202327647

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本　(11)公開編號：TW 202327647 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 07 月 16 日

(21)申請案號：111126241　(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 07 月 13 日

(51)Int. Cl.：*A61K39/395 (2006.01)*　*C07K16/28 (2006.01)*

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/07/15　世界智慧財產權組織　PCT/EP2021/069869

(71)申請人：德商拜恩迪克公司 (德國) BIONTECH SE　(DE)

德國

(72)發明人：薩欣　烏爾 SAHIN, UGUR (TR)；施泰德　克里斯汀 STADLER, CHRISTIANE (DE)；艾林豪斯　烏蘇拉 ELLINGHAUS, URSULA (DE)；貝爾　馬哈茂德　哈亞特 BAEHR-MAHMUD, HAYAT (DE)；費雪　萊拉 FISCHER, LEYLA (DE)；林德曼　克勞蒂亞 LINDEMANN, CLAUDIA (DE)；查圖維迪　安努爾 CHATURVEDI, ANUHAR (DE)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無　申請專利範圍項數：126 項　圖式數：14　共 234 頁

(54)名稱

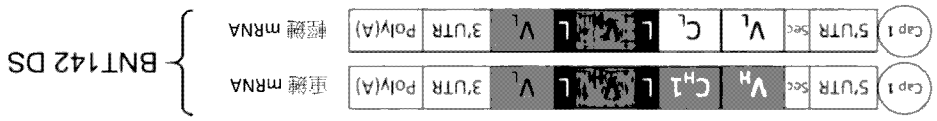
用以治療 CLDN6 陽性癌症之藥劑

(57)摘要

本發明一般而言係有關一種結合劑，其為至少結合至 CD3 及 CLDN6 之雙特異性，亦即其等可以至少結合至 CD3 及 CLDN6。明確言之，本發明係有關一種編碼此等結合劑之 RNA，其等可用於治療或預防受試者之癌症。

The present invention generally relates to binding agents that are at least bispecific for the binding to CD3 and CLDN6, i.e., they are capable of binding to at least CD3 and CLDN6. Specifically, the present invention relates to RNA encoding these binding agents which may be used in the treatment or prevention of cancer in a subject.

指定代表圖：



【圖1】

202327647

【發明摘要】

【中文發明名稱】用以治療CLDN6陽性癌症之藥劑

【英文發明名稱】AGENTS FOR TREATING CLDN6-POSITIVE CANCERS

【中文】

本發明一般而言係有關一種結合劑，其為至少結合至 CD3 及 CLDN6 之雙特異性，亦即其等可以至少結合至 CD3 及 CLDN6。明確言之，本發明係有關一種編碼此等結合劑之 RNA，其等可用於治療或預防受試者之癌症。

【英文】

The present invention generally relates to binding agents that are at least bispecific for the binding to CD3 and CLDN6, i.e., they are capable of binding to at least CD3 and CLDN6. Specifically, the present invention relates to RNA encoding these binding agents which may be used in the treatment or prevention of cancer in a subject.

【指定代表圖】圖1

【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】用以治療CLDN6陽性癌症之藥劑

【英文發明名稱】AGENTS FOR TREATING CLDN6-POSITIVE CANCERS

【技術領域】

【0001】 本發明一般而言係有關一種結合劑，其為至少結合至CD3及CLDN6之雙特異性，亦即其等可以至少結合至CD3及CLDN6。

【先前技術】

【0002】 癌症為全球第二大死因，估計在2020造成1000萬人死亡。通常，一旦實體腫瘤轉移，除了諸如生殖細胞及有些類癌腫瘤少數例外，5年存活率很少超過25%。

【0003】 諸如：化療、放療、外科手術、及靶向療法等傳統療法的改進及最近進步的免疫療法已改善了罹患晚期實體腫瘤患者的結果。過去幾年來，美國食品藥物管理局(the Food and Drug Administration，FDA)及歐洲藥品管理局(European Medicines Agency，EMA)已核准數種免疫檢查點抑制劑供治療罹患多種癌症類型，主要指實體腫瘤的患者。此等核准已大幅改變癌症治療的視野。

【0004】 轉移或局部晚期癌症的預後不佳突顯對其他額外治療方法的需求。其中一種方法為靶向療法，係不斷在推進的可靠方式。

【0005】 CLDN6屬於PMP-22/EMP/MP20/密連蛋白(Claudin)之四跨膜蛋白質超級家族(Pfam資料庫ID：PF00822)，其涉及在上皮及內皮細胞片中形成頂端緊密連接複合物，具有維持細胞極性的重要角色(Krause G.等人，Biochim Biophys Acta. 2008;1778(3):631-645)。重要的是，密連蛋白的蛋白質表現侷限在細胞緊密連接區，僅有標準生理條件下之離子轉運才可到達(Krause G.等人，Biochim Biophys Acta. 2008;1778(3):631-645)。至於對CLDN6之活體內功能的認知則很少。

【0006】 CLDN6具有四個跨膜螺旋，其N-與C端伸入細胞質內。CLDN6之短的N端序列後面接著大的胞外環(EL1)、一個短的胞內環、第二個胞外環(EL2)、及C端細胞質尾(Colegio O.R.等人，Am J Physiolc Cell Physiol. 2002;283(1):C142-C147)。

【0007】 目前仍未判別出CLDN6之同功型(Lal-Nag M.等人，Genome Biol. 2009;10(8):235)。密連蛋白家族成員CLDN3、CLDN4及CLDN9係與CLDN6具有共通序列同源性，CLDN3及CLDN4通常表現在肺、肝、乳房、胰臟、腎臟及腸部的正常上皮細胞(Kwon M.等人，Int J Mol Sci. 2013;14(9):18148-18180)。大多數正常組織沒有CLDN9表現；然而，已有報告指出CLDN9表現在小鼠內耳的耳蝸及內耳腔 (Kitajiri S.I.等人，Hear Res. 2004;187(1-2):25-34；Nakano Y.等人，PLoS Genet. 2009;5(8):e1000610)，如同其在人類中*CLDN9* 基因截斷與聽覺受損之間的關連性(Sineni C.等人，人類 genetics 2019;138(10):1071-1075)。

【0008】 致癌胎兒蛋白 CLDN6 幾乎僅表現在胚胎幹細胞，因此會在分化期間快速下調進入神經或心臟細胞系，不會表現在胎盤以外之正常成人組織(Assou S.等人，Stem Cells. 2007;25(4):961-973；Ben-David U.等人，Nat Commun. 2013;4:1992；Reinhard K.等人，Science. 2020;367(6476):446-453)。CLDN6 表現在多種不同人類癌症型態，包括睪丸癌、卵巢癌、子宮內膜癌、及肺癌。代表性研究顯示，所有染色顯示高度陽性 CLDN6 之組織學亞型中有約 93%睪丸癌係由染色強度≥2+來界定。此外，56% CLDN6 染色陽性之卵巢癌中，其中 20 至 25%在超過 50%腫瘤細胞中顯示高度(≥2+)細胞膜染色。相較於原發性卵巢癌，CLDN6 陽性樣本頻率在轉移性病灶中顯著增加(72%；未出示數據)，CLDN6 表現與疾病演進相關。CLDN6 染色陽性之 23%子宮內膜癌瘤及 11%肺癌瘤中，分別有 10 至 15%及 2 至 5%顯示染色強度≥2+。

【0009】 本發明一個目的係提供一種治療CLDN6陽性癌症疾病之新穎製劑及方法。

【0010】 有些實施例中，解決本發明問題之方法之基礎概念在於投與由患者細胞表現之RNA，由其表現會形成結合劑之多肽鏈，該結合劑包含兩個針對癌細胞所表現CLDN6之結合結構域及一個針對T細胞所表現CD3之結合結構域，因此可能讓T細胞之細胞毒性效應靶向癌細胞。

【發明內容】

【0011】 本發明一般而言係有關一種結合劑，其為至少結合至CD3及CLDN6之雙特異性，亦即其等可以至少結合至CD3及CLDN6。明確言之，本發明係有關一種編碼此等結合劑之RNA，該結合劑可用於治療或預防受試者之癌

症。特定言之，可以投與本文所揭示編碼結合劑之RNA(在由適當標靶細胞表現該RNA之後)提供靶向CD3及CLDN6之結合劑。

【0012】 因此，本文所說明醫藥組成物可包含單股RNA作為活性成份，其可在進入接受者之細胞內時轉譯成個別編碼之多肽。除了編碼結合劑之序列以外，該RNA尚可包含針對穩定性及轉譯效率進行優化之一或多種結構元素，以達RNA之最大效力(5'-端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)-尾)。有些實施例中，RNA包含所有此等元素。

【0013】 本文所說明RNA可與蛋白質及/或脂質(較佳為脂質)複合，以產生供投藥之RNA顆粒。可能由不同RNA與蛋白質及/或脂質共同複合或分開複合，來產生供投藥之RNA-顆粒。

【0014】 一項態樣中，本發明提供一種組成物或醫用製劑，其包含：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))。

【0015】 有些實施例中，第一多肽鏈與第二多肽鏈交互作用，形成一個對CD3具有特異性之結合結構域及兩個對CLDN6具有特異性之結合結構域。

【0016】 有些實施例中：

第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域，

第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域，及

第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【0017】 一項態樣中，本發明提供一種組成物或醫用製劑，其包含：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含可變區 VH(CD3)、可變區 VH(CLDN6)及可變區 VL(CLDN6)；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含可變區 VL(CD3)、可變區 VH(CLDN6)及可變區 VL(CLDN6)，

其中第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域，

其中第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域，及

其中第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【0018】 有些實施例中，該第一及第二多肽鏈包含衍生自免疫球蛋白之重鏈恆定區 1(CH1) 或其功能變體及衍生自免疫球蛋白之輕鏈恆定區(CL) 或其功能變體。

【0019】 有些實施例中，免疫球蛋白為 IgG1。

【0020】 有些實施例中，IgG1 為人類 IgG1。

【0021】 有些實施例中，第一多肽鏈上之 VH、VL、及 CH1 從 N 端往 C 端之排列依序為

VH(CD3)-CH1-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VH(CD3)-CH1-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【0022】 有些實施例中，CH1 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。一項實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列 SGPGGGRS$(G_4S)_2$ 或其功能變體。

【0023】 有些實施例中，第二多肽鏈上之 VH、VL、及 CL 從 N 端往 C 端之排列依序為

VL(CD3)-CL-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VL(CD3)-CL-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【0024】 有些實施例中，CL 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列 DVPGGS 或其功能變體。

【0025】 有些實施例中，VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)係利用肽連接子彼此連結。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_x$或其功能變體，其中 x 為 2、3、4、5 或 6。一項實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_4$或其功能變體。

【0026】 有些實施例中，第一多肽鏈上之 CH1 與第二多肽鏈上之 CL 交互作用。

【0027】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0028】 有些實施例中，VH(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYTFTRYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPSRGYT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARYYDDHYSLDY 或其功能變體。

【0029】 有些實施例中，VH(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYTFTRYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPSRGYT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARYYDDHYCLDY 或其功能變體。

【0030】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體。

【0031】 有些實施例中，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0032】 有些實施例中，VL(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 SSVSY 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 DTS 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 QQWSSNPLT 或其功能變體。

【0033】 有些實施例中，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體。

【0034】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0035】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYSFTGYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPYNGGT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARDYGFVLDY 或其功能變體。

【0036】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體。

【0037】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0038】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0039】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0040】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3、與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之序列、及位在對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449 之絲胺酸殘基。

【0041】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 SSVSY 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 STS 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 QQRSNYPPWT 或其功能變體。

【0042】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【0043】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及較佳相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)及/或相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0044】 有些實施例中：

VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體，及/或

VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【0045】 有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體。

【0046】 有些實施例中，第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【0047】 有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體，及第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【0048】 有些實施例中，第一多肽與第二多肽中至少一者係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【0049】 有些實施例中，各第一多肽及第二多肽係分別由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【0050】 有些實施例中，RNA 包含以經修飾核苷替代尿苷。此例中，較佳係以經修飾核苷替代 RNA 中每一個或基本上每一個尿苷。

【0051】 有些實施例中，經修飾核苷係選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)。

【0052】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【0053】 有些實施例中，每一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【0054】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含 5’ UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0055】 有些實施例中，每一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0056】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0057】 有些實施例中，每一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0058】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含聚 A 序列。

【0059】 有些實施例中，每一個 RNA 包含聚 A 序列。

【0060】 有些實施例中，聚 A 序列包含至少 100 個核苷酸。

【0061】 有些實施例中，聚 A 序列包含或其組成為核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0062】 有些實施例中：

(i) 第一 RNA 與第二 RNA 之(w/w)比值為約 1.75：1 至約 1.25：1、或約 1.5：1 至約 1.25：1、或較佳約 1.5：1；及/或

(ii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷；及/或

(iii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷，其中經修飾核苷係分別獨立選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)；及/或

(iv) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}$Gppp($m_1^{2'\text{-}O}$)ApG；及/或

(v) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vi) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含聚 A 尾，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0063】 有些實施例中：

(i) 第一 RNA 與第二 RNA 之(w/w)比值為約 1.75：1 至約 1.25：1、或約 1.5：1 至約 1.25：1、或較佳約 1.5:1；

(ii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷，其中經修飾核苷為 N1-甲基-假尿苷(m1ψ)；

(iii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$；

(iv) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8；

(v) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9；及

(vi) 第一 RNA 與第二 RNA 包含聚 A 尾，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0064】 有些實施例中：

(i) 第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0065】 有些實施例中：

(i) 第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0066】 一項態樣中，本發明提供一種組成物或醫用製劑，其包含：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列。

【0067】 所有態樣之有些實施例中，第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0068】 所有態樣之有些實施例中，第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0069】 一項態樣中，本發明提供一種組成物或醫用製劑，其包含：第一 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：35 或與核苷酸序列 SEQ ID NO：35 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或第二 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：36 或與核苷酸序列 SEQ ID NO：36 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0070】 一項態樣中，本發明提供一種組成物或醫用製劑，其包含：第一 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5；及第二 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，其中第一 RNA 與第二 RNA 之含量係第一 RNA 對第二 RNA 之(w/w)比值為約 1.5：1。

【0071】 所有態樣之有些實施例中，RNA 為 mRNA。

【0072】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配成液體、調配成固體、或其組合。

【0073】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配或計畫調配供注射。

【0074】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配或計畫調配供靜脈內投藥。

【0075】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配或計畫調配成顆粒。

【0076】 有些實施例中，顆粒為脂質奈米顆粒(LNP)。

【0077】 有些實施例中，LNP 顆粒包含 ((3-羥丙基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基)雙(2-丁基辛酸酯)、2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、及膽固醇。

【0078】 所有態樣之有些實施例中，該組成物或醫用製劑為醫藥組成物。

【0079】 有些實施例中，醫藥組成物進一步包含一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑及/或賦形劑。

【0080】 所有態樣之有些實施例中，該組成物或醫用製劑為套組。

【0081】 有些實施例中，RNA 及視需要選用形成顆粒之組份係在分開的小瓶中。

【0082】 有些實施例中，組成物或醫用製劑進一步包含指示該組成物或醫用製劑於治療或預防癌症上用法之說明書。

【0083】 一項態樣中，本發明提供一種如本文所說明供醫藥用途之組成物或醫用製劑。

【0084】 有些實施例中，醫藥用途包含疾病或疾患之醫療性或預防性處理。

【0085】 有些實施例中，疾病或疾患之醫療性或預防性處理包括治療或預防癌症。

【0086】 有些實施例中，疾病或疾患之醫療性或預防性處理進一步包括投與其他療法。

【0087】 有些實施例中，其他療法包含一或多種選自下列各物所組成群中：(i) 腫瘤之手術去除、切除、或減積，(ii) 放射療法，及(iii) 化學療法。

【0088】 有些實施例中，其他療法包含投與其他醫療劑。

【0089】 有些實施例中，其他醫療劑包含抗癌醫療劑。

【0090】 有些實施例中，本文所說明組成物或醫用製劑係投與人類。

【0091】 一項態樣中，本發明提供一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))。

【0092】 有些實施例中，第一多肽鏈與第二多肽鏈交互作用，形成一個對 CD3 具有特異性之結合結構域及兩個對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【0093】 有些實施例中：

第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域，

第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域，及

第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【0094】 一項態樣中，本發明提供一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含可變區 VH(CD3)、可變區 VH(CLDN6)及可變區 VL(CLDN6)；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含 可變區 VL(CD3)、可變區 VH(CLDN6)及可變區 VL(CLDN6)，

其中第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域，

其中第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域，及

其中第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【0095】 有些實施例中，該第一及第二多肽鏈包含衍生自免疫球蛋白之重鏈恆定區 1(CH1)或其功能變體及衍生自免疫球蛋白之輕鏈恆定區(CL)或其功能變體。

【0096】 有些實施例中，免疫球蛋白為 IgG1。

【0097】 有些實施例中，IgG1 為人類 IgG1。

【0098】 有些實施例中，第一多肽鏈上之 VH、VL、及 CH1 從 N 端往 C 端之排列依序為

VH(CD3)-CH1-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VH(CD3)-CH1-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【0099】 有些實施例中，CH1 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列 SGPGGGRS$(G_4S)_2$ 或其功能變體。

【0100】 有些實施例中，第二多肽鏈上之 VH、VL、及 CL 從 N 端往 C 端之排列依序為

VL(CD3)-CL-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或
VL(CD3)-CL-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【0101】 有些實施例中，CL 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列 DVPGGS 或其功能變體。

【0102】 有些實施例中，VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)係利用肽連接子彼此連結。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_x$或其功能變體，其中 x 為 2、3、4、5 或 6。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_4$或其功能變體。

【0103】 有些實施例中，第一多肽鏈上之 CH1 與第二多肽鏈上之 CL 交互作用。

【0104】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0105】 有些實施例中，VH(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYTFTRYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPSRGYT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARYYDDHYSLDY 或其功能變體。

【0106】 有些實施例中，VH(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYTFTRYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPSRGYT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARYYDDHYCLDY 或其功能變體。

【0107】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體。

【0108】 有些實施例中，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0109】 有些實施例中，VL(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 SSVSY 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 DTS 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 QQWSSNPLT 或其功能變體。

【0110】 有些實施例中，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體。

【0111】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0112】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYSFTGYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPYNGGT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARDYGFVLDY 或其功能變體。

【0113】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體。

【0114】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【0115】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0116】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0117】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3、與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之序列、及位在對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449 之絲胺酸殘基。

【0118】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 SSVSY 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 STS 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 QQRSNYPPWT 或其功能變體。

【0119】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【0120】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及較佳相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)；及/或相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0121】 有些實施例中：

VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體，

VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體，

VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體，及/或

VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【0122】 有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體。

【0123】 有些實施例中，第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【0124】 有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體，及第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【0125】 有些實施例中，第一多肽與第二多肽中至少一者係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【0126】 有些實施例中，各第一多肽及第二多肽係分別由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【0127】 有些實施例中，RNA 包含以經修飾核苷替代尿苷。此等例中，較佳係以經修飾核苷替代 RNA 中每一個或基本上每一個尿苷。

【0128】 有些實施例中，經修飾核苷係選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)。

【0129】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【0130】 有些實施例中，每一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【0131】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0132】 有些實施例中，每一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0133】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0134】 有些實施例中，每一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0135】 有些實施例中，至少一個 RNA 包含聚 A 序列。

【0136】 有些實施例中，每一個 RNA 包含聚 A 序列。

【0137】 有些實施例中，聚 A 序列包含至少 100 個核苷酸。

【0138】 有些實施例中，聚 A 序列包含或其組成為核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0139】 有些實施例中：

(i) 第一 RNA 與第二 RNA 之 (w/w)比值為約 1.75：1 至約 1.25：1、或約 1.5：1 至約 1.25：1、或較佳約 1.5：1；及/或

(ii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷；及/或

(iii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷，其中經修飾核苷係分別獨立選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)；及/或

(iv) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$；及/或

(v) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vi) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含聚 A 尾，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0140】 有些實施例中：

(i) 第一 RNA 與第二 RNA 之 (w/w)比值為約 1.75：1 至約 1.25：1、或約 1.5：1 至約 1.25：1、或較佳約 1.5:1；

(ii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷，其中經修飾核苷為 N1-甲基-假尿苷(m1ψ)；

(iii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$；

(iv) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8；

(v) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9；及

(vi) 第一 RNA 與第二 RNA 包含聚 A 尾，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0141】 有些實施例中：

(i) 第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii)第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0142】 有些實施例中：

(i) 第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0143】 一項態樣中，本發明提供一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列。

【0144】 所有態樣之有些實施例中，第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0145】 所有態樣之有些實施例中，第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0146】 一項態樣中，本發明提供一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：第一 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：35 或與核苷酸序列 SEQ ID NO：35 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或第二 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：36 或與核苷酸序列 SEQ ID NO：36 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0147】 一項態樣中，本發明提供一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：第一 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5；及第二 RNA，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，其中第一 RNA 與第二 RNA 係依第一 RNA 對第二 RNA 之(w/w)比值約 1.5：1 投與。

【0148】 所有態樣之有些實施例中，RNA 為 mRNA。

【0149】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配成液體、調配成固體、或其組合。

【0150】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係注射投藥。

【0151】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係一週投藥一次。

【0152】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係經靜脈內投藥。

【0153】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配成顆粒。

【0154】 有些實施例中，顆粒為脂質奈米顆粒(LNP)。

【0155】 有些實施例中，LNP 顆粒包含((3-羥丙基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基) 雙(2-丁基辛酸酯)、2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、及膽固醇。

【0156】 所有態樣之有些實施例中，RNA 係調配成醫藥組成物。

【0157】 有些實施例中，醫藥組成物進一步包含一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑及/或賦形劑。

【0158】 所有態樣之有些實施例中，本文所說明方法進一步包含其他療法。

【0159】 有些實施例中，其他療法包含一或多種選自下列各物所組成群中：(i) 腫瘤之手術去除、切除、或減積，(ii) 放射療法，及(iii) 化學療法。

【0160】 有些實施例中，其他療法包含投與其他醫療劑。

【0161】 有些實施例中，其他醫療劑包含抗癌醫療劑。

【0162】 所有態樣之有些實施例中，該受試者為人類。

【0163】 所有態樣之有些實施例中，該癌症為 CLDN6 陽性癌症。

【0164】 一項態樣中，本發明提供一種本文所說明組成物或醫用製劑，用於本文所說明方法。

【0165】 一項態樣中，本發明係有關一種本文所說明製劑或組成物，用於本文所說明方法。

【圖式簡單說明】

圖 1： RNA 藥物 BNT142 之一般結構式

【0166】 RNA 藥物之一般結構式之圖解說明，其具有 5'-端帽(此時稱為「Cap 1」)、5'-及 3'-UTR。

C_H = 恆定重鏈結構域；C_L = 恆定輕鏈結構域；DS = 藥物；L =連接子；m =信息子；Sec = 分泌訊號肽序列；Poly(A) = 聚腺嘌呤尾；RNA =核糖核酸；UTR =無轉譯區；V_H = 可變重鏈結構域；V_L = 可變輕鏈結構域。

圖 2：RiboMab02.1 特異性結合至人類 CD3 及 CLDN6 且不會脫靶結合至極相關之 CLDN3、4 及 9 或非人類靈長類 CD3

【0167】 採用流式細胞計結合分析法，使用 APC-標記之山羊抗小鼠 IgG(重鏈及輕鏈[H+L])二級抗體測定 RiboMab02.1 之靶向結合性。首先篩選單一細胞，然後篩選活的淋巴細胞(PBMCs)或活的 HEK-293T-17 細胞。採用含 RiboMab02.1 之 HEK-293T-17 上清液，濃度為 10 μg/mL。以穩定表現螢光素酶(HEK-293T-17_偽處理)、CLDN3、4、6 或 9 之食蟹獼猴或人類 PBMC 及 HEK-293T-17 轉導體依指示作為標靶細胞。虛點垂直線標示未染色族群之峰位置。

