Leu Pro Pro Leu Thr Ile Leu Leu Leu Phe Ala Phe Ala Asp
20 25 30

Arg Gln Ser Ala Ala Leu Pro Lys Ala Val Val Lys Leu Asp Pro Pro
35 40 45

Trp Ile Gln Val Leu Lys Glu Asp Met Val Thr Leu Met Cys Glu Gly
50 55 60

Thr His Asn Pro Gly Asn Ser Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Trp Ser
65 70 75 80

Ser Ile Arg Ser Gln Val Gln Ser Ser Tyr Thr Phe Lys Ala Thr Val
85 90 95

Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Met Glu Gln Thr Arg Leu Ser
100 105 110

Asp Pro Val Asp Leu Gly Val Ile Ser Asp Trp Leu Leu Leu Gln Thr
115 120 125

Pro Gln Arg Val Phe Leu Glu Gly Glu Thr Ile Thr Leu Arg Cys His
130 135 140

Ser Trp Arg Asn Lys Leu Leu Asn Arg Ile Ser Phe Phe His Asn Glu
145 150 155 160

Lys Ser Val Arg Tyr His His Tyr Lys Ser Asn Phe Ser Ile Pro Lys
165 170 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr Tyr Cys Lys Gly Ser Leu Gly
180 185 190

Ser Thr Gln His Gln Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Asp Pro
195 200 205

Ala Thr Thr Ser Ser Ile Ser Leu Val Trp Tyr His Thr Ala Phe Ser
210 215 220

Leu Val Met Cys Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Phe Tyr
225 230 235 240

Val Arg Arg Asn Ile Gln Thr Pro Arg Asp Tyr Trp Arg Lys Ser Leu
245 250 255

Ser Ile Arg Lys His Gln Ala Pro Gln Asp Lys
260 265

<210> 186
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-I"的第一多肽鏈

<400> 186

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

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

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys
115 120 125

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

Ser Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro
165 170 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
180 185 190

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

Tyr Tyr Cys Val Arg Gln Ser Ala Asn Ser Pro Val Pro Tyr Trp Gly
210 215 220

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Glu Val
225 230 235 240

Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr
260 265 270

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
275 280 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
290 295 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305 310 315 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
325 330 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
340 345 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
355 360 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
370 375 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385 390 395 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
405 410 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
420 425 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
435 440 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

<210> 187
<211> 268
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x HER2/neu結合分子"DART-J"的第二多肽鏈

<400> 187

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asp Tyr Thr Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

```
Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
        115                 120                 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile
    130                 135                 140

Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145                 150                 155                 160

Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala
                165                 170                 175

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn
            180                 185                 190

Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
        195                 200                 205

Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr
    210                 215                 220

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
225                 230                 235                 240

Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val
                245                 250                 255

Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
            260                 265
```

〈210〉 188
〈211〉 496
〈212〉 PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x CD19 結合分子"DART-L"的第一多肽鏈

<400> 188

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

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

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

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu

145 150 155 160

Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp
165 170 175

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
180 185 190

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

Tyr Cys Val Arg Gln Ser Ala Arg Ala Pro Glu Pro Tyr Trp Gly Gln
210 215 220

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val
225 230 235 240

Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr
260 265 270

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
275 280 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
290 295 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305 310 315 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

325 330 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
340 345 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
355 360 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
370 375 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385 390 395 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
405 410 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
420 425 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
435 440 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

〈210〉 189

<211> 269
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x CD19 結合分子"DART-L"的第二多肽鏈

<400> 189

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
            20                  25                  30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Pro Leu
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
            100                 105                 110