APC = 別藻藍蛋白；CLDN = 密連蛋白；HEK = 人類胚胎腎；PBMC =周邊血液單核細胞。

圖 3：小鼠表現之 RiboMab02.1 會於活體外介導多種 PBMC 供體以劑量依賴性及標靶特異性溶解腫瘤細胞

【0168】 從 8 位健康供體取得人類 PBMC，與表現螢光素酶腫瘤細胞共同培養。採用 CLDN6 陽性 PA-1 (**A**)或 OV-90 (**B**)細胞株作為標靶細胞及以 CLDN6-陰性 MDA-MB-231 (**A**、**B**)細胞株來對照標靶特異性。該分析法在 384-孔盤格式中進行，使用效應子對標靶細胞比例為 20：1。量測活腫瘤細胞之生物發光度作為讀取值。出示殺死腫瘤細胞之比溶胞百分比。取含 RiboMab02.1 之小鼠血清經過一系列稀釋(10 倍，10 個點；範圍：5.0×10^{-7} 至 500 ng/mL)，並加至共同培養物中，然後(**A**) 與 PA-1 細胞培養 24 h，或(**B**)與 OV-90 細胞培養 48 h。每條線代表使用個別供體之 PBMC 樣本溶解之腫瘤細胞。誤差棒指示平均值(技術三重覆)之標準偏差(SD)。

CDLN = 密連蛋白；EC_{50} = 半最最大有效濃度，PBMC =周邊血液單核細胞。

圖 4：RiboMab02.1 誘發劑量-及標靶-依賴性 T-細胞增生

【0169】 從三位健康供體取得標記 CFSE 之人類 PBMC，與 CLDN6 陽性 PA-1 及 OV-90 標靶細胞或與 CLDN6-陰性但對照之 TAA-陽性 NUGC-4 及標靶-陰性 MDA-MB-231 對照細胞於 12 孔培養盤格式中共同培養。施加效應子對標靶細胞比例為 10：1。此外，另外包括不包含(-)標靶細胞之 PBMC。依指示，添加含有 RiboMab02.1 (每一盤五行的第 1 行及第 2 行)或對照 RiboMab (每一盤五行的第 3 行及第 4 行)之 HEK-293T-17 上清液，依 100 及 1 ng/mL 至共同培養物中。以 OKT3 抗體(抗人類 CD3；黑色棒)作為非標靶依賴性之 CD3-驅動 T-細胞增生之陽性對照。培養 72 h 後，由流式細胞計分析增生 T 細胞之百分比。誤差棒指示所有三位供體平均值之標準偏差(SD)。

CFSE = 羧基螢光素琥珀醯亞胺基酯；PBMC =周邊血液單核細胞；w/o = 不含。

圖 5：RiboMab02.1 在高濃度下以低度非標靶依賴性效應介導劑量依賴性 T-細胞活化

【0170】 從三位健康供體 (效應子細胞)取得人類 PBMC，於存在或不存在 CLDN6 陽性 PA-1 細胞(標靶細胞)(效應子對標靶細胞比例為 10：1)下培養。先取包含 RiboMab02.1 之小鼠血清經過一系列稀釋(10 倍，10 個點；範圍：4.0 x 10^{-6} 至 4,000 ng/mL)後，才用於分析法。共同培養 48 h 後，使用抗-CD5、抗-CD69 及抗-CD25 抗體染色細胞，供進行流式細胞計分析 T 細胞。此時出示總 T-細胞活化，其經過與來自 Luc_RNA-LNP-處理小鼠之偽血清培養之樣本校正。出示每位個別供體(左圖)及所有三位供體之平均值(右圖)之活化 T 細胞之百分比。實心符號代表含有標靶細胞之數值，及黑色空心符號代表沒有標靶細胞。誤差棒指示平均值(技術三重覆[每位供體，左圖]或生物重覆[供體之間，右圖])之標準偏差(SD)。

EC_{50} =半最大有效濃度；w/o =不含。

圖 6： PBMC-人源化 NSG 小鼠中之 BNT142 處理藉由 T-細胞重新導向腫瘤來消除之晚期異種移植腫瘤

【0171】 取帶有 OV-90 細胞之晚期 SC 腫瘤異種移植物(開始治療時之平均腫瘤體積 = 100 mm^3)之 NSG 小鼠經由 IP 注射植入人類 PBMC 作為效應子細胞。使用數位卡尺每週量測 2 次腫瘤體積。小鼠接受 5 次 IV 推注 0.1 或 1 μg BNT142 或 1 μg 編碼標靶不相關 RiboMab 三價抗體之 RNA-LNP (標靶特異性之陰性對照)、1 μg Luc_RNA-LNP、100 μg 重組純化之 CD3 x $(CLDN6)_2$ 三價抗體參考蛋白質、或作為媒劑對照之 DPBS(生理鹽水)處理，一週一次。(**A**) 處理時程。(**B**) 個別小鼠在指定時間點之腫瘤體積。(**C**) 每組中值腫瘤體積之概述，試驗開始時分別包含 13 至 14 隻小鼠，在最後數據點為至少 5 隻小鼠。垂直虛線代表 IV 投與試驗物/對照物之時間點。第 38 天時，從所有組各取四隻小鼠(從 0.1 μg BNT142 組取五隻)安樂死，得到供離體分析之樣本。(**D**) 採用免疫組織化學(IHC)染色法，使用抗人類 CD3 抗體測定每 mm^2 之異種移植組織之 CD3 陽性細胞數。第三次處理後 72 h (第 38 天)切下腫瘤異種移植物。水平線代表平均值(n = 4 至 5)。(**E**)採用 IHC 染色法，使用抗人類 CLDN6 抗體測定來自各試驗組及對照組小鼠之腫瘤異種移植物中 CLDN6 陽性細胞百分比。在研究過程不同時間點切下腫瘤異種移植物。水平線代表平均值(n = 8 至 10)。(**F**)來自第三次處理後 72h(第 38 天)安樂死之 BNT142 處理組及對照組小鼠之 OV-90 腫瘤異種移植物中，人類

CD3(上圖)及 CLDN6 (下圖)染色之代表性 IHC 影像。紅褐色染色(黑白圖中之深色者)指示陽性 IHC 訊號，而藍紫色面積指示沒有陽性染色(陰性 IHC 訊號)。尺標棒長度係依圖中指示(BNT142 及參考蛋白質組：1,000 µm；陰性對照/Luc_RNA-LNP 及生理鹽水組：2,000 µm)。

CD =分化簇集；CLDN = 密連蛋白；ctrl =對照；IP =腹膜內；IV =靜脈內；LNP = 脂質奈米顆粒；Luc = 螢光素酶編碼；neg. = 陰性；NSG = NOD.Cg-Prkd^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ；PBMC =周邊血液單核細胞；RNA =核糖核酸；SC = 皮下。

圖 7：RiboMab02.1 以劑量-及標靶-依賴性方式誘發人類細胞激素

【0172】 採用來自 T-細胞活化分析法之細胞培養上清液(參見上文，圖 5)，使用客製化多工 ELISA 套組，測定由不同濃度 RiboMab02.1 驅動之人類細胞激素(IFN-γ、TNF-α、IL-6、IL-2、IL-10 及 IL-1β)產量。出示每位供體之細胞激素濃度值(技術三重覆之平均值)。實心符號代表含標靶細胞之數值，而空心符號代表沒有標靶細胞之數值。

IFN = 干擾素；IL =介白素；TNF = 腫瘤壞死因子；w/o = 不含。

圖 8：PBMC-人源化 NSG 小鼠中之 BNT142-處理不會誘發人類細胞激素釋出

【0173】 由帶有皮下異種移植腫瘤 (參見上文，圖 6)之 NSG/PBMC 小鼠在接受第三次注射 0.1 或 1 µg BNT142、1 µg 編碼與標靶不相關之 RiboMab 三價抗體之 RNA-LNP(用於對照標靶特異性)(neg. ctrl)、1 µg Luc_RNA-LNP 對照或 100 µg CD3 x $(CLDN6)_2$ 三價抗體參考蛋白質後 6 及 72 h，進一步分析血清。另外包括一個沒有帶腫瘤(w/o 腫瘤)組接受投與 1 µg BNT142。(**A**) 在 6 小時(n = 8)及 72 小時(n = 4)時間點，採用多工 ELISA 測定小鼠血清中人類細胞激素(IFN-γ、IL-6、IL-2、IL-10、TNF-α 及 IL-1β)濃度。各時間點之數據經過接受投與生理鹽水之動物數據校正。水平線指示中值。分別採用曼恩-惠尼 U 試驗(Mann-Whitney U test)或威爾卡森符號等級試驗(Wilcoxon signed-rank test)比較非成對及成對之樣本。(**B**) 所編碼醫療性抗體 RiboMab02.1 之血清濃度。水平線指示平均值。***, p = 0.0002；ctrl = 對照；h =小時；IFN = 干擾素；IL =介白素；LNP =脂質奈米顆粒；Luc = 螢光素酶編碼；neg. = 陰性；ns =不顯著；RNA =核糖核酸；TNF = 腫瘤壞死因子；w/o = 沒有。

圖 9：於活體內靶向肝之 LNP-調配 mRNA

【0174】 由 Balb/cJRj 小鼠接受單次 IV 注射 LNP-調配之螢火蟲螢光素酶 mRNA。在投藥後 6、24、48、72、及 144 h 追蹤生物發光度。**(A)**出示投藥後 6 h 所取得(左圖)個別小鼠腹側位置(n = 5)及(右圖)動物#1 及 2 之單一器官之影像。**(B)**出示所有分析時間點之螢光素酶訊號之定量(光子/秒)(n = 5 或 3，平均值)。IV =靜脈內；LN = 淋巴結；LNP =脂質奈米顆粒。

圖 10：在活體內有效表現由 BNT142 編碼之 RiboMab02.1

【0175】 由雌性 Balb/cJRj 小鼠(n = 3)接受 IV 推注，每隻小鼠 30 µg BNT142。在投藥後 2 及 6 h 收集血清。**(A)** 採用 ELISA 定量血清中 RiboMab02.1 濃度。水平線代表平均值。**(B)** 包含 RiboMab02.1 之血清及參考蛋白質(單體，HMW)在緩衝液或外加 Balb/cJRj 之血清中之西方墨點分析係在非還原條件下進行分析。在血清-蛋白質純化步驟後，總計每條泳道加載 60 ng 蛋白質。以來自無處理小鼠之血清作為對照組。西方墨點係使用辣根過氧化酶(HRP)-接合山羊-抗-人類 IgG Fd 抗體來進行。

Ab = 抗體；ctrl = 對照；Fd =可檢測之片段；HMW = 高分子量；HPI = 注射後小時數；ID = 識別編號；IgG = 免疫球蛋白 γ；kDa = 仟道耳吞；MW =分子量。

圖 11：接受 BNT142 重覆給藥之小鼠之可持續之 RiboMab02.1 曝露及劑量依賴性抗藥物抗體反應

【0176】 由雌性 Balb/cJRj 小鼠(n = 4)在水平虛線指示之時間點接受 IV 注射 10 或 30 µg BNT142 或 30 µg Luc_RNA-LNP(作為對照)，一週一次，共投藥五次。分別在每次投與 BNT142 或生理鹽水之基線(0 h)、之後 6 h (6、174、342、510、及 678 h)及之前 24 h(144、312、480、及 648 h)從小鼠抽血。在第一次投與 BNT142/生理鹽水後 816 h 最後一次抽血。由 ELISA 測定血清 RiboMab02.1 濃度。誤差棒指示平均值之標準偏差(SD)。

LNP =脂質奈米顆粒；Luc = 螢光素酶；RNA =核糖核酸。

圖 12：食蟹獼猴接受 IV 注射 BNT142 後之 RiboMab02.1 曝露

【0177】 BNT142 投藥組及生理鹽水對照組分別包含三隻食蟹獼猴，抽血製備血清，採用 ELISA 分析 RiboMab02.1 濃度。誤差棒指示平均值(技術三重覆)之標準偏差(SD)。

圖 13：RiboMab02.1 為高度單體性並在小鼠中所誘發 ADA 反應低於改變天然 lead 結構之候選 RiboMab_712/711 C53W

【0178】 由雌性 Balb/cJRj 接受 IV 注射 30 µg 編碼 RiboMab02.1 或 RiboMab_712/711 或螢光素酶(對照)之 RNA-LNP。(**A**)在注射後 6 小時取得血清樣本。在小鼠血清中外加 50 ng 純化之蛋白質參考物(單體及 HMW 參考物)。從無處理組(偽處理組)、螢光素酶 RNA 注射組(對照)或 RiboMab RNA 注射組小鼠取得 5 µL 血清及外加參考物經過 Melon G-純化法，並在非還原條件下，於 4–15% Criterion 凝膠上分離。使用 HRP-接合山羊抗-人類 IgG Fd 抗體進行西方墨點分析。出示每組一隻代表性小鼠之樣本。(**B**)在指定時間點取得血清樣本進行 ADA 分析。利用夾心 ELISA 分析法分析血清樣本之抗-RiboMab ADA 含量。由 ADA 反應(黑線)相對於 RiboMab 蛋白質濃度(灰虛線)隨時間作圖。出示 RiboMab_712/711 C53W 變體(上圖)及 RiboMab02.1 (下圖)。誤差棒出示平均值(n = 4)之標準偏差。

Ab = 抗體；ADA =抗藥物抗體；C53S/W = 抗-CLDN6 VL 部份體中位置 53 之半胱胺酸成為絲胺酸/色胺酸之取代；Fd =困難片段(fragment difficult)；HMW = 高分子量；IgG = 免疫球蛋白 G；kDa = 仟道耳吞；MW =分子量；RU = 相對單位。

圖 14： 編碼 RiboMab02.1 之藥物中間物之 HC：LC 重量比影響 RiboMab02.1 之表現效率及單體含量

【0179】 使用指定重量比(w/w)之兩種編碼 RiboMab02.1 之藥物中間物(RNA)(分別編碼 RiboMab02.1 重鏈(HC)及輕鏈(LC))對 HEK-293T-17 細胞進行電穿孔。轉染 48 後收集細胞培養物上清液(SN)。(**A**)由包含 RiboMab02.1 之 SN 及參考蛋白質(單體，HMW)在非還原條件下進行西方墨點分析。以來自未轉染細胞之 SN 作為陰性對照(偽 SN)。西方墨點分析法係使用 HRP-接合山羊抗-人類 κ 輕鏈(1：500)及 IgG Fd (1：2,000)抗體之組合進行檢測。(**B**) 採用 ELISA 分析來

自兩個獨立實驗之三個技術重覆之 SN 樣本中之平均 RiboMab02.1 濃度。 誤差棒指示平均值之標準偏差(SD)。

Ab = 抗體；Fd =可檢測之片段；HC =編碼重鏈之 RNA；HMW = 高分子量；IgG = 免疫球蛋白 γ；kDa = 仟道耳吞；MW =分子量；LC =編碼輕鏈之 RNA；LMW = 低分子量；RNA =核糖核酸；SN = 上清液。

序列說明

【0180】 下表提供本文所提及某些序列之列表。

序列說明		
SEQ ID NO:	說明	序列
密連蛋白-6 (CLDN6)		
1		**MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLWMSCVVQSTGQMQCKVYDSLLAL PQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHAIIRDFYNPL VAEAQKRELGASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPSHYMARYSTSAPAISRGPSEYPTKNYV**
2		**MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLWMSCVVQSTGQMQCKVYDSLLAL PQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHAVIRDFYNP LVAEAQKRELGASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPSHYMARYSTSAPAISRGPSEYPTKNYV**
CD3ε		
3		**MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNI GSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYW SKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI**
RiboMab02.1 HC - 第一多肽(Fd)		
4	胺基酸序列	**MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEW IGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCSGPGGGRSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMN WVKQSHGKCLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQG TTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLSIYSTS NLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISRVAAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK**
5	**mRNA 序列**	**AGAAUAAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCUA GAACACUGAUCCUGCUGCUGUCUGGUGCCCUGGCUCUGACAGAAACAUGGGCCGGAUCUCAGGUGCAGCUC CAGCAAUCUGGUGCCGAACUUGCUAGACCUGGCGCCUCCGUGAAGAUGAGCUGUAAAACCAGCGGCUACAC CUUCACACGGUACACCAUGCACUGGGUCAAGCAGAGGCCUGGACAGGGCCUUGAGUGGAUCGGCUACAUCA ACCCCAGCCGGGGCUACACCAACUACAACCAGAAGUUCAAGGACAAGGCCACACUGACCACCGACAAGAGCA GCAGCACAGCCUACAUGCAGCUGAGCAGCCUGACCAGCGAAGAUAGCGCCGUGUACUACUGCGCCCGGUAC UACGACGAUCACUACAGCCUGGAUUACUGGGGCCAGGGAACAACCCUGACAGUGUCUAGCGCCAGCACCAA GGGACCUAGCGUUUUCCCACUGGCUCCCAGCAGCAAGAGCACAUCUGGUGGAACAGCCGCUCUGGGCUGCC UGGUCAAGGAUUACUUUCCCGAGCCUGUGACCGUGUCCUGGAAUUCUGGCGCUCUGACAAGCGGCGUGCAC ACCUUUCCAGCCGUGCUGCAAAGCAGCGGCCUGUACUCUCUGAGCAGCGUGGUCACAGUGCCUAGCUCUAG CCUGGGCACCCAGACCUACAUCUGCAAUGUGAACCACAAGCCUAGCAACACCAAGGUGGACAAGAGAGUGG AACCCAAGAGCUGUUCUGGACCCGGCGGAGGAAGAUCUGGCGGAGGCGGUUCUGGUGGCGGAGGAUCUGAA GUUCAGCUGCAACAGUCUGGCCCCGAGCUGGUUAAGCCUGGGGCCUCUAUGAAGAUCUCCUGCAAGGCCUC**

		CGGCUACAGCUUUACCGGCUACACAAUGAAUUGGGUUAAGCAGUCCCACGGCAAGUGCCUGGAAUGGAUCG GCCUGAUCAACCCUUACAACGGCGGCACCAUCUAUAAUCAGAAGUUUAAAGGCAAGGCUACCCUCACCGUGG ACAAGUCUAGCUCCACCGCCUACAUGGAACUGCUGAGCCUGACCUCUGAGGACUCCGCCGUGUAUUAUUGU GCCAGAGACUACGGCUUCGUGCUGGACUAUUGGGGACAGGGCACUACACUGACUGUGUCCAGUGGCGGUGG UGGCAGUGGCGGCGGAGGUAGCGGAGGUGGUGGAAGCGGAGGCGGAGGCUCUCAAAUUGUGCUGACACAG AGCCCCAGCAUCAUGAGCGUUAGCCCUGGCGAGAAAGUGACCAUCACAUGCAGCGCCAGCUCCUCCGUGUC CUAUAUGCACUGGUUUCAGCAGAAGCCCGGCACAAGCCCCAAGCUGUCGAUCUACAGCACCAGCAACCUGGC CAGCGGAGUGCCUGCCAGAUUUUCUGGUAGAGGCAGCGGCACCAGCUACUCCCUGACAAUCUCUAGAGUGG CCGCCGAAGAUGCCGCCACCUACUACUGUCAGCAGCGGAGCAAUUACCCUCCUUGGACCUUUGGCUGCGGC ACCAAGCUGGAAAUCAAGUGAUGAGGAUCCGAUCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCC CGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCAC CACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCC CCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUU GGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUG ACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA
RiboMab02.1 LC - 第二多肽(L)		
6	胺基酸序列	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDT SKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGECDVPGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKCLEWIGLINPYNGGTIY NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLSIYSTSNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISR VAAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK
7	**mRNA 序列**	AGAAUAAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCUA GAACACUGAUCCUGCUGCUGUCUGGUGCCCUGGCUCUGACAGAAACAUGGGCCGGAUCUCAGAUCGUGCUG ACACAGAGCCCUGCCAUCAUGAGUGCCUCUCCAGGCGAGAAAGUGACCAUGACCUGUAGAGCCAGCAGCAG CGUGUCCUACAUGAACUGGUAUCAGCAGAAGUCCGGCACAAGCCCCAAGCGGUGGAUCUACGAUACAAGCA AGGUGGCCAGCGGCGUGCCCUACAGAUUUUCUGGCUCUGGCAGCGGCACCAGCUACAGCCUGACAAUCAGC AGCAUGGAAGCCGAGGAUGCCGCCACCUACUACUGCCAGCAGUGGUCCAGCAAUCCCCUGACAUUUGGAGC CGGCACCAAGCUGGAACUGAAGCGGACAGUUGCCGCUCCUAGCGUGUUCAUCUUCCCACCUUCCGACGAGC AGCUGAAGUCUGGAACAGCCAGCGUCGUGUGCCUGCUGAACAACUUCUACCCUCGGGAAGCCAAGGUGCAG UGGAAGGUGGACAAUGCCCUCCAGUCCGGCAACAGCCAAGAGAGCGUGACCGAGCAGGACAGCAAGGACUC CACCUAUAGCCUGAGCAGCACCCUGACACUGAGCAAGGCCGACUACGAGAAACACAAGGUGUACGCCUGCG AAGUGACCCACCAGGGACUGUCUAGCCCUGUGACCAAGAGCUUCAACAGAGGCGAGUGUGAUGUGCCUGGC GGCUCUGAAGUUCAGCUCCAGCAGUCUGGACCCGAGCUGGUUAAGCCUGGCGCCUCCAUGAAGAUCUCUUG CAAGGCCUCCGGCUACAGCUUCACCGGCUACACCAUGAAUUGGGUCAAGCAGAGCCACGGCAAGUGCCUGG

		AAUGGAUCGGCCUGAUCAACCCCUACAACGGCGGCACAAUCUACAACCAGAAGUUCAAGGGCAAAGCCACAC UGACCGUGGACAAGAGCAGCAGCACCGCCUAUAUGGAACUGCUGAGCCUGACCAGCGAGGACUCCGCCGUG UACUACUGCGCCAGAGAUUACGGCUUCGUGCUGGACUAUUGGGGCCAGGGAACAACCCUGACAGUGUCUAG CGGAGGCGGAGGAUCUGGUGGCGGAGGAAGUGGCGGAGGCGGUUCUGGCGGUGGUGGAUCUCAAAUUGUC CUGACUCAGUCCCCUAGCAUCAUGAGCGUGUCACCCGGGGAGAAAGUGACAAUCACCUGUUCCGCCAGCUC CUCCGUGUCCUACAUGCACUGGUUCCAGCAGAAGCCCGGCACCUCCCCCAAGCUGUCCAUCUACUCCACCUC CAACCUGGCCUCCGGCGUGCCCGCCAGAUUCUCUGGCAGAGGCUCCGGCACCAGCUACUCCCUGACCAUCU CUAGAGUGGCCGCCGAGGACGCUGCCACAUAUUAUUGUCAGCAGCGGAGCAACUACCCUCCUUGGACCUUU GGCUGCGGAACAAAGCUGGAAAUCAAGUGAUGAGGAUCCGAUCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUG CCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGC CCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUA GCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAAC CCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAA
5'-UTR (hAg-Kozak)		
8	**5'-UTR**	**AACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACC**
3'-UTR (FI 元素)		
9	**3'-UTR**	**CUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCG GGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCAC GCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAA UAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACC**
A30L70		
10	**A30L70**	**AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA**
連接子		
11	**(Gly4Ser)2 連接子**	**GGGGSGGGGS**
12	**(Gly4Ser)3 連接子**	**GGGGSGGGGSGGGGS**
13	**(Gly4Ser)4 連接子**	**GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS**
14	**(Gly4Ser)5 連接子**	**GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS**

15	(Gly4Ser)6 連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
16	連接子 1	SGPGGGRSGGGGSGGGGS
17	連接子 2	DVPGGS
CDR		
18	VH(CD3)-CDR 1	GYTFTRYT
19	VH(CD3)-CDR 2	INPSRGYT
20	VH(CD3)-CDR 3	ARYYDDHYSLDY
21	VH(CD3)-CDR 3	ARYYDDHYCLDY
22	VL(CD3)-CDR1	SSVSY
23	VL(CD3)-CDR2	DTS
24	VL(CD3)-CDR3	QQWSSNPLT
25	VH(CLDN6)-CDR1	GYSFTGYT
26	VH(CLDN6)-CDR2	INPYNGGT
27	VH(CLDN6)-CDR3	ARDYGFVLDY
28	VL(CLDN6)-CDR1	SSVSY
29	VL(CLDN6)-CDR2	STS
30	VL(CLDN6)-CDR3	QQRSNYPPWT
RiboMab_712/711 HC - 第一多肽(Fd)		
31	胺基酸序列	MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEW IGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCSGPGGGRSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMN WVKQSHGKCLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQG TTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIYST

		SNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISRVAAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK
32	**mRNA 序列**	**AGAAUAAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCUA GAACACUGAUCCUGCUGCUGUCUGGUGCCCUGGCUCUGACAGAAACAUGGGCCGGAUCUCAGGUGCAGCUC CAGCAAUCUGGUGCCGAACUUGCUAGACCUGGCGCCUCCGUGAAGAUGAGCUGUAAAACCAGCGGCUACAC CUUCACACGGUACACCAUGCACUGGGUCAAGCAGAGGCCUGGACAGGGCCUUGAGUGGAUCGGCUACAUCA ACCCCAGCCGGGGCUACACCAACUACAACCAGAAGUUCAAGGACAAGGCCACACUGACCACCGACAAGAGCA GCAGCACAGCCUACAUGCAGCUGAGCAGCCUGACCAGCGAAGAUAGCGCCGUGUACUACUGCGCCCGGUAC UACGACGAUCACUACAGCCUGGAUUACUGGGGCCAGGGAACAACCCUGACAGUGUCUAGCGCCAGCACCAA GGGACCUAGCGUUUUCCCACUGGCUCCCAGCAGCAAGAGCACAUCUGGUGGAACAGCCGCUCUGGGCUGCC UGGUCAAGGAUUACUUUCCCGAGCCUGUGACCGUGUCCUGGAAUUCUGGCGCUCUGACAAGCGGCGUGCAC ACCUUUCCAGCCGUGCUGCAAAGCAGCGGCCUGUACUCUCUGAGCAGCGUGGUCACAGUGCCUAGCUCUAG CCUGGGCACCCAGACCUACAUCUGCAAUGUGAACCACAAGCCUAGCAACACCAAGGUGGACAAGAGAGUGG AACCCAAGAGCUGUUCUGGACCCGGCGGAGGAAGAUCUGGCGGAGGCGGUUCUGGUGGCGGAGGAUCUGAA GUUCAGCUGCAACAGUCUGGCCCCGAGCUGGUUAAGCCUGGGGCCUCUAUGAAGAUCUCCUGCAAGGCCUC CGGCUACAGCUUUACCGGCUACACAAUGAAUUGGGUUAAGCAGUCCCACGGCAAGUGCCUGGAAUGGAUCG GCCUGAUCAACCCUUACAACGGCGGCACCAUCUAUAAUCAGAAGUUUAAAGGCAAGGCUACCCUCACCGUGG ACAAGUCUAGCUCCACCGCCUACAUGGAACUGCUGAGCCUGACCUCUGAGGACUCCGCCGUGUAUUAUUGU GCCAGAGACUACGGCUUCGUGCUGGACUAUUGGGGACAGGGCACUACACUGACUGUGUCCAGUGGCGGUGG UGGCAGUGGCGGCGGAGGUAGCGGAGGUGGUGGAAGCGGAGGCGGAGGCUCUCAAAUUGUGCUGACACAG AGCCCCAGCAUCAUGAGCGUUAGCCCUGGCGAGAAAGUGACCAUCACAUGCAGCGCCAGCUCCUCCGUGUC CUAUAUGCACUGGUUUCAGCAGAAGCCCGGCACAAGCCCCAAGCUGUGGAUCUACAGCACCAGCAACCUGG CCAGCGGAGUGCCUGCCAGAUUUUCUGGUAGAGGCAGCGGCACCAGCUACUCCCUGACAAUCUCUAGAGUG GCCGCCGAAGAUGCCGCCACCUACUACUGUCAGCAGCGGAGCAAUUACCCUCCUUGGACCUUUGGCUGCGG CACCAAGCUGGAAAUCAAGUGAUGAGGAUCCGAUCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGCCCCUUUC CCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCCCCACUCA CCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAGCCACACC CCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACCCCAGGGU UGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAU GACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA A**
RiboMab_712/711 LC - 第二多肽(L)		
33	**胺基酸序列**	**MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPKRWIYDT SKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGECDVPGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKCLEWIGLINPYNGGTIY NQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGG**

		GGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISR VAAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK
34	**mRNA 序列**	**AGAAUAAACUAGUAUUCUUCUGGUCCCCACAGACUCAGAGAGAACCCGCCACCAUGAGAGUGAUGGCCCCUA GAACACUGAUCCUGCUGCUGUCUGGUGCCCUGGCUCUGACAGAAACAUGGGCCGGAUCUCAGAUCGUGCUG ACACAGAGCCCUGCCAUCAUGAGUGCCUCUCCAGGCGAGAAAGUGACCAUGACCUGUAGAGCCAGCAGCAG CGUGUCCUACAUGAACUGGUAUCAGCAGAAGUCCGGCACAAGCCCCAAGCGGUGGAUCUACGAUACAAGCA AGGUGGCCAGCGGCGUGCCCUACAGAUUUUCUGGCUCUGGCAGCGGCACCAGCUACAGCCUGACAAUCAGC AGCAUGGAAGCCGAGGAUGCCGCCACCUACUACUGCCAGCAGUGGUCCAGCAAUCCCCUGACAUUUGGAGC CGGCACCAAGCUGGAACUGAAGCGGACAGUUGCCGCUCCUAGCGUGUUCAUCUUCCCACCUUCCGACGAGC AGCUGAAGUCUGGAACAGCCAGCGUCGUGUGCCUGCUGAACAACUUCUACCCUCGGGAAGCCAAGGUGCAG UGGAAGGUGGACAAUGCCCUCCAGUCCGGCAACAGCCAAGAGAGCGUGACCGAGCAGGACAGCAAGGACUC CACCUAUAGCCUGAGCAGCACCCUGACACUGAGCAAGGCCGACUACGAGAAACACAAGGUGUACGCCUGCG AAGUGACCCACCAGGGACUGUCUAGCCCUGUGACCAAGAGCUUCAACAGAGGCGAGUGUGAUGUGCCUGGC GGCUCUGAAGUUCAGCUCCAGCAGUCUGGACCCGAGCUGGUUAAGCCUGGCGCCUCCAUGAAGAUCUCUUG CAAGGCCUCCGGCUACAGCUUCACCGGCUACACCAUGAAUUGGGUCAAGCAGAGCCACGGCAAGUGCCUGG AAUGGAUCGGCCUGAUCAACCCCUACAACGGCGGCACAAUCUACAACCAGAAGUUCAAGGGCAAAGCCACAC UGACCGUGGACAAGAGCAGCAGCACCGCCUAUAUGGAACUGCUGAGCCUGACCAGCGAGGACUCCGCCGUG UACUACUGCGCCAGAGAUUACGGCUUCGUGCUGGACUAUUGGGGCCAGGGAACAACCCUGACAGUGUCUAG CGGAGGCGGAGGAUCUGGUGGCGGAGGAAGUGGCGGAGGCGGUUCUGGCGGUGGUGGAUCUCAAAUUGUC CUGACUCAGUCCCCUAGCAUCAUGAGCGUGUCACCCGGGGAAAAAGUGACAAUCACAUGCAGCGCCAGCUC CUCCGUGUCUUAUAUGCACUGGUUCCAGCAAAAGCCAGGGACCUCUCCUAAGCUCUGGAUCUACAGCACCAG CAACCUGGCCUCUGGCGUGCCAGCUAGAUUUUCCGGUAGAGGCUCCGGCACCUCUUACUCCCUGACCAUCUC UAGAGUGGCCGCCGAGGACGCUGCCACAUAUUAUUGUCAGCAGCGGAGCAACUACCCUCCUUGGACCUUUG GCUGCGGAACAAAGCUGGAAAUCAAGUGAUGAGGAUCCGAUCUGGUACUGCAUGCACGCAAUGCUAGCUGC CCCUUUCCCGUCCUGGGUACCCCGAGUCUCCCCCGACCUCGGGUCCCAGGUAUGCUCCCACCUCCACCUGCC CCACUCACCACCUCUGCUAGUUCCAGACACCUCCCAAGCACGCAGCAAUGCAGCUCAAAACGCUUAGCCUAG CCACACCCCCACGGGAAACAGCAGUGAUUAACCUUUAGCAAUAAACGAAAGUUUAACUAAGCUAUACUAACC CCAGGGUUGGUCAAUUUCGUGCCAGCCACACCCUCGAGCUAGCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AGCAUAUGACUAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA AAAAAAAA**
RiboMab02.1 RNA 編碼序列		
35	**RiboMab02.1 HC / 第一多肽編碼序列 (包括起始及終止密碼子)**	**AUGAGAGUGAUGGCCCCUAGAACACUGAUCCUGCUGCUGUCUGGUGCCCUGGCUCUGACAGAAACAUGGGC CGGAUCUCAGGUGCAGCUCCAGCAAUCUGGUGCCGAACUUGCUAGACCUGGCGCCUCCGUGAAGAUGAGCU GUAAAACCAGCGGCUACACCUUCACACGGUACACCAUGCACUGGGUCAAGCAGAGGCCUGGACAGGGCCUU GAGUGGAUCGGCUACAUCAACCCCAGCCGGGGCUACACCAACUACAACCAGAAGUUCAAGGACAAGGCCAC ACUGACCACCGACAAGAGCAGCAGCACAGCCUACAUGCAGCUGAGCAGCCUGACCAGCGAAGAUAGCGCCG**

		UGUACUACUGCGCCCGGUACUACGACGAUCACUACAGCCUGGAUUACUGGGGCCAGGGAACAACCCUGACA GUGUCUAGCGCCAGCACCAAGGGACCUAGCGUUUUCCCACUGGCUCCCAGCAGCAAGAGCACAUCUGGUGG AACAGCCGCUCUGGGCUGCCUGGUCAAGGAUUACUUUCCCGAGCCUGUGACCGUGUCCUGGAAUUCUGGCG CUCUGACAAGCGGCGUGCACACCUUUCCAGCCGUGCUGCAAAGCAGCGGCCUGUACUCUCUGAGCAGCGUG GUCACAGUGCCUAGCUCUAGCCUGGGCACCCAGACCUACAUCUGCAAUGUGAACCACAAGCCUAGCAACACC AAGGUGGACAAGAGAGUGGAACCCAAGAGCUGUUCUGGACCCGGCGGAGGAAGAUCUGGCGGAGGCGGUUC UGGUGGCGGAGGAUCUGAAGUUCAGCUGCAACAGUCUGGCCCCGAGCUGGUUAAGCCUGGGGCCUCUAUGA AGAUCUCCUGCAAGGCCUCCGGCUACAGCUUUACCGGCUACACAAUGAAUUGGGUUAAGCAGUCCCACGGC AAGUGCCUGGAAUGGAUCGGCCUGAUCAACCCUUACAACGGCGGCACCAUCUAUAAUCAGAAGUUUAAAGG CAAGGCUACCCUCACCGUGGACAAGUCUAGCUCCACCGCCUACAUGGAACUGCUGAGCCUGACCUCUGAGG ACUCCGCCGUGUAUUAUUGUGCCAGAGACUACGGCUUCGUGCUGGACUAUUGGGGACAGGGCACUACACUG ACUGUGUCCAGUGGCGGUGGUGGCAGUGGCGGCGGAGGUAGCGGAGGUGGUGGAAGCGGAGGCGGAGGCU CUCAAAUUGUGCUGACACAGAGCCCCAGCAUCAUGAGCGUUAGCCCUGGCGAGAAAGUGACCAUCACAUGC AGCGCCAGCUCCUCCGUGUCCUAUAUGCACUGGUUUCAGCAGAAGCCCGGCACAAGCCCCAAGCUGUCGAU CUACAGCACCAGCAACCUGGCCAGCGGAGUGCCUGCCAGAUUUUCUGGUAGAGGCAGCGGCACCAGCUACU CCCUGACAAUCUCUAGAGUGGCCGCCGAAGAUGCCGCCACCUACUACUGUCAGCAGCGGAGCAAUUACCCUC CUUGGACCUUUGGCUGCGGCACCAAGCUGGAAAUCAAGUGAUGA
36	**RiboMab02.1 LC / 第二多肽編碼序列 (包括起始及終止密碼子)**	AUGAGAGUGAUGGCCCCUAGAACACUGAUCCUGCUGCUGUCUGGUGCCCUGGCUCUGACAGAAACAUGGGC CGGAUCUCAGAUCGUGCUGACACAGAGCCCUGCCAUCAUGAGUGCCUCUCCAGGCGAGAAAGUGACCAUGA CCUGUAGAGCCAGCAGCAGCGUGUCCUACAUGAACUGGUAUCAGCAGAAGUCCGGCACAAGCCCCAAGCGG UGGAUCUACGAUACAAGCAAGGUGGCCAGCGGCGUGCCCUACAGAUUUUCUGGCUCUGGCAGCGGCACCAG CUACAGCCUGACAAUCAGCAGCAUGGAAGCCGAGGAUGCCGCCACCUACUACUGCCAGCAGUGGUCCAGCA AUCCCCUGACAUUUGGAGCCGGCACCAAGCUGGAACUGAAGCGGACAGUUGCCGCUCCUAGCGUGUUCAUC UUCCCACCUUCCGACGAGCAGCUGAAGUCUGGAACAGCCAGCGUCGUGUGCCUGCUGAACAACUUCUACCCU CGGGAAGCCAAGGUGCAGUGGAAGGUGGACAAUGCCCUCCAGUCCGGCAACAGCCAAGAGAGCGUGACCGA GCAGGACAGCAAGGACUCCACCUAUAGCCUGAGCAGCACCCUGACACUGAGCAAGGCCGACUACGAGAAAC ACAAGGUGUACGCCUGCGAAGUGACCCACCAGGGACUGUCUAGCCCUGUGACCAAGAGCUUCAACAGAGGC GAGUGUGAUGUGCCUGGCGGCUCUGAAGUUCAGCUCCAGCAGUCUGGACCCGAGCUGGUUAAGCCUGGCGC CUCCAUGAAGAUCUCUUGCAAGGCCUCCGGCUACAGCUUCACCGGCUACACCAUGAAUUGGGUCAAGCAGA GCCACGGCAAGUGCCUGGAAUGGAUCGGCCUGAUCAACCCCUACAACGGCGGCACAAUCUACAACCAGAAG UUCAAGGGCAAAGCCACACUGACCGUGGACAAGAGCAGCAGCACCGCCUAUAUGGAACUGCUGAGCCUGAC CAGCGAGGACUCCGCCGUGUACUACUGCGCCAGAGAUUACGGCUUCGUGCUGGACUAUUGGGGCCAGGGAA CAACCCUGACAGUGUCUAGCGGAGGCGGAGGAUCUGGUGGCGGAGGAAGUGGCGGAGGCGGUUCUGGCGG UGGUGGAUCUCAAAUUGUCCUGACUCAGUCCCCUAGCAUCAUGAGCGUGUCACCCGGGGAGAAAGUGACAA UCACCUGUUCCGCCAGCUCCUCCGUGUCCUACAUGCACUGGUUCCAGCAGAAGCCCGGCACCUCCCCCAAGC UGUCCAUCUACUCCACCUCCAACCUGGCCUCCGGCGUGCCCGCCAGAUUCUCUGGCAGAGGCUCCGGCACCA

		GCUACUCCCUGACCAUCUCUAGAGUGGCCGCCGAGGACGCUGCCACAUAUUAUUGUCAGCAGCGGAGCAAC UACCCUCCUUGGACCUUUGGCUGCGGAACAAAGCUGGAAAUCAAGUGAUGA

【實施方式】

【0181】 雖然下文中已詳細說明本揭示，但咸了解本揭示不受限於本文所說明特定方法、程序及試劑，因為其等可能變化。亦咸了解，本文所採用名詞僅供說明特定實施例之目的，並無意限制本揭示範圍，本揭示範圍僅受限於附錄之申請專利範圍。除非另有說明，否則本文所採用所有技術及科學術語具有習此相關技藝者通常了解之定義。

【0182】 較佳係本文所採用術語之定義說明於「A multilingual glossary of biotechnological terms: (IUPAC Recommendations)」，H.G.W. Leuenberger、B. Nagel、及 H. Kölbl 編輯，Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, Switzerland, (1995)。

【0183】 除非另有說明，否則本揭示之操作將採用慣用之化學、生物化學、細胞生物學、免疫學、及重組 DNA 技術等方法，其等係說明於相關領域之文獻中(參見例如：Molecular Cloning: A Laboratory Manual，第 2 版，J. Sambrook 等人編輯，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989)。

【0184】 下文中將說明本揭示元素。此等元素列於明確實施例中，然而應了解其等可能以任何方式及以任何數量組合，以創造額外實施例。各種不同說明之實例及實施例不應構成將本揭示僅限制在清楚說明之實施例。應了解此說明所揭示及涵括之實施例係組合清楚說明之實施例與任何數量之所揭示元素。此外，所有所說明元素之任何排列及組合應被視為由本說明所揭示，除非本文另有說明。

【0185】 本文應用在一或多個所關注數值時所採用之術語「大約」或「約」係指類似所述參考值之數值。通常，彼等習此相關技藝者在熟悉內文後，將了解內文中由「約」或「大約」所涵括變異之相關程度。例如：有些實施例中，術語「大約」或「約」可能涵括在所提及數值之 25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、或更低之範圍內之數值。

【0186】 說明本揭示內容(尤其在申請專利範圍內容中)所採用術語「一個」及「一種」及「該」及類似參考術語之建構係涵括單數及複數，除非本文另有說明或內文中明顯矛盾。本文所擷用數值範圍僅計畫用於個別提及落在該範圍內之各分開數值之縮寫方法。除非另有說明，各數值個別納入說明書中就如同

本文個別擷用各個別數值。本文所說明所有方法可依任何合適順序進行，除非本文另有說明或內文中明顯矛盾。本文所提供任何及所有實例或舉例之語法(例如：「諸如」)之用法僅計畫更佳說明本揭示，並未構成申請專利範圍之限制。本說明書沒有語言會構成指示任何非主張元素為操作本揭示之必要元素。

【0187】 除非另有說明，否則本文件內容所採用術語「包含」係指示除了「包含」所介紹的成員列表以外，尚可視需要存在其他成員。然而，本揭示之明確實施例考慮該術語「包含」涵括沒有其他成員存在的可能性，亦即為了本實施例之目的，咸了解「包含」具有「其組成為」或「基本上其組成為」之定義。

【0188】 本說明書全文引用數項文獻。本文不論在上文及下文所引用各文獻(包括所有專利案、專利申請案、科學出版物、製造商的說明書、指引，等等)，均已以全文引用之方式併入本文中。此處不應被理解為承認本發明揭示無權早於該發明揭示。

定義

【0189】 下文所提供之定義適用於本揭示之所有態樣。除非另有說明，否則下列術語具有下列定義。任何未定義之術語則具有其等在相關技藝中認可之定義。

【0190】 本文所採用術語如：「減少」、「降低」、「抑制」或「損害」係有關造成整體下降或造成整體下降之能力，其程度較佳係至少5%、至少10%、至少20%、至少50%、至少75%或甚至更多。此等術語包括完全或基本上完全抑制，亦即降低至零或基本上至零。

【0191】 術語如：「增加」、「加強」或「超過」較佳係有關增加或加強至少10%、至少20%、至少30%、至少40%、至少50%、至少80%、至少100%、至少200%、至少500%、或甚至更多。

【0192】 根據本揭示，術語「肽」包含寡肽及多肽，且係指該物質包含約兩個或更多、約3個或更多、約4個或更多、約6個或更多、約8個或更多、約10個或更多、約13個或更多、約16個或更多、約20個或更多、及高達約50、約100或約150個連續胺基酸利用肽鍵彼此連接。術語「蛋白質」或「多肽」係

指大型肽，特定言之具有至少約 150 個胺基酸之肽，但本文所採用術語「肽」、「蛋白質」及「多肽」通常為同義字。

【0193】 胺基酸序列(肽或蛋白質)提及之「片段」係有關胺基酸序列之一部份，亦即代表在 N 端及/或 C 端縮短胺基酸序列之序列。在 C 端縮短之片段(N 端片段)可以藉由例如：缺少開放讀碼框之 3'-端之截短開放讀碼框轉譯得到。在 N 端縮短之片段(C 端片段)可以藉由例如：缺少開放讀碼框之 5'-端之截短開放讀碼框轉譯得到，只要該截短開放讀碼框包含用於啟動轉譯之起始密碼子即可。胺基酸序列之片段包含例如：至少 50 %、至少 60 %、至少 70 %、至少 80%、至少 90%之來自胺基酸序列之胺基酸殘基。胺基酸序列之片段較佳包含至少 6 個，特定言之至少 8 個、至少 12 個、至少 15 個、至少 20 個、至少 30 個、至少 50 個、或至少 100 個來自胺基酸序列之連續胺基酸。

【0194】 本文中「變體」意指一種胺基酸序列基於至少一個胺基酸修飾而不同於親本胺基酸序列。該親本胺基酸序列可能為天然發生或為野生型(WT)胺基酸序列，或可能為野生型胺基酸序列之經修飾型。較佳係變體胺基酸序列相較於親本胺基酸序列，具有至少一個胺基酸修飾，例如：1 至約 20 個胺基酸修飾，及較佳係相較於親本具有 1 至約 10 個或 1 至約 5 個胺基酸修飾。

【0195】 本文所採用「野生型」或「WT」或「天然」意指出現在天然界之胺基酸序列，包括對偶基因變異。野生型胺基酸序列、肽或蛋白質具有之胺基酸序列則沒有經過故意的修飾。

【0196】 為了本揭示之目的，胺基酸序列(肽、蛋白質或多肽)之「變體」包含胺基酸嵌插變體、胺基酸添加變體、胺基酸缺失變體及/或胺基酸取代變體。術語「變體」包括所有突變體、剪接變體、轉譯後修飾變體、立體構形、同功型、對偶基因變體、物種變體、及物種同源物，特定言之彼等天然發生者。術語「變體」特定言之包括胺基酸序列之片段。

【0197】 胺基酸嵌插變體包含在特定胺基酸序列中嵌插單個或兩個或更多個胺基酸。以具有嵌插之胺基酸序列變體為例，在胺基酸序列之特定位點嵌入一或多個胺基酸殘基，但亦可能隨機嵌插再適當篩選所得產物。胺基酸添加變體包含在一或多個胺基酸，如：1、2、3、5、10、20、30、50 個、或更多個胺基酸之胺基-及/或羧基-末端融合。胺基酸缺失變體之特徵在於從序列中排除