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

Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu
    130                 135                 140
```

Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
145 150 155 160

Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr
165 170 175

Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys
180 185 190

Asn Gln Val Phe Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala
195 200 205

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225 230 235 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
245 250 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 190
<211> 269
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x CD19 結合分子"DART-M"的第二多肽鏈

<400> 190

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Val Gly Thr His
20 25 30

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

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

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

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Asp Tyr Thr Asn Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

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

Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu
130 135 140

Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys
145 150 155 160

Ala Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr
165 170 175

Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys

180 185 190

Asn Gln Val Phe Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala
195 200 205

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr
210 215 220

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly
225 230 235 240

Gly Lys Val Ala Ala Cys Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys
245 250 255

Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu
260 265

<210> 191
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD16 x CD19 結合分子"DART-N"的第一多肽鏈

<400> 191

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

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

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

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Asp His Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro
115 120 125

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser
130 135 140

Asn Tyr Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
145 150 155 160

Trp Val Ala Thr Ile Ser Gly Gly Gly Ser Tyr Thr Phe Tyr Pro Asp
165 170 175

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser
180 185 190

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

Tyr Cys Val Arg Gln Ser Ala Asn Ser Pro Val Pro Tyr Trp Gly Gln
210 215 220

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val
225 230 235 240

Ala Ala Cys Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala
245 250 255

Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr
260 265 270

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
275 280 285

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
290 295 300

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
305 310 315 320

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
325 330 335

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
340 345 350

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
355 360 365

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
370 375 380

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
385 390 395 400

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
405 410 415

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
420 425 430

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
435 440 445

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
450 455 460

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
465 470 475 480

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
485 490 495

【發明申請專利範圍】

【第1項】 一種CD16 x 疾病抗原 (CD16 x DA)結合分子，其包括能夠結合CD16的表位的CD16結合結構域以及能夠結合疾病抗原的表位的疾病抗原-結合結構域，其中所述CD16結合結構域和所述疾病抗原-結合結構域各自包括：

包含CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域的抗體可變重鏈(VH)結構域；以及

包含CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域的抗體可變輕鏈(VL)結構域；

其中所述CD16結合結構域包括：

(I) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(II) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(III) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(IV) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(V)(A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(VI) (A) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(VII) 包含SEQ ID NO:83的氨基酸序列的VH結構域；和

包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL結構域；或

(VIII) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VL結構域；或

(IX) 包含SEQ ID NO:84的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL結構域；或

(X)包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VL結構域；或

(XI) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VL結構域；或

(XII) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VL結構域。

【第2項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述分子是雙特異性抗體、雙特異性雙抗體、雙特異性TandAb、雙特異性三價分子或雙特異性CAR。

【第3項】 如請求項2所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述分子能夠結合多於一個的疾病抗原和/或多於一個的CD16的表位。

【第4項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述CD16結合結構域包括：

(I) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(II) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(III) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(IV) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(V)(A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【第5項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述CD16結合結構域包括：

(A) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VL結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VL結構域；或

(D) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VL結構域。

【第6項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述CD16結合結構域包括：

(A) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【第7項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述CD16結合結構域包括：

包含SEQ ID NO:83或SEQ ID NO:84的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL結構域。

【第8項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述疾病抗原是癌抗原並且所述疾病是癌症。

【第9項】 如請求項8所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【第10項】 如請求項8所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述癌抗原選自由下列組成的組：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D_l56-22、DR5、E_l

系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R_{24}、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生肽、T_5A_7、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5、和Y半抗原、Le^y。

【第11項】 如請求項10所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述疾病抗原是5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD19、CD123、EGRF、EphA2、HER2/neu、IL13Rα2或VEGF。

【第12項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述疾病抗原是病原體相關抗原。

【第13項】 如請求項12所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述病原體相關抗原選自由下列組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【第14項】 如請求項13所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述疾病抗原是HIV env抗原。

【第15項】 如請求項1所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述分子是：

(A) 雙抗體，所述雙抗體是包含兩條、三條、四條或五條多肽鏈的共價結合的複合物；或

(B) 三價結合分子，所述三價結合分子是包含三條、四條或五條多肽鏈的共價結合的複合物；或

(C) 雙特異性抗體。

【第16項】 如請求項15所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述分子包含Fc區。

【第17項】 如請求項16所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述Fc區具有IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4同種型。

【第18項】 如請求項16所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中所述Fc區是變體Fc區，包含：

(A) 一個或多個氨基酸修飾，其減少所述變體Fc區對於FcγR的親和力；和/或

(B) 一個或多個氨基酸修飾，其增加所述變體Fc區的血清半衰期。

【第19項】 如請求項18所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，其中：

(A) 減少所述變體Fc區對於FcγR的親和力的所述一個或多個氨基酸修飾包括L234A、L235A、或L234A和L235A的置換；和/或

(B) 增加所述變體Fc區的血清半衰期的所述一個或多個氨基酸修飾包括M252Y；M252Y和S254T；M252Y和T256E；M252Y、S254T和T256E；或K288D和H435K的置換，

其中所述編號是如Kabat中EU索引的編號。

【第20項】 一種CD16結合分子，其包含CD16結合結構域，所述CD16結合結構域包括：

包含CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域的抗體可變重鏈(VH)結構域；以及

包含CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域的抗體可變輕鏈(VL)結構域；

其中所述CD16結合結構域包括：