一或多個胺基酸，如：排除 1、2、3、5、10、20、30、50 個、或更多個胺基酸。該缺失可能在蛋白質之任何位置。胺基酸缺失變體包含缺失蛋白質之 N 端及/或 C 端，亦稱為 N 端及/或 C 端截短變體。胺基酸取代變體之特徵在於排除序列中至少一個殘基，並在其位置嵌入另一個殘基。較佳之修飾係位在同源蛋白質或肽之間沒有保留的胺基酸序列位置及/或以具有類似性質之其他胺基酸置換胺基酸。有些實施例中，肽及蛋白質變體之胺基酸變化為保留性胺基酸變化，亦即以類似電荷或無電荷胺基酸取代。保留性胺基酸變化涉及以與其側鏈相關之胺基酸家族中之一取代。天然發生之胺基酸通常分成四個家族：酸性(天冬胺酸、麩胺酸)、鹼性(離胺酸、精胺酸、組胺酸)、非極性(丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯基丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)、及無電荷極性(甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸)胺基酸。苯基丙胺酸、色胺酸、及酪胺酸有時候共同歸類為芳香系胺基酸。有些實施例中，保留性胺基酸取代包括下列群組內之取代：

甘胺酸、丙胺酸；

纈胺酸、異白胺酸、白胺酸；

天冬胺酸、麩胺酸；

天冬醯胺酸、麩醯胺酸；

絲胺酸、蘇胺酸；

離胺酸、精胺酸；及

苯基丙胺酸、酪胺酸。

【0198】 較佳係指定胺基酸序列與該指定胺基酸序列之變體(例如：功能變體)之胺基酸序列之間相似性程度，較佳係一致性程度為至少約 60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或 99%。該相似性或一致性程度較佳係針對參考胺基酸序列整個長度之至少約 10%、至少約 20%、至少約 30%、至少約 40%、至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%或約 100%之胺基酸區。例如：若參考胺基酸序列由 200 個胺基酸組成時，該相似性或一致性程度較佳係針對至少約 20、至少約 40、至少約 60、至少約 80、至少約 100、至少約 120、至少約 140、至少約 160、至少約 180、或約 200 個胺

基酸，在有些實施例中為連續胺基酸。有些實施例中，該相似性或一致性程度較佳係針對參考胺基酸序列之整個長度。供測定序列相似性，較佳指序列一致性之排比法可採用相關技藝已知之工具進行，較佳係採用最佳序列排比，例如：採用 Align、採用標準設定，較佳係 EMBOSS::needle、Matrix: Blosum62、Gap Open 10.0、Gap Extend 0.5。

【0199】 「序列相似性」係指示相同或代表保留性胺基酸取代之胺基酸百分比。兩種胺基酸序列之間之「序列一致性」係指序列之間一致之胺基酸之百分比。兩種核酸序列之間之「序列一致性」係指序列之間一致之核苷酸之百分比。

【0200】 術語「一致%」、「一致性%」或類似術語特定言之，均計畫指在所比對序列之間最佳排比下一致之核苷酸或胺基酸之百分比。該百分比純粹為統計性，且兩個序列之間之差異可能但不一定會隨機分佈在所比對序列之整個長度上。兩個序列之比對通常係在最佳排比後，針對節段或「比對窗(window of comparison)」來比對序列，以便判別對應序列之局部區域。用於比對之最佳排比可能手動執行，或藉助 Smith 及 Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482 之局部同源演算法)、藉助 Neddleman 及 Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48, 443 之局部同源演算法、藉助 Pearson 及 Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2444 之相似性搜尋演算法、或藉助採用該演算法之電腦程式(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.之 GAP、BESTFIT、FASTA、BLAST P、BLAST N 及 TFASTA)。有些實施例中，兩個序列之一致性百分比係採用 BLASTN 或 BLASTP 演算法測定，其可從美國國家生物技術資訊中心 (United States National Center for Biotechnology Information)(NCBI) 網站取得 (例如：blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch&BLAST_SPEC=blast2seq&LINK_LOC=align2seq)。有些實施例中，NCBI 網站上 BLASTN 演算法所採用之演算法參數包括：(i) 期望閥值設定為 10；(ii) 字元長度設定為 28；(iii) 查詢範圍之最大匹配設定為 0；(iv) 匹配/錯配得分設定為 1，-2；(v) 空位罰則設定為線性；及 (vi) 篩選低複雜性區域。有些實施例中，NCBI網站上BLASTP 演算法所採用之演算法參數包括：(i) 期望閥值設定為 10；(ii) 字元長度設定為 3；(iii)

查詢範圍之最大匹配設定為 0；(iv) 矩陣設定為 BLOSUM62；(v) 空位罰則設定為既存(Existence)：11 延長(Extension)：1；及 (vi) 依條件成分得分矩陣調整(conditional compositional score matrix adjustment)。

【0201】 一致性百分比係藉由測定所比對對應序列上一致的位置數量，由此數值除以所比對位置數量(例如：參考序列中之位置數量)，再由此結果乘以100。

【0202】 有些實施例中，相似性或一致性程度係指參考序列整個長度之至少約 50%、至少約 60%、至少約 70%、至少約 80%、至少約 90%或約 100%之區域。例如：若參考核酸序列由 200 個核苷酸組成時，該一致性程度係指至少約 100 個、至少約 120 個、至少約 140 個、至少約 160 個、至少約 180 個、或約 200 個核苷酸，有些實施例為連續核苷酸。有些實施例中，相似性或一致性程度係針對參考序列整個長度。

【0203】 根據本揭示，同源胺基酸序列具有至少 40%，特定言之至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90%及較佳係至少 95%、至少 98 或至少 99%之胺基酸殘基一致性。

【0204】 本文所說明胺基酸序列變體很容易由習此相關技藝者製備，例如：採用重組 DNA 操縱法。供製備具有取代、添加、嵌插、或缺失之肽或蛋白質之 DNA 序列操縱法已由例如 Sambrook 等人(1989)詳細說明。此外，本文所說明肽及胺基酸變體很容易藉助於已知肽合成技術製備，如，例如：固相合成法及類似方法。

【0205】 有些實施例中，胺基酸序列(肽或蛋白質)之片段或變體較佳係「功能片段」或「功能變體」。術語胺基酸序列之「功能片段」或「功能變體」係有關具有與其所來源之彼等胺基酸序列一致或類似之一或多種功能性質之任何片段或變體，亦即其為同等功能。在結合劑之序列方面，一種特別功能為衍生該片段或變體之胺基酸序列所展現之一或多種結合活性。本文所採用術語「功能片段」或「功能變體」，特定言之係指該變體分子或序列包含之胺基酸序列相較於親本分子或序列之胺基酸序列，已改變一或多個胺基酸，但仍然可以達成該親本分子或序列之一或多種功能，例如：與標靶分子結合。有些實施例中，親本分子或序列之胺基酸序列中之修飾不會顯著影響或改變該分子或序列之特

性。在不同實施例中，功能片段或功能變體之功能可能下降，但仍存在顯著功能，例如：功能變體之結合性可能為親本分子或序列之至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、或至少 90%。然而，其他實施例中，功能片段或功能變體之結合性可能比親本分子或序列加強。

【0206】 「衍生自」指定胺基酸序列(肽、蛋白質或多肽)之胺基酸序列(肽、蛋白質或多肽)係指第一胺基酸序列之起源。較佳係衍生自特定胺基酸序列之胺基酸序列具有之胺基酸序列係與該特定序列或其片段一致、基本上一致、或同源。衍生自特定胺基酸序列之胺基酸序列可能為該特定序列之變體或其片段。例如：習此相關技藝者咸了解，適用於本文之序列可能改變，使得其等之序列不同於其所來源之天然發生序列或原始序列，同時仍保留所需之原始序列活性。

【0207】 例如：本發明結合劑之多肽鏈中 VH、VL、CH1、及 CL 結構域之胺基酸序列可衍生自免疫球蛋白之 VH、VL、CH1、及 CL 結構域之胺基酸序列，但相較於其所來源之結構域可能有改變。例如：根據本發明，衍生自免疫球蛋白之 VH 或 VL 所包含之胺基酸序列可與衍生該各 VH 或 VL 之胺基酸序列一致，或其可相較於各親本 VH 或 VL 之序列，在一或多個胺基酸位置上不同。例如：本發明結合劑之 VH 結構域可包含之胺基酸序列，相較於衍生該 VH 結構域之胺基酸序列，係包含一或多個胺基酸嵌插、胺基酸添加、胺基酸缺失、及/或胺基酸取代。例如：本發明結合劑之 VL 結構域可包含之胺基酸序列，相較於衍生該 VL 結構域之胺基酸序列，係包含一或多個胺基酸嵌插、胺基酸添加、胺基酸缺失、及/或胺基酸取代。較佳係，VH 或 VL 具有之胺基酸序列為親本 VH 或 VL 胺基酸序列之功能變體，其提供與親本 VH 或 VL 胺基酸序列相同或基本上相同之功能，例如：以結合特異性、結合強度，等等而言。然而，習此相關技藝者咸了解，有些實施例中，亦可能較佳為提供例如：VH 或 VL 之胺基酸序列之功能變體，其相較於親本分子之胺基酸序列具有已改變之特性。該相同考量同樣適用於例如：CDR 之胺基酸序列，及其他胺基酸序列，例如：彼等 CH1、及/或 CL 結構域之胺基酸序列。有些實施例中，本文所說明 CH1 與 CL 序列之變體有能力交互作用，例如：有能力彼此結合。

【0208】 本文所採用「說明書」或「指引」包括可用於傳達本發明組成物及方法之適用性之公開刊物、記錄、圖表、或任何其他表現媒體。本發明套組之說明書可能例如：固定在包含本發明組成物之容器上，或可連同包含該組成物之容器一起運送。或者，說明書可以與容器分開運送，以便讓接收者可以配合說明書來使用組成物。

【0209】 「單離」意指改變或脫離天然狀態。例如：天然存在於活體動物中之核酸或肽則未「單離」，但相同的核酸或肽從其天然狀態的共存材料中部份或完全分離時，則係「單離」。單離之核酸或蛋白質可呈其實質上純化型，或可存在於非原始環境，如，例如：宿主細胞。

【0210】 本發明內容中之術語「重組」意指「透過基因工程製造」。較佳者，諸如本發明內容中重組核酸之「重組體」則非天然發生。

【0211】 本文所採用術語「天然發生」係指該物體可於天然中發現。例如：存在於生物體(包括病毒)中且可從天然來源中單離，且未曾在實驗室中經過人工故意修飾之肽或核酸則係天然發生。

【0212】 本文所採用「生理 pH」係指 pH 約 7.35 至約 7.45，平均約 7.40。

【0213】 術語「遺傳修飾」或簡稱「修飾」包括使用核酸轉染細胞。術語「轉染」係有關將核酸(特定言之 RNA)引入細胞中。本發明之目的，術語「轉染」亦包括將核酸引入細胞中或由此等細胞吸收核酸，其中該細胞可能存在於受試者，例如：患者中。因此根據本發明，用於轉染本文所說明核酸之細胞可存在於活體外或活體內，例如：該細胞可能為患者之部份器官、組織、及/或有機體。根據本發明，轉染可為過渡性或穩定性。若轉染之遺傳材料僅為過渡性表現，對有些轉染之應用即已足夠。RNA 可以轉染至細胞中，過渡表現其編碼之蛋白質。由於在轉染過程中引入之核酸通常不會整合進入核基因體中，外來的核酸會透過有絲分裂被稀釋或被降解。讓核酸進行游離基因體擴增之細胞會大幅降低稀釋率。若需要轉染之核酸實際上仍留在細胞及其子細胞之基因體中時，必需進行穩定轉染。此等穩定轉染可藉由使用基於病毒之系統或基於轉座子之系統進行轉染來達成。通常，編碼結合劑之核酸係過渡轉染至細胞中。RNA 可以轉染至細胞中，過渡表現其編碼之蛋白質。

密連蛋白 6 (CLDN6)

【0214】 密連蛋白為緊密連接區的最重要組份之蛋白質家族，其中其等建立細胞間隙屏障來控制上皮細胞之間的細胞間空間之分子流動。密連蛋白為跨膜蛋白質，其跨越膜 4 次，其 N 端與 C 端均位在細胞質內。第一胞外環稱為 EL1 或 ECL1，係由平均 53 個胺基酸組成，及第二胞外環稱為 EL2 或 ECL2，由約 24 個胺基酸組成。

【0215】 術語「密連蛋白 6」或「CLDN6」較佳係有關人類 CLDN6，及特定言之，係有關包含(較佳係其組成為)序列表之胺基酸序列 SEQ ID NO：1 或 SEQ ID NO：2 或該胺基酸序列之變體之蛋白質。CLDN6 之第一胞外環較佳包含 SEQ ID NO：1 所示胺基酸序列或 SEQ ID NO：2 所示胺基酸序列之胺基酸 28 至 80 或 29 至 81，更佳係胺基酸 28 至 76。CLDN6 之第二胞外環較佳包含 SEQ ID NO：1 所示胺基酸序列或 SEQ ID NO：2 所示胺基酸序列之胺基酸 138 至 160，較佳係胺基酸 141 至 159，更佳係胺基酸 145 至 157。該第一及第二胞外環較佳形成 CLDN6 之胞外部份。

【0216】 CLDN6 表現在各種不同來源之腫瘤，其中表現 CLDN6 之唯一成人正常組織為胎盤。

【0217】 已發現 CLDN6 表現在例如：卵巢癌、肺癌、睪丸癌、子宮內膜癌、胃癌、乳癌、肝癌、胰臟癌、皮膚癌、黑色素瘤、頭頸癌、肉瘤、膽管癌、腎細胞癌、及膀胱癌。CLDN6 為預防及/或治療以下癌症之特別佳標靶：卵巢癌(特定言之卵巢腺癌瘤及卵巢畸胎癌)、輸卵管癌、腹膜癌、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)及非小細胞肺癌(NSCLC)，特定言之鱗狀細胞肺癌瘤及腺癌瘤或非鱗狀型之非小細胞肺癌(NSCLC))、胃癌、乳癌、肝癌、胰臟癌、皮膚癌(特定言之基底細胞癌瘤及鱗狀細胞癌瘤)、惡性黑色素瘤、頭頸癌(特定言之惡性多形性腺瘤)、肉瘤(特定言之滑膜肉瘤及癌肉瘤)、膽管癌、膀胱癌(特定言之移行細胞癌瘤及乳突癌瘤)、腎臟癌症(特定言之腎細胞癌瘤，包括透明細胞腎細胞癌瘤及乳突腎細胞癌瘤)、結腸癌、小腸癌(包括迴腸癌症，特定言之小腸腺癌瘤及迴腸之腺癌瘤)、睪丸胚胎性癌瘤、胎盤絨毛膜癌、子宮頸癌、睪丸癌(特定言之睪丸精原細胞癌、睪丸畸胎瘤及胚胎性睪丸癌)、子宮癌、生殖細胞腫瘤(如：畸胎癌或胚胎性癌瘤，特定言之睪丸之生殖細胞腫瘤)，及其轉移型。有些實施例中，與

CLDN6 表現相關之癌症疾病係選自下列各物組成之群中：卵巢癌、肺癌、轉移性卵巢癌及轉移性肺癌。較佳係卵巢癌為癌瘤或腺癌瘤。較佳係肺癌為癌瘤或腺癌瘤，及較佳係小枝氣管癌，如：小枝氣管癌瘤或小枝氣管腺癌瘤。

【0218】 本文所採用術語「CLDN6 陽性癌症」係有關一種涉及表現 CLDN6 之癌細胞之癌症，較佳係表現在該癌細胞之表面上。

【0219】 根據本發明，若 CLDN6 之表現程度低於在胎盤細胞或胎盤組織之表現程度，則其實質上不表現在細胞上。較佳係該表現程度為低於在胎盤細胞或胎盤組織之表現程度之 10%，較佳係低於 5%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%或 0.05%，或甚至更低。較佳係若 CLDN6 之表現程度高於在胎盤以外之其他非癌變組織中之表現程度不超過 2 倍，較佳係 1.5 倍時，則其實質上不表現在細胞上，且較佳係不超過在該非癌變組織中之表現程度。較佳係若 CLDN6 之表現程度低於檢測限值及/或若表現程度太低以致無法讓加至細胞中之 CLDN6-特異性抗體結合時，則其實質上不表現在細胞上。

【0220】 根據本發明，若 CLDN6 之表現程度超過在胎盤以外之其他非癌變組織中之表現程度 CLDN6，較佳係超過 2 倍、較佳係 10 倍、100 倍、1,000 倍、或 10,000 倍，則其表現在細胞上。較佳係若 CLDN6 之表現程度高於檢測限值及/或若表現程度高至足以讓加至細胞中之 CLDN6-特異性抗體結合時，則其實質上表現在細胞上。較佳係表現在細胞上之 CLDN6 已表現在或曝露在該細胞之表面上。

分化群 3 (CD3)

【0221】 本文所說明結合劑之第二標靶分子為 CD3 (分化群 3)。

【0222】 CD3 複合物為 T 細胞-特異性抗原。T 細胞-特異性抗原為 T 細胞表面上之抗原。

【0223】 CD3 複合物係指表現在成熟人類 T-細胞、胸腺細胞、及天然殺手細胞子群上之抗原，成為多分子 T-細胞受體(TCR)複合物之一部份。T-細胞共受體為蛋白質複合物，且由四個獨立鏈構成。哺乳動物中，複合物包含 CD3γ 鏈、CD3δ 鏈、及兩個 CD3ε 鏈。此等鏈與已知為 T-細胞受體(TCR)之分子及 ζ-

鏈聯結，在 T 淋巴細胞中產生活化訊號。TCR、ζ-鏈、及 CD3 分子共同構成 TCR 複合物。

【0224】 人類 CD3ε 係指定於 GenBank 登錄號 NM_000733，且包含 SEQ ID NO：3。人類 CD3γ 係指定於 GenBank 登錄號 NM_000073。人類 CD3δ 係指定於 GenBank 登錄號 NM_000732。CD3 負責 TCR 之訊號轉導。依 Lin 及 Weiss, Journal of Cell Science 114, 243-244 (2001)之說明，TCR 複合物藉由與呈現 MHC 之特異性抗原表位結合而活化，造成 Src 家族激酶進行基於免疫受體酪胺酸活化基序(ITAM)之磷酸化，啟動募集其他激酶，造成 T-細胞活化，包括 Ca^{2+}釋出。CD3 簇集在 T 細胞上，例如：藉由固定化抗-CD3-抗體，造成類似接合 T-細胞受體，但不依賴其純系之典型特異性之 T-細胞活化。

【0225】 本文所採用「CD3」包括人類 CD3，且係指表現在人類 T 細胞上作為多分子 T-細胞受體複合物之一部份之抗原。

【0226】 有些實施例中，本文所說明結合劑辨識 CD3 之 ε-鏈，其特別辨識之表位係對應於 CD3ε 之第一段 27 個 N 端胺基酸或此段 27 個胺基酸之功能片段。

結合劑

【0227】 本揭示說明可以至少結合至CD3之表位及CLDN6之表位之結合劑 (如：雙特異性、三價結合劑)。結合劑包含至少三個結合結構域，其中第一結合結構域可以結合至 CD3，及第二與第三結合結構域可以結合至 CLDN6，及其中第二與第三結合結構域結合至 CLDN6 之相同或不同表位。有些實施例中，本文所說明結合劑之第二與第三結合結構域結合至 CLDN6 之相同表位。有些實施例中，第二與第三結合結構域之序列一致或基本上一致。

【0228】 有些實施例中，本文所說明結合劑為重組分子。

【0229】 術語「表位」係指被結合劑辨識之分子或抗原(如：CD3 及/或 CLDN6)之一部份或片段。例如：表位可能被抗體或任何其他結合性蛋白質辨識。表位可包括抗原之連續或不連續部份，且其長度可能在 5 與約 100 個胺基酸之間，如：約 5 與約 50 個之間，更佳係約 8 與約 30 個之間，最佳係約 8 與約 25 個胺基酸之間，例如：表位之長度可能較佳係 9、10、11、12、13、14、15、16、17、

18、19、20、21、22、23、24、或 25 個胺基酸。有些實施例中，表位之長度為約 10 與約 25 個胺基酸之間。術語「表位」包括結構性表位。

【0230】 術語「免疫球蛋白」係指一類結構相關之醣蛋白，其組成為兩對多肽鏈，一對輕(L)低分子量鏈，及一對重(H)鏈，所有四個之間利用二硫鍵連結。免疫球蛋白之結構特徵已完整確立。參見例如：Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W.編輯，第 2 版，Raven Press, N.Y. (1989))。簡言之，各重鏈通常由重鏈可變區(本文縮寫為 V_H 或 VH)及重鏈恆定區(本文縮寫為 C_H 或 CH)構成。重鏈恆定區通常由三個結構域：CH1、CH2、及 CH3 構成。鉸鏈區為重鏈之 CH1 與 CH2 結構域之間的一區，為高度可撓性。鉸鏈區中之二硫鍵為 IgG 分子中兩個重鏈之間之交互作用。各輕鏈通常由輕鏈可變區(本文縮寫為 V_L 或 VL)及輕鏈恆定區(本文縮寫為 C_L 或 CL)構成。輕鏈恆定區通常由一個結構域 CL 構成。VH 及 VL 區可能進一步分成高度變異區(或高可變區，其可能為序列中之高可變性及/或呈限制結構環之型式)，亦稱為互補決定區(CDR)，其中散置較保留的區，稱為構架區(FR)。各 VH 及 VL 通常由三個 CDR 及四個 FR 構成，從胺基末端往羧基末端依以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4 (亦參見 Chothia 及 Lesk J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987))。除非另有其他說明或與本內容矛盾，否則本發明所提及恆定區之胺基酸位置係依據 EU-編號法(Edelman 等人，Proc Natl Acad Sci U S A. 1969 May;63(1):78-85；Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版。1991 NIH Publication No. 91-3242)。通常，本文所說明 CDR 係依 Kabat 之定義。有些實施例中，免疫球蛋白為抗體。

【0231】 本案全文中，提及之重鏈(HC)或輕鏈(LC)不一定暗示存在整個重鏈(HC)或輕鏈(LC)，而係用於指示其中存在重鏈(HC)或輕鏈(LC)之至少一個相關或區分部份。例如：若基於(Fab)-(scFv)2 之雙特異性抗體具有兩條鏈，且一條包含衍生自親本免疫球蛋白之重鏈(VH)可變區與 scFv，及另一條鏈包含衍生自親本免疫球蛋白之輕鏈(VL)可變區與 scFv，則這兩條鏈可分別稱為重鏈(HC)及輕鏈(LC)。甚至即使這兩條鏈事實上均不包含重鏈或輕鏈，及兩條鏈均包含 scFv 的例子，仍意指此二者均包含衍生自親本重鏈及親本輕鏈之元素。本發明內容中之術語「抗體」(Ab)係指免疫球蛋白分子、免疫球蛋白分子之片段、或其中之一之衍生物，其有能力結合，較佳係特異性結合至抗原。有些實施例中，在典