(I) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:69的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(II) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(III) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:71的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(IV) (A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:68的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的CDR_L3結構域；或

(V)(A) 包含SEQ ID NO:66的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:67的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:60的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:74的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:70的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:61的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【第21項】 如請求項20所述的CD16結合分子，其中所述分子包含：

(A) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VL結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:73的氨基酸序列的VL結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:72的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VL結構域；或

(D) 包含SEQ ID NO:58的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:59的氨基酸序列的VL結構域。

【第22項】 一種CD16結合分子，其包含CD16結合結構域，所述CD16結合結構域包括：

包含CDR_H1結構域、CDR_H2結構域和CDR_H3結構域的抗體可變重鏈(VH)結構域；以及

包含CDR_L1結構域、CDR_L2結構域和CDR_L3結構域的抗體可變輕鏈(VL)結構域；

其中所述CD16結合結構域包括：

(A) 包含SEQ ID NO:77的氨基酸序列的CDR_H1結構域；

(B) 包含SEQ ID NO:78的氨基酸序列的CDR_H2結構域；

(C) 包含SEQ ID NO:79的氨基酸序列的CDR_H3結構域；

(D) 包含SEQ ID NO:80的氨基酸序列的CDR_L1結構域；

(E) 包含SEQ ID NO:81的氨基酸序列的CDR_L2結構域；和

(F) 包含SEQ ID NO:82的氨基酸序列的CDR_L3結構域。

【第23項】 如請求項22所述的CD16結合分子，其中所述分子包含：

包含SEQ ID NO:83或SEQ ID NO:84的氨基酸序列的VH結構域和包含SEQ ID NO:85的氨基酸序列的VL結構域。

【第24項】 如請求項20所述的CD16結合分子，其中所述分子選自由下列組成的組：抗體、多特異性抗體、Fab'片段、$F(ab')_2$片段、(Fv)片段、單鏈(scFv)、單鏈抗體、二硫化物連接的雙特異性Fv (sdFv)、雙抗體、三價結合分子和CAR-T分子。

【第25項】 一種藥物組合物，其包括如請求項1-19中任一項所述的CD16 x 疾病抗原結合分子和藥學上可接受的載體。

【第26項】 一種藥物組合物，其包括如請求項20-24中任一項所述的CD16結合分子和藥學上可接受的載體。

【第27項】 一種如請求項25所述的藥物組合物在製造用於治療特徵在於表達所述疾病抗原的疾病的藥物中的用途。

【第28項】 如請求項25所述的藥物組合物，用於治療特徵在於表達疾病抗原的需要其的受試者中的疾病。

【第29項】 如請求項27所述的用途，其中所述CD16 x 疾病抗原結合分子能夠結合多於一個的疾病抗原和/或多於一個的CD16的表位。

【第30項】 如請求項27所述的用途，其中所述疾病抗原是癌抗原，並且所述疾病是癌症。

【第31項】 如請求項30所述的用途，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴細胞

淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【第32項】 如請求項30所述的用途，其中所述癌抗原選自由下列組成的組：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D$_1$56-22、DR5、E$_1$系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R$_{24}$、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生肽、T$_5$A$_7$、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5、和Y半抗原、Le^y。

【第33項】 如請求項32所述的用途，其中所述疾病抗原是5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD19、CD123、EGRF、EphA2、HER2/neu、IL13Rα2或VEGF。

【第34項】 如請求項27所述的用途，其中所述疾病抗原是病原體相關抗原。

【第35項】 如請求項34所述的用途，其中所述病原體相關抗原選自由下列組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【第36項】 如請求項35所述的用途，其中所述疾病抗原是HIV env抗原。

【第37項】 一種如請求項1-19中任一項所述的CD16 x 疾病抗原結合分子在製備用於治療以表達所述疾病抗原為特徵的疾病的藥物中的用途。

【第38項】 如請求項1-19中任一項所述的CD16 x 疾病抗原結合分子，用於治療特徵在於所述疾病抗原的表達的疾病。

【第39項】 如請求項37所述的用途，其中所述CD16 x 疾病抗原結合分子能夠結合多於一種疾病抗原和/或多於一個CD16表位。

【第40項】 如請求項37所述的用途，其中所述疾病抗原是癌抗原並且所述疾病是癌症。

【第41項】 如請求項40所述的用途，其中所述癌症選自由下列組成的組：腎上腺癌、膀胱癌、乳腺癌、結直腸癌、胃癌、成膠質細胞瘤、腎癌、非小細胞肺癌、急性淋巴細胞性白血病、急性髓細胞樣白血病、慢性淋巴細胞性白血病、慢性髓細胞樣白血病、毛細胞白血病、伯基特淋巴瘤、彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、套細胞淋巴瘤、邊緣區淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤、小淋巴細胞淋巴瘤、多發性骨髓瘤、黑色素瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮膚癌、腎細胞癌、睾丸癌和子宮癌。

【第42項】 如請求項40所述的用途，其中所述癌抗原選自由下列組成的組：19.9、4.2、A33、ADAM-9、AH6、ALCAM、B1、B7-H3、BAGE、β-聯蛋白、血型ALe^b/Le^y、伯基特淋巴瘤抗原-38.13、C14、CA125、羧肽酶M、CD5、CD19、CD20、CD22、CD23、CD25、CD27、CD28、CD33、CD36、CD40/CD154、CD45、CD56、CD46、CD52、CD56、CD79a/CD79b、CD103、CD123、CD317、CDK4、CEA、CEACAM5/CEACAM6、CO17-1A、CO-43、CO-514、CTA-1、CTLA-4、細胞角蛋白8、D1.1、D$_1$56-22、DR5、E$_1$系列、EGFR、肝配蛋白受體、EphA2、Erb、GAGE、GD2/GD3/GM2神經節苷脂、GICA 19-9、gp100、Gp37、gp75、gpA33、HER2/neu、HMFG、人乳頭瘤病毒-E6/人乳頭瘤病毒-E7、HMW-MAA、I抗原、IL13Rα2、整聯蛋白β6、JAM-3、KID3、KID31、KS 1/4泛癌抗原、L6、L20、LEA、LUCA-2、M1:22:25:8、M18、M39、MAGE、MART、間皮素、MUC-1、MUM-1、Myl、N-乙醯葡糖胺基轉移酶、擬糖蛋白、NS-10、OFA-1、OFA-2、制瘤素M、p15、p97、PEM、PEMA、PIPA、PSA、PSMA、前列腺酸磷酸鹽、R$_{24}$、ROR1、鞘脂、SSEA-1、SSEA-3、SSEA-4、sTn、T細胞受體衍生肽、T$_5$A$_7$、TAG-72、TL5、TNF-受體、TNF-γ受體、TRA-1-85、轉鐵蛋白受體、5T4、TSTA、VEGF、VEGF受體、VEP8、VEP9、VIM-D5、和Y半抗原、Le^y。