型生理條件下發生之結合具有顯著的半衰期時間，如：至少約 30 分鐘、至少約 45 分鐘、至少約一小時、至少約兩小時、至少約四小時、至少約 8 小時、至少約 12 小時、約 24 小時或更長、約 48 小時或更長、約 3、4、5、6、7 或更多天，等等，或任何其他相關功能定義之時間期(如：足以誘發、促進、加強、及/或調控與抗體結合至抗原相關之生理反應)。免疫球蛋白分子之重鏈及輕鏈之可變區包含會與抗原交互作用之結合結構域。本文所採用術語「抗原結合區」、「結合區」或「結合結構域」係指會與抗原交互作用之一區或結構域，且通常包含 VH 區及 VL 區二者。當本文採用術語抗體時，其不僅包含單一特異性抗體，而且包含多特異性抗體，其包含多重(如：兩個或更多個，例如：三個或更多個)之不同抗原結合區。抗體(Ab)之恆定區可以介導免疫球蛋白結合至宿主組織或因子，包括免疫系統之各種不同細胞(如：效應子細胞)及補體系統之組份(如：C1q，係補體活化之經典途徑之第一組份)。如上述，本文所採用術語抗體，除非另有其他說明或與本內容顯然矛盾，否則包括作為抗原結合片段之抗體片段(亦即保留特異性結合至抗原的能力)及抗體衍生物(亦即衍生自抗體之構築體)。已顯示抗體之抗原結合功能可以由全長抗體之片段執行。涵括在術語「抗體」內之抗原結合片段實例包括(i) Fab’或 Fab 片段，由 VL、VH、CL 及 CH1 結構域組成之單價片段、或 WO2007059782 (Genmab)中說明之單價抗體；(ii) $F(ab')_2$ 片段，包含兩個 Fab 片段由鉸鏈區之二硫橋鍵連接之二價片段；(iii) Fd 片段，其基本上由 VH 及 CH1 結構域組成；(iv) Fv 片段，其基本上由抗體之單臂之 VL 及 VH 結構域組成；(v) dAb 片段(Ward 等人，Nature 341, 544-546 (1989))，其基本上由 VH 結構域組成，亦稱為結構域抗體(Holt 等人；Trends Biotechnol. 2003 Nov;21(11):484-90)；(vi) 駱駝科或奈米分子(Nanobody molecule)(Revets 等人；Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan;5(1):111-24)及(vii) 單離之互補決定區(CDR)。此外，雖然 Fv 片段之兩個結構域 VL 及 VH 由分開的基因編碼，但其等可以採用重組方法，利用可以讓其等製成單一蛋白質鏈之合成連接子連接，其中 VL 與 VH 區配對形成單價分子(稱為單鏈抗體或單鏈 Fv(scFv)，參見例如：Bird 等人，Science 242, 423-426 (1988)及 Huston 等人，PNAS USA 85, 5879-5883 (1988))。此等單鏈抗體涵括在術語抗體中，除非本文中另有其他說明或另有清楚指示。雖然此等片段通常包括在抗體之定義內，但其等共同地且分別獨立為本發明之

獨特特色，具有不同生物性質及用途。本發明內容中之此等及其他適用抗體片段，及此等片段之雙特異性格式均進一步於本文中討論。亦應了解，除非另有明確說明，否則術語抗體亦包括多株抗體、單株抗體(mAb)、抗體樣多肽(如：嵌合抗體及人源化抗體)、及由任何已知技術(如：酶促裂解、肽合成法、及重組技術)所提供仍保留特異性結合至抗原之能力的抗體片段(抗原結合性片段)。

【0232】 片語「單鏈 Fv」或「scFv」係指抗體中傳統雙鏈抗體之重鏈與輕鏈之可變結構域(VH 與 VL)已接連形成一條鏈。視需要由連接子(通常為肽)嵌入兩條鏈之間，以供適當折疊及創造活性結合位點。

【0233】 抗體可具有任何同型。本文所採用術語「同型」係指由重鏈恆定區基因編碼之免疫球蛋白類(例如：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA、IgE、或 IgM)。當本文述及特定同型例如： IgG1 時，該術語不限於明確同型序列，例如：特定 IgG1 序列，但用於指示該抗體之序列與該同型(例如：IgG1)之相似性高於其他同型。因此例如：本發明 IgG1 抗體可能為天然發生之 IgG1 抗體之序列變體，包括恆定區中之變異。

【0234】 在各種不同實施例中，抗體為 IgG1 抗體，更特定言之 IgG1、κ 或 IgG1、λ 同型 (亦即 IgG1、κ、λ)、IgG2a 抗體 (例如：IgG2a、κ、λ)、IgG2b 抗體(例如：IgG2b、κ、λ)、IgG3 抗體(例如：IgG3、κ、λ)或 IgG4 抗體(例如：IgG4、κ、λ)。

【0235】 本文所採用術語「單株抗體」係指單一分子組成物之抗體分子製劑。單株抗體組成物對特定表位展現單一結合特異性及親和性。因此，術語「人類單株抗體」係指展現單一結合特異性之抗體，其具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變及恆定區。人類單株抗體可能由雜交瘤產生，其包括得自轉基因或轉染色體之非人類動物(如：轉基因小鼠)之 B 細胞，具有包含人類重鏈轉基因及輕鏈轉基因之基因體，融合至永生化細胞。

【0236】 本文所採用術語「嵌合抗體」係指抗體中可變區係衍生自非人類物種(例如：衍生自嚙齒類)及恆定區係衍生自不同物種，如：人類。已發展出供醫療應用之嵌合單株抗體來降低抗體免疫原性。嵌合抗體之內容所採用術語「可變區」或「可變結構域」係指一個包含免疫球蛋白之重鏈與輕鏈二者之 CDR 及構架區的區域。嵌合抗體可以採用標準 DNA 技術產生，其說明於 Sambrook 等

人，1989, Molecular Cloning: A laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Ch. 15。嵌合抗體可為遺傳或酶促工程化重組抗體。以習此相關技藝者習知之知識即可產生嵌合抗體，因此可能執行本文所說明以外之其他方法來產生根據本發明嵌合抗體。

【0237】 本文所採用術語「人源化抗體」係指遺傳工程化非人類抗體，其包含人類抗體恆定結構域及非人類可變結構域，其經過修飾而包含與人類可變結構域高度同源性之序列。此點可藉由移植六個非人類抗體互補決定區(CDR)來達成，其在同源人類接受體構架區(FR)上共同形成抗原結合位點(參見WO92/22653 及 EP0629240)。為了完全重構親本抗體之結合親和性及特異性，可能需要以來自親本抗體(亦即非人類抗體)之構架殘基取代至人類構架區中(回復突變)。結構同源性建模可能有助於判別構架區中對抗體之結合性質具有重要性之胺基酸殘基。因此人源化抗體可能包含非人類 CDR 序列、視需要包含一或多個胺基酸回復突變成非人類胺基酸序列之主要人類構架區、及完全人類恆定區。可視需要施加不一定回復突變之額外胺基酸修飾，以得到具有較佳特徵(如：親和性及生化性質)之人源化抗體。

【0238】 本文所採用術語「人類抗體」係指具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區之抗體。人類抗體可能包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如：藉由活體外隨機或位點特異性誘變或藉由活體內體細胞突變引進之突變)。然而，本文所採用術語「人類抗體」並無意包括其中衍生自另一種哺乳動物物種(如：小鼠或大鼠)之生殖系之 CDR 序列已移植至人類構架序列上之抗體。人類單株抗體可由多種不同技術產生，包括慣用之單株抗體方法，例如： Kohler 及 Milstein, *Nature* 256: 495 (1975)之標準體細胞雜交技術。雖然以體細胞雜交技術較佳，但原則上可以採用其他技術來產生單株抗體，例如：B-淋巴細胞之病毒或致癌性轉化或使用人類抗體基因庫之噬菌體展現技術。適合製備會分泌人類單株抗體之雜交瘤之動物系統為鼠類系統。在小鼠中產生雜交瘤為已完整建立的過程。免疫接種程序及單離供融合用之免疫化脾細胞之技術係相關技藝習知者。融合對象(例如：鼠類骨髓瘤細胞)及融合過程係相關技藝習知。因此人類單株抗體可以例如：採用帶有一部份人類免疫系統而非小鼠或大鼠系統之轉基因或轉染色體小鼠或大鼠產生。因此有些實施例

中，會從帶有人類生殖系免疫球蛋白序列替代動物免疫球蛋白序列之轉基因動物(如：小鼠或大鼠)得到人類抗體。此等實施例中，該抗體源於引進動物比內之人類生殖系免疫球蛋白序列，但最終抗體序列仍為該人類生殖系免疫球蛋白序列藉由內因性動物抗體機制，經體細胞高度突變及親和性突變進一步修飾之結果。參見例如：Mendez 等人之 1997 Nat Genet. 15(2):146-56。

【0239】 術語「全長」當用於抗體之內容中時，係指該抗體不為片段，而係包含該天然同型會正常出現之特定同型之所有結構域，例如：IgG1 抗體之 VH、CH1、CH2、CH3、鉸鏈、VL 及 CL 結構域。

【0240】 除非內容矛盾，否則本文所採用術語「Fc 區」係指由免疫球蛋白重鏈的兩個 Fc 序列組成之抗體區，其中該 Fc 序列至少包含鉸鏈區、CH2 結構域、及 CH3 結構域。

【0241】 本文在結合劑(例如：抗體)與預定抗原或表位之結合性內容中所採用術語「結合」或「可以結合」通常係指例如：當採用生物膜干涉儀(Bio-Layer Interferometry)(BLI)測定時、當於 BIAcore 3000 儀器上使用抗原作為配體及使用結合劑作為分析物並採用表面電漿共振(SPR)技術測定時、或當使用表現標靶(CLDN6)之細胞作為「配體」並採用石英晶體微天秤(quartz crystal microbalance system)測定時，其結合親和性相當於 K_D 約 10^{-7} M 或更低，如：約 10^{-8} M 或更低，如：約 10^{-9} M 或更低、約 10^{-10} M 或更低、或約 10^{-11} M 或甚至更低。有些實施例中，結合劑結合至預定抗原之親和性之 K_D 相當於比其結合至預定抗原以外之非特異性抗原(例如：BSA、酪蛋白)或極相關抗原之親和性低至少 10 倍，如：低至少 100 倍，例如：低至少 1,000 倍，如：低至少 10,000 倍，例如：低至少 100,000 倍。與其親和性較低係依賴結合劑之 K_D 而定，因此當結合劑之 K_D 極低時(亦即結合劑為高特異性)，則與抗原親和之濃度可以比與非特異性抗原親和之濃度降低至少 10,000 倍。

【0242】 本文所採用術語「k_d」(sec^{-1})係指特定結合劑-抗原交互作用之解離速率常數。該數值亦稱為 k_{off} 值。

【0243】 本文所採用術語「K_D」(M)係指特定結合劑-抗原交互作用之解離平衡常數。

【0244】 本發明亦考慮包含本文所說明 VL 區、VH 區、或一或多個 CDR 之功能變體之結合劑。在結合劑內容中所採用 VL、VH、或 CDR 之功能變體仍然讓結合劑保留「參考」或「親本」結合劑之至少實質比例(至少約 50%、60%、70%、80%、90%、95%或 more)之親和性及/或特異性/選擇性，且有些例子中，此等結合劑可能與比親本結合劑更高之親和性、選擇性及/或特異性相關。

【0245】 此等功能變體通常保留與親本序列之顯著序列一致性。

【0246】 變體實例包括彼等與親本序列之 VH 及/或 VL 及/或 CDR 區之差異主要在保留性取代者；例如：變體中至多 10 個，如：9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 個取代為保留性胺基酸殘基 置換。

【0247】 本文所說明序列(如：VL 區、或 VH 區、或與本文所說明序列(如：VL 區、或 VH 區)具有某些程度同源性或一致性之序列)之功能變體較佳在非 CDR 序列中包含修飾或變異，同時 CDR 序列較佳仍保留不變。

【0248】 包含如本文所說明重鏈及/或輕鏈可變區序列之變體，例如：包含 CDR 中之修飾及/或如本文所說明之某些程度之一致性之結合劑可能與另一種結合劑(例如：包含如本文所說明重鏈及輕鏈可變區之結合劑)競爭結合至抗原，例如：CD3 及/或 CLDN6，或可能對另一種結合劑(例如：包含如本文所說明重鏈及輕鏈可變區之結合劑)具有特異性。

【0249】 本文所採用術語「特異性」計畫具有下列定義，除非與本內容矛盾。兩種結合劑若結合至相同抗原及相同表位，則其等具有「相同特異性」。

【0250】 術語「競爭」及「競爭性」可指第一結合劑及第二結合劑之間競爭相同抗原。習此相關技藝者已知如何測試諸如：抗體之結合劑與標靶抗原結合之競爭性。此等方法之一項實例為所謂的交叉競爭分析法，其可例如：依 ELISA 執行或藉由流式細胞計。或者，可以採用生物膜干涉儀測定競爭性。

【0251】 競爭結合至標靶抗原之結合劑可能結合抗原上不同表位，其中表位彼此非常接近，以致第一結合劑結合至其中一個表位會阻止第二結合劑結合至另一個表位。然而其他情況下，兩種不同結合劑可能結合抗原上相同表位，而可能在競爭結合分析法中競爭結合。此等結合至相同表位之結合劑在本文中被視為具有相同特異性。因此有些實施例中，結合至相同表位之結合劑被視為結合至標靶分子上之相同胺基酸。結合至標靶抗原上相同表位之結合劑可以採

用習此相關技藝者已知之標準丙胺酸掃瞄實驗或抗體-抗原結晶實驗測定。較佳係結合至不同表位之結合劑或結合結構域不會彼此競爭結合其個別表位。

【0252】 如上述，各種不同格式之抗體已說明於相關技藝中。本發明結合劑原則上可包含任何同型抗體之序列。同型之實例為IgG1、IgG2、IgG3、及IgG4。人類輕鏈恆定區κ或λ均可使用。有些實施例中，本文所說明結合劑之序列(如：CH1及CL)係衍生自IgG1同型之抗體，例如：IgG1,κ抗體。

【0253】 較佳係各抗原-結合區或結構域包含重鏈可變區(VH)及輕鏈可變區(VL)，及其中該可變區各包含三個CDR序列，分別為CDR1、CDR2及CDR3，及四個構架序列，分別為FR1、FR2、FR3及FR4。此外，較佳係本文所說明結合劑包含重鏈恆定區(CH)及輕鏈恆定區(CL)。

【0254】 本發明內容中之術語「結合劑」係指可以結合至一或多種所需抗原(例如：CD3及CLDN6)之任何製劑。術語「結合劑」包括抗體、抗體片段、或任何其他結合性蛋白質、或其任何組合。有些實施例中，結合性蛋白質包含抗體片段，如：Fab及scFv。

【0255】 天然發生之抗體通常為單一特異性，亦即其等結合至單一抗原。本發明提供之結合劑會結合細胞毒性細胞(如：T細胞)(藉由接合CD3受體)及標靶細胞(如：癌細胞)(藉由接合CLDN6)。此等結合劑為至少雙特異性或多特異性，如：三特異性、四特異性，等等。有些實施例中，本文所說明結合劑為由兩個不同抗體之片段構成之人造蛋白質(由兩個不同抗體之該片段形成三個結合結構域)。

【0256】 根據本發明，雙特異性結合劑，特定言之雙特異性蛋白質，為具有兩種不同結合特異性之分子，因此可能結合至兩個表位。特定言之，本文所採用術語「雙特異性結合劑」包括抗體衍生之分子，其包含三個抗原結合位點，第一結合位點具有針對第一表位之親和性，及第二與第三結合位點具有針對不同於第一表位之第二表位之結合親和性。

【0257】 本發明內容中之術語「雙特異性」係指包含兩個不同抗原-結合區結合至不同表位，特定言之不同抗原(例如：CD3及CLDN6)上不同表位的製劑。

【0258】 「多特異性結合劑」為具有超過兩種不同結合特異性之分子。

【0259】 有些實施例中，本文所說明結合至 CD3 及 CLDN6 之結合劑為至少三價。本文所採用「價」、「價數(valence、valencies)」、或其他語法變化意指結合劑中抗原結合位點或結合結構域之數量。有些實施例中，本文所說明結合劑具有至少一個針對 CD3 之抗原結合位點或結合結構域，及至少兩個針對 CLDN6 之抗原結合位點或結合結構域。結合至相同抗原之抗原結合位點可能辨識相同表位或不同表位。

【0260】 有些實施例中，本文所說明結合劑係呈 Fab-scFv$_2$ 構築體之格式，亦即對 CD3 具有特異性之 Fab 片段在 Fab 片段恆定區 C 端具有兩個對 CLDN6 具有特異性之 scFv 片段。有些實施例中，結合劑為由兩個多肽鏈構成之二聚體，較佳係利用二硫橋鍵共同結合，其中第一多肽包含透過 CH1 多肽鏈連接至額外 VH 結構域之 scFv，及第二多肽包含透過 CL 多肽鏈連接至額外 VL 結構域之 scFv。該二硫橋鍵較佳係在 CH1 中 Cys 殘基與 CL 中 Cys 殘基之間形成，以致第一多肽之該額外 VH 與第二多肽之額外 VL 依抗原-結合組態聯結，因此結合劑完整包括三個抗原-結合結構域。因此有些實施例中，結合劑包含 Fab 片段之重鏈(Fd 片段)及輕鏈(L)，其等可以雜二聚合，並在此時納入 scFv 結合結構域(較佳係在 Fd/L 之 C 端)。有些實施例中，scFv 部份體中之 VH 與 VL 結構域係利用肽連接子連結，及/或 Fab 鏈與 scFv 係利用肽連接子連結。有些實施例中，scFv 部份體中之 VH 及 VL 結構域係利用包含胺基酸序列$(G_4S)_x$之肽連接子連結，其中 x 為 2、3、4、5 或 6。有些實施例中，Fab 鏈與 scFv 利用包含胺基酸序列 $SGPG_3RS(G_4S)_2$ 或 $DVPG_2S$ 之肽連接子連結。有些實施例中，包含胺基酸序列 $SGPG_3RS(G_4S)_2$ 之連接子連結 scFv 結合結構域與 Fd 片段，及包含胺基酸序列 $DVPG_2S$ 之連接子則連結 scFv 結合結構域與 L 片段。有些實施例中，scFv 部份體結合至 CLDN6，及 Fab 部份體結合至 CD3。

【0261】 術語「連接子」係指用於接連兩個不同功能單位(例如：抗原結合部份體)之任何方式。連接子型態包括(但不限於)化學連接子及多肽連接子。多肽連接子之序列沒有限制。有些實施例中，多肽連接子較佳係非免疫原性及有撓性，如：彼等包含絲胺酸及甘胺酸序列者。依特定構築體而定，連接子可能長或短。

【0262】 有些實施例中，連結VH與VL結構域形成VH-VL或VL-VH scFv結構域之連接子較佳包含撓性肽連接子(如：甘胺酸-絲胺酸肽連接子)。有些實施例中，連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_x$，其中x為2、3、4、5或6。有些實施例中，以包含呈VH-VL取向之VH及VL結構域之scFv結構域為例，該連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_4$。有些實施例中，以包含呈VL-VH取向之VH及VL結構域之scFv結構域為例，該連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_5$。

【0263】 有些實施例中，連結scFv結構域與Fd結構域之連接子較佳係在CH1之C端，其包含胺基酸序列$DVPG_2S$或$SGPG_3RS(G_4S)_2$，較佳係$SGPG_3RS(G_4S)_2$。有些實施例中，連結scFv結構域與L結構域之連接子較佳係在CL之C端，較佳包含胺基酸序列$DVPG_2S$或$SGPG_3RS(G_4S)_2$，較佳係$DVPG_2S$。

【0264】 結合劑亦可包含用於促進分子分泌之胺基酸序列，如：N端分泌訊號，及/或一或多個促進分子結合、純化或檢測之表位標籤。

【0265】 根據有些實施例，本文所說明結合劑之各多肽鏈包含訊號肽。

【0266】 此等訊號肽為通常長度為約15至30個胺基酸之序列，較佳係位在多肽鏈之N端，但不受此限制。如本文所定義之訊號肽較佳係可以轉運(多個)多肽鏈(例如：由RNA編碼時)至所界定之細胞隔室中，較佳係細胞表面、內質網(ER)或胞內體-溶酶體隔室。

【0267】 本文所定義訊號肽序列包括(但不限於)免疫球蛋白之訊號肽序列，例如：免疫球蛋白重鏈可變區之訊號肽序列或免疫球蛋白輕鏈可變區之訊號肽序列，其中免疫球蛋白可為人類免疫球蛋白。有些實施例中，訊號肽序列為MHC分子之訊號肽序列，例如：I類MHC分子，其中MHC分子可為人類MHC分子(HLA分子)。

【0268】 有些實施例中，分泌訊號為可以讓結合劑或其多肽鏈透過分泌途徑充份通過及/或分泌至胞外環境之訊號序列(例如：包含SEQ ID NO：4中胺基酸1至26之胺基酸序列)。有些實施例中，分泌訊號序列可以從成熟結合劑上裂解及排除。有些實施例中，分泌訊號序列係依在其中產生結合劑之細胞或生物體選擇。

【0269】 另一項實施例中，本文所說明結合劑係連接或接合至一或多個醫療性部份體，如：細胞激素、免疫抑制劑、及/或免疫刺激分子。

【0270】 有些實施例中，本文所說明結合劑包含 Fab 抗體片段，其包含第一結合結構域。有些實施例中，本文所說明結合劑包含兩個 scFv 抗體片段，其包含第二及第三結合結構域，其等共價連接至包含第一結合結構域之 Fab 抗體片段。有些實施例中，結合劑包含 scFv 抗體片段共價連接至 Fab 抗體片段中各鏈之 C 端。

【0271】 本文所說明結合劑之 CH1 及 CL 序列可以分別為任何同型，包括(但不限於)：IgG1、IgG2、IgG3 及 IgG4，且可能包含一或多種突變或修飾。有些實施例中，各 CH1 及 CL 序列為 IgG1 同型或由其衍生，可視需要具有一或多種突變或修飾。

【0272】 本發明有些實施例中，本文所說明結合劑不包含全長抗體。本發明有些實施例中，本文所說明結合劑不包含抗體之 CH2 及 CH3 結構域。本發明有些實施例中，本文所說明結合劑不包含 Fc 區。本發明有些實施例中，本文所說明結合劑不包含可發揮效應子功能之 Fc 序列。

【0273】 本發明內容中之術語「效應子功能」包括任何由免疫系統之組份介導之功能，其造成例如：消滅患病之細胞(如：腫瘤細胞)，或抑制腫瘤生長及/或抑制腫瘤發展，包括抑制腫瘤擴散及轉移。較佳係本發明內容中之效應子功能為 T 細胞介導之效應子功能。此等功能包含 ADCC、ADCP 或 CDC。

【0274】 抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)為由細胞毒性效應子細胞透過非胞吞過程消滅抗體包覆之標靶細胞，其特徵在於釋放細胞毒性顆粒之內容物或表現由細胞死亡誘發之分子。ADCC 不依賴免疫補體系統，亦會溶解標靶，但不需要任何其他細胞。ADCC 係透過已結合標靶之抗體(屬於 IgG 或 IgA 或 IgE 類)與某些 Fc 受體(FcR)(係存在於會與免疫球蛋白(Ig)之 Fc 區結合之效應子細胞表面上之醣蛋白)之交互作用來啟動。介導 ADCC 之效應子細胞包括天然殺手(NK)細胞、單核球、巨噬細胞、嗜中性細胞、嗜酸性白血球、及樹突細胞。ADCC 為快速效應子機轉，其效力依賴許多參數而定(標靶細胞表面上抗原之密度及穩定性；抗體親和性及 FcR-結合親和性)。涉及人類 IgG1(最常用於醫療性

抗體之 IgG 子群)之 ADCC 高度依賴其 Fc 部份之糖基化型態及依賴 Fcγ 受體之多形性。

【0275】 抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)為許多抗體療法的重要作用機轉之一。其定義為一種高度調節之過程，抗體藉此過程經由連結其 Fc 結構域至吞噬細胞上之特異性受體來消除所結合之標靶，並引發吞噬作用，不同於 ADCC，ADCP 可受單核球、巨噬細胞、及樹突細胞，透過 FcγRIIa、FcγRI、及 FcγRIIIa 介導，其中以巨噬細胞上之 FcγRIIa (CD32a)代表主要途徑。