【第43項】 如請求項42所述的用途，其中所述疾病抗原是5T4、B7-H3、CEACAM5/CEACAM6、CD19、CD123、EGRF、EphA2、HER2/neu、IL13Rα2或VEGF。

【第44項】 如請求項37所述的用途，其中所述疾病抗原是病原體相關抗原。

【第45項】 如請求項37所述的用途，其中所述病原體相關抗原選自由下列組成的組：單純皰疹病毒感染的細胞蛋白(ICP)47、單純皰疹病毒gD、愛潑斯坦-

巴爾病毒LMP-1、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2A、愛潑斯坦-巴爾病毒LMP-2B、人類免疫缺陷病毒gp160、人類免疫缺陷病毒gp120、人類免疫缺陷病毒gp41等、人乳頭瘤病毒E6、人乳頭瘤病毒E7、人T細胞白血病病毒gp64、人T細胞白血病病毒gp46和人T細胞白血病病毒gp21。

【第46項】 如請求項44所述的用途，其中所述疾病抗原是HIV env抗原。

【發明圖式】

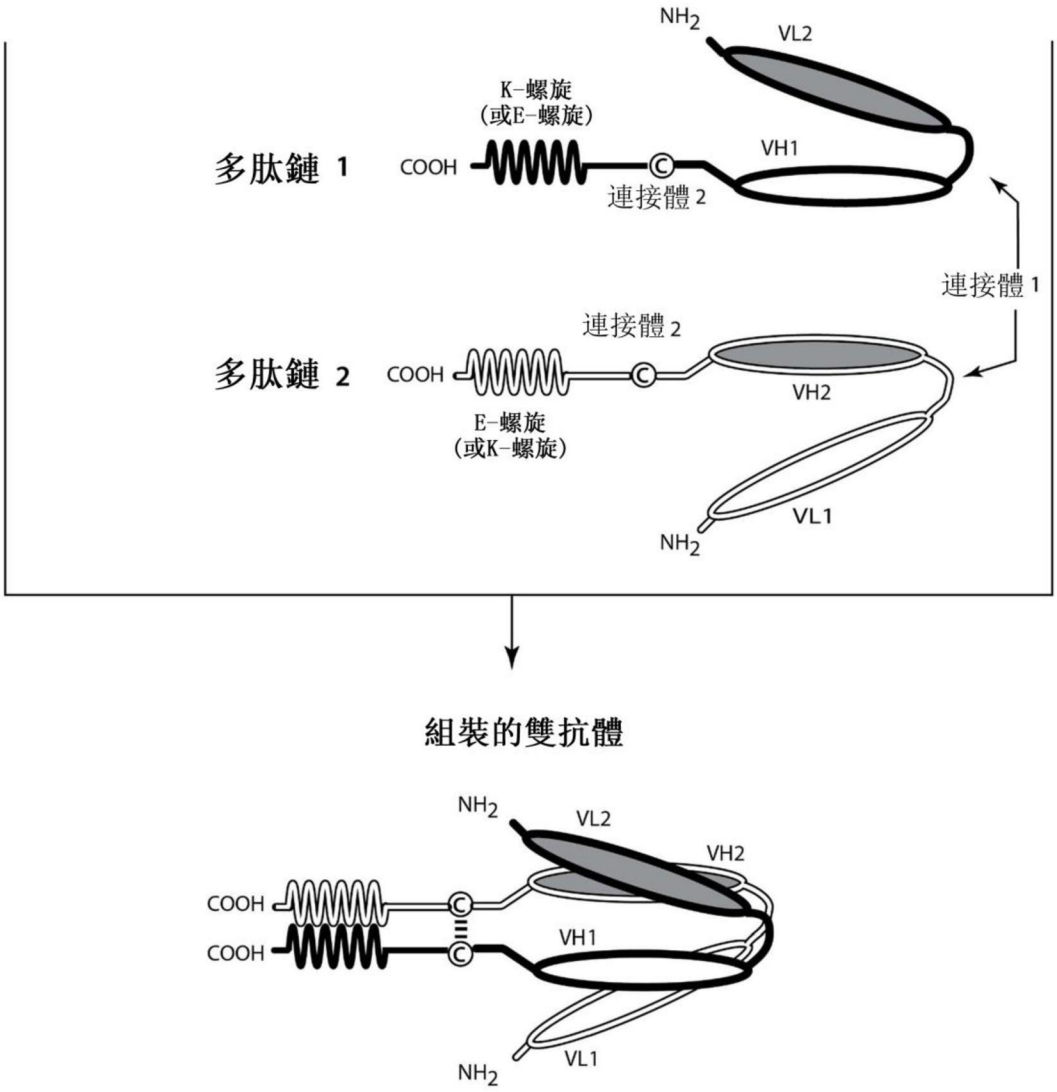

NH2
VL2
K-螺旋
(或E-螺旋)
多肽鏈 1
COOH
VH1
連接體 2
連接體 1
連接體 2
多肽鏈 2
COOH
VH2
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL1
NH2
組裝的雙抗體
NH2
VL2
VH2
COOH
COOH
VH1
VL1
NH2

圖 1A

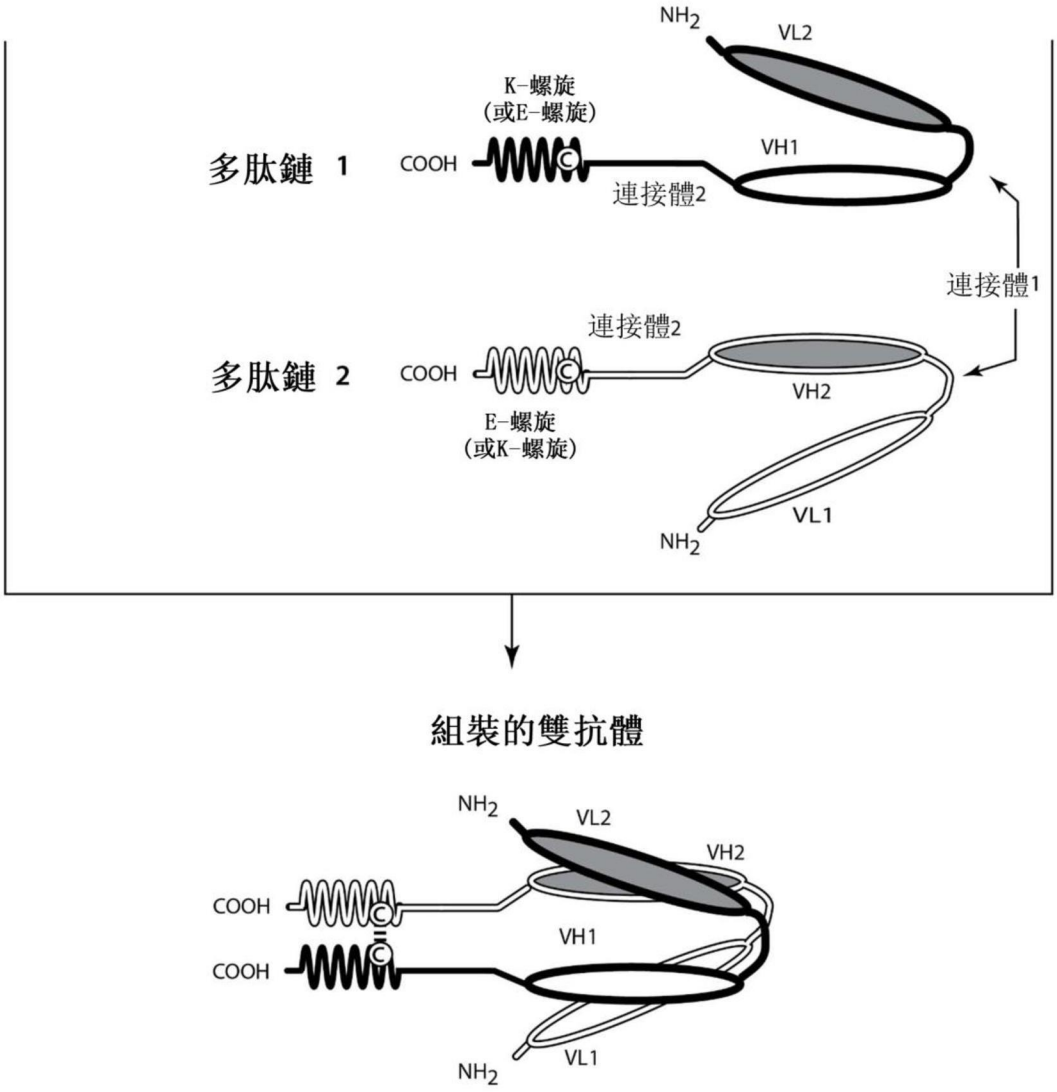

NH2
VL2
K-螺旋
(或E-螺旋)
多肽鏈 1
COOH
VH1
連接體2
連接體1
連接體2
多肽鏈 2
COOH
VH2
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL1
NH2
組裝的雙抗體
NH2
VL2
VH2
COOH
VH1
COOH
VL1
NH2

圖 1B

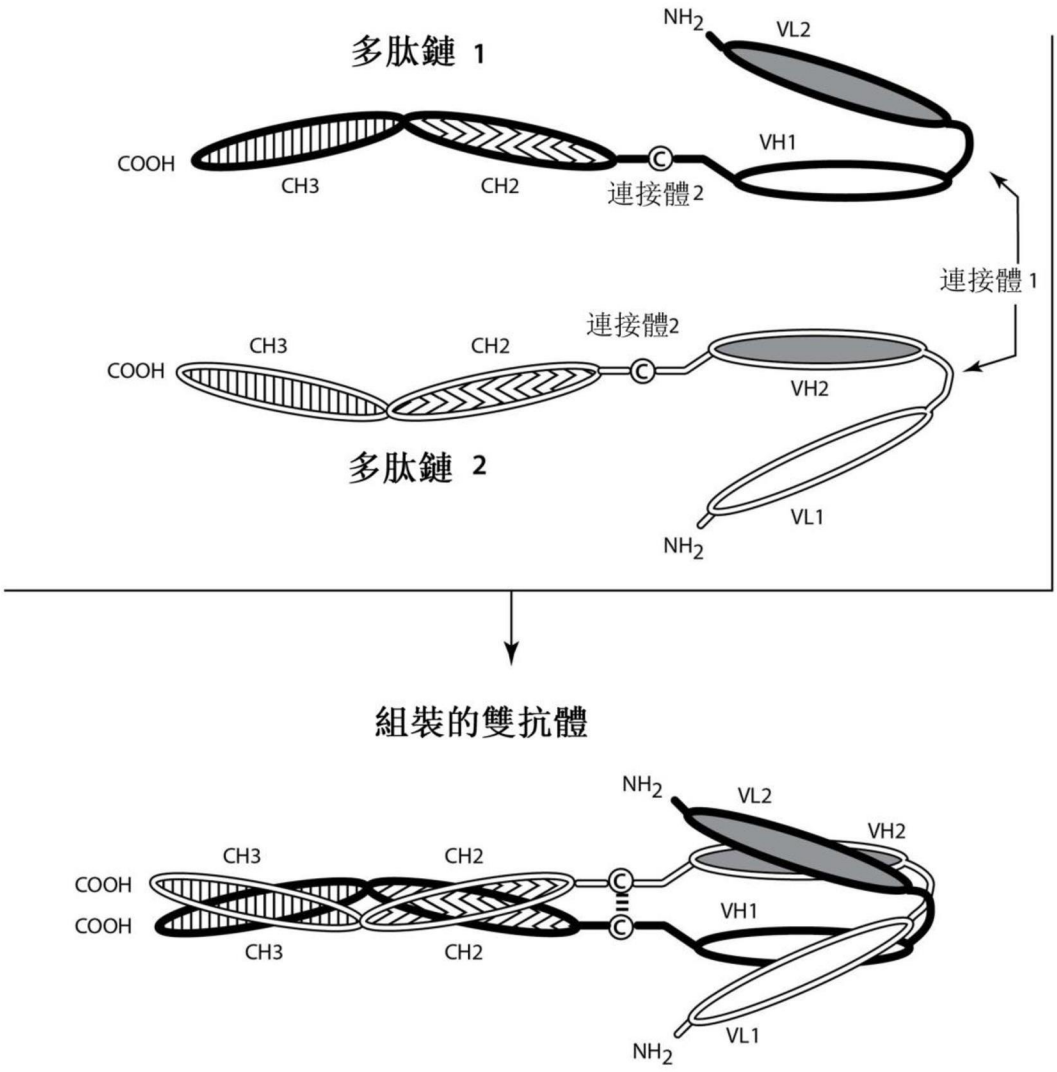

多肽鏈 1
NH2
VL2
COOH
CH3
CH2
連接體2
VH1
連接體 1
連接體2
CH3
CH2
COOH
VH2
多肽鏈 2
VL1
NH2
組裝的雙抗體
NH2
VL2
VH2
CH3
CH2
COOH
COOH
VH1
CH3
CH2
NH2
VL1

圖 2

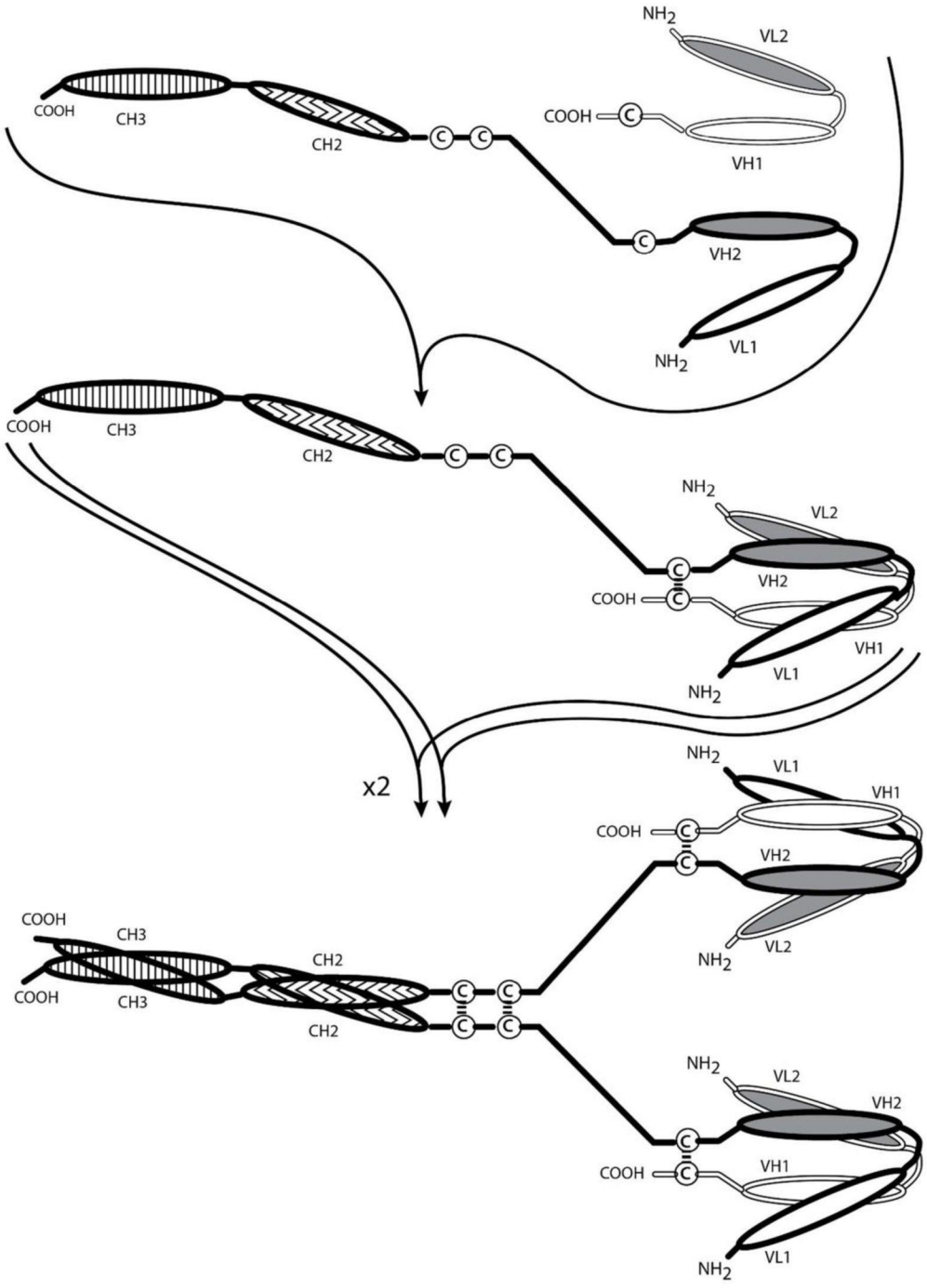

NH2
VL2
COOH
CH3
CH2
C
COOH
VH1
VH2
NH2
VL1
COOH
CH3
CH2
NH2
VL2
VH2
COOH
VH1
VL1
NH2
x2
NH2
VL1
VH1
COOH
VH2
NH2
VL2
COOH
CH3
CH2
COOH
CH3
CH2
NH2
VL2
VH2
COOH
VH1
NH2
VL1

圖 3A

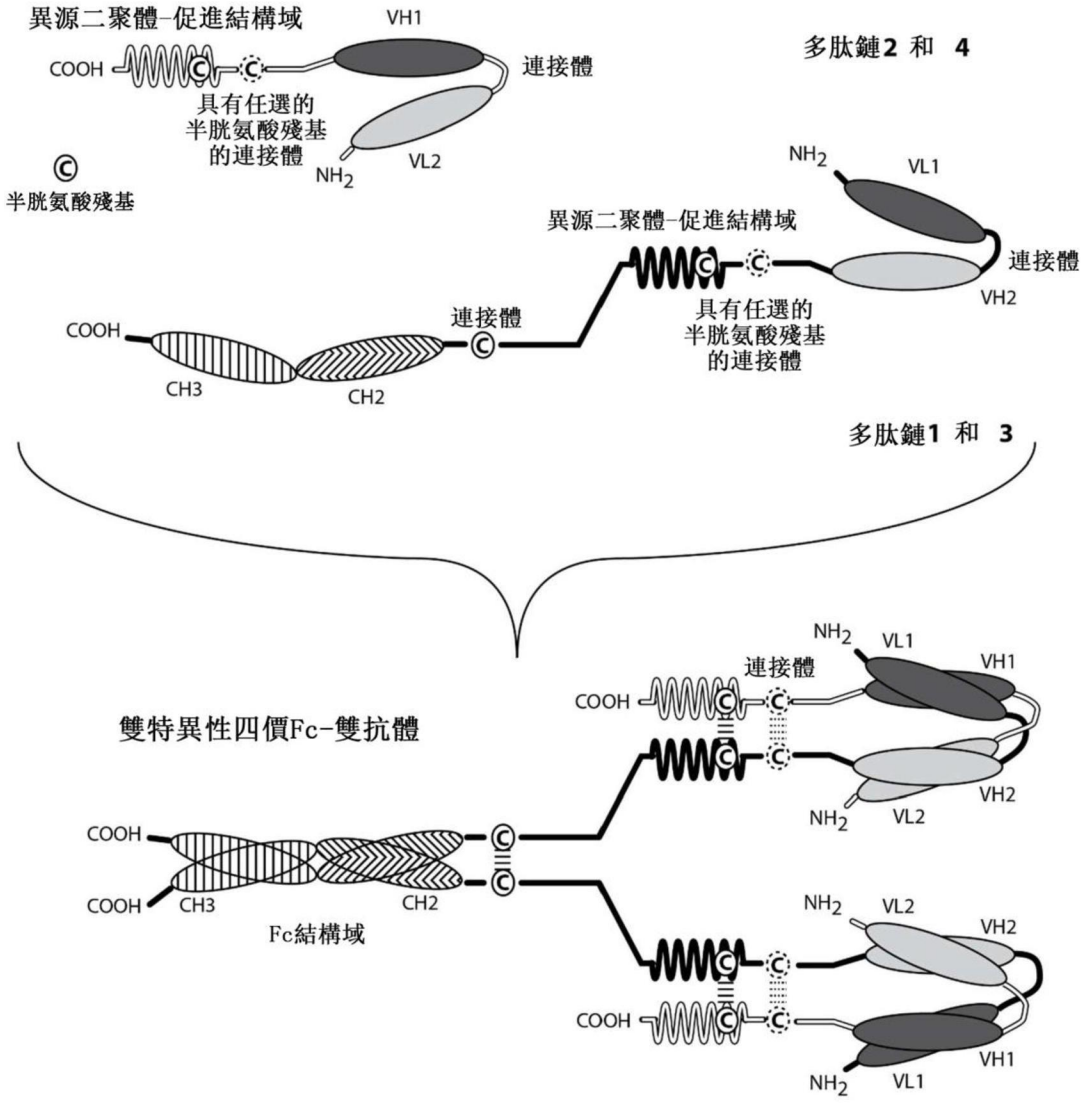

異源二聚體-促進結構域
VH1
COOH
連接體
具有任選的
半胱氨酸殘基
的連接體
VL2
NH2
半胱氨酸殘基
多肽鏈2 和 4
NH2
VL1
異源二聚體-促進結構域
連接體
VH2
具有任選的
半胱氨酸殘基
的連接體
連接體
COOH
CH3
CH2
多肽鏈1 和 3
雙特異性四價Fc-雙抗體
NH2
VL1
連接體
VH1
COOH
VH2
NH2
VL2
COOH
CH3
CH2
Fc結構域
NH2
VL2
VH2
COOH
VH1
NH2
VL1

圖 3B

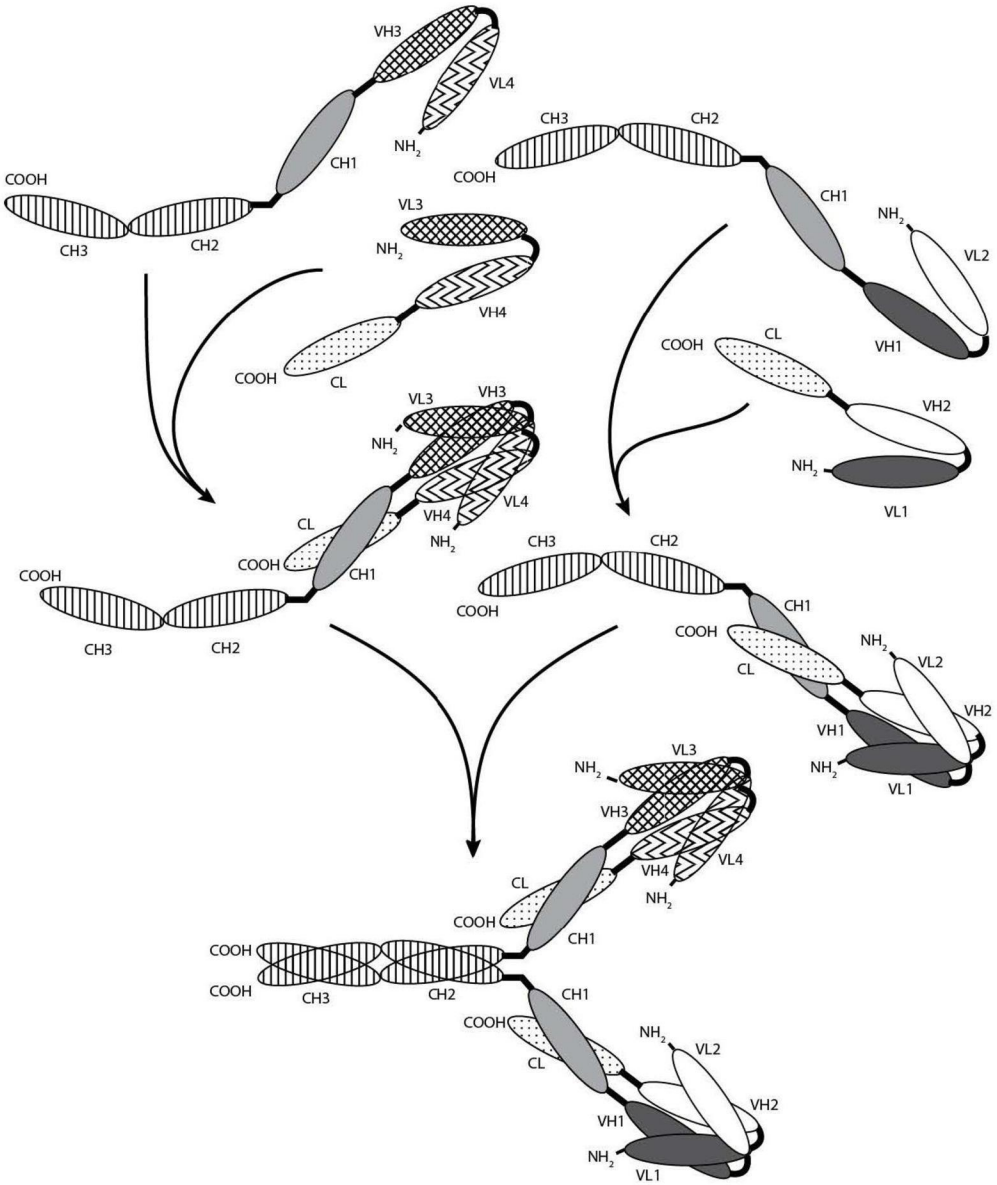


圖 3C

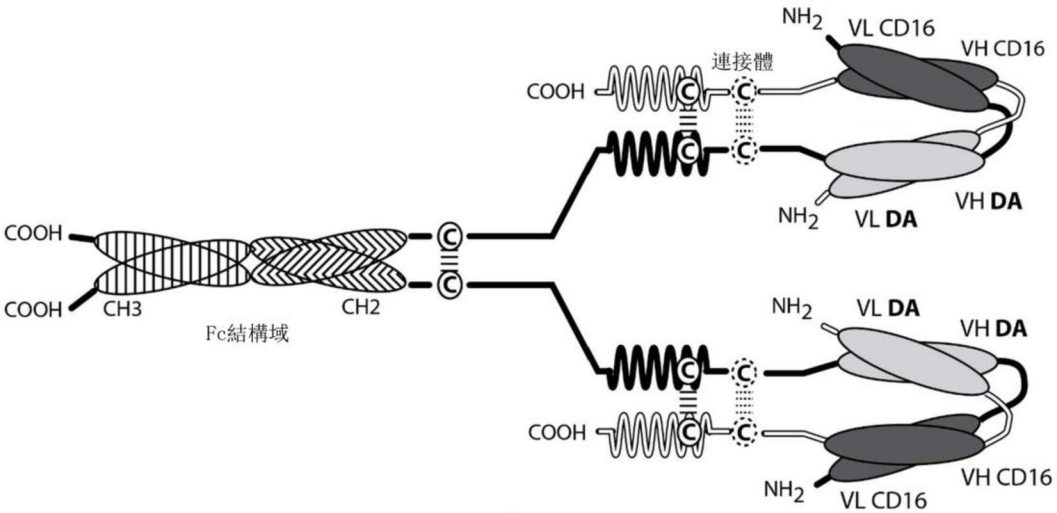

NH2
VL CD16
VH CD16
連接體
COOH
VH DA
NH2
VL DA
COOH
CH3
CH2
Fc結構域
NH2
VL DA
VH DA
COOH
NH2
VL CD16
VH CD16

圖 3D

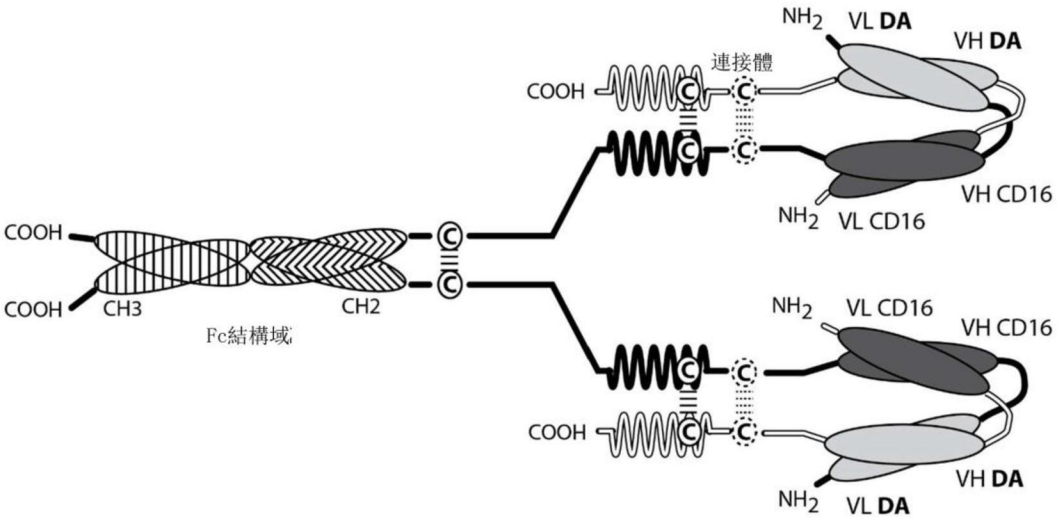

NH2
VL DA
VH DA
連接體
COOH
VH CD16
NH2
VL CD16
COOH
CH3
CH2
Fc結構域
NH2
VL CD16
VH CD16
COOH
VH DA
NH2
VL DA

圖 3E

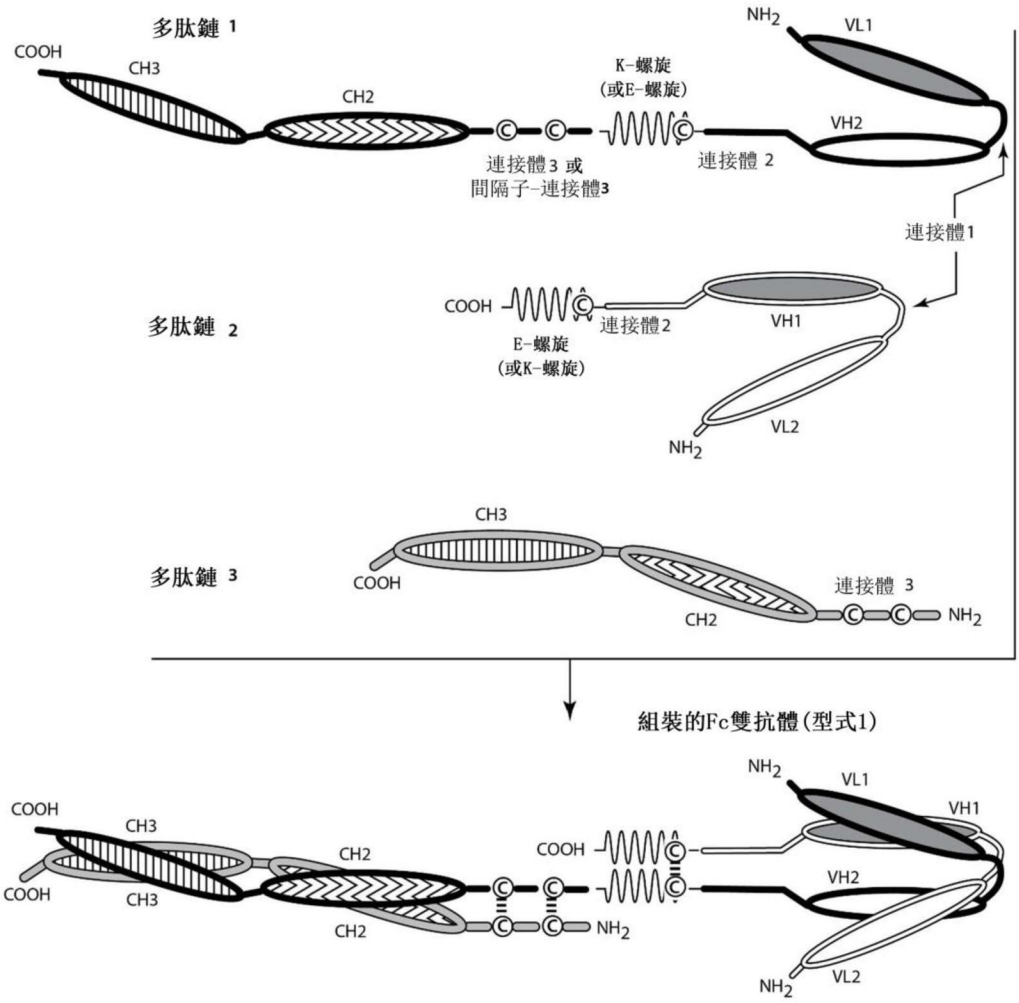

多肽鏈 1
COOH
CH3
CH2
連接體3 或
間隔子-連接體3
K-螺旋
(或E-螺旋)
連接體 2
NH2
VL1
VH2
連接體1
多肽鏈 2
COOH
E-螺旋
(或K-螺旋)
連接體2
VH1
VL2
NH2
多肽鏈 3
CH3
COOH
CH2
連接體 3
NH2
組裝的Fc雙抗體(型式1)
COOH
CH3
COOH
CH3
CH2
CH2
COOH
NH2
NH2
VL1
VH1
VH2
NH2
VL2

圖 4A

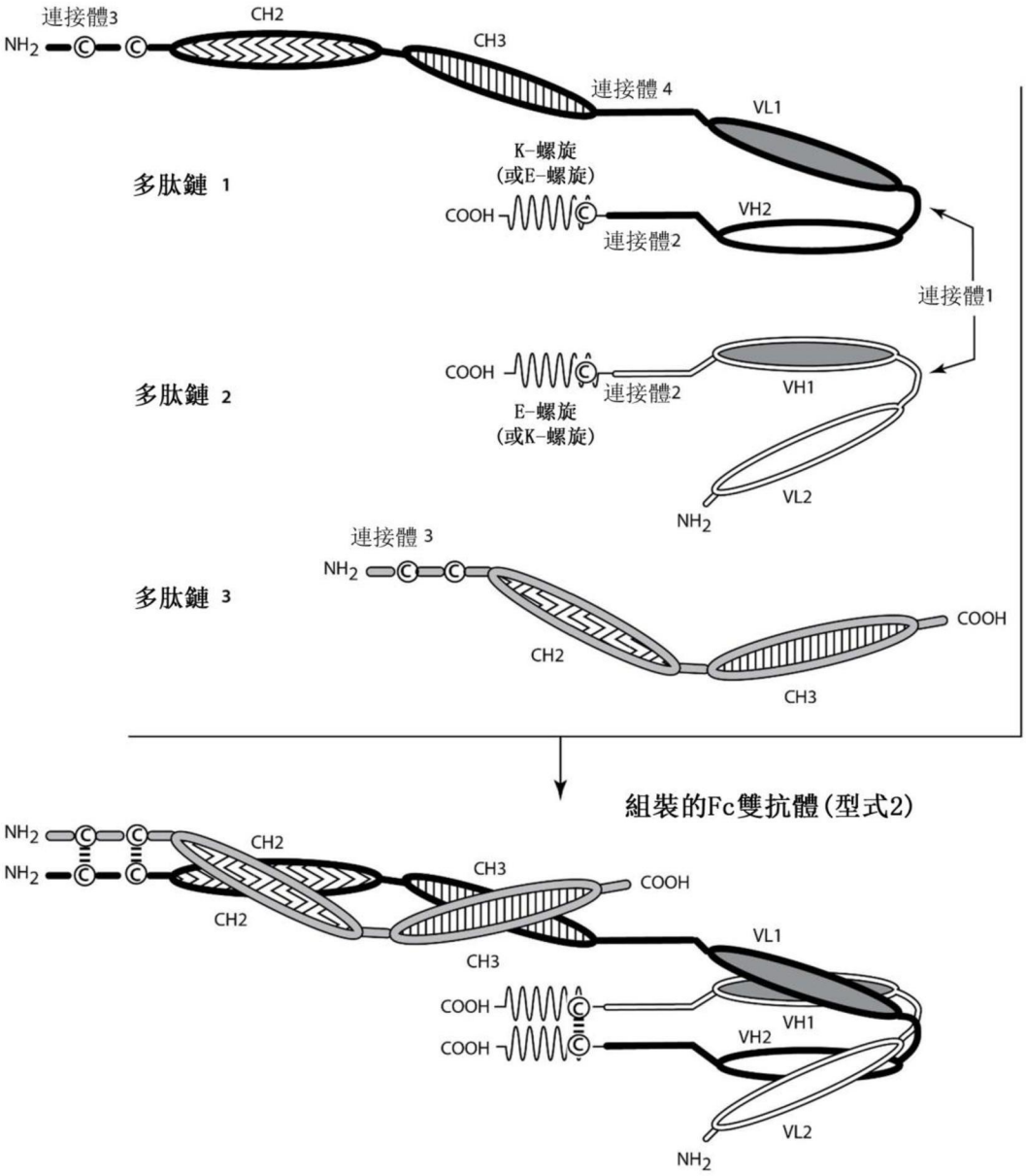

連接體3
CH2
NH2
CH3
連接體 4
VL1
K-螺旋
(或E-螺旋)
多肽鏈 1
COOH
VH2
連接體2
連接體1
COOH
連接體2
VH1
多肽鏈 2
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL2
NH2
連接體 3
NH2
多肽鏈 3
CH2
COOH
CH3
組裝的Fc雙抗體(型式2)
NH2
NH2
CH2
CH3
COOH
CH2
CH3
VL1
COOH
VH1
COOH
VH2
VL2
NH2

圖 4B

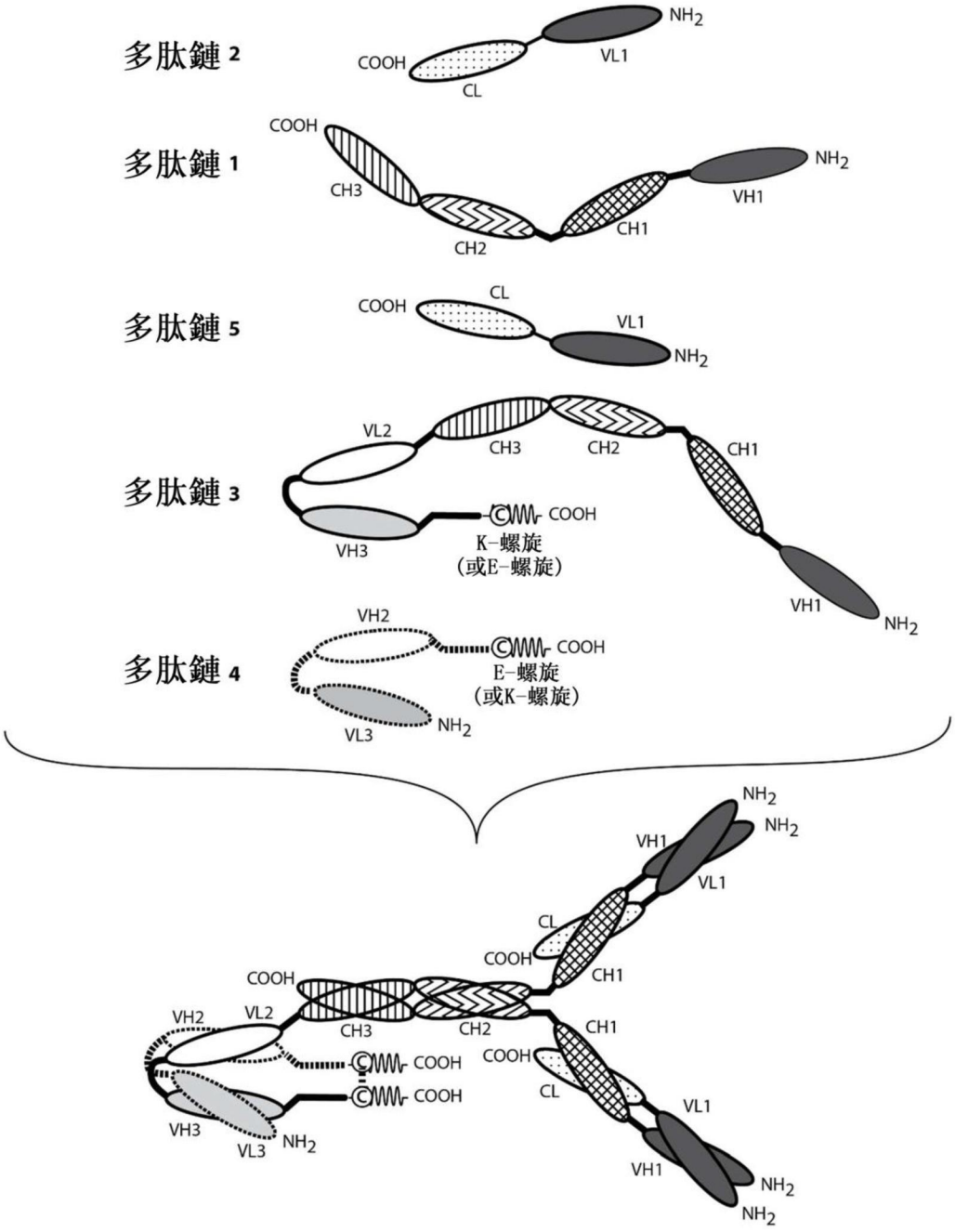

多肽鏈 2
NH2
VL1
COOH
CL
多肽鏈 1
COOH
CH3
NH2
VH1
CH2
CH1
多肽鏈 5
CL
COOH
VL1
NH2
多肽鏈 3
VL2
CH3
CH2
CH1
COOH
K–螺旋
(或E–螺旋)
VH3
VH1
NH2
多肽鏈 4
VH2
COOH
E–螺旋
(或K–螺旋)
NH2
VL3
NH2
NH2
VH1
VL1
CL
COOH
CH1
COOH
VH2
VL2
CH3
CH2
CH1
COOH
COOH
CL
VL1
VH3
NH2
VL3
VH1
NH2
NH2

圖 5A

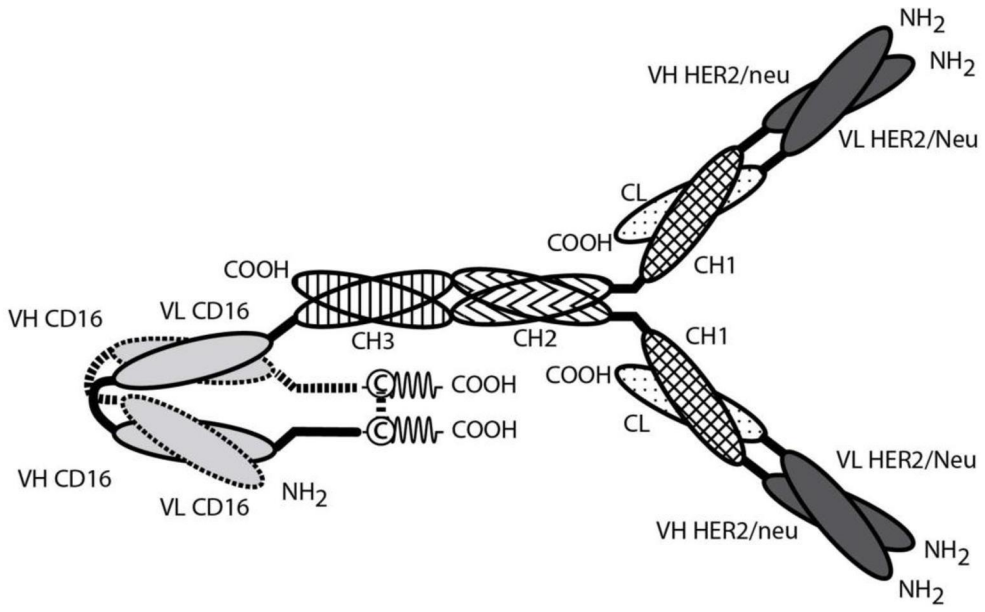

NH2
NH2
VH HER2/neu
VL HER2/Neu
CL
COOH
CH1
COOH
VH CD16
VL CD16
CH3
CH2
CH1
COOH
COOH
CL
COOH
VL HER2/Neu
VH CD16
NH2
VL CD16
VH HER2/neu
NH2
NH2

圖 5B

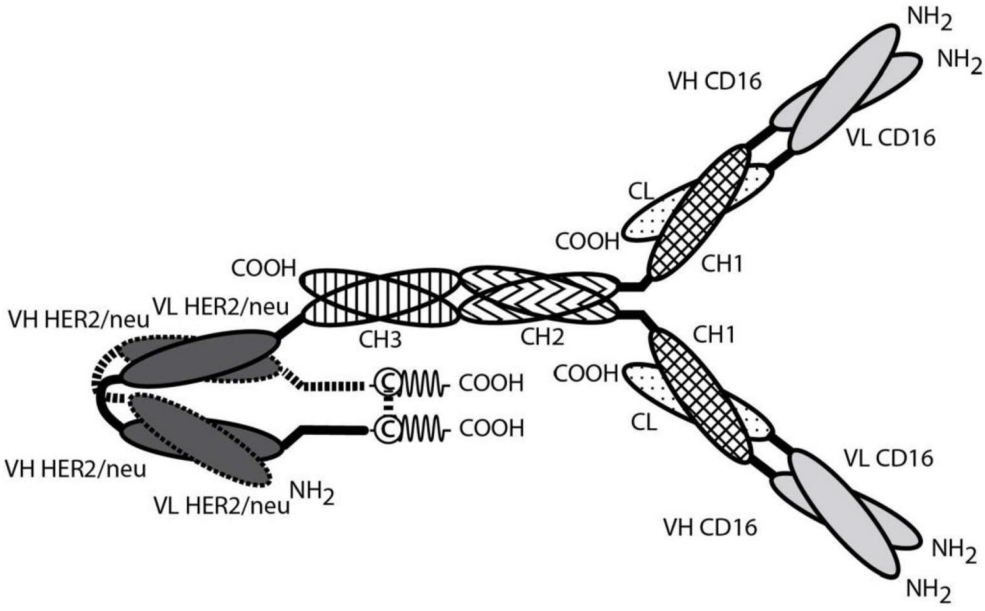

NH2
NH2
VH CD16
VL CD16
CL
COOH
CH1
COOH
VH HER2/neu
VL HER2/neu
CH3
CH2
CH1
COOH
COOH
CL
COOH
VL CD16
VH HER2/neu
NH2
VL HER2/neu
VH CD16
NH2
NH2

圖 5C

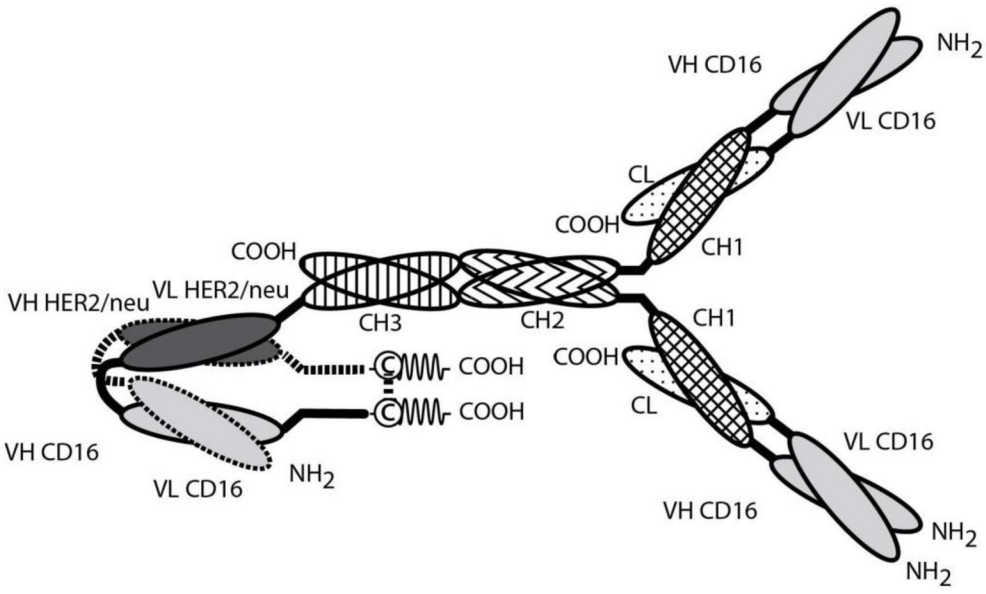

VH CD16
NH2
VL CD16
CL
COOH
CH1
COOH
VH HER2/neu
VL HER2/neu
CH3
CH2
CH1
COOH
COOH
CL
VH CD16
NH2
VL CD16
VL CD16
VH CD16
NH2
NH2

圖 5D

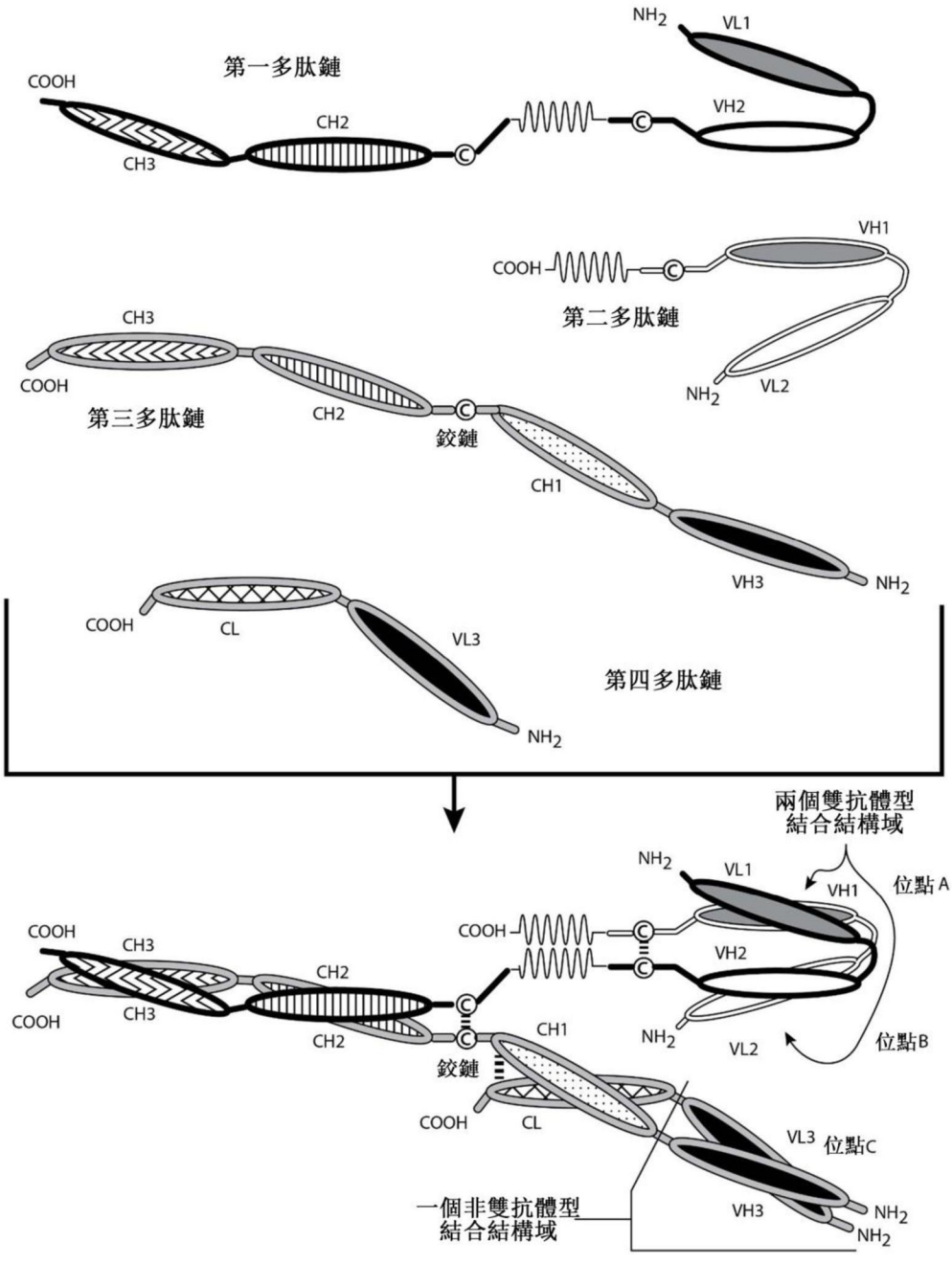

第一多肽鏈
第二多肽鏈
第三多肽鏈
第四多肽鏈
鉸鏈
兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
位點B
位點C
一個非雙抗體型
結合結構域
COOH
NH2
VL1
VH1
VH2
VL2
CH1
CH2
CH3
VH3
CL
VL3

圖 6A

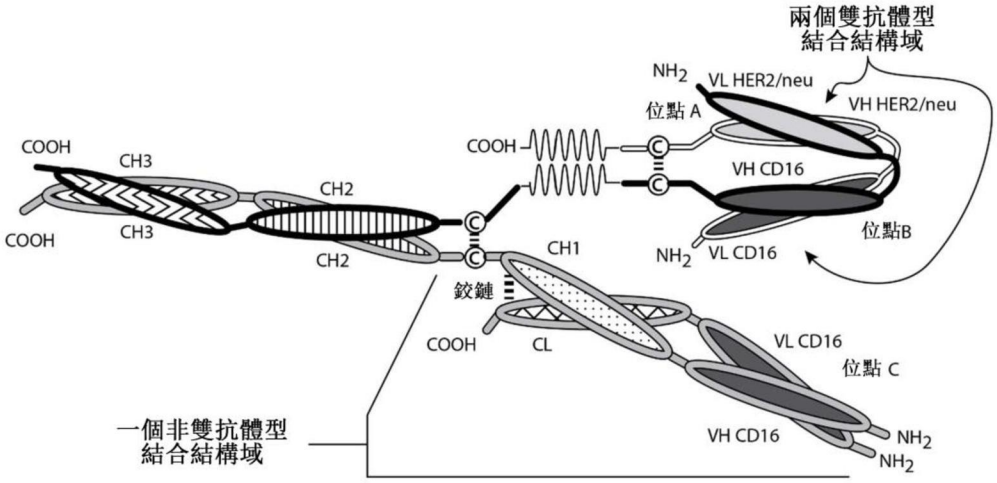

兩個雙抗體型
結合結構域
NH2
VL HER2/neu
位點 A
VH HER2/neu
COOH
CH3
COOH
CH3
CH2
CH2
COOH
VH CD16
位點B
NH2
VL CD16
CH1
鉸鏈
COOH
CL
VL CD16
位點 C
一個非雙抗體型
結合結構域
VH CD16
NH2
NH2

圖 6B

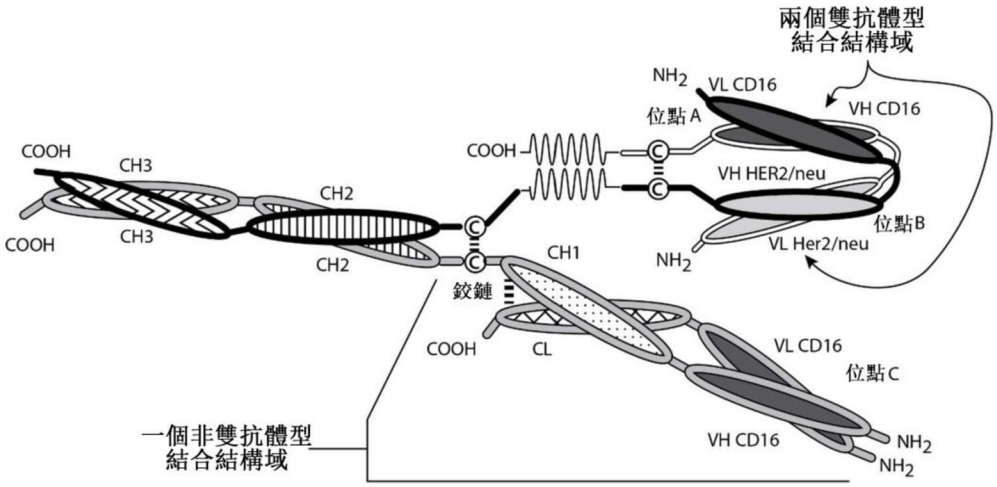

兩個雙抗體型
結合結構域
NH2
VL CD16
位點 A
VH CD16
COOH
CH3
COOH
CH3
CH2
CH2
COOH
VH HER2/neu
位點B
NH2
VL Her2/neu
CH1