【0276】 補體依賴性細胞毒性(CDC)為另一種可受抗體指揮殺死細胞的方法。IgM 為補體活化之最有效同型。IgG1 及 IgG3 二者亦在經由典型補體活化途徑引導 CDC 時非常有效。較佳係在此級聯反應中，抗原抗體複合物之形成造成暴露出參與抗體分子(如：IgG 分子)之 C_H2 結構域上最接近之多重 C1q 結合位點(C1q 為補體 C1 之三個子組份之一)。較佳係此等暴露 C1q 結合位點使低親和性 C1q−IgG 交互作用轉成高親和性，其啟動一連串涉及一系列其他補體蛋白質之事件，並造成效應子細胞趨化/活化劑 C3a 及 C5a 之蛋白質水解性釋放。較佳係該補體級聯反應的終點為形成膜攻擊複合物，其在細胞膜中創造孔洞，促進水及溶質自由通過進出細胞。

【0277】 有些實施例中，結合劑包含兩條多肽鏈，形成一個對 CD3 具有特異性之結合結構域及兩個對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。有些實施例中，兩條多肽鏈係由兩個 RNA 分子編碼。有些實施例中，結合劑為由兩條多肽鏈構成之二聚體，其中第一多肽包含對 CLDN6 具有特異性之 scFv，其透過免疫球蛋白重鏈之恆定區 1(CH1)連接至額外 VH 結構域；及第二多肽包含對 CLDN6 具有特異性之 scFv，其透過免疫球蛋白輕鏈之恆定區(CL)連接至額外 VL 結構域。有些實施例中，兩條多肽鏈利用二硫鍵橋接共同結合在一起。該二硫鍵橋接較佳係形成於 CH1 結構域中 Cys 殘基與 CL 結構域中 Cys 殘基之間，因此該第一多肽之額外 VH 結構域會與第二多肽之額外 VL 結構域聯結成 CD3-結合組態，使得該結合劑完整包括三個抗原結合性結構域。有些實施例中，對 CD3 具有特異性之結合結構域係由 Fab 片段構成，及對 CLDN6 具有特異性之結合結構域則分別由 scFv 構成。有些實施例中，Fab 片段的每一條鏈均連接至一個 scFv，及該等 scFv 較佳係連接在 Fab 片段之 C 端。根據本發明，scFv 部份體中之 VH 與 VL

結構域較佳係利用肽連接子(如：包含胺基酸序列$(G_4S)_4$之肽連接子)連結，及 Fab 鏈與 scFv 較佳係利用肽連接子(如：包含胺基酸序列 $SGPG_3RS(G_4S)_2$ 或 $DVPG_2S$ 之肽連接子)連結。

【0278】 有些實施例中，結合劑包含(i) 第一多肽鏈，其包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之 VH(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))；及 (ii) 第二多肽鏈，其包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之 VH(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))。有些實施例中，第一多肽鏈與第二多肽鏈交互作用，形成結合劑。有些實施例中，第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域。有些實施例中，第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。有些實施例中，第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對CLDN6具有特異性之結合結構域。有些實施例中，該第一及第二多肽鏈包含衍生自免疫球蛋白之重鏈恆定區 1(CH1)或其功能變體及衍生自免疫球蛋白之輕鏈恆定區(CL)或其功能變體。有些實施例中，免疫球蛋白為 IgG1。有些實施例中，IgG1 為人類 IgG1。有些實施例中，第一多肽鏈上之 VH、VL、及 CH1 從 N 端往 C 端之排列依序為

VH(CD3)-CH1-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VH(CD3)-CH1-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【0279】 有些實施例中，CH1 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列 $SGPGGGRS(G_4S)_2$ 或其功能變體。

【0280】 有些實施例中，第二多肽鏈上之 VH、VL、及 CL 從 N 端往 C 端之排列依序為

VL(CD3)-CL-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VL(CD3)-CL-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【0281】 有些實施例中，CL 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列 DVPGGS 或其功能變體。

【0282】 有些實施例中，VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)係利用肽連接子彼此連結。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_x$或其功能變體，其中 x 為 2、3、4、5 或 6。有些實施例中，該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_4$或其功能變體。

【0283】 有些實施例中，第一多肽鏈上之 CH1 與第二多肽鏈上之 CL 交互作用。

【0284】 有些實施例中，CH1 包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 146 至 248 之胺基酸序列或其功能變體。

【0285】 有些實施例中，CL 包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 133 至 239 之胺基酸序列或其功能變體。

【0286】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3 (分別為 SEQ ID NO：18、19、及 20)。有些實施例中，VH(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYTFTRYT 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPSRGYT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARYYDDHYSLDY 或 ARYYDDHYCLDY 或其功能變體。有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體。

【0287】 有些實施例中，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3 (分別為 SEQ ID NO：22、23、及 24)。有些實施例中，VL(CD3)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 SSVSY 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 DTS 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 QQWSSNPLT 或其功能變體。有些實施例中，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體。

【0288】 有些實施例中，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3 (分別為 SEQ ID NO：25、26、及 27)。有些實施例中，VH(CLDN6)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 GYSFTGYT

或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 INPYNGGT 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 ARDYGFVLDY 或其功能變體。有些實施例中，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體。

【0289】 有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3 (分別為 SEQ ID NO：28、29、及 30)。有些實施例中，VL(CLDN6)包含 CDR1，其包含胺基酸序列 SSVSY 或其功能變體；CDR2，其包含胺基酸序列 STS 或其功能變體；及 CDR3，其包含胺基酸序列 QQRSNYPPWT 或其功能變體。有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3、與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之序列、及位在對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449 之絲胺酸殘基。有些實施例中，VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【0290】 位在相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基意指在 CDR1 終端之後第 15 個胺基酸位置為絲胺酸殘基。相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基意指在 CDR2 開端之前第 3 個胺基酸為絲胺酸。此等可例如：分別由下式代表(N 至 C)：XXXXX – Y_{14} – S 及 S – Y_2 – ZZZ，其中 X 代表 CDR1 胺基酸，Y 代表穿插在 CDR 之間之胺基酸，S 代表絲胺酸殘基，及 Z 代表 CDR2 胺基酸。

【0291】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，且較佳係 VL(CLDN6)包含相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘

基(對應於 SEQ ID NO:4 之位置 449)及/或相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基(對應於 SEQ ID NO：4 之位置 449)。

【0292】 有些實施例中，VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體，VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體，VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體，及/或 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【0293】 有些實施例中，第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 510 之胺基酸序列、與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 510 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列、或 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 510 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 510 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，第一多肽鏈包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 510 之胺基酸序列。

【0294】 此等及其他實施例中，編碼第一多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 132 至 1583 之核苷酸序列、與 SEQ ID NO：5 中核苷酸 132 至 1583 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或 SEQ ID NO：5 中核苷酸 132 至 1583 之核苷酸序列或與 SEQ ID NO：5 中核苷酸 132 至 1583 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第一多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 132 至 1583 之核苷酸序列。

【0295】 有些實施例中，第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 489 之胺基酸序列、與 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 489 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列、或 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 489 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 489 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，第二多肽鏈包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 489 之胺基酸序列。

【0296】 此等及其他實施例中，編碼第二多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列、與SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列、或SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列或與SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第二多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列。

【0297】 有些實施例中，(i)第一多肽鏈包含SEQ ID NO：4中胺基酸27至510之胺基酸序列、與SEQ ID NO：4中胺基酸27至510之胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之胺基酸序列、或SEQ ID NO：4中胺基酸27至510之胺基酸序列或與SEQ ID NO：4中胺基酸27至510之胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之胺基酸序列之功能片段，及(ii)第二多肽鏈包含SEQ ID NO：6中胺基酸27至489之胺基酸序列、與SEQ ID NO：6中胺基酸27至489之胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之胺基酸序列；或SEQ ID NO：6中胺基酸27至489之胺基酸序列或與SEQ ID NO：6中胺基酸27至489之胺基酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，第一多肽鏈包含SEQ ID NO：4中胺基酸27至510之胺基酸序列及第二多肽鏈包含SEQ ID NO：6中胺基酸27至489之胺基酸序列。

【0298】 此等及其他實施例中，(i)編碼第一多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：5中核苷酸132至1583之核苷酸序列、與SEQ ID NO：5中核苷酸132至1583之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列、或SEQ ID NO：5中核苷酸132至1583之核苷酸序列或與SEQ ID NO：5中核苷酸132至1583之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列之功能片段，及(ii)編碼第二多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列、與SEQ ID NO：7中核苷酸132至1520之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、

96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或 SEQ ID NO：7 中核苷酸 132 至 1520 之核苷酸序列或與 SEQ ID NO：7 中核苷酸 132 至 1520 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第一多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 132 至 1583 之核苷酸序列，及編碼第二多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：7 中核苷酸 132 至 1520 之核苷酸序列。

【0299】 根據有些實施例，訊號肽係直接或透過連接子融合至本文所說明多肽鏈。因此，有些實施例中，訊號肽係融合至上述胺基酸序列。

【0300】 有些實施例中，訊號序列包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 1 至 26 之胺基酸序列、與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 1 至 26 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列、或 SEQ ID NO：4 中胺基酸 1 至 26 之胺基酸序列或與 SEQ ID NO：4 中胺基酸 1 至 26 之胺基酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，訊號序列包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 1 至 26 之胺基酸序列。

【0301】 此等及其他實施例中，編碼訊號序列之 RNA(i)包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 131 之核苷酸序列、與 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 131 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 131 之核苷酸序列或與 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 131 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼訊號序列之 RNA 包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 131 之核苷酸序列。

【0302】 有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4、與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列、或胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4。

【0303】 此等及其他實施例中，編碼第一多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：5中核苷酸54至1583之核苷酸序列、與SEQ ID NO：5中核苷酸54至1583之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列、或SEQ ID NO：5中核苷酸54至1583之核苷酸序列或與SEQ ID NO：5中核苷酸54至1583之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第一多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：5中核苷酸54至1583之核苷酸序列。

【0304】 其他實施例中，編碼第一多肽鏈之RNA包含核苷酸序列SEQ ID NO：5、與核苷酸序列SEQ ID NO：5具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列、或核苷酸序列SEQ ID NO：5或與核苷酸序列SEQ ID NO：5具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第一多肽鏈之RNA包含核苷酸序列SEQ ID NO：5。

【0305】 有些實施例中，第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO：6、或與胺基酸序列SEQ ID NO：6具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之胺基酸序列、或胺基酸序列SEQ ID NO：6或與胺基酸序列SEQ ID NO：6具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO：6。

【0306】 此等及其他實施例中，編碼第二多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：7中核苷酸54至1520之核苷酸序、與SEQ ID NO：7中核苷酸54至1520之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列、或SEQ ID NO：7中核苷酸54至1520之核苷酸序列或與SEQ ID NO：7中核苷酸54至1520之核苷酸序列具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第二多肽鏈之RNA包含SEQ ID NO：7中核苷酸54至1520之核苷酸序列。

【0307】 進一步的實施例中，編碼第二多肽鏈之RNA包含核苷酸序列SEQ ID NO：7、與核苷酸序列SEQ ID NO：7具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或80%一致性之核苷酸序列、或核苷酸序列SEQ ID NO：7

或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第二多肽鏈之 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7。

【0308】 有些實施例中，(i) 第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4、與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列、或胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列之功能片段，及(ii) 第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6、與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列、或胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列之功能片段。有些實施例中，第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，及第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6。

【0309】 此等及其他實施例中，(i) 編碼第一多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 1583 之核苷酸序列、與 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 1583 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 1583 之核苷酸序列或與 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 1583 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段，及(ii)編碼第二多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：7 中核苷酸 54 至 1520 之核苷酸序列、與 SEQ ID NO：7 中核苷酸 54 至 1520 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或 SEQ ID NO：7 中核苷酸 54 至 1520 之核苷酸序列或與 SEQ ID NO：7 中核苷酸 54 至 1520 之核苷酸序列具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第一多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：5 中核苷酸 54 至 1583 之核苷酸序列，及編碼第二多肽鏈之 RNA 包含 SEQ ID NO：7 中核苷酸 54 至 1520 之核苷酸序列。

【0310】 進一步的實施例中，(i) 編碼第一多肽鏈之 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5、與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、

95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或核苷酸序列 SEQ ID NO：5 或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段，及(ii)編碼第二多肽鏈之 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7、與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列、或核苷酸序列 SEQ ID NO：7 或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列之功能片段。有些實施例中，編碼第一多肽鏈之 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，及編碼第二多肽鏈之 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7。

【0311】 有些實施例中，結合劑係結合至 CLDN6 之胞外結構域。有些實施例中，結合劑係結合至存在於活細胞表面上之 CLDN6 之天然表位。有些實施例中，結合劑係結合至 CLDN6 之第一胞外環。

【0312】 本文所說明結合劑對 CLDN6 具有特異性，亦即其有能力結合至 CLDN6，亦即有能力結合至存在於 CLDN6 之表位，較佳係位在 CLDN6 之胞外結構域內之表位，特定言之第一胞外環，較佳係 CLDN6 之胺基酸位置 28 至 76 或 29 至 81，或第二胞外環，較佳係 CLDN6 之胺基酸位置 141 至 159。有些實施例中，有能力結合至 CLDN6 之製劑係結合至存在於 CLDN6 上但不存在於 CLDN9 上之表位。有些實施例中，有能力結合至 CLDN6 之製劑係結合至存在於 CLDN6 上但不存在於 CLDN4 及/或 CLDN3 上之表位。有些實施例中，有能力結合至 CLDN6 之製劑係結合至存在於 CLDN6 上但不存在於 CLDN6 以外之密連蛋白蛋白質上之表位。

【0313】 有些實施例中，有能力結合至 CLDN6 之製劑較佳係結合至 CLDN6 但不結合至 CLDN9，及較佳係不結合至 CLDN4 及/或 CLDN3。有些實施例中，有能力結合至 CLDN6 之製劑係結合至表現在細胞表面上之 CLDN6。有些實施例中，有能力結合至 CLDN6 之製劑係結合至存在於活細胞表面上 CLDN6 之天然表位。

【0314】 術語「表現在細胞表面上」或「與細胞表面聯結」意指諸如抗原之分子係聯結並位在細胞之細胞膜，其中至少一部份分子面向該細胞之胞外空間，並可從該細胞之外面觸及，例如：被位在細胞外面之抗體觸及。本文中，

一部份較佳係至少 4 個、較佳係至少 8 個、較佳係至少 12 個、更較佳係至少 20 個胺基酸。該聯結可能為直接或間接。例如：該聯結可能為一或多個跨膜結構域、一或多個脂質錨定、或藉由與任何其他蛋白質、脂質、醣類、或其他可能出現在細胞之細胞膜外層小葉上之結構之交互作用。例如：與細胞表面聯結之分子可能為具有胞外部份之跨膜蛋白質或可能為藉由與另一種蛋白質(其為跨膜蛋白質)交互作用而聯結細胞表面之蛋白質。

【0315】 「細胞表面」或「細胞之表面」係依據相關技藝之正常定義來使用，因此包括可被蛋白質及其他分子觸及以便結合之細胞外部。若抗原位在該細胞表面且可被例如：加至細胞之抗原特異性抗體觸及而結合時，則該抗原係表現在細胞表面上。

【0316】 本發明內容中之術語 「胞外部份」或「外結構域」係指諸如：蛋白質之分子之一部份，其面向細胞之胞外空間，且較佳係可例如：被諸如：位在細胞外之抗體之結合分子從該細胞外面觸及。較佳係該術語係指一或多個胞外環或結構域或其片段。

核酸

【0317】 本文所採用術語「聚核苷酸」或「核酸」計畫包括 DNA 及 RNA，如：基因體 DNA、cDNA、mRNA、重組產生及化學合成之分子。核酸可能為單股或雙股。RNA 包括活體外轉錄之 RNA (IVT RNA)或合成之 RNA。根據本發明，聚核苷酸較佳係已單離。

【0318】 核酸可能包含在載體內。本文所採用術語「載體」包括習此相關技藝者已知之任何載體，包括質體載體、黏質體載體、噬菌體載體(如：λ噬菌體)、病毒載體(如：反轉錄病毒、腺病毒或桿狀病毒載體)、或人造染色體載體(如：細菌人造染色體(BAC)、酵母人造染色體(YAC)、或 P1 人造染色體(PAC))。該載體包括表現及選殖載體。表現載體包含質體及病毒載體，且通常包含為了在特定宿主生物體(例如：細菌、酵母、植物、昆蟲、或哺乳動物)或活體外表現系統中表現以可操作方式連接之編碼序列時所必要之所需編碼序列及適當 DNA 序列。通常採用選殖載體來工程化及擴增某些所需 DNA 片段，且可能缺少表現所需 DNA 片段時所必要之功能序列。

【0319】 本發明所有態樣之有些實施例中，編碼本文所說明結合劑，例如：雙特異性或多特異性結合劑之 RNA 係表現在該接受處理之受試者細胞(例如：肝細胞)中，以提供結合劑。

【0320】 本文所說明核酸可為重組及/或單離分子。

【0321】 本揭示中，術語「RNA」係有關一種包括核糖核苷酸殘基之核酸分子。較佳實施例中，RNA 包含所有或大多數核糖核苷酸殘基。本文所採用「核糖核苷酸」係指在 β-D-呋喃核糖基 2'-位置上具有羥基之核苷酸。RNA 涵括(但不限於)：雙股 RNA、單股 RNA、單離 RNA，如：部份純化 RNA、基本上純 RNA、合成 RNA、重組產生之 RNA，及經修飾 RNA，其與天然 RNA 之差異在於添加 、缺失、取代及/或改變一或多個核苷酸。此等變化可能提及添加非核苷酸材料至內部 RNA 核苷酸或至 RNA 之(多個)末端。本文亦考慮 RNA 中之核苷酸可能為非標準核苷酸，如：化學合成核苷酸或去氧核苷酸。針對本揭示，此等改變之 RNA 被視為天然 RNA 之類似物。

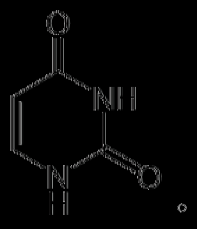
【0322】 本揭示有些實施例中，RNA 為信息子 RNA(mRNA)，其係有關編碼肽或蛋白質之 RNA 轉錄本。如相關技藝所確立，mRNA 通常包含 5'無轉譯區(5'-UTR)、肽編碼區及 3'無轉譯區(3'-UTR)。有些實施例中，RNA 係藉由活體外轉錄或化學合成來產生。有些實施例中，mRNA 係藉由使用 DNA 模板進行活體外轉錄而產生，其中 DNA 係指包含去氧核糖核苷酸之核酸。

【0323】 本揭示有些實施例中，RNA 為「複製子 RNA」或簡稱「複製子」，特定言之「自我複製 RNA」或「自我擴增 RNA」。一項特別佳實施例中，複製子或自我複製 RNA 係衍生自 sRNA 病毒或包含衍生自 sRNA 病毒之元素，特定言之正股 ssRNA 病毒，如：阿爾法病毒(alphavirus)。阿爾法病毒為正股 RNA 病毒的典型代表。阿爾法病毒在感染之細胞之細胞質中複製(有關阿爾法病毒生命週期之概述可參見 José 等人，Future Microbiol., 2009, vol. 4, pp. 837–856)。許多阿爾法病毒之總基因體長度通常在 11,000 至 12,000 個核苷酸之範圍內，及基因體 RNA 通常具有 5'-端帽及 3'聚(A)尾。阿爾法病毒之基因體編碼非結構性蛋白質(涉及病毒 RNA 之轉錄、修飾與複製，及蛋白質修飾)及結構性蛋白質(形成病毒顆粒)。基因體中通常有兩個開放讀碼框(ORF)。四個非結構性蛋白質(nsP1–nsP4)通常由從接近基因體 5′末端之第一 ORF 開始共同編碼，而阿爾法病毒結構

性蛋白質係由出現在第一ORF下游且延伸接近其mRNA之3'末端之第二ORF共同編碼。通常第一ORF比第二ORF大，其比例為約2：1。在感染阿爾法病毒之細胞中，僅編碼非結構性蛋白質之核酸序列係由其mRNA轉譯，而編碼結構性蛋白質之遺傳資訊則由子代mRNA轉錄本轉譯，其係類似真核生物信使子RNA之RNA分子(mRNA；Gould等人，2010, Antivirus Res., vol. 87 pp. 111-124)。在感染後，亦即病毒生命週期的早期，(+)股mRNA直接作用如同信使子RNA，供編碼非結構性病毒蛋白質(nsP1234)之開放讀碼框進行轉譯。阿爾法病毒衍生之載體已被提出用於遞送外來遺傳資訊至標靶細胞或標靶生物體中。在簡單方法中，編碼阿爾法病毒結構性蛋白質之開放讀碼框被編碼所關注蛋白質之開放讀碼框置換。其於阿爾法病毒之反式複製系統(trans-replication system)依賴兩個分開核酸分子上之阿爾法病毒核苷酸序列元素：一個核酸分子編碼病毒複製酶，及另一個核酸分子可以被該複製酶反向(in trans)複製(因此稱為反式複製系統)。反式複製需要此等兩種核酸分子均存在於指定宿主細胞中。可以藉由複製酶反向複製之核酸分子必需包含某些阿爾法病毒序列元素，讓阿爾法病毒複製酶辨識及合成RNA。

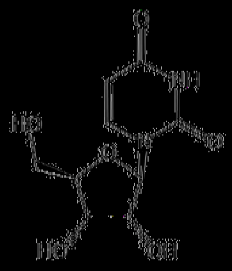
[0324] 在某些實施例中，本文所說明RNA可能具有經修飾核苷。在某些實施例中，RNA包含以經修飾核苷替代至少一個(例如：每一個)尿苷。

[0325] 本文所採用術語「尿嘧啶」係說明一種出現在RNA之核酸中之核鹼基。尿嘧啶之結構式為：



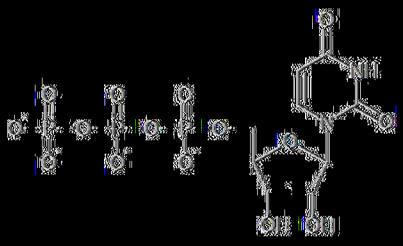
。

[0326] 本文所採用術語「尿苷」係說明出現在RNA中之一種核苷。尿苷之結構式為：



。

[0327] UTP (尿苷 5'-三磷酸酯)具有下列結構式：



。

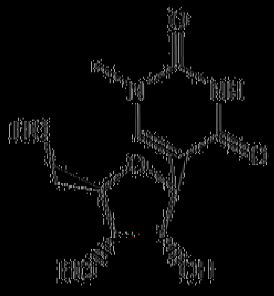
[0328] 假-UTP (假尿苷 5'-三磷酸酯)具有下列結構式：



。

[0329] 「假尿苷」為經修飾核苷之實例之一，其係尿苷之異構物，其中尿嘧啶改用碳-碳鍵將N1-位取代至核糖苷鍵來附接之碳糖環。

[0330] 經修飾核苷之另一項實例為N1-甲基-假尿苷(m1Ψ)，其具有結構式：



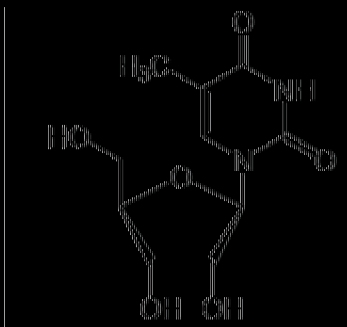
。

[0331] N1-甲基-假-UTP具有下列結構式：



。

[0332] 經修飾核苷之另一項實例為5-甲基尿苷(m5U)，其具有結構式：



。

[0333] 在典型實施例中，本文所說明RNA中一或多個尿苷被經修飾核苷置換。在典型實施例中，經修飾核苷為經修飾尿苷。

[0334] 在典型實施例中，RNA包含以經修飾核苷替代至少一個尿苷。在典型實施例中，RNA包含以經修飾核苷替代每一個尿苷。

[0335] 在典型實施例中，經修飾核苷係分別獨立選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及5-甲基-尿苷(m5U)。在典型實施例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)。在典型實施例中，經修飾核苷包含N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在典型實施例中，經修飾核苷包含5-甲基-尿苷(m5U)。在典型實施例中，RNA可包含超過一種經修飾核苷，及該經修飾核苷係分別獨立選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及5-甲基-尿苷(m5U)。在典型實施例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)及N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。在典型實施例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)及5-甲基-尿苷(m5U)。在典型實施例中，經修飾核苷包含N1-甲基-假尿苷(m1ψ)及5-甲基-尿苷(m5U)。在典型實施例中，經修飾核苷包含假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及5-甲基-尿苷(m5U)。