鉸鏈
COOH
CL
VL CD16
位點C
一個非雙抗體型
結合結構域
VH CD16
NH2
NH2

圖 6C

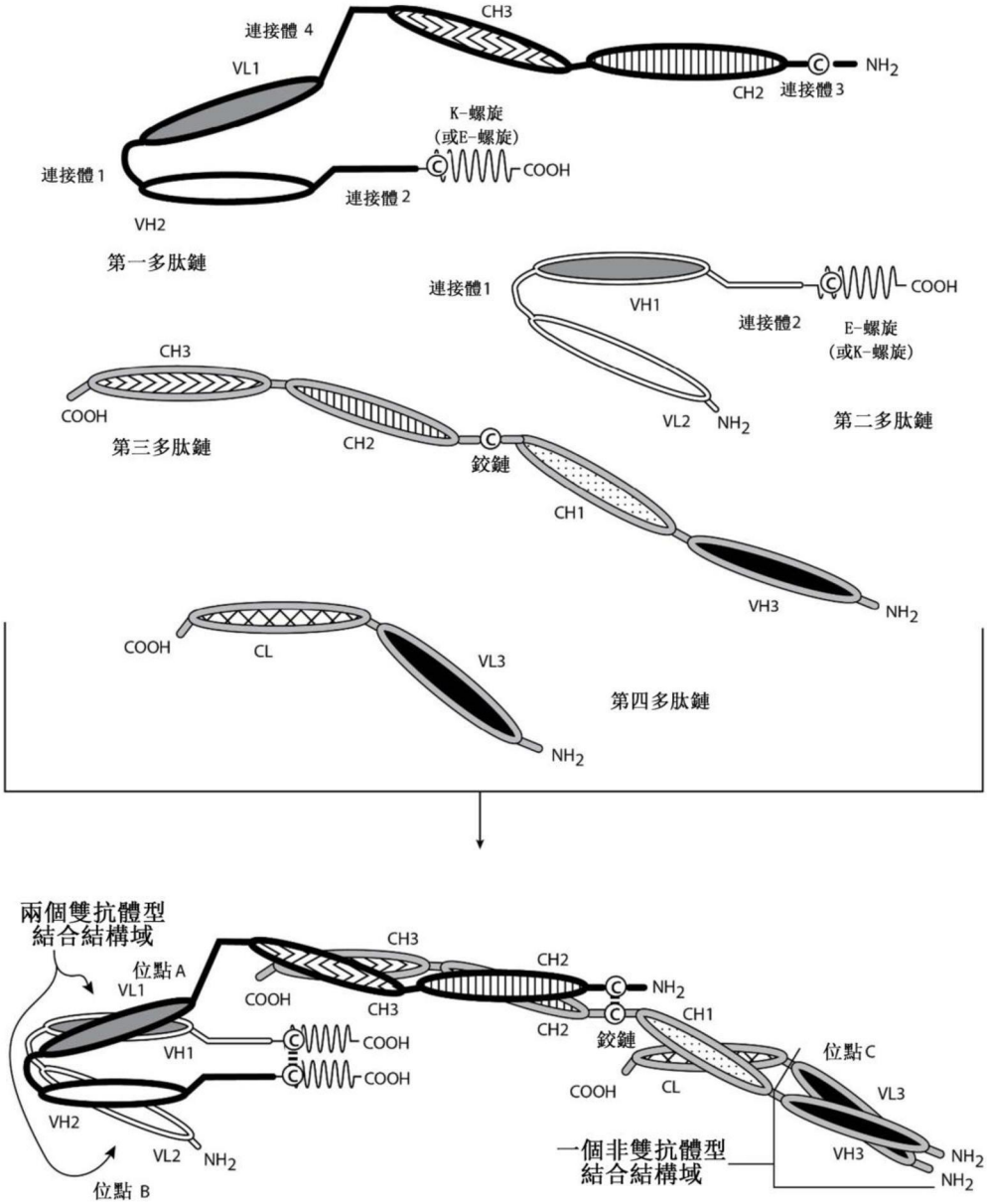

CH3
連接體 4
VL1
NH2
CH2
連接體3
K-螺旋
(或E-螺旋)
連接體 1
COOH
連接體 2
VH2
第一多肽鏈
連接體1
VH1
COOH
連接體2
E-螺旋
(或K-螺旋)
VL2
NH2
第二多肽鏈
CH3
COOH
第三多肽鏈
CH2
鉸鏈
CH1
VH3
NH2
COOH
CL
VL3
第四多肽鏈
NH2
兩個雙抗體型
結合結構域
位點 A
VL1
CH3
CH2
NH2
COOH
CH3
CH1
CH2
鉸鏈
VH1
COOH
COOH
位點C
CL
VL3
VH2
VH3
NH2
VL2
NH2
一個非雙抗體型
結合結構域
NH2
位點 B

圖 6D

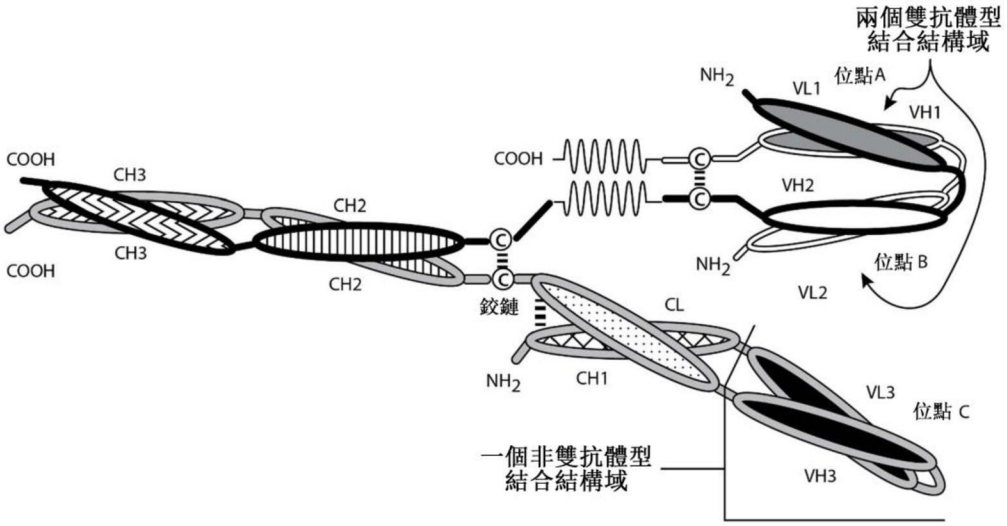

兩個雙抗體型
結合結構域
NH2
VL1
位點A
VH1
COOH
CH3
COOH
CH3
CH2
CH2
COOH
VH2
NH2
位點B
VL2
鉸鏈
CL
NH2
CH1
VL3
位點C
一個非雙抗體型
結合結構域
VH3

圖 6E

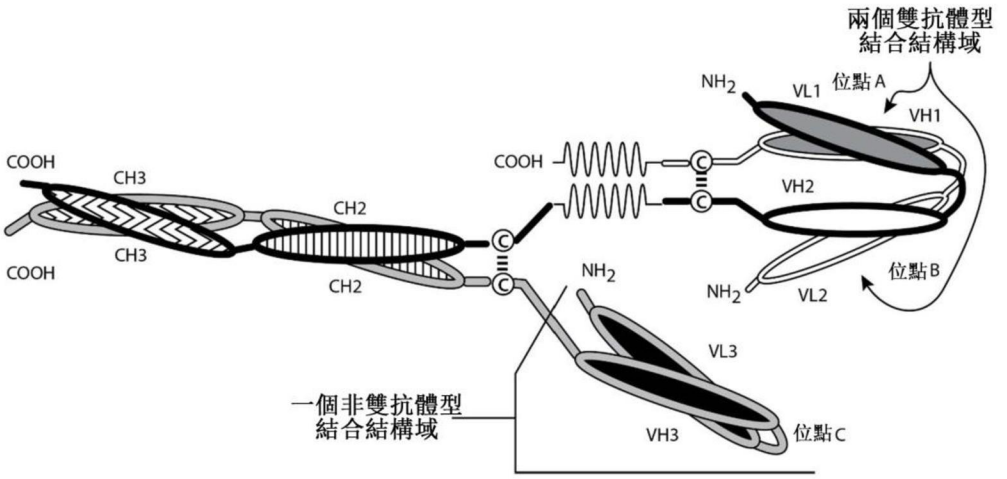

兩個雙抗體型
結合結構域
NH2
VL1
位點A
VH1
COOH
CH3
COOH
CH3
CH2
CH2
COOH
VH2
NH2
位點B
VL2
NH2
VL3
一個非雙抗體型
結合結構域
VH3
位點C

圖 6F

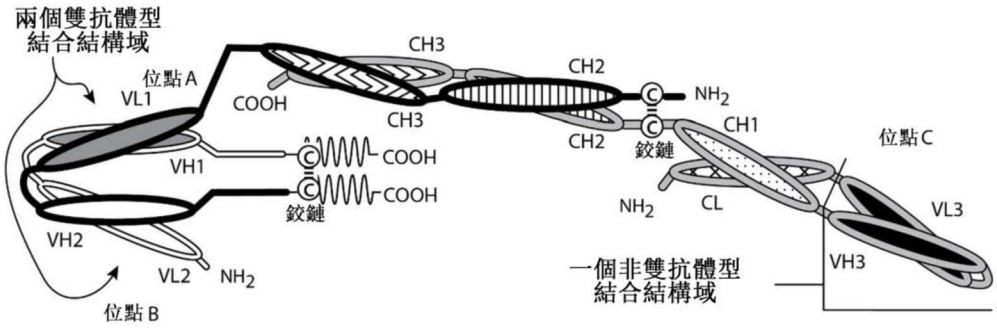

兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
VL1
COOH
CH3
CH3
CH2
CH2
NH2
CH1
鉸鏈
位點C
VH1
COOH
COOH
鉸鏈
NH2
CL
VL3
VH2
VL2
NH2
VH3
一個非雙抗體型
結合結構域
位點B

圖 6G

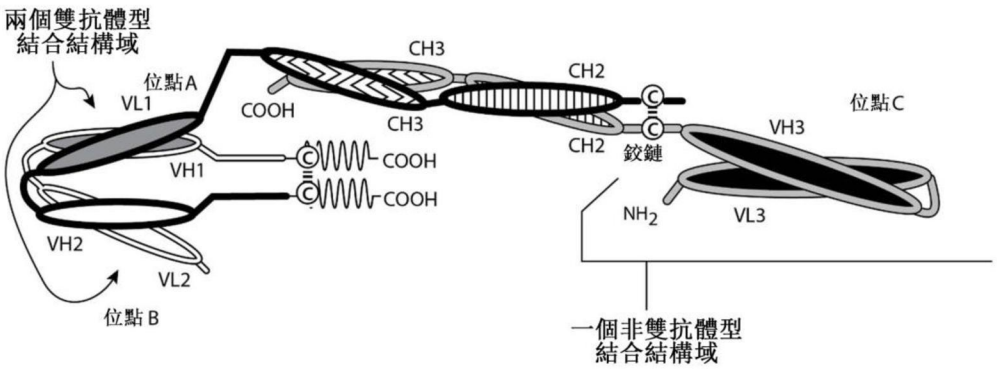

兩個雙抗體型
結合結構域
位點A
VL1
COOH
CH3
CH3
CH2
CH2
位點C
VH3
VH1
COOH
COOH
鉸鏈
NH2
VL3
VH2
VL2
位點B
一個非雙抗體型
結合結構域

圖 6H

	10	20	30	40
huCD16A_158F_ECD	GMRTEDLPKA	VVFLEPQWYR	VLEKDSVTLK	CQGAYSPEDN
huCD16A_158V_ECD	GMRTEDLPKA	VVFLEPQWYR	VLEKDSVTLK	CQGAYSPEDN
huCD16B_NA1_ECD	GMRTEDLPKA	VVFLEPQWYR	VLEKDSVTLK	CQGAYSPEDN
huCD16B_NA2_ECD	GMRTEDLPKA	VVFLEPQWY**S**	VLEKDSVTLK	CQGAYSPEDN
cyCD16_ECD	GMR**A**EDLP**R**A	VVFLEPQWYR	VLEKD**R**VTLK	CQGAYSPEDN

	50	60	70	80
huCD16A_158F_ECD	STQWFHNESL	ISSQASSYFI	DAATVDDSGE	YRCQTNLSTL
huCD16A_158V_ECD	STQWFHNESL	ISSQASSYFI	DAATVDDSGE	YRCQTNLSTL
huCD16B_NA1_ECD	STQWFHN**N**SL	ISSQASSYFI	DAATVDDSGE	YRCQTNLSTL
huCD16B_NA2_ECD	STQWFHNESL	ISSQASSYFI	DAAT**N**DDSGE	YRCQTNLSTL
cyCD16_ECD	ST**R**WFHNESL	ISSQ**T**SSYFI	**A**AA**R**V**NN**SGE	YRCQT**S**LSTL

	90	100	110	120
huCD16A_158F_ECD	SDPVQLEVHI	GWLLLQAPRW	VFKEEDPIHL	RCHSWKNTAL
huCD16A_158V_ECD	SDPVQLEVHI	GWLLLQAPRW	VFKEEDPIHL	RCHSWKNTAL
huCD16B_NA1_ECD	SDPVQLEVH**V**	GWLLLQAPRW	VFKEEDPIHL	RCHSWKNTAL
huCD16B_NA2_ECD	SDPVQLEVHI	GWLLLQAPRW	VFKEEDPIHL	RCHSWKNTAL
cyCD16_ECD	SDPVQLEVHI	GWLLLQAPRW	VFKEE**ES**IHL	RCHSWKNT**L**L

	130	140	150	160
huCD16A_158F_ECD	HKVTYLQNGK	GRKYFHHNSD	FYIPKATLKD	SGSYFCRGLF
huCD16A_158V_ECD	HKVTYLQNGK	GRKYFHHNSD	FYIPKATLKD	SGSYFCRGL**V**
huCD16B_NA1_ECD	HKVTYLQNGK	**D**RKYFHHNSD	F**H**IPKATLKD	SGSYFCRGL**V**
huCD16B_NA2_ECD	HKVTYLQNGK	**D**RKYFHHNSD	F**H**IPKATLKD	SGSYFCRGL**V**
cyCD16_ECD	HKVTYLQNGK	GRKYFH**Q**NSD	FYIPKATLKD	SGSYFCRGL**I**

	170	180	190		**SEQ ID NO:**
huCD16A_158F_ECD	GSKNVSSETV	NITITQGLAV	STISSFFPPG	YQ	**146**
huCD16A_158V_ECD	GSKNVSSETV	NITITQGLAV	STISSFFPPG	YQ	**147**
huCD16B_NA1_ECD	GSKNVSSETV	NITITQGLAV	STIS		**148**
huCD16B_NA2_ECD	GSKNVSSETV	NITITQGLAV	STIS		**149**
cyCD16_ECD	GSKNVSSETV	NITITQ**D**LAV	S**S**IS		**150**

圖 7

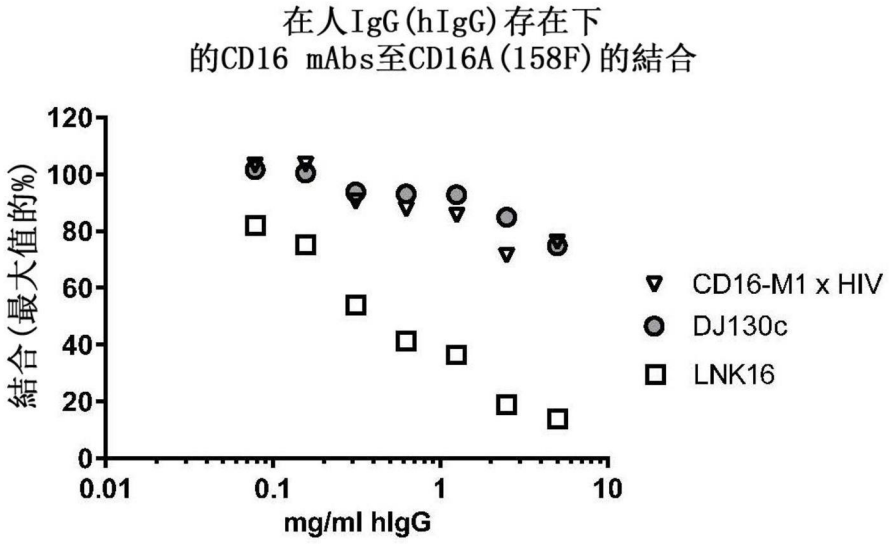

在人IgG(hIgG)存在下
的CD16 mAbs至CD16A(158F)的結合
結合(最大值的%)
120
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
mg/ml hIgG
CD16-M1 x HIV
DJ130c
LNK16

圖 8

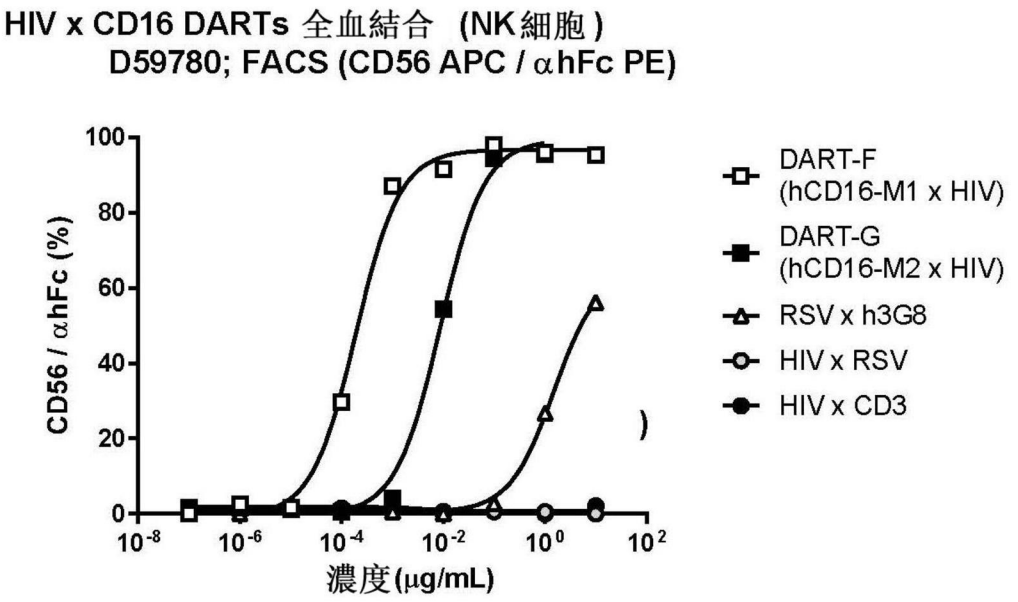

HIV x CD16 DARTs 全血結合 (NK細胞)
D59780; FACS (CD56 APC / αhFc PE)
CD56 / αhFc (%)
100
80
60
40
20
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
濃度(μg/mL)
DART-F
(hCD16-M1 x HIV)
DART-G
(hCD16-M2 x HIV)
RSV x h3G8
HIV x RSV
HIV x CD3

圖 9A

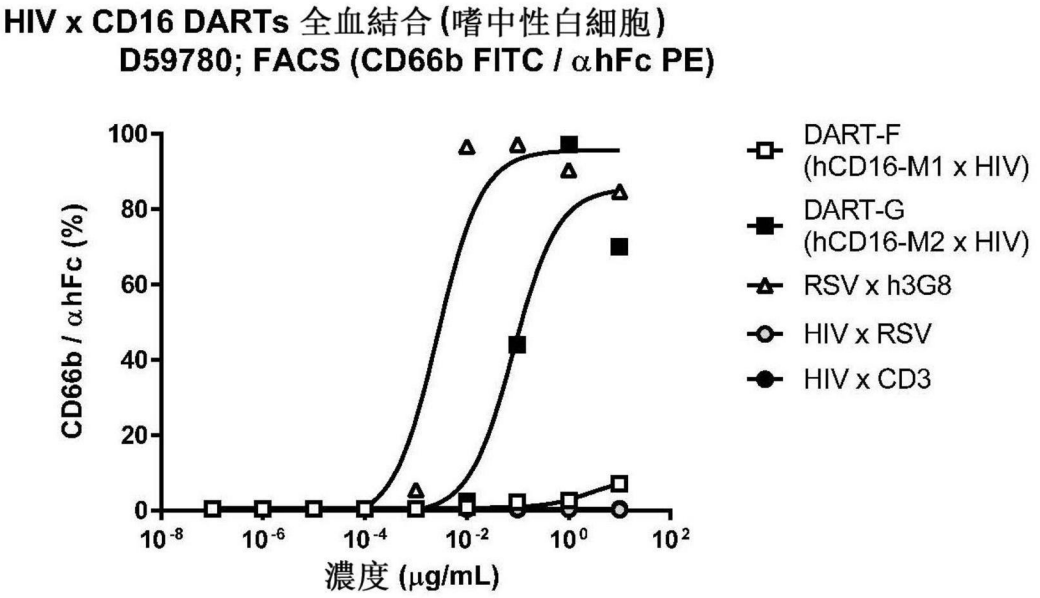

HIV x CD16 DARTs 全血結合 (嗜中性白細胞)
D59780; FACS (CD66b FITC / αhFc PE)
CD66b / αhFc (%)
100
80
60
40
20
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
濃度 (μg/mL)
DART-F
(hCD16-M1 x HIV)
DART-G
(hCD16-M2 x HIV)
RSV x h3G8
HIV x RSV
HIV x CD3

圖 9B

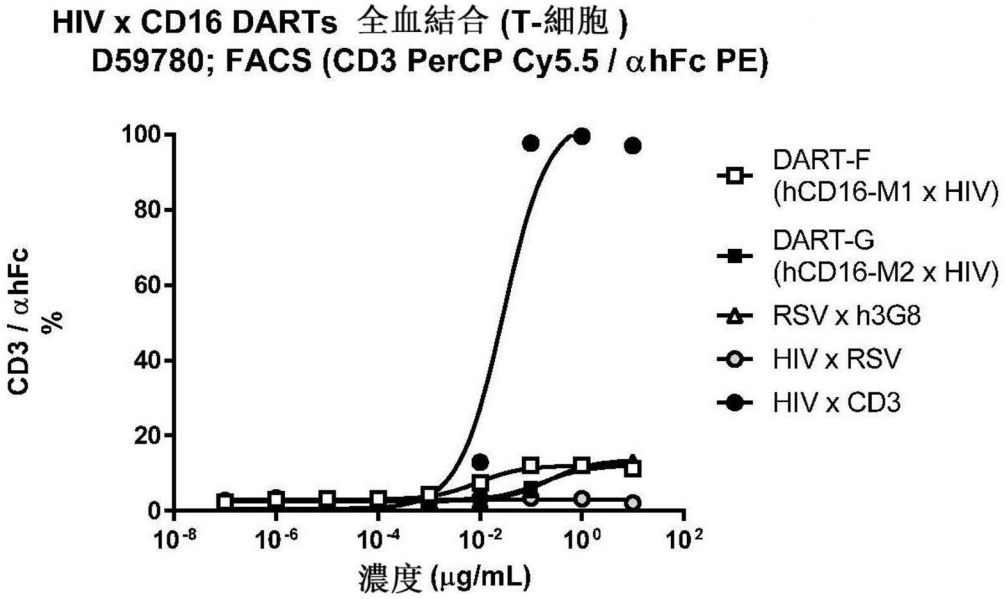

HIV x CD16 DARTs 全血結合 (T-細胞)
D59780; FACS (CD3 PerCP Cy5.5 / αhFc PE)
CD3 / αhFc %
100
80
60
40
20
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
濃度 (μg/mL)
DART-F (hCD16-M1 x HIV)
DART-G (hCD16-M2 x HIV)
RSV x h3G8
HIV x RSV
HIV x CD3

圖 9C

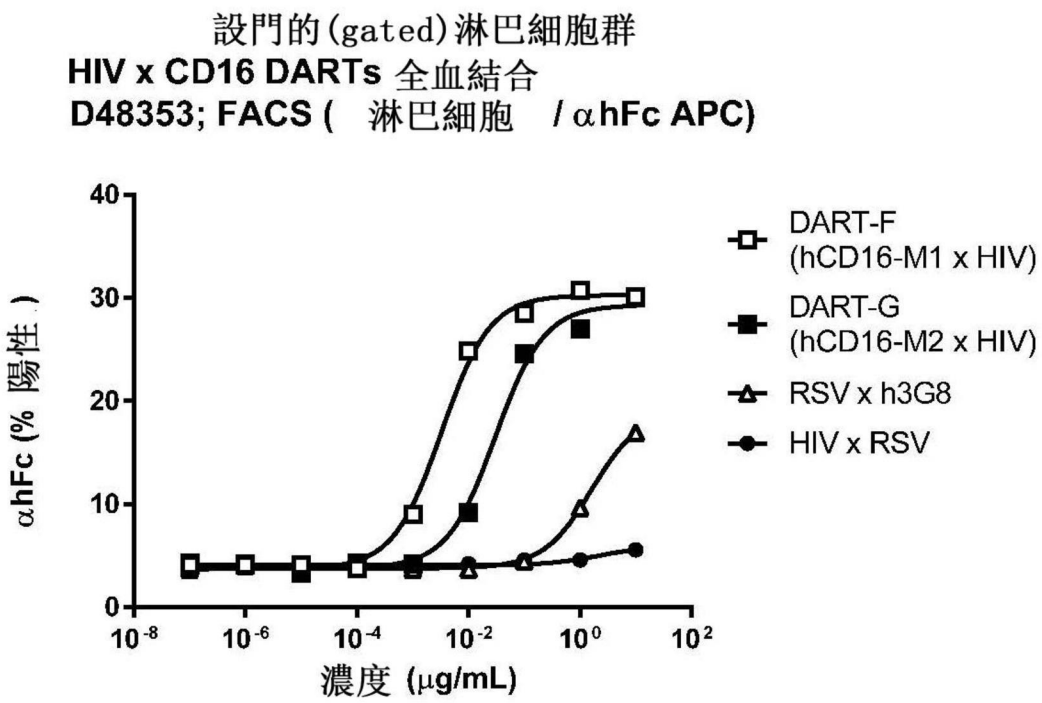

設門的(gated)淋巴細胞群
HIV x CD16 DARTs 全血結合
D48353; FACS (淋巴細胞 / αhFc APC)
αhFc (% 陽性)
濃度 (μg/mL)
DART-F (hCD16-M1 x HIV)
DART-G (hCD16-M2 x HIV)
RSV x h3G8
HIV x RSV

圖 10A

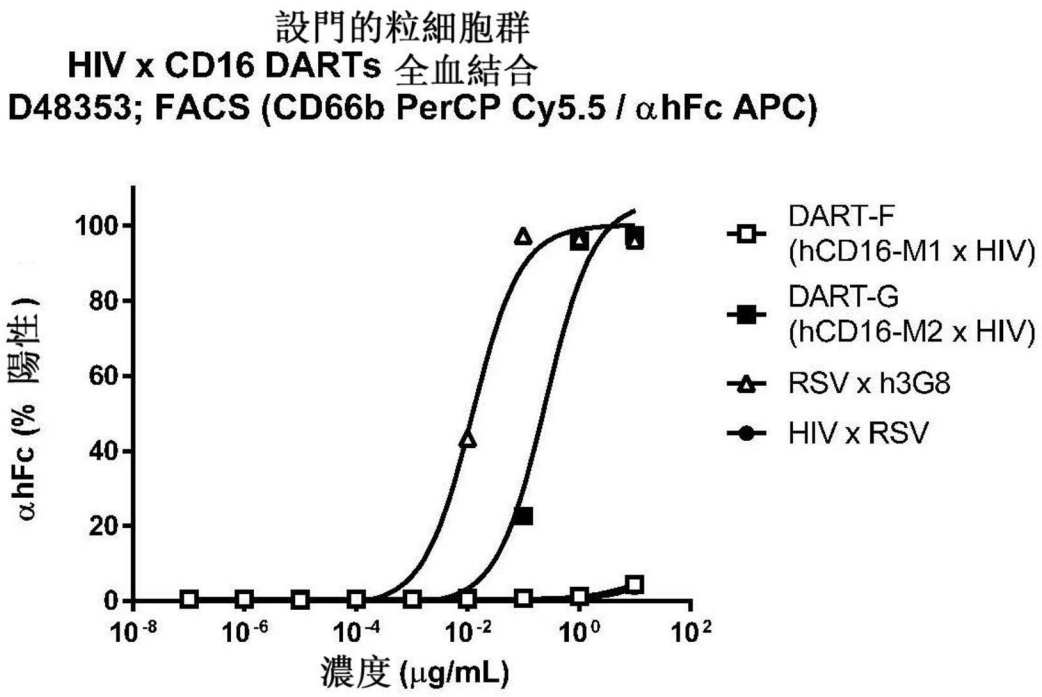

設門的粒細胞群
HIV x CD16 DARTs 全血結合
D48353; FACS (CD66b PerCP Cy5.5 / αhFc APC)
αhFc (% 陽性)
濃度 (μg/mL)
DART-F (hCD16-M1 x HIV)
DART-G (hCD16-M2 x HIV)
RSV x h3G8
HIV x RSV

圖 10B

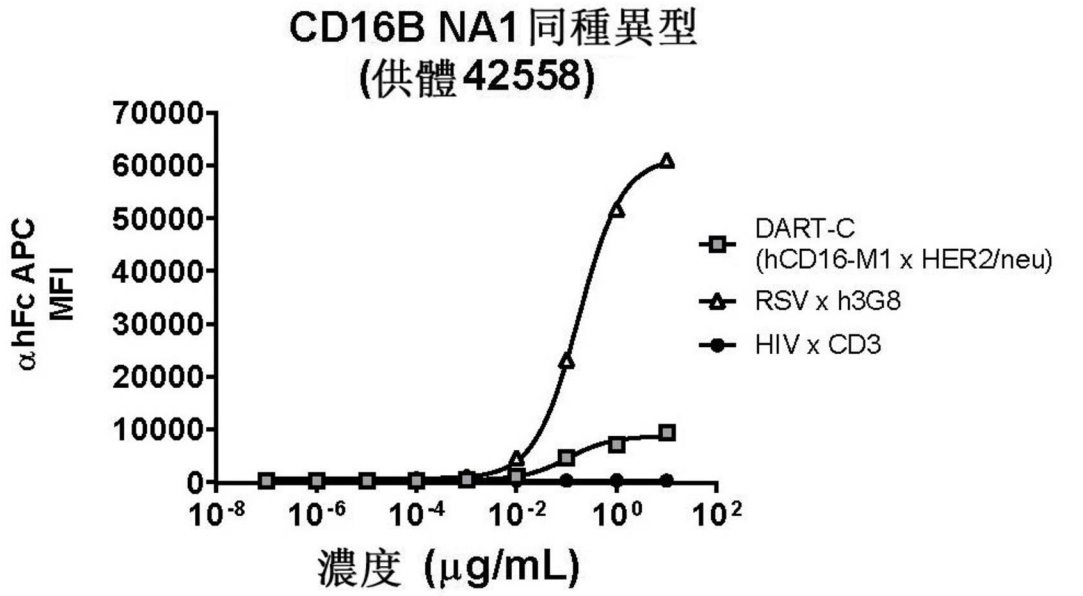

CD16B NA1 同種異型
(供體42558)
αhFc APC MFI
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
濃度 (μg/mL)
DART-C
(hCD16-M1 x HER2/neu)
RSV x h3G8
HIV x CD3

圖 11A

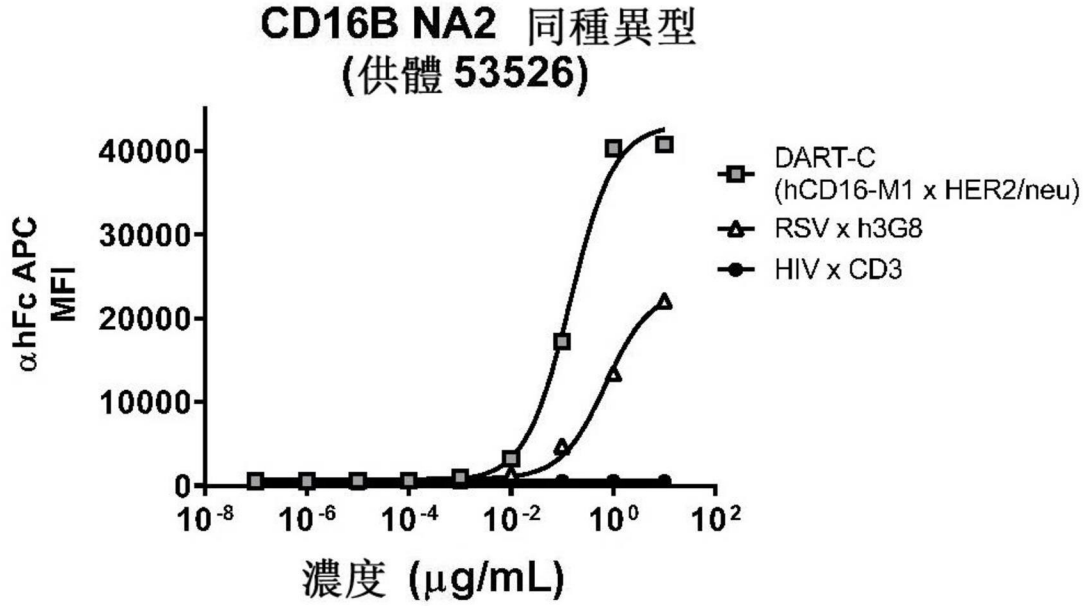

CD16B NA2 同種異型
(供體 53526)
αhFc APC MFI
40000
30000
20000
10000
0
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
濃度 (μg/mL)
DART-C
(hCD16-M1 x HER2/neu)
RSV x h3G8
HIV x CD3

圖 11B

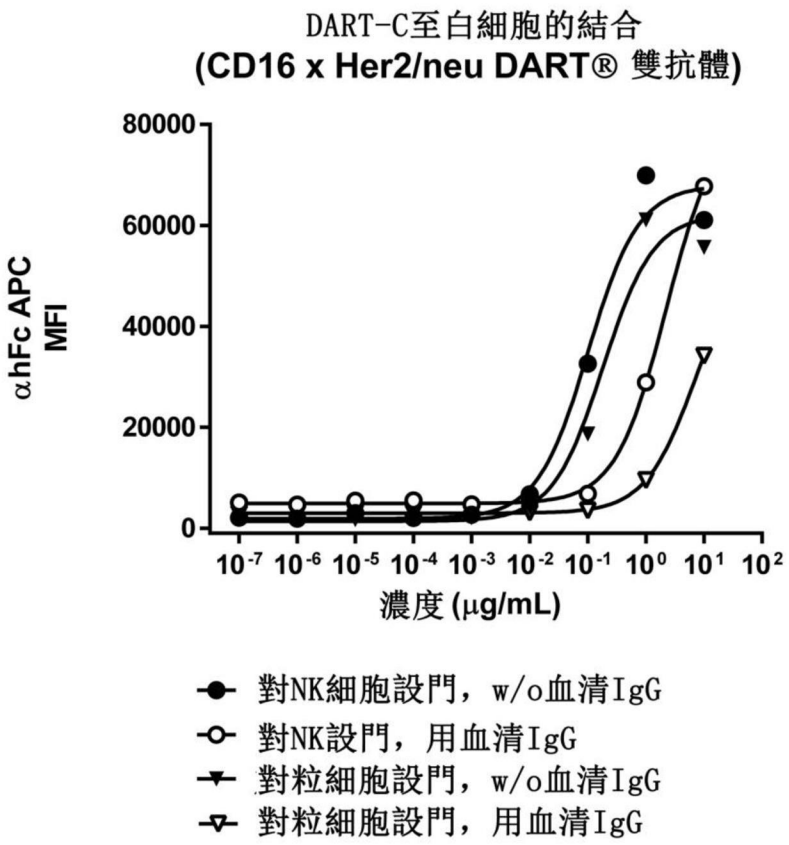

DART-C至白細胞的結合
(CD16 x Her2/neu DART® 雙抗體)
αhFc APC MFI
80000
60000
40000
20000
0
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101 102
濃度 (μg/mL)
對NK細胞設門，w/o血清IgG
對NK設門，用血清IgG
對粒細胞設門，w/o血清IgG
對粒細胞設門，用血清IgG

圖 12

	10	20	30	40
huCD16A_176V.pro	MWQL------	--------LL	P--TALLLLV	SAGMRTEDLP
cyCD16.pro	MWQL------	--------LL	P--TALLLLV	SAGMR**A**EDLP
muCD16.pro	M-**TLDTQMFQ**	**NAHSGSQW**LL	P**PLTILLLFA**	**F**A**DRQSAA**LP

	50	60	70	80
huCD16A_176V.pro	KAVVFLEPQW	YRVLEKDSVT	LKCQGAYSPE	DNSTQWFHNE
cyCD16.pro	**R**AVVFLEPQW	YRVLEKD**R**VT	LKCQGAYSPE	DNST**R**WFHNE
muCD16.pro	KAVV**KL**D**P**P**W**	**IQ**VL**KE**D**M**VT	L**M**C**E**G**THN**P**G**	**NS**STQWFHN**W**

	90	100	110	120
huCD16A_176V.pro	SLISSQASSY	FIDAATVDDS	GEYRCQTNLS	TLSDPVQLEV
cyCD16.pro	SLISSQ**T**SSY	FI**A**AA**R**V**NN**S	GEYRCQT**S**LS	TLSDPVQLEV
muCD16.pro	S**SI**R**S**Q**VQS**S	**YTFK**ATV**N**DS	GEYRCQ**MEQT**	**R**LSDPV**DL**G**V**

	130	140	150	160
huCD16A_176V.pro	HIGWLLLQAP	RWVFKEEDPI	HLRCHSWKNT	ALHKVTYLQN
cyCD16.pro	HIGWLLLQAP	RWVFKEE**ES**I	HLRCHSWKNT	**A**LHKVTYLQN
muCD16.pro	**ISD**WLLLQ**T**P	**QR**VF**LEGET**I	**T**LRCHSW**RNK**	**LLNRISFFH**N

	170	180	190	200
huCD16A_176V.pro	GKGRKYFHHN	SDFYIPKATL	KDSGSYFCRG	LVGSKNVSSE
cyCD16.pro	GKGRKYFH**Q**N	SDFYIPKATL	KDSGSYFCRG	L**I**GSKNVSSE
muCD16.pro	**EKSVRYHHYK**	S**N**F**S**IPKA**NH**	**SH**SG**DYYCK**G	**SL**GS**TQHQ**S**K**

	210	220	230	240
huCD16A_176V.pro	TVNITITQGL	AVSTISSFFP	PGYQVSFCLV	MVLLFAVDTG
cyCD16.pro	TVNITITQ**D**L	AVS**S**ISSFFP	PGYQVSFCLV	MVLLFAVDTG
muCD16.pro	**PVTI**T**VQDPA**	**TTSSIS**L**VW**-	--Y**HTA**F**S**LV	M**C**LLFAVDTG

	250	260	270	**SEQ ID NO:**
huCD16A_176V.pro	LYFSVKTNIR	SSTRDW-KDH	KFKWRKDPQD K	**183**
cyCD16.pro	LYFS**MKKSIP**	SSTRDW-**E**DH	KFKW**S**KDPQD K	**184**
muCD16.pro	LYF**Y**VR**RNIQ**	**TPRDYWRKSL**	**SIRKHQA**PQD K	**185**

圖 13

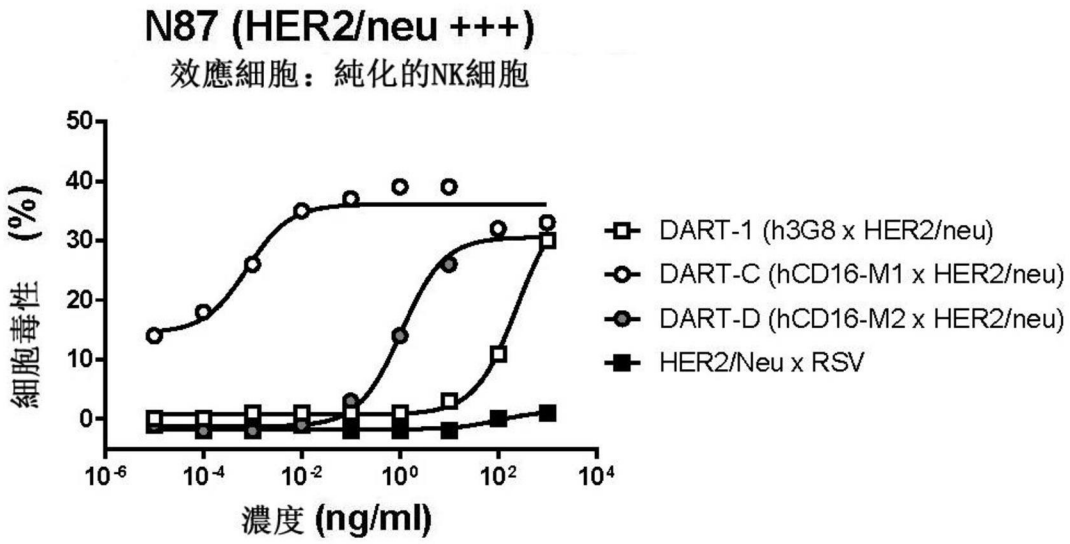

N87 (HER2/neu +++)
效應細胞：純化的NK細胞
細胞毒性 (%)
濃度 (ng/ml)
DART-1 (h3G8 x HER2/neu)
DART-C (hCD16-M1 x HER2/neu)
DART-D (hCD16-M2 x HER2/neu)
HER2/Neu x RSV

圖 14A

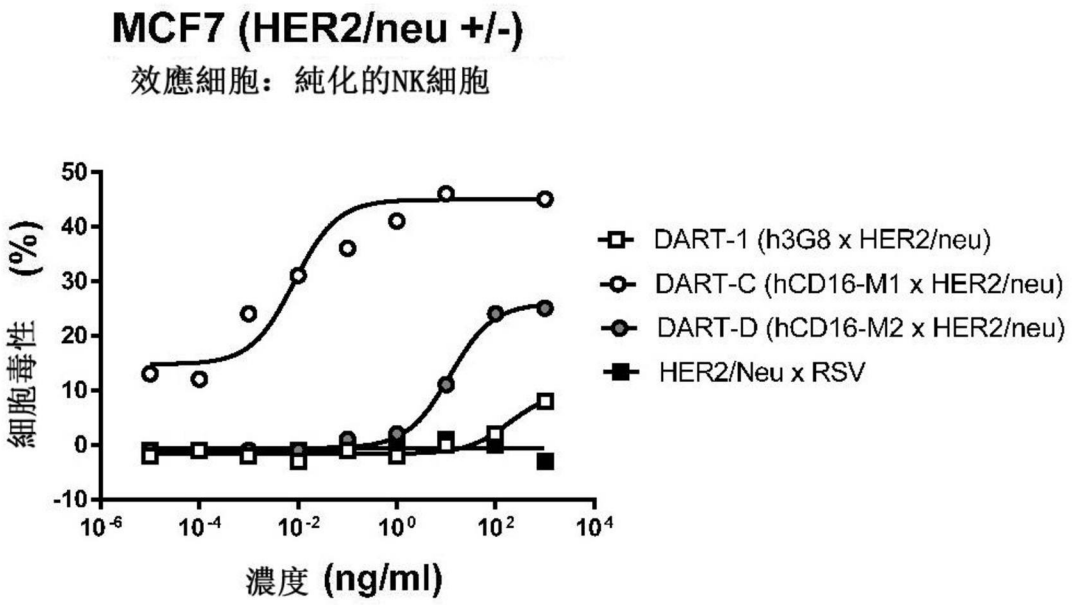

MCF7 (HER2/neu +/-)
效應細胞：純化的NK細胞
細胞毒性 (%)
濃度 (ng/ml)
DART-1 (h3G8 x HER2/neu)
DART-C (hCD16-M1 x HER2/neu)
DART-D (hCD16-M2 x HER2/neu)
HER2/Neu x RSV

圖 14B

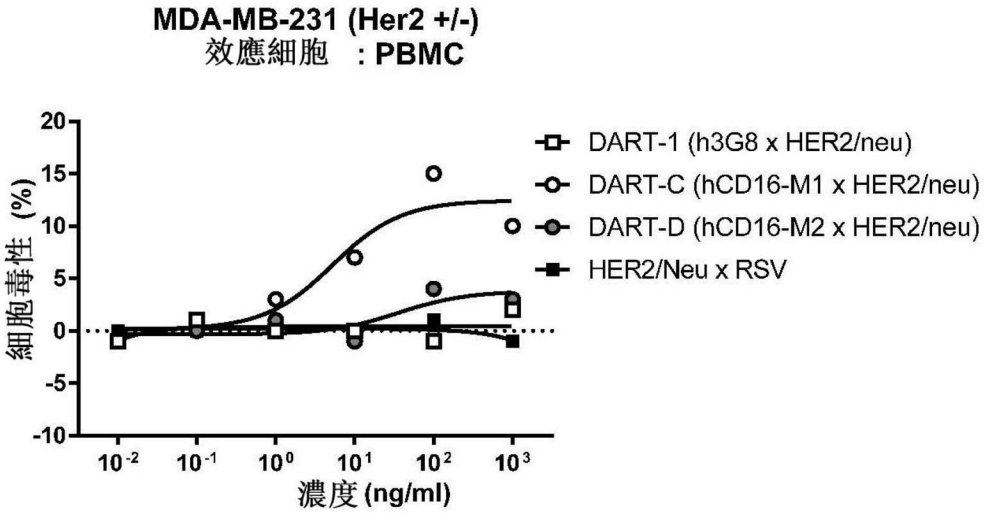

MDA-MB-231 (Her2 +/-)
效應細胞 ：PBMC
細胞毒性 (%)
20
15
10
5
0
-5
-10
10-2
10-1
100
101
102
103
濃度 (ng/ml)
DART-1 (h3G8 x HER2/neu)
DART-C (hCD16-M1 x HER2/neu)
DART-D (hCD16-M2 x HER2/neu)
HER2/Neu x RSV

圖 14C

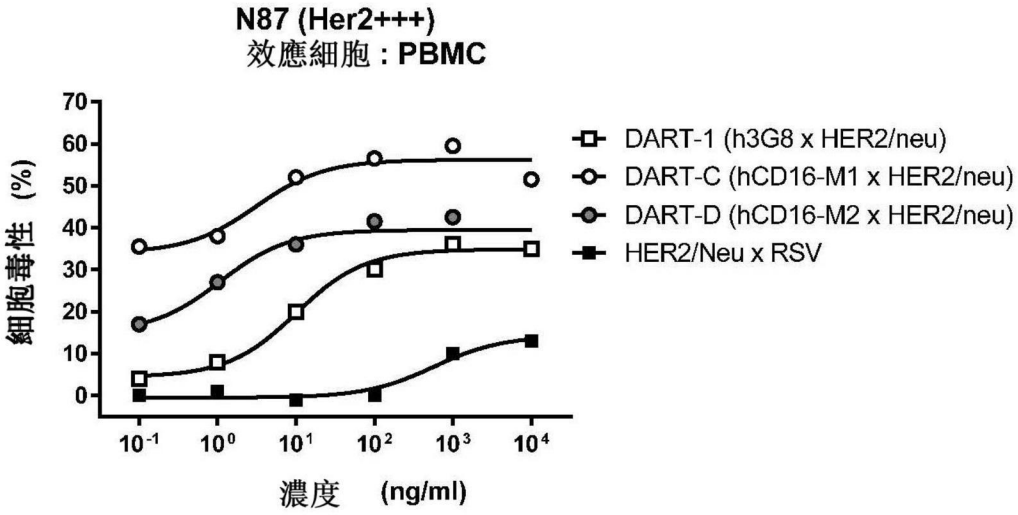

N87 (Her2+++)
效應細胞：PBMC
細胞毒性 (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
DART-1 (h3G8 x HER2/neu)
DART-C (hCD16-M1 x HER2/neu)
DART-D (hCD16-M2 x HER2/neu)
HER2/Neu x RSV

圖 14D

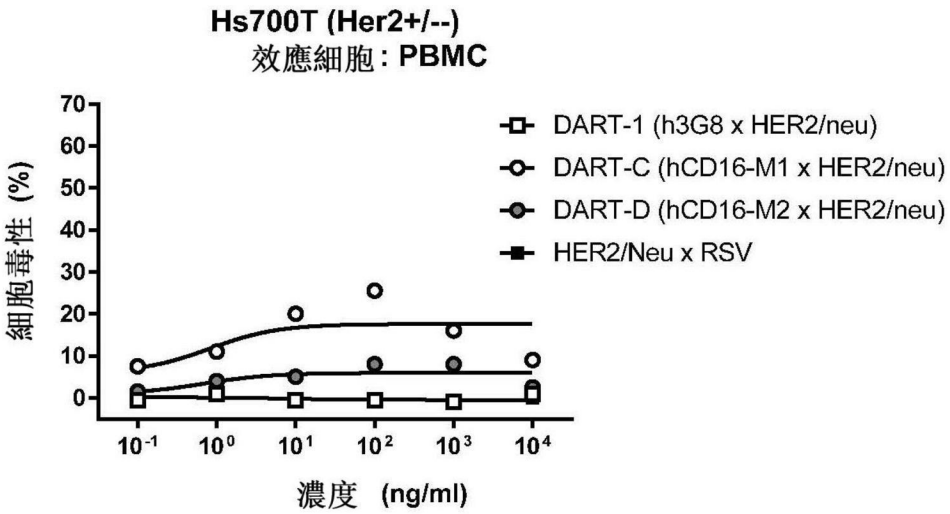

Hs700T (Her2+/--)
效應細胞 : PBMC
細胞毒性 (%)
70
60
50
40
30
20
10
0
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
DART-1 (h3G8 x HER2/neu)
DART-C (hCD16-M1 x HER2/neu)
DART-D (hCD16-M2 x HER2/neu)
HER2/Neu x RSV

圖 14E

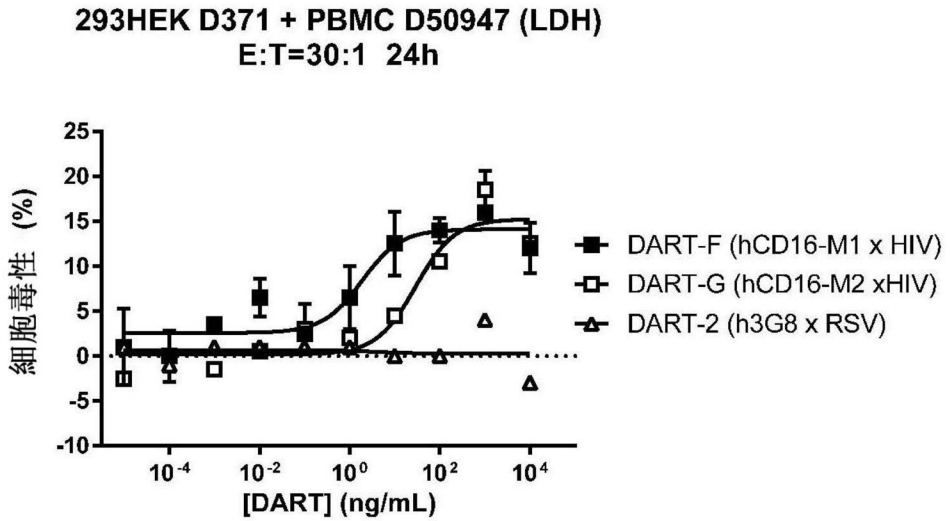

293HEK D371 + PBMC D50947 (LDH)
E:T=30:1 24h
細胞毒性 (%)
25
20
15
10
5
0
-5
-10
10-4
10-2
100
102
104
[DART] (ng/mL)
DART-F (hCD16-M1 x HIV)
DART-G (hCD16-M2 xHIV)
DART-2 (h3G8 x RSV)

圖 15A

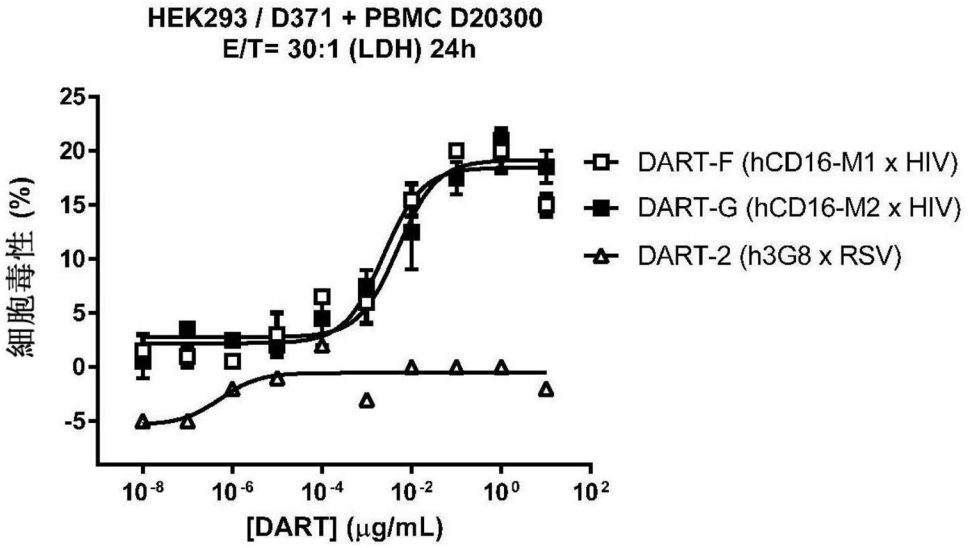

HEK293 / D371 + PBMC D20300
E/T= 30:1 (LDH) 24h
細胞毒性 (%)
25
20
15
10
5
0
-5
10-8
10-6
10-4
10-2
100
102
[DART] (μg/mL)