[0336] 在典型實施例中，置換RNA中一或多個，例如：所有尿苷之經修飾核苷可為任何一或多種3-甲基-尿苷(m^3U)、5-甲氧基-尿苷(mo^5U)、5-氮雜-尿苷、6-氮雜-尿苷、2-硫代-5-氮雜-尿苷、2-硫代-尿苷(s^2U)、4-硫代-尿苷(s^4U)、4-硫代-假尿苷、2-硫代-假尿苷、5-羥基-尿苷(ho^5U)、5-胺基烯內基-尿苷、5-鹵

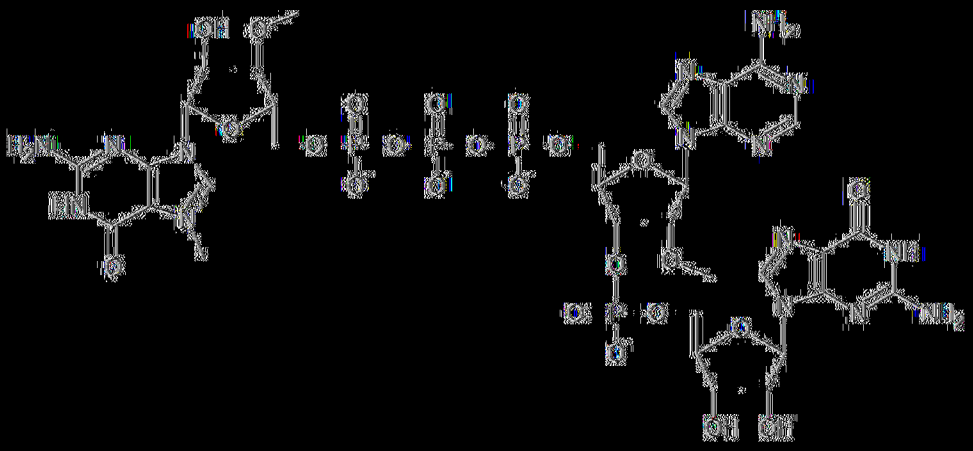
代-尿苷(例如：5-碘-尿苷或 5-溴-尿苷)、尿苷 5-氧乙酸(cmo^5U)、尿苷 5-氧乙酸甲酯($mcmo^5U$)、5-羧基甲基-尿苷(cm^5U)、1-羧基甲基-假尿苷、5-羧基羥基甲基-尿苷(chm^5U)、5-羧基羥基甲基-尿苷甲酯($mchm^5U$)、5-甲氧基羰基甲基-尿苷(mcm^5U)、5-甲氧基羰基甲基-2-硫代-尿苷(mcm^5s^2U)、5-胺基甲基-2-硫代-尿苷(nm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-尿苷(mnm^5U)、1-乙基-假尿苷、5-甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷(mnm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-2-硒基-尿苷(mnm^5se^2U)、5-胺甲醯基甲基-尿苷(ncm^5U)、5-羧基甲基胺基甲基-尿苷($cmnm^5U$)、5-羧基甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷($cmnm^5s^2U$)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-尿苷(τm^5U)、1-牛磺酸基甲基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-2-硫代-尿苷(τm5s2U)、1-牛磺酸基甲基-4-硫代-假尿苷)、5-甲基-2-硫代-尿苷(m^5s^2U)、1-甲基-4-硫代-假尿苷($m^1s^4\psi$)、4-硫代-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷($m^3\psi$)、2-硫代-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、2-硫代-1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、二氫尿苷(D)、二氫假尿苷、5,6-二氫尿苷、5-甲基-二氫尿苷(m^5D)、2-硫代-二氫尿苷、2-硫代-二氫假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫代-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧基丙基)尿苷(acp^3U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧基丙基)假尿苷($acp^3\psi$)、5-(異戊烯基胺基甲基)尿苷(inm^5U)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2-硫代-尿苷(inm^5s^2U)、α-硫代-尿苷、2′-O-甲基-尿苷(Um)、5,2′-O-二甲基-尿苷(m^5Um)、2′-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫代-2′-O-甲基-尿苷(s^2Um)、5-甲氧基羰基甲基-2′-O-甲基-尿苷(mcm^5Um)、5-胺甲醯基甲基-2′-O-甲基-尿苷(ncm^5Um)、5-羧基甲基胺基甲基-2′-O-甲基-尿苷($cmnm^5Um$)、3,2′-O-二甲基-尿苷(m^3Um)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2′-O-甲基-尿苷(inm^5Um)、1-硫代-尿苷、去氧胸苷、2′-F-ara-尿苷、2′-F-尿苷、2′-OH-ara-尿苷、5-(2-甲氧羰基乙烯基) 尿苷、5-[3-(1-E-丙烯基胺基)尿苷、或相關技藝習知之任何其他經修飾尿苷。

【0337】 有些實施例中，RNA 包含其他經修飾核苷或包含進一步經修飾核苷，例如：經修飾胞苷。例如：有些實施例中，RNA 中，由 5-甲基胞苷部份或完全取代，較佳係完全取代胞苷。有些實施例中，RNA 包含 5-甲基胞苷及選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)中之一或多者。有些實施例中，RNA 包含 5-甲基胞苷及 N1-甲基-假尿苷(m1ψ)。有些實施例中，

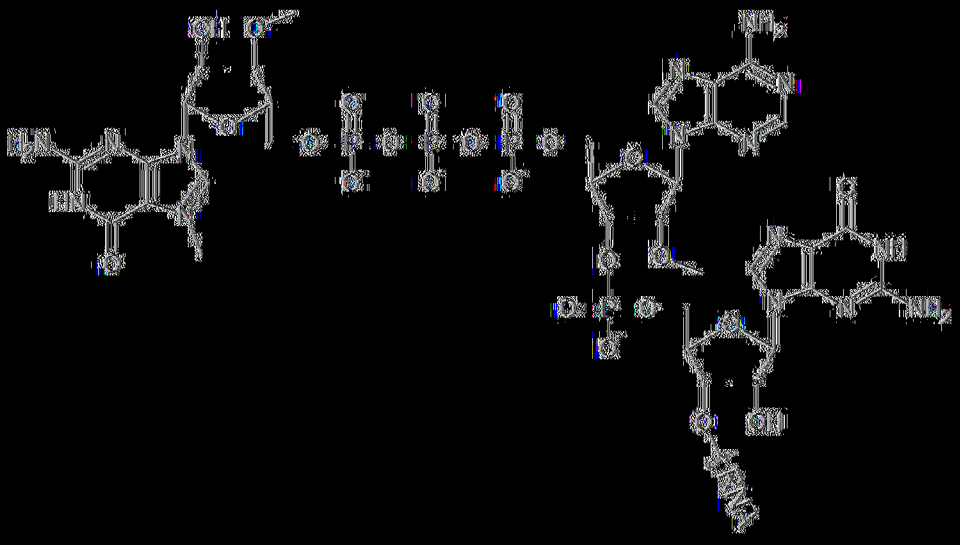
RNA 包含以 5-甲氧胞苷替代每一個胞苷，及以 N1-甲基-假尿苷(m1ψ)替代每一個尿苷。

[0338] 有些實施例中，根據本揭示之RNA包含5’-端帽。有些實施例中，本揭示 RNA 沒有無端帽之 5’-三磷酸酯。有些實施例中，RNA 可經 5’-端帽類似物修飾。術語「5’-端帽」係指出現在 mRNA 分子 5’-端上之結構，通常由鳥苷核苷酸利用 5’-接 5’-三磷酸酯之鏈結連結至 mRNA 所組成。有些實施例中，此鳥苷在 7 位置上甲基化。可利用活體外轉錄，達成在 RNA 上提供 5’-端帽或 5’-端帽類似物，其中 5’-端帽係共轉錄進入 RNA 股中，或可在轉錄後利用加端帽酶附接至 RNA。

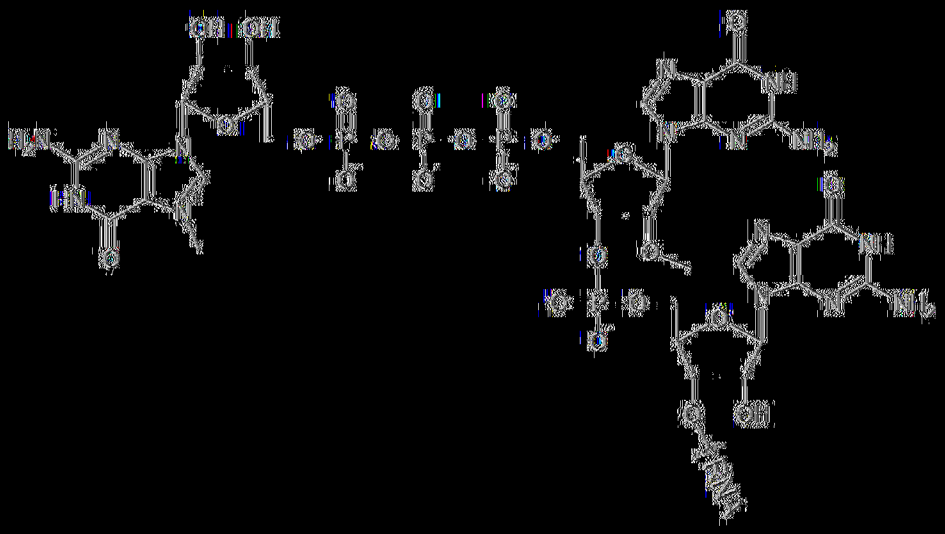
[0339] 有些實施例中，RNA 之建構核段端帽為 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG (有時候亦稱為 $m_2^{7,3-O}$G(5’)ppp(5’)$m^{2'-O}$ApG)，其具有下列結構式：



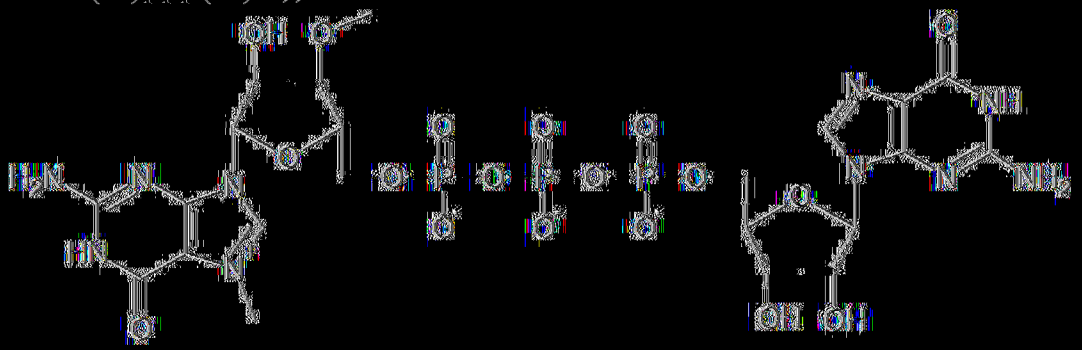
[0340] 以下為例舉之端帽 1 RNA(Cap1 RNA)，其包含 RNA 與 $m_2^{7,3-O}$G(5’)ppp(5’)$m^{2'-O}$ApG：



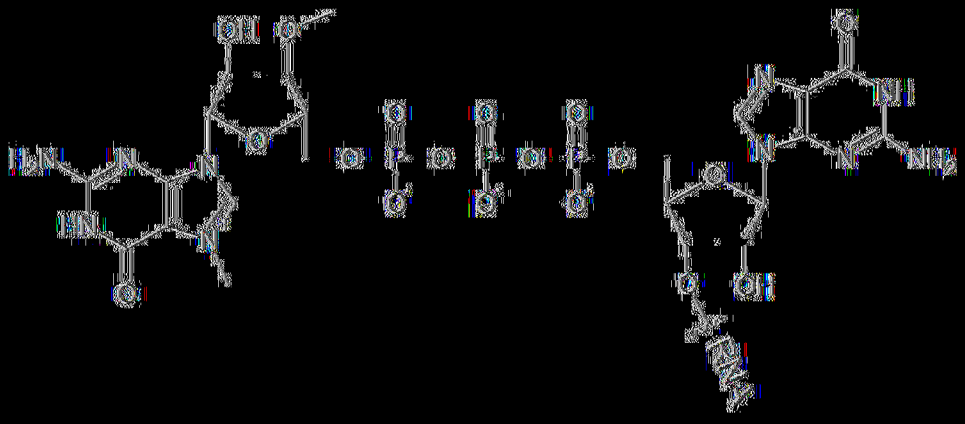
[0341] 以下為另一項例舉之 Cap1 RNA (沒有端帽類似物)：



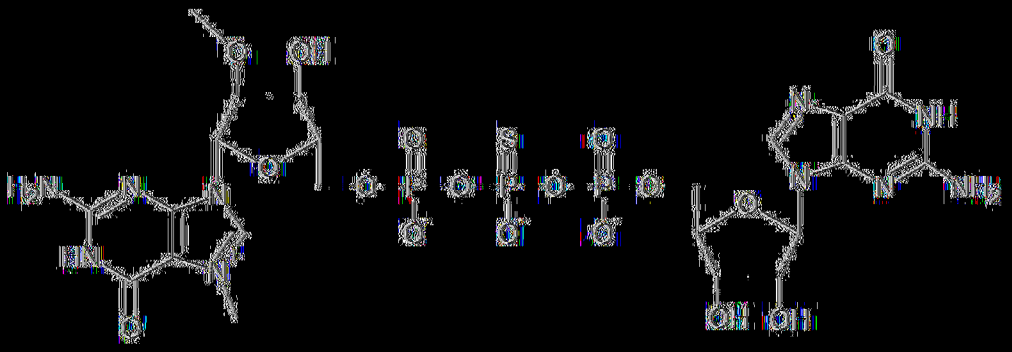
[0342] 有些實施例中，RNA 係經「Cap0」結構式修飾，有些實施例中，係使用如下結構式之端帽類似物抗-反轉端帽(anti-reverse cap，ARCA Cap ($m_2^{7,3'-O}G(5')ppp(5')G$))：



[0343] 以下為例舉之 Cap0 RNA，其包含 RNA 與 $m_2^{7,3'-O}G(5')ppp(5')G$：

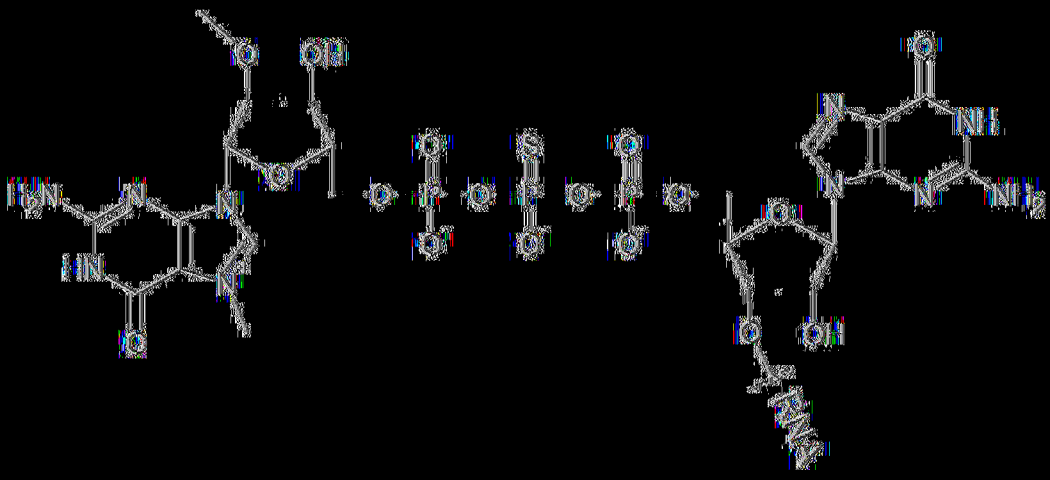


[0344] 有些實施例中，「Cap0」結構式係使用如下結構式之端帽類似物 B-S-ARCA ($m_2^{7,2'-O}G(5')ppSp(5')G$)產生：



。

[0345] 以下為例舉之 Cap0 RNA，其包含 β-S-ARCA ($m_2^{7,2'-O}$G(5')ppSp(5')G)與 RNA：



。

[0346] β-S-ARCA 之「D1」非對映異構物或「β-S-ARCA(D1)」為 β-S-ARCA 之非對映異構物，其在 HPLC 管柱上比 β-S-ARCA 之 D2 非對映異構物(β-S-ARCA(D2))先溶離出，因此具有較短的滯留時間(參見 WO 2011/015347，其內容以引用方式併入本文中)。

[0347] 特別佳之端帽為 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG。有些實施例中，本文所說明 RNA 序列(例如：SEQ ID NO：5 及/或 7)之端帽為 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG。有些實施例中，端帽之 ApG 對應於本文所說明 RNA 序列的兩個 5'核苷酸。

[0348] 有些實施例中，根據本揭示 RNA 包含 5'-UTR 及/或 3'-UTR。術語「無轉譯區」或「UTR」係有關 DNA 分子中已轉錄但未轉譯成胺基酸序列的一區，或有關對應如：mRNA 分子之 RNA 分子中對應區。無轉譯區(UTR)可出現在開放讀碼框之 5'(上游)(5'-UTR)及/或開放讀碼框之 3'(下游)(3'-UTR)。若存在 5'-UTR 時，其位在 5'端，係蛋白質編碼區之起始密碼子之上游。5'-UTR 為 5'-端帽(若存在時)之下游，例如：緊鄰 5'-端帽。若存在 3'-UTR 時，其位在 3'端，

係蛋白質編碼區之終止密碼子之下游，但術語「3'-UTR」較佳係不包括聚(A)序列。因此，3'-UTR 為聚(A)序列(若存在時)之上游，例如：緊鄰聚(A)序列。

【0349】 有些實施例中，RNA 包含 5'-UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0350】 有些實施例中，RNA 包含 3'-UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9、或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【0351】 特別佳 5'-UTR 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8。特別佳 3'-UTR 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9。

【0352】 有些實施例中，根據本發明 RNA 包含 3'-聚(A)序列。

【0353】 本文所採用術語「聚(A)序列」或「聚 A 尾」係指未被穿插或被穿插之腺苷酸殘基序列，其通常位在 RNA 分子之 3'-端。聚(A)序列係彼等習此相關技藝者已知者且可接在本文所說明 RNA 之 3'-UTR 之後。未被穿插之聚(A)序列之特徵在於連續的腺苷酸殘基。自然界通常為未被穿插之聚(A)序列。本文所揭示 RNA 可在轉錄後利用不依賴模板之 RNA 聚合酶，而具有附接在 RNA 之游離 3'-端之聚(A)序列或具有由 DNA 編碼及由不依賴模板之 RNA 聚合酶轉錄之聚(A)序列。

【0354】 已證實約 120 個 A 核苷酸之聚(A)序列在轉染之真核生物細胞中之 RNA 階層及在由存在於聚(A)序列上游(5')之開放讀碼框轉譯之蛋白質階層具有有利的影響(*Holtkamp* 等人，2006, Blood, vol. 108, pp. 4009-4017)。

【0355】 聚(A)序列可為任何長度。有些實施例中，聚(A)序列包含、基本上其組成為、或其組成為至少 20、至少 30、至少 40、至少 80、或至少 100 個及高達 500、高達 400、高達 300、高達 200、或高達 150 個 A 核苷酸，及特定言之約 120 個 A 核苷酸。本文中，「基本上其組成為」意指聚(A)序列中大多數核苷酸，通常指聚(A)序列中至少 75%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、或至少 99%數量之核苷酸為 A 核苷酸，但容許其餘核苷酸為 A 核苷酸以外之核苷酸，如：U 核苷酸(尿苷酸)、G 核苷酸(鳥苷酸)、或 C 核苷酸(胞苷酸)。本文中「其組成為」意指聚(A)序列中所有核苷

酸，亦即聚(A)序列中 100%數量之核苷酸為 A 核苷酸。術語「A 核苷酸」或「A」係指腺苷酸。

【0356】 有些實施例中，聚(A)序列係在 RNA 轉錄期間，例如：在製備活體外轉錄之 RNA 期間，依據與編碼股互補之股中包含重覆 dT 核苷酸 (去氧胸苷酸)之 DNA 模板所附接。該編碼聚(A)序列之 DNA 序列(編碼股)稱為聚(A)基因匣。

【0357】 有些實施例中，出現在 DNA 編碼股上之聚(A)基因匣基本上其組成為 dA 核苷酸，但其間穿插四種核苷酸(dA、dC、dG、及 dT)之隨機序列。此等隨機序列之長度可為 5 至 50、10 至 30、或 10 至 20 個核苷酸。此等基因匣揭示於 WO 2016/005324 A1，其內容已以引用方式併入本文中。任何揭示於 WO 2016/005324 A1 之聚(A)基因匣均可用於本發明。所涵括之聚(A)基因匣基本上其組成為 dA 核苷酸，但其間穿插由四種核苷酸(dA、dC、dG、dT)平等分佈且長度為例如：5 至 50 個核苷酸之隨機序列，其在 DNA 階層，於大腸桿菌(*E. coli*)中顯示恆定之質體 DNA 繁殖，且在 RNA 階層仍與支持 RNA 穩定性及轉譯效率等態樣之有利性質相關。因此有些實施例中，包含在本文所說明 RNA 分子中之聚(A)序列基本上其組成為 A 核苷酸，但其間穿插四種核苷酸(A、C、G、U)之隨機序列。此等隨機序列之長度可為 5 至 50、10 至 30、或 10 至 20 個核苷酸。

【0358】 有些實施例中，沒有 A 核苷酸以外之核苷酸側接在聚(A)序列之 3'-端，亦即聚(A)序列未被遮蔽或其 3'-端之後沒有 A 以外之核苷酸。

【0359】 有些實施例中，聚(A)序列可包含至少 20、至少 30、至少 40、至少 80、或至少 100 個及高達 500、高達 400、高達 300、高達 200、或高達 150 個核苷酸。有些實施例中，聚(A)序列基本上可由至少 20、至少 30、至少 40、至少 80、或至少 100 個及高達 500、高達 400、高達 300、高達 200、或高達 150 個核苷酸組成。有些實施例中，聚(A)序列可由至少 20、至少 30、至少 40、至少 80、或至少 100 個及高達 500、高達 400、高達 300、高達 200、或高達 150 個核苷酸組成。有些實施例中，聚(A)序列包含至少 100 個核苷酸。有些實施例中，聚(A)序列包含約 150 個核苷酸。有些實施例中，聚(A)序列包含約 120 個核苷酸。

【0360】 有些實施例中，RNA 包含聚(A)序列，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10、或與核苷酸序列 SEQ ID NO：10 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性 之核苷酸序列。

【0361】 特別佳聚(A)序列包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【0362】 根據本揭示，結合劑較佳係呈單股、具有 5'-端帽之 mRNA 投藥，當進入接受投與該 RNA 之受試者之細胞中時，會轉譯成為個別蛋白質。較佳係 RNA 包含已在穩定性及轉譯效率方面經優化以達 RNA 之最高效力之結構元素(5'-端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)序列)。