DART-F (hCD16-M1 x HIV)
DART-G (hCD16-M2 x HIV)
DART-2 (h3G8 x RSV)

圖 15B

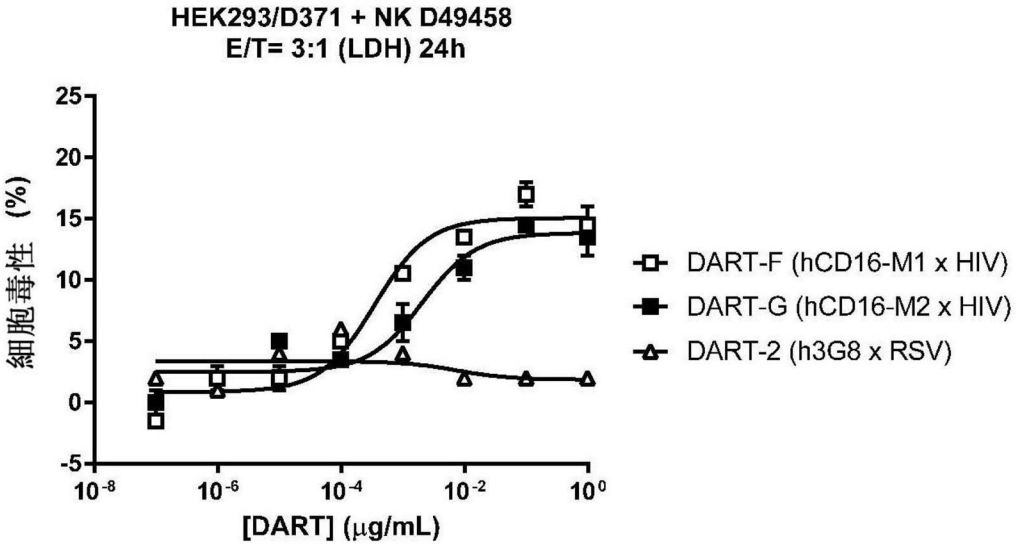

HEK293/D371 + NK D49458
E/T= 3:1 (LDH) 24h
細胞毒性 (%)
25
20
15
10
5
0
-5
10-8
10-6
10-4
10-2
100
[DART] (μg/mL)
DART-F (hCD16-M1 x HIV)
DART-G (hCD16-M2 x HIV)
DART-2 (h3G8 x RSV)

圖 15C

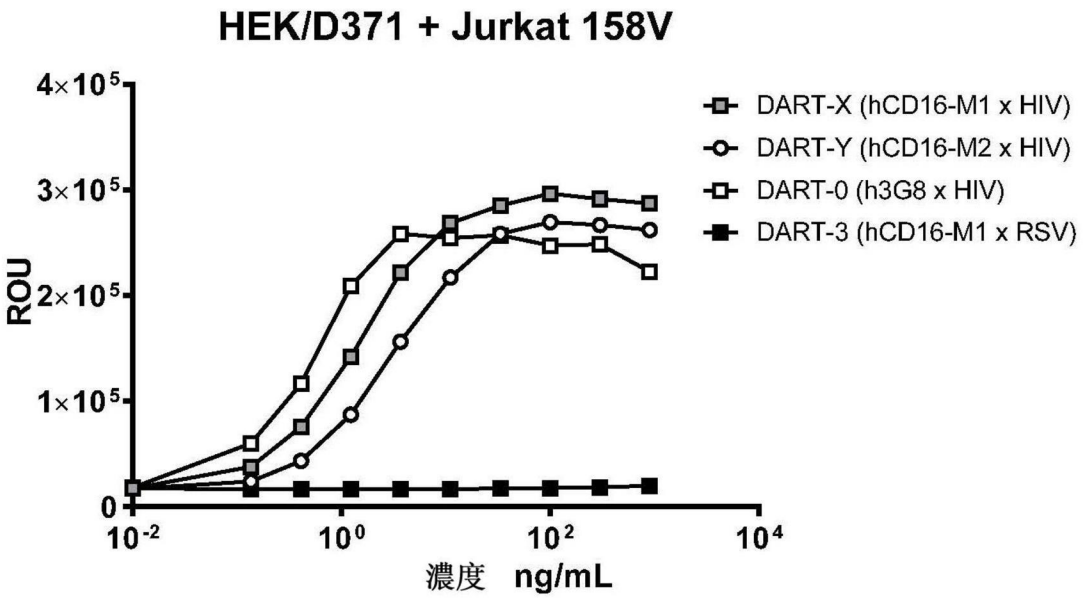

HEK/D371 + Jurkat 158V
4×10^5
3×10^5
2×10^5
1×10^5
0
ROU
10^-2
10^0
10^2
10^4
濃度 ng/mL
DART-X (hCD16-M1 x HIV)
DART-Y (hCD16-M2 x HIV)
DART-0 (h3G8 x HIV)
DART-3 (hCD16-M1 x RSV)

圖 16A

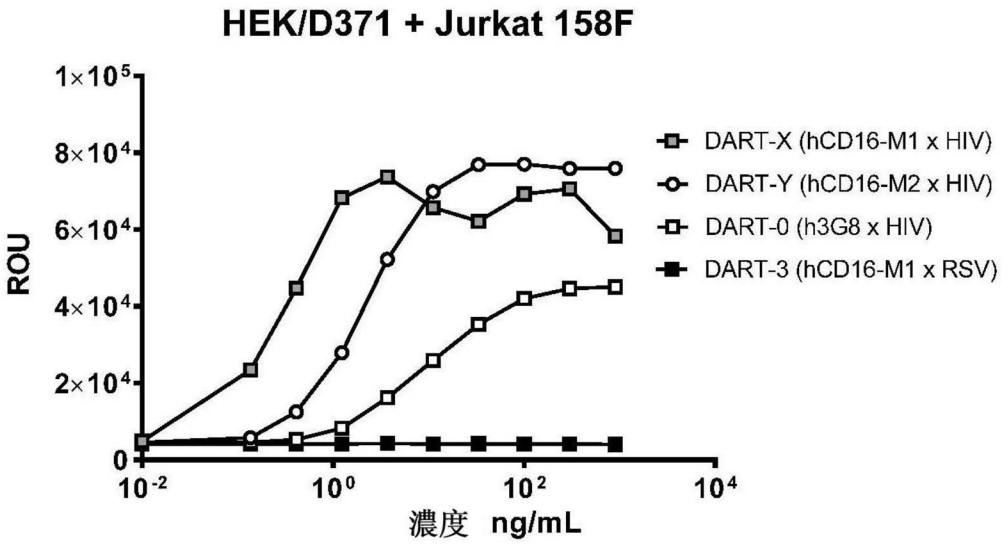

HEK/D371 + Jurkat 158F
1×10^5
8×10^4
6×10^4
4×10^4
2×10^4
0
ROU
10^-2
10^0
10^2
10^4
濃度 ng/mL
DART-X (hCD16-M1 x HIV)
DART-Y (hCD16-M2 x HIV)
DART-0 (h3G8 x HIV)
DART-3 (hCD16-M1 x RSV)

圖 16B

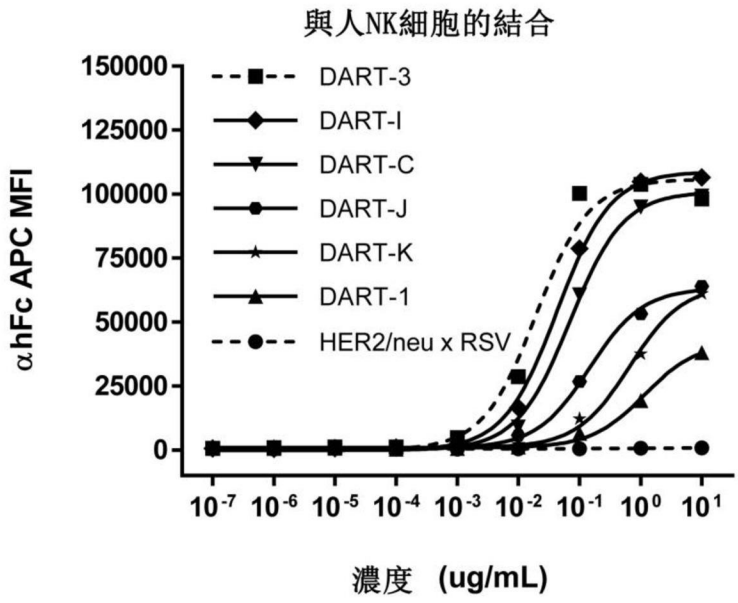

與人NK細胞的結合
αhFc APC MFI
150000
125000
100000
75000
50000
25000
0
DART-3
DART-I
DART-C
DART-J
DART-K
DART-1
HER2/neu x RSV
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
濃度 (ug/mL)

圖 17A

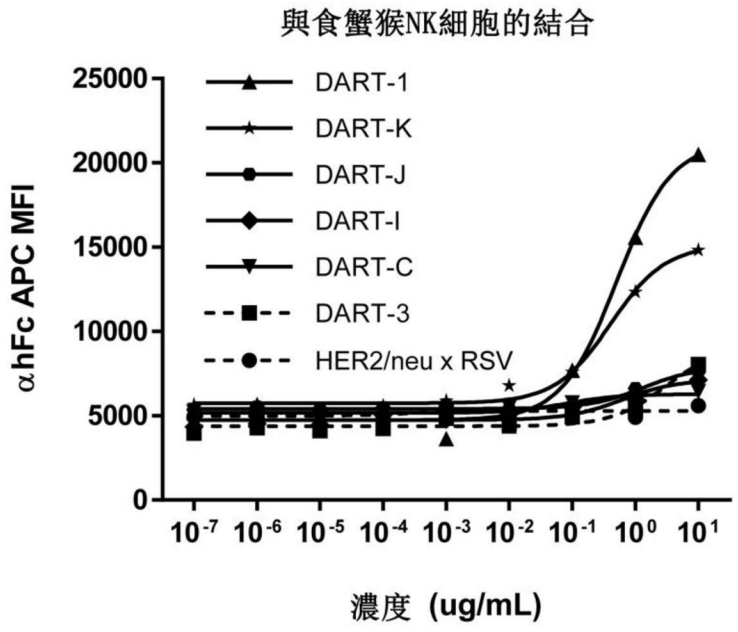

與食蟹猴NK細胞的結合
αhFc APC MFI
25000
20000
15000
10000
5000
0
DART-1
DART-K
DART-J
DART-I
DART-C
DART-3
HER2/neu x RSV
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
濃度 (ug/mL)

圖 17B

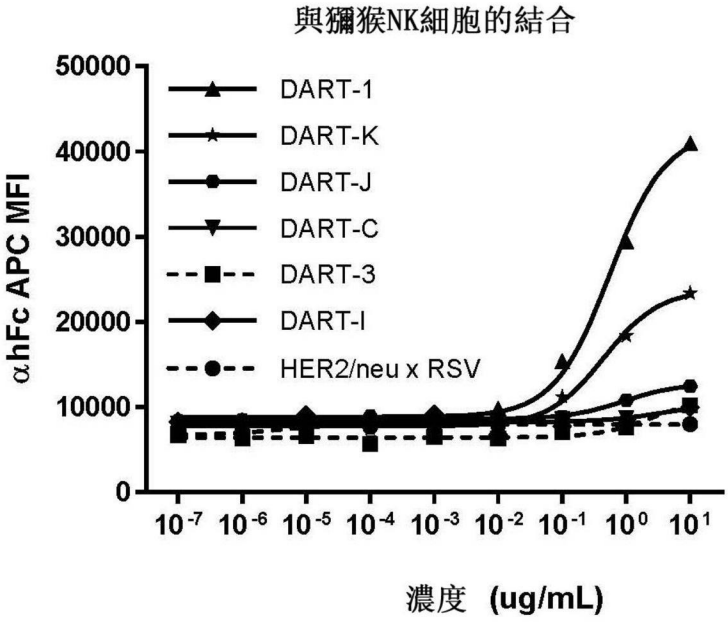

與獼猴NK細胞的結合
αhFc APC MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
DART-1
DART-K
DART-J
DART-C
DART-3
DART-I
HER2/neu x RSV
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
濃度 (ug/mL)

圖 17C

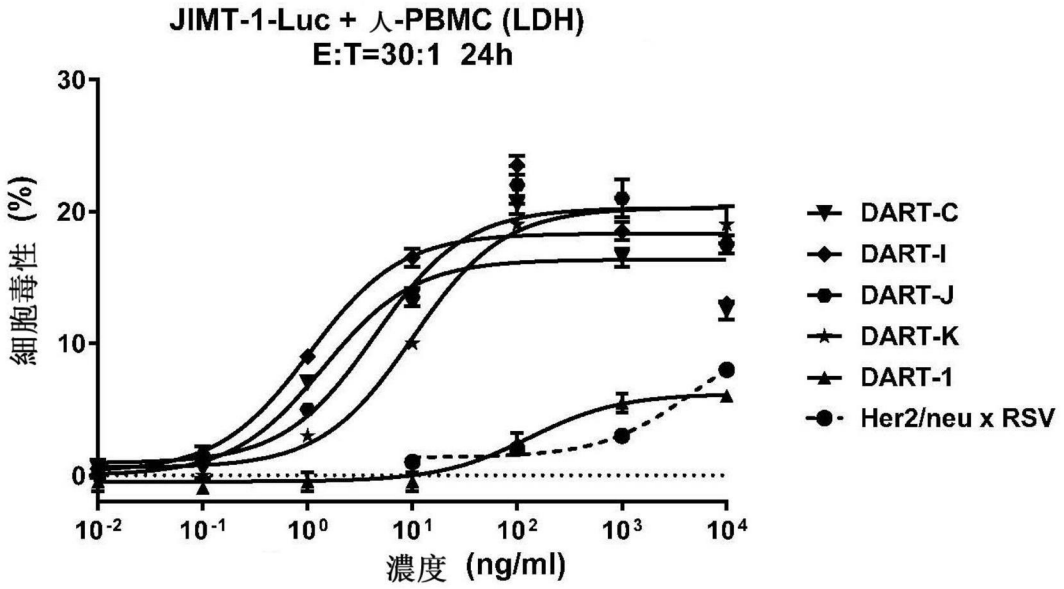

JIMT-1-Luc + 人-PBMC (LDH)
E:T=30:1 24h
細胞毒性 (%)
30
20
10
0
10-2 10-1 100 101 102 103 104
濃度 (ng/ml)
DART-C
DART-I
DART-J
DART-K
DART-1
Her2/neu x RSV

圖 18A

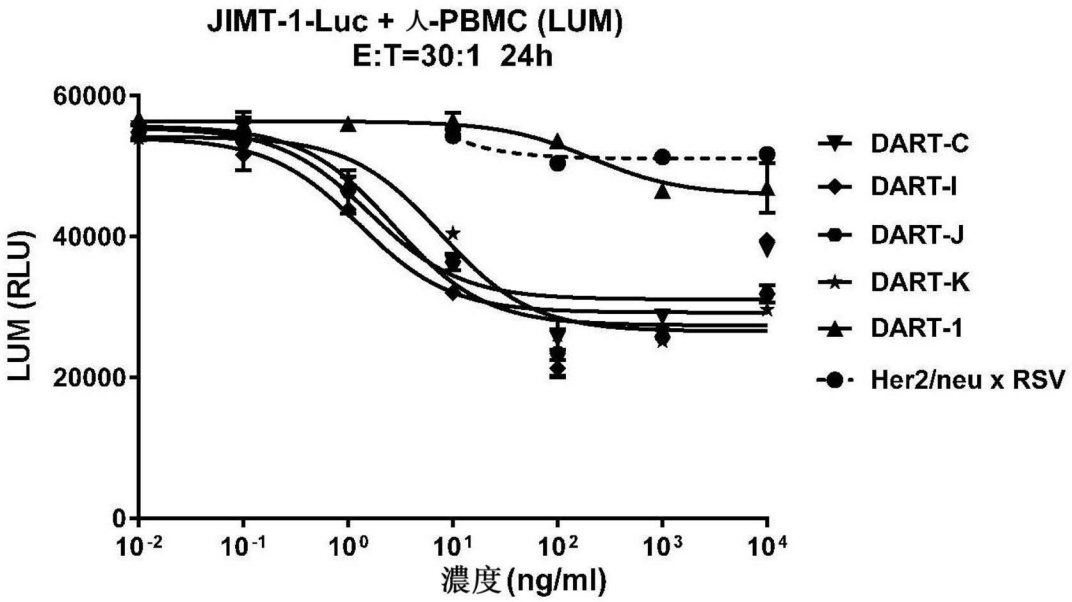

JIMT-1-Luc + 人-PBMC (LUM)
E:T=30:1 24h
LUM (RLU)
60000
40000
20000
0
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度(ng/ml)
DART-C
DART-I
DART-J
DART-K
DART-1
Her2/neu x RSV

圖 18B

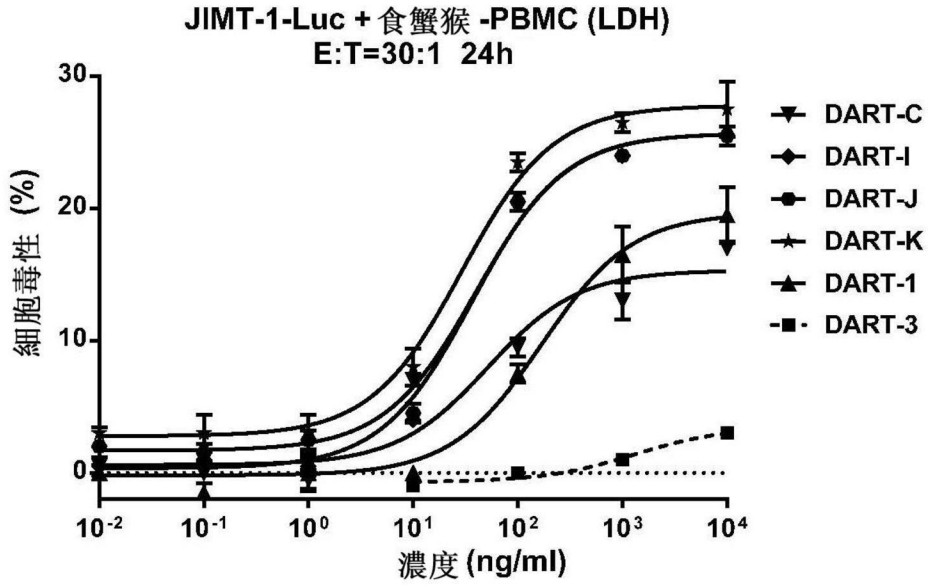

JIMT-1-Luc + 食蟹猴 -PBMC (LDH)
E:T=30:1 24h
細胞毒性 (%)
30
20
10
0
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
DART-C
DART-I
DART-J
DART-K
DART-1
DART-3

圖 18C

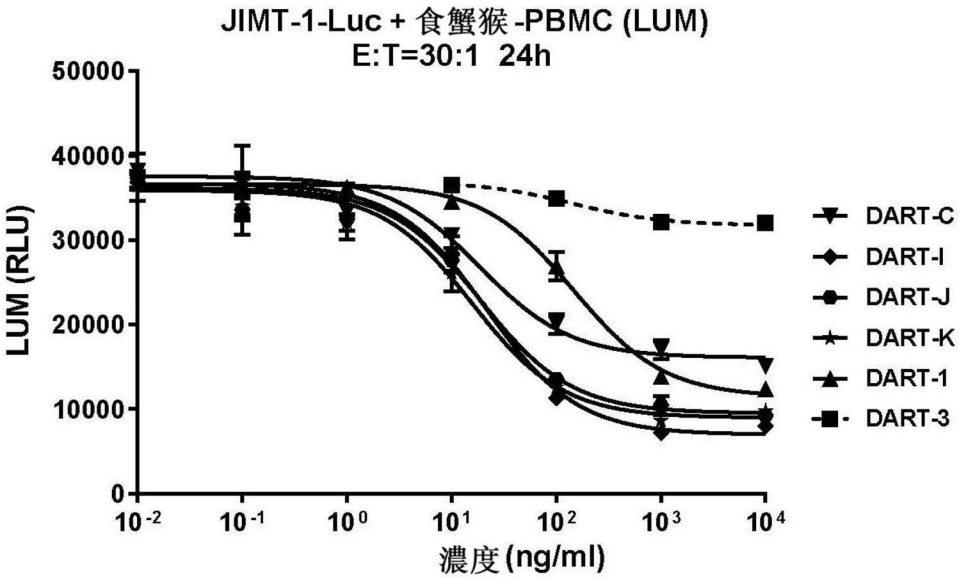

JIMT-1-Luc + 食蟹猴 -PBMC (LUM)
E:T=30:1 24h
LUM (RLU)
50000
40000
30000
20000
10000
0
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
DART-C
DART-I
DART-J
DART-K
DART-1
DART-3

圖 18D

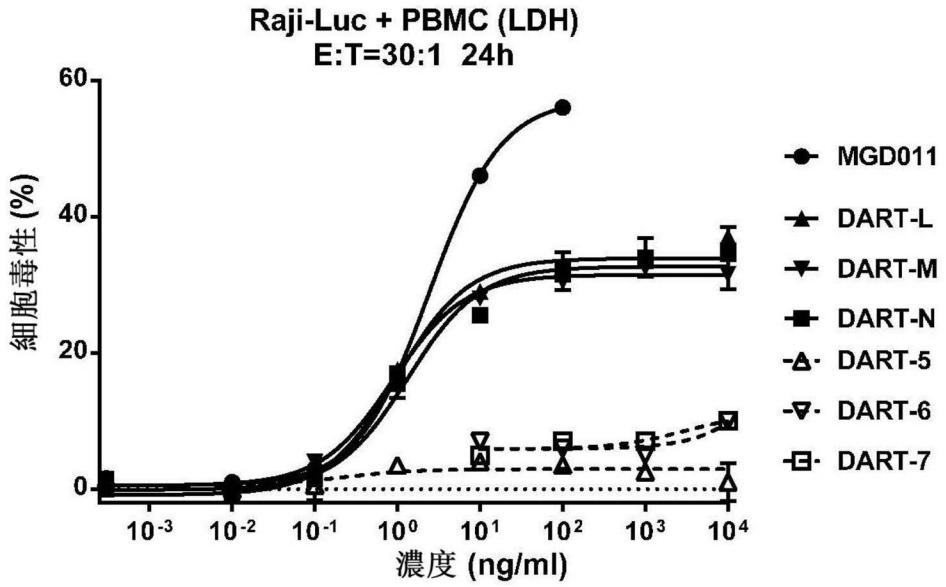

Raji-Luc + PBMC (LDH)
E:T=30:1 24h
細胞毒性 (%)
60
40
20
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
MGD011
DART-L
DART-M
DART-N
DART-5
DART-6
DART-7

圖 19A

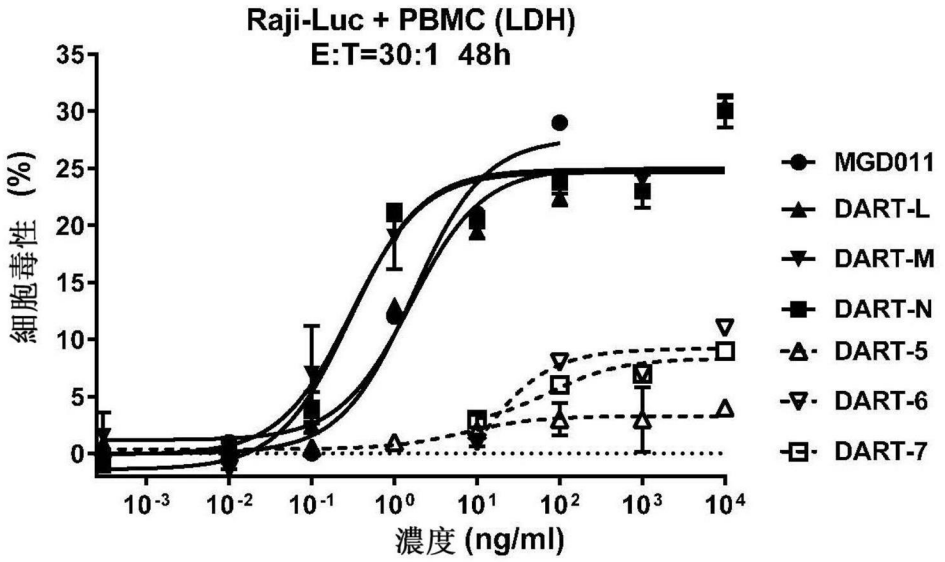

Raji-Luc + PBMC (LDH)
E:T=30:1 48h
細胞毒性 (%)
35
30
25
20
15
10
5
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
MGD011
DART-L
DART-M
DART-N
DART-5
DART-6
DART-7

圖 19B

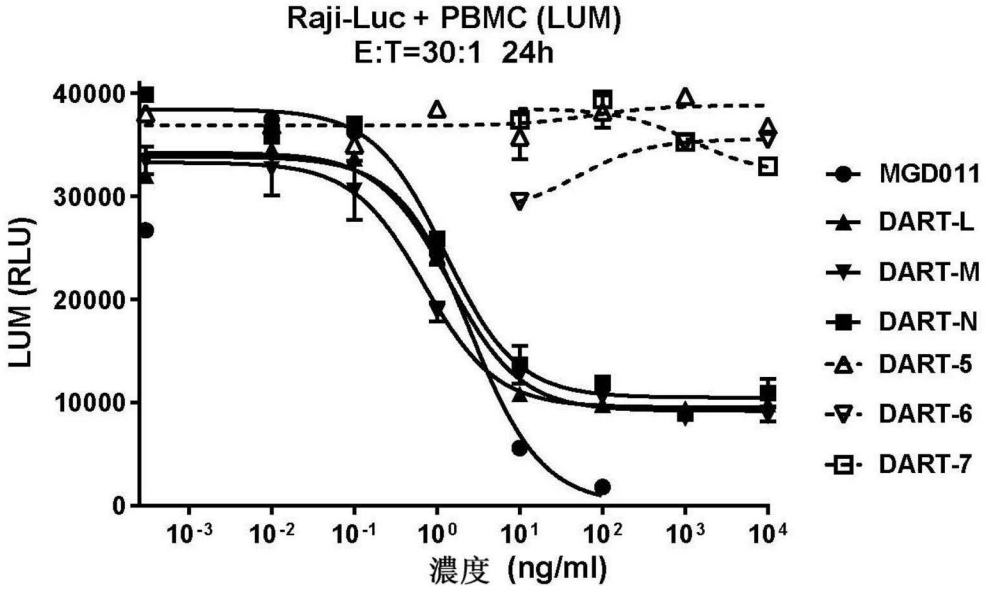

Raji-Luc + PBMC (LUM)
E:T=30:1 24h
LUM (RLU)
40000
30000
20000
10000
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
MGD011
DART-L
DART-M
DART-N
DART-5
DART-6
DART-7

圖 19C

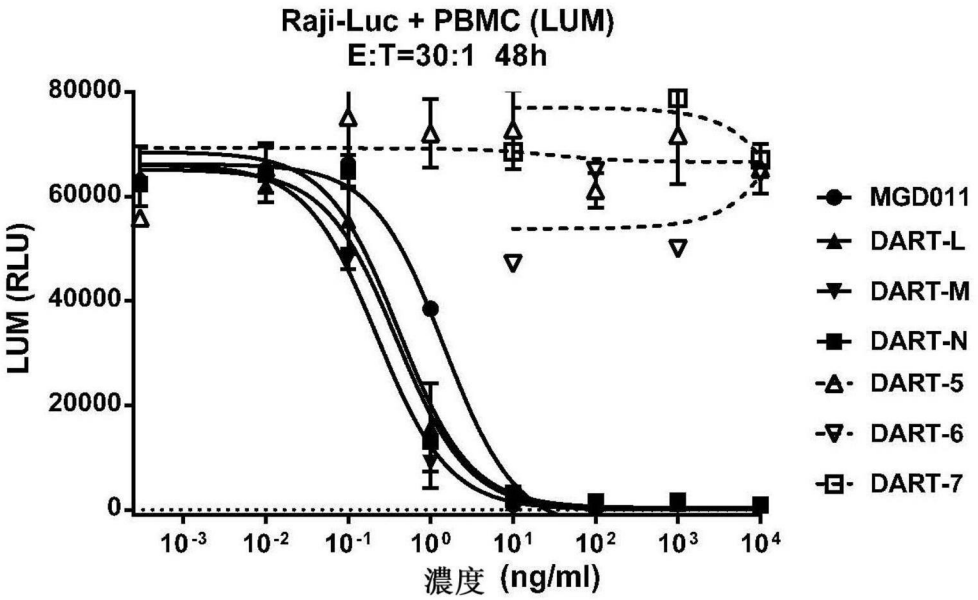

Raji-Luc + PBMC (LUM)
E:T=30:1 48h
LUM (RLU)
80000
60000
40000
20000
0
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
104
濃度 (ng/ml)
MGD011
DART-L
DART-M
DART-N
DART-5
DART-6
DART-7

圖 19D

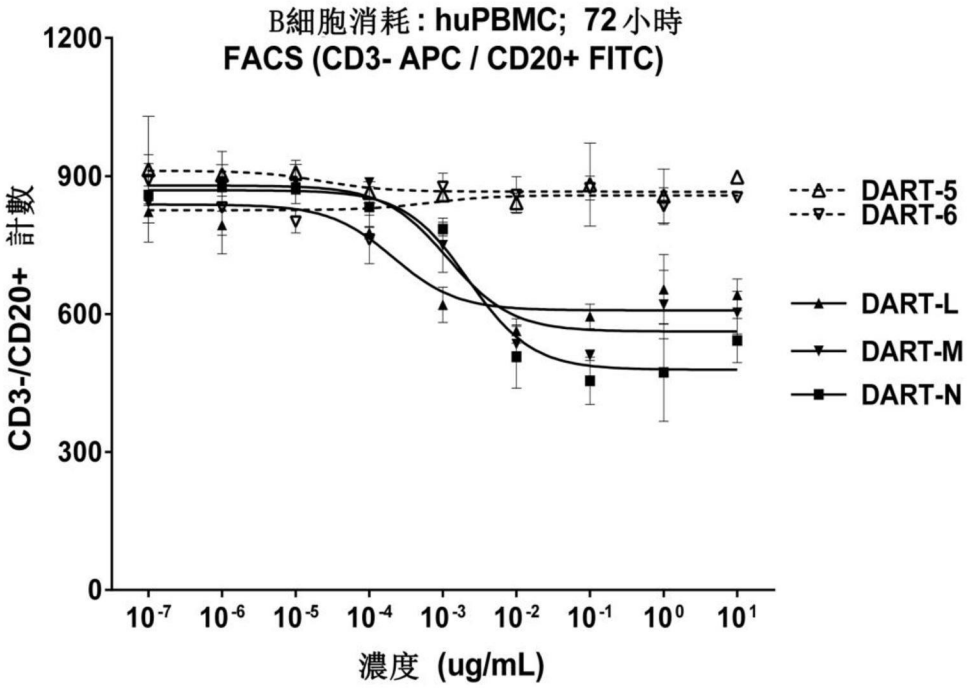

B細胞消耗 : huPBMC; 72小時
FACS (CD3- APC / CD20+ FITC)
CD3-/CD20+ 計數
1200
900
600
300
0
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
濃度 (ug/mL)
DART-5
DART-6
DART-L
DART-M
DART-N

圖 20A

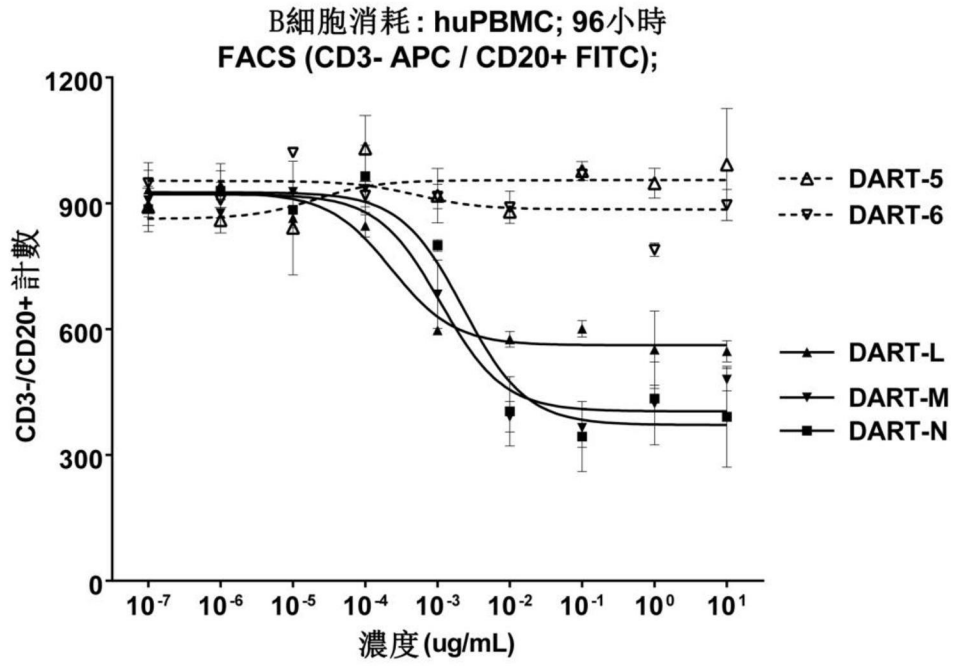

B細胞消耗 : huPBMC; 96小時
FACS (CD3- APC / CD20+ FITC);
CD3-/CD20+計數
1200
900
600
300
0
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1 100 101
濃度(ug/mL)
DART-5
DART-6
DART-L
DART-M
DART-N

圖 20B

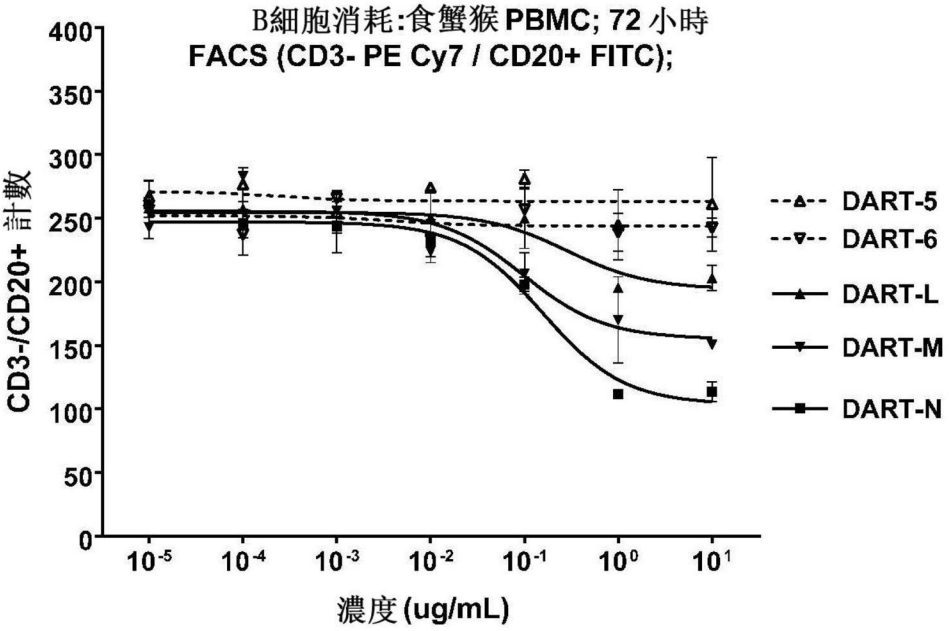

B細胞消耗:食蟹猴 PBMC; 72 小時
FACS (CD3- PE Cy7 / CD20+ FITC);
CD3-/CD20+ 計數
濃度 (ug/mL)
DART-5
DART-6
DART-L
DART-M
DART-N

圖 20C

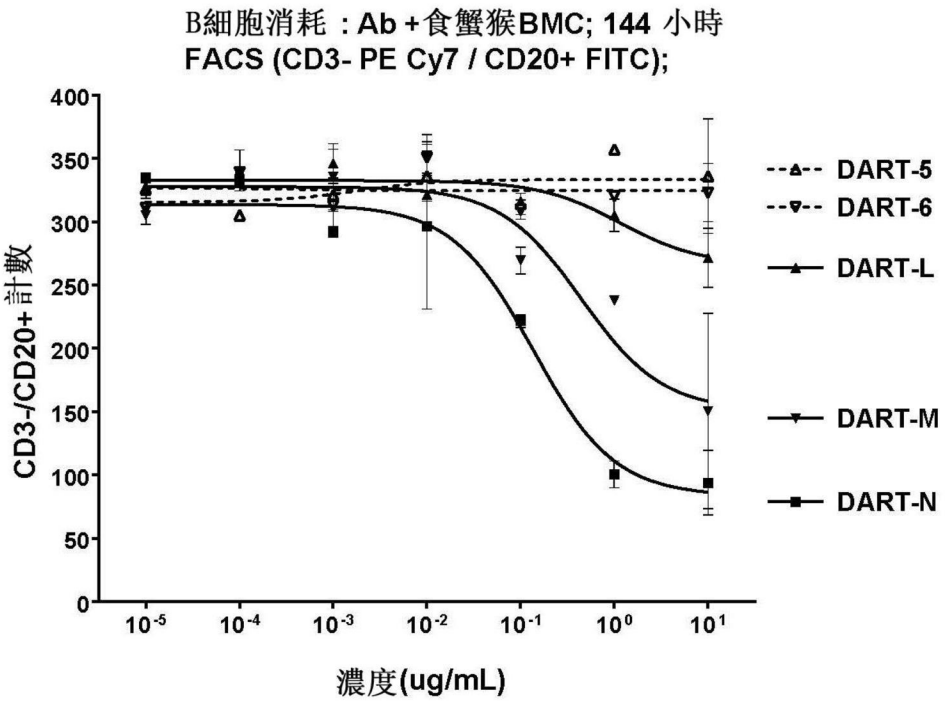

B細胞消耗 : Ab +食蟹猴BMC; 144 小時
FACS (CD3- PE Cy7 / CD20+ FITC);
CD3-/CD20+計數
濃度(ug/mL)
DART-5
DART-6
DART-L
DART-M
DART-N

圖 20D