【0363】 有些實施例中，利用 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$ 作為 RNA 5'-端之特異性端帽結構。有些實施例中，5'-UTR 序列係衍生自人類 α-珠蛋白 mRNA，且可視需要具有優化「Kozak 序列」，以提高轉譯效率。有些實施例中，由衍生自「酶切胺基端增強子(amino-terminal enhancer of split，AES) mRNA(稱為 F)及粒線體編碼之 12S 核糖體 RNA(稱為 I)之兩個序列元素(FI 元素)之組合置於編碼序列與聚(A)序列之間，以確保更高之最大蛋白質含量及延長 mRNA 之持續性。其等係利用離體選拔過程，判別賦與 RNA 穩定性及增加總蛋白質表現之序列(參見 WO 2017/060314，其內容已以引用方式併入本文中)。有些實施例中，採用量測長度為 110 個核苷酸之聚(A)序列，其組成為一段 30 個腺苷殘基，接著 10 個核苷酸連接子序列及另一段 70 個腺苷殘基。此聚(A)序列之設計在於加強 RNA 穩定性及轉譯效率。

【0364】 本發明所有態樣之有些實施例中，編碼結合劑之 RNA 係在接受治療之該受試者之細胞(例如：肝細胞)中表現，以提供結合劑。本發明所有態樣之有些實施例中，RNA 係在該受試者之細胞中過渡表現。本發明所有態樣之有些實施例中，RNA 為活體外轉錄之 RNA。本發明所有態樣之有些實施例中，結合劑係表現至胞外空間，亦即分泌結合劑。本發明所有態樣之有些實施例中，結合劑係表現至血流中。

【0365】 本發明內容中，術語「轉錄」係有關其中 DNA 序列中之遺傳密碼子轉錄成 RNA 之過程。隨後可由 RNA 轉譯成肽或蛋白質。

【0366】 根據本發明，術語「轉錄」包含「活體外轉錄」，其中術語「活體外轉錄」係有關其中在無細胞系統中，較佳係採用適當細胞抽出物，於活體

外合成 RNA，特定言之 mRNA 之過程。較佳係採用選殖載體來產生轉錄本。此等選殖載體通常稱為轉錄載體，且根據本發明涵括在術語「載體」內。根據本發明，本發明所採用之 RNA 較佳係活體外轉錄之 RNA (IVT-RNA)，且可能由適當 DNA 模板之活體外轉錄製得。控制轉錄之發動子可以為供任何 RNA 聚合酶之任何發動子。RNA 聚合酶之特定實例為 T7、T3、及 SP6 RNA 聚合酶。較佳係根據本發明活體外轉錄係由 T7 或 SP6 發動子控制。活體外轉錄之 DNA 模板可以由選殖核酸，特定言之 cDNA，並引至供活體外轉錄之適當載體中而製得。cDNA 可由 RNA 之反轉錄得到。

【0367】 在 RNA 方面，術語「表現」或「轉譯」係有關在細胞之核糖體中之過程，mRNA 的一股藉由該過程主導胺基酸之序列組裝成肽或蛋白質。

【0368】 有些實施例中，在投與(例如：靜脈內投與)本文所說明 RNA(例如：調配成 RNA 脂質顆粒)之後，至少一部份 RNA 遞送至標靶細胞(例如：肝細胞)中。有些實施例中，至少一部份 RNA 係遞送至標靶細胞之胞質液。有些實施例中，RNA 係由標靶細胞轉譯產生其所編碼之肽或蛋白質。因此，本發明亦有關一種遞送 RNA 至受試者之標靶細胞中之方法，其包括對該受試者投與本文所說明 RNA 顆粒。有些實施例中，RNA 係遞送至標靶細胞之胞質液。有些實施例中，RNA 係由標靶細胞轉譯產生由該 RNA 編碼之肽或蛋白質。

【0369】 「編碼」係指聚核苷酸(如：基因、cDNA、或 mRNA)中核苷酸之特定序列之固有性質，在具有指定核苷酸序列(亦即 rRNA、tRNA 及 mRNA)或指定胺基酸序列及其所造成生物性質之生物過程中，作為模板，供合成其他聚合物及大分子。因此若 mRNA 之轉錄及轉譯對應於基因在細胞或其他生物系統中產生蛋白質時，則該基因編碼蛋白質。編碼股與非編碼股二者均被提及於編碼蛋白質或該基因或 cDNA 之其他產物，其中編碼股之核苷酸序列係與 mRNA 序列一致且通常提供於序列表中，而非編碼股則作為供基因或 cDNA 轉錄之模板。

【0370】 有些實施例中，編碼計畫根據本發明投藥之結合劑之 RNA 為非免疫原性。

【0371】 本文所採用術語「非免疫原性 RNA」係指在投與例如：哺乳動物時不會誘發免疫系統反應之 RNA，或所誘發之反應比原本相同但差異僅在於

未曾為了對非免疫原性 RNA 賦與非免疫原性而進行修飾及處理之 RNA 所誘發之反應，亦即比標準 RNA (stdRNA)所誘發之反應更弱。一項較佳實施例中，非免疫原性 RNA，本文亦稱為經修飾 RNA(modRNA)係藉由引進壓制 RNA 所介導先天免疫受體活化之經修飾核苷至 RNA 內，並排除雙股 RNA(dsRNA)而賦與非免疫原性。

【0372】 藉由引入經修飾核苷而使非免疫原性 RNA 具有非免疫原性時，可使用任何經修飾核苷，只要其可降低或壓制 RNA 之免疫原性即可。特別佳為可壓制 RNA 所介導先天免疫受體活化之經修飾核苷。有些實施例中，經修飾核苷包含以包含經修飾核鹼基之核苷置換一或多個尿苷。有些實施例中，經修飾核鹼基為經修飾尿嘧啶。有些實施例中，包含經修飾核鹼基之核苷係選自下列各物組成之群中：3-甲基-尿苷(m^3U)、5-甲氧基-尿苷(mo^5U)、5-氮雜-尿苷、6-氮雜-尿苷、2-硫代-5-氮雜-尿苷、2-硫代-尿苷(s^2U)、4-硫代-尿苷(s^4U)、4-硫代-假尿苷、2-硫代-假尿苷、5-羥基-尿苷(ho^5U)、5-胺基烯丙基-尿苷、5-鹵代-尿苷(例如：5-碘-尿苷或5-溴-尿苷)、尿苷5-氧乙酸(cmo^5U)、尿苷5-氧乙酸甲酯($mcmo^5U$)、5-羧基甲基-尿苷(cm^5U)、1-羧基甲基-假尿苷、5-羧基羥基甲基-尿苷(chm^5U)、5-羧基羥基甲基-尿苷甲酯($mchm^5U$)、5-甲氧基羰基甲基-尿苷(mcm^5U)、5-甲氧基羰基甲基-2-硫代-尿苷(mcm^5s^2U)、5-胺基甲基-2-硫代-尿苷(nm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-尿苷(mnm^5U)、1-乙基-假尿苷、5-甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷(mnm^5s^2U)、5-甲基胺基甲基-2-硒基-尿苷(mnm^5se^2U)、5-胺甲醯基甲基-尿苷(ncm^5U)、5-羧基甲基胺基甲基-尿苷($cmnm^5U$)、5-羧基甲基胺基甲基-2-硫代-尿苷($cmnm^5s^2U$)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-尿苷(τm^5U)、1-牛磺酸基甲基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-2-硫代-尿苷(τm5s2U)、1-牛磺酸基甲基-4-硫代-假尿苷)、5-甲基-2-硫代-尿苷(m^5s^2U)、1-甲基-4-硫代-假尿苷($m^1s^4\psi$)、4-硫代-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷($m^3\psi$)、2-硫代-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、2-硫代-1-甲基-1-去氮雜-假尿苷、二氫尿苷(D)、二氫假尿苷、5,6-二氫尿苷、5-甲基-二氫尿苷(m^5D)、2-硫代-二氫尿苷、2-硫代-二氫假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫代-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧基丙基)尿苷(acp^3U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧基丙基)假尿苷($acp^3\psi$)、5-(異戊烯基胺基甲基)尿苷(inm^5U)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2-硫代-尿苷

(inm^{5}s^{2}U)、α-硫代-尿苷、2′-O-甲基-尿苷(Um)、5,2′-O-二甲基-尿苷(m^{5}Um)、2′-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫代-2′-O-甲基-尿苷(s^{2}Um)、5-甲氧基羰基甲基-2′-O-甲基-尿苷(mcm^{5}Um)、5-胺甲醯基甲基-2′-O-甲基-尿苷(ncm^{5}Um)、5-羧基甲基胺基甲基-2′-O-甲基-尿苷(cmnm^{5}Um)、3,2′-O-二甲基-尿苷(m^{3}Um)、5-(異戊烯基胺基甲基)-2′-O-甲基-尿苷(inm^{5}Um)、1-硫代-尿苷、去氧胸苷、2′-F-ara-尿苷、2′-F-尿苷、2′-OH-ara-尿苷、5-(2-甲氧羰基乙烯基) 尿苷，及 5-[3-(1-E-丙烯基胺基)尿苷。一項特別佳實施例中，包含經修飾核鹼基之核苷為假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)或 5-甲基-尿苷(m5U)，特定言之 N1-甲基-假尿苷。

【0373】 有些實施例中，以包含經修飾核鹼基之核苷置換一或多個尿苷包含置換至少 1%、至少 2%、至少 3%、至少 4%、至少 5%、至少 10%、至少 25%、至少 50%、至少 75%、至少 90%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%或 100%之尿苷。

【0374】 藉由活體外轉錄(IVT)，例如：使用 T7 RNA 聚合酶合成 mRNA 期間，由於該酵素非常規的活性，會產生顯著量之異常產物，包括雙股 RNA (dsRNA)。dsRNA 會誘發發炎細胞激素，並激活效應子酵素，造成抑制蛋白質合成。可以例如：藉由離子對逆相 HPLC，使用非多孔性或多孔性 C-18 聚苯乙烯-二乙烯基苯(PS-DVB)基質，從 RNA(如：IVT RNA)排除 dsRNA。或者，可以採用基於酵素的方法，使用特異性水解 dsRNA，但不水解 ssRNA 之大腸桿菌(E. coli)之 RNaseIII，藉以消除 IVT RNA 製劑中之 dsRNA 雜質。此外，可以採用纖維素材料從 ssRNA 中分離 dsRNA。有些實施例中，由 RNA 製劑與纖維素材料接觸，在可以讓 dsRNA 與纖維素材料結合但不讓 ssRNA 與纖維素材料結合之條件下，從纖維素材料中分離 ssRNA。

【0375】 本文所採用術語「排除」或「移除」係指從第二物質族群(如：dsRNA)的附近分離第一物質族群(如：非免疫原性 RNA)的特徵，其中第一物質族群不一定不含第二物質，及第二物質族群不一定不含第一物質。然而，相較於未分離的第一與第二物質之混合物，特徵在於排除第二物質族群之第一物質族群仍具有可量測的較低量第二物質。

【0376】 有些實施例中，從非免疫原性 RNA 中排除 dsRNA 包括排除 dsRNA，因此使非免疫原性 RNA 組成物中低於 10%、低於 5%、低於 4%、低於

3%、低於 2%、低於 1%、低於 0.5%、低於 0.3%、低於 0.1%、或低於 0.01%之 RNA 為 dsRNA。有些實施例中，非免疫原性 RNA 不含或基本上不含 dsRNA。有些實施例中，非免疫原性 RNA 組成物包含單股核苷經修飾 RNA 之純化製劑。例如：有些實施例中，單股核苷經修飾 RNA 之純化製劑實質上不含雙股 RNA (dsRNA)。有些實施例中，相對於所有其他核酸分子(DNA、dsRNA，等等)，該純化製劑為至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93 %、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、至少 99.5%、或至少 99.9%單股核苷經修飾 RNA。

【0377】 有些實施例中，非免疫原性 RNA 在細胞中之轉譯比具有相同序列之標準 RNA 更有效率。有些實施例中，該轉譯比其未修飾之對照物加強 2 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 3 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 4 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 5 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 6 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 7 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 8 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 9 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 10 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 15 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 20 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 50 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 100 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 200 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 500 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 1,000 倍因數。有些實施例中，該轉譯加強 2,000 倍因數。有些實施例中，該因數為 10-1,000 倍。有些實施例中，該因數為 10-100 倍。有些實施例中，該因數為 10-200 倍。有些實施例中，該因數為 10-300 倍。有些實施例中，該因數為 10-500 倍。有些實施例中，該因數為 20-1,000 倍。有些實施例中，該因數為 30-1,000 倍。有些實施例中，該因數為 50-1,000 倍。有些實施例中，該因數為 100-1,000 倍。有些實施例中，該因數為 200-1,000 倍。有些實施例中，該轉譯係加強任何其他顯著量或範圍內的量。

【0378】 有些實施例中，非免疫原性 RNA 具有之先天免疫原性顯著低於具有相同序列之標準 RNA。有些實施例中，非免疫原性 RNA 具有之先天免疫反應比其未修飾之對照物低 2 倍。有些實施例中，先天免疫原性下降 3 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 4 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 5 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 6 倍因數。有些實施例中，先天

免疫原性下降 7 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 8 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 9 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 10 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 15 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 20 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 50 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 100 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 200 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 500 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 1,000 倍因數。有些實施例中，先天免疫原性下降 2,000 倍因數。

【0379】 術語「具有顯著較低先天免疫原性」係指可檢測到下降之先天免疫原性。有些實施例中，該術語係指下降的程度可以讓非免疫原性 RNA 依有效量投藥，不會引發可檢測到之先天免疫反應。有些實施例中，該術語係指下降的程度可以讓非免疫原性 RNA 重覆投藥，不會引發足以檢測到降低由非免疫原性 RNA 編碼之蛋白質產量之先天免疫反應。有些實施例中，下降的程度可以讓非免疫原性 RNA 重覆投藥，不會引發足以消除由非免疫原性 RNA 編碼之蛋白質可檢測產量之先天免疫反應。

【0380】 「免疫原性」為外來物質(如：RNA)在人體或其他動物體中激發免疫反應的能力。先天免疫系統為免疫系統的組份，其為相當無特異性且為立即性。其係脊椎動物免疫系統連同後天免疫系統的兩種主要組份之一。

【0381】 本文所採用「內因性」係指任何來自生物體、細胞、組織、或系統或在其等內部產生之材料。

【0382】 本文所採用術語「外因性」係指任何從生物體、細胞、組織、或系統外部引進或在其等外部產生之材料。

【0383】 本文所採用術語「表現」之定義為特定核苷酸序列之轉錄及/或轉譯。

【0384】 本文所採用術語「連接」、「融合(fused 或 fusion)」可以交換使用。此等術語係指共同接連兩個或更多個元素或組份或結構域。

密碼子優化/ 增加 G/C 含量

【0385】 有些實施例中，本文所說明結合劑之胺基酸序列係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼。其亦包

括之實施例係其中該編碼序列之一或多個序列區為經密碼子優化及/或其 G/C 含量相較於野生型編碼序列之對應序列區增加。有些實施例中，密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【0386】 術語「密碼子優化」係指核酸分子之編碼區中密碼子之改變，在較佳不會改變核酸分子所編碼之胺基酸序列下，反映宿主生物體之典型密碼子用法。在本發明內容中，編碼區較佳係密碼子優化，以供在接受本文所說明 RNA 分子治療之受試者中達最佳表現。密碼子優化係基於發現該轉譯效率亦由細胞中 tRNA 出現的不同頻率來決定。因此，RNA 序列可以經過修飾，以便利用該經常出現之 tRNA 之密碼子替代「罕見密碼子」進行嵌插。

【0387】 本發明有些實施例中，本文所說明 RNA 中編碼區之鳥苷/胞苷(G/C)含量比野生型 RNA 中對應編碼序列之 G/C 含量增加，其中相較於由野生型 RNA 編碼之胺基酸序列，由 RNA 編碼之胺基酸序列較佳係未經修飾。RNA 序列之修飾所依據之事實係所要轉譯之任何 RNA 區之序列對該 mRNA 之有效轉譯很重要。具有增加之 G(鳥苷)/C(胞苷)含量之序列比具有增加 A (腺苷)/U(尿嘧啶)含量之序列更穩定。當有數個密碼子編碼一個且相同之胺基酸(所謂遺傳密碼子之簡併)時，可以決定對穩定性最有利之密碼子(所謂選擇性密碼子使用度(alternative codon usage))。依 RNA 編碼之胺基酸而定，RNA 序列之修飾相較於其野生型序列有各種不同可能性。特定言之，包含 A 及/或 U 核苷酸之密碼子可藉由此等密碼子被編碼相同胺基酸但不包含 A 及/或 U 或包含較少量 A 及/或 U 核苷酸之其他密碼子取代，來進行修飾。

【0388】 在各種不同實施例中，本文所說明 RNA 中編碼區之 G/C 量相較於野生型 RNA 中編碼區之 G/C 含量增加至少 10%、至少 20%、至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少 55%、或甚至更高。

含核酸顆粒

【0389】 本文所說明核酸(如：編碼結合劑之 RNA)可調配成顆粒投藥。

【0390】 本揭示內容中，術語「顆粒」係有關一種由分子或分子複合物形成之結構實體。

【0391】 有些實施例中，本文所說明顆粒為奈米顆粒。術語「奈米顆粒」係有關一種奈米大小之顆粒，其中顆粒的所有三個外維度均為奈米規格，亦即至少約 1 nm 及低於約 1,000 nm。顆粒尺寸較佳係指其直徑。

【0392】 有些實施例中，核酸顆粒包含超過一種核酸分子型態，其中核酸分子之分子參數可能彼此相似或不同，諸如：莫耳質量或基礎結構性元素，如：分子構造、端帽、編碼區、或其他特色。

【0393】 在包含 RNA(例如：第一 RNA 及第二 RNA)之特定調配物中，每一個 RNA 物種均可能分開調配成個別顆粒調配物。此例中，每一個別顆粒調配物將會包含一種 RNA 物種。該個別顆粒調配物可能呈分開實體，例如：含在分開容器中。此等調配物由每一個 RNA 物種分開(通常為分別呈含 RNA 之溶液形式)連同顆粒形成劑一起提供，藉以形成顆粒而製得。當形成顆粒(個別顆粒調配物)時，各顆粒將僅包含所提供之特定 RNA 物種。有些實施例中，組成物(如：醫藥組成物)包含超過一種個別顆粒調配物。各醫藥組成物稱為混合顆粒調配物。根據本發明混合顆粒調配物係分開形成個別顆粒調配物，然後經過混合個別顆粒調配物之步驟製得。藉由混合步驟，可得到包含含有 RNA 顆粒之混合族群。個別顆粒族群可能共同含在一個容器中，其包含個別顆粒調配物之混合族群。或者，醫藥組成物之所有 RNA 物種可能共同調配成組合顆粒調配物。此等調配物可由所有 RNA 物種連同顆粒形成劑一起之組合調配物(通常為組合之溶液)提供，藉以形成顆粒而製得。與混合顆粒調配物相反，組合之顆粒調配物通常包含之顆粒包含超過一種 RNA 物種。組合之顆粒組成物中，不同 RNA 物種通常共同含在單一顆粒中。

【0394】 「核酸顆粒」可用於遞送核酸至所關注標靶位點(例如：細胞、組織、器官，等等)。核酸顆粒可能由核酸及至少一種形成顆粒之組份(例如：至少一種陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料、至少一種陽離子性聚合物(如：精蛋白)、或其混合物)形成。顆粒之形成會涉及帶正電荷之分子(如：聚合物及脂質)與帶負電荷之核酸之間之靜電交互作用。結果造成複合及自發形成核酸顆粒。在不受任何理論的限制下，咸信陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料及/或陽離子性聚合物會與核酸共同組合形成凝集物，並凝集成

膠體性安定之顆粒。核酸顆粒包括基於脂質奈米顆粒(LNP)及基於脂質複合物(lipoplex)(LPX)之調配物。

【0395】 本文所採用術語「膠體」係有關一種均質性混合，其中分散之顆粒不會沉降。混合物中之不可溶顆粒為微觀性，顆粒大小在1與1,000奈米之間。混合物可稱為膠體或膠體懸浮液。有時候，術語「膠體」僅指混合物中之顆粒，而非整個懸浮液。

【0396】 有些實施例中，本文所說明顆粒進一步包含至少一種陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料以外之脂質或脂質樣材料、至少一種陽離子性聚合物以外之聚合物、或其混合物。

【0397】 有些實施例中，本文所說明核酸顆粒之平均直徑範圍為30 nm至約1,000 nm、約50 nm至約800 nm、約70 nm至約600 nm、約90 nm至約400 nm、或約100 nm至約300 nm。

【0398】 術語「平均直徑」係指顆粒之平均流體動力學直徑，係由動態雷射光散射法(DLS)量測，採用所謂累進演算法分析數據，其提供所謂$Z_{平均}$之長度維度，及多分散性指數(PI)，其係無因次(Koppel, D., J. Chem. Phys. 57, 1972, pp 4814-4820, ISO 13321)。此時，顆粒之「平均直徑」、「直徑」或「尺寸大小」均為$Z_{平均}$之數值為同義字。

【0399】 本文所說明核酸顆粒可能具有低於約0.5、低於約0.4、低於約0.3、或約0.2或更低之多分散性指數。例如：核酸顆粒可能具有在約0.1至約0.3或約0.2至約0.3範圍內之多分散性指數。

【0400】 「多分散性指數」較佳係依據動態光散射量測法，採用「平均直徑」定義中述及之所謂累進分析法計算。在某些前提下，其可視為整體奈米顆粒粒度分佈之量測值。

【0401】 N/P比值為脂質中氮基團對核酸(例如：RNA)中磷酸根基團之比值。其與電荷比呈相關性，因為氮原子(依pH而定)通常帶正電荷，而磷酸根基團帶負電荷。若出現電荷平衡時，N/P比值會隨pH而定。當N/P比值高於4至達12時，經常會形成脂質調配物，因為帶正電荷奈米顆粒被視為有利於轉染。此時，RNA被視為與奈米顆粒完全結合。

【0402】 過去曾說明不同型式之含核酸顆粒適用於遞送呈顆粒型式之核酸(例如：Kaczmarek, J. C.等人，2017, Genome Medicine 9, 60)。以遞送非病毒核酸之媒劑而言，以奈米顆粒囊封核酸可以物理性保護核酸免於降解，且依特定化學而定，有助於細胞吸收及逃脫核內體。

【0403】 本揭示說明之顆粒包含核酸、至少一種陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料、及/或至少一種陽離子性聚合物，其與核酸聯結形成核酸顆粒，及說明包含此等顆粒之組成物。核酸顆粒可包含藉由與顆粒之非共價交互作用而複合成不同型式之核酸。本文所說明顆粒不為病毒顆粒，特定言之感染性病毒顆粒，亦即其等無法以病毒方式感染細胞。

【0404】 合適之陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料及陽離子性聚合物為彼等會形成核酸顆粒者，且包括在術語「形成顆粒之組份」或「顆粒形成劑」中。術語「形成顆粒之組份」或「顆粒形成劑」係指與核酸形成核酸顆粒相關之任何組份。此等組份包括任何可以成為核酸顆粒之一部份之組份。

陽離子性聚合物

【0405】 由於聚合物具有高度化學可撓性，因此常用為基於奈米顆粒遞送之材料。通常，採用陽離子性聚合物以靜電方式讓帶負電荷核酸凝縮成奈米顆粒。此等帶正電荷基團經常由胺組成，其在 pH 5.5 至 7.5 之範圍內會改變其等質子化狀態，被認為會造成離子不平衡，造成核內體破裂。聚合物(如：聚-L-離胺酸、聚醯胺基胺、精蛋白與聚伸乙基亞胺)，及天然發生聚合物(如：殼聚糖)已應用於遞送核酸，且適合作為本文之陽離子性聚合物。此外，有些研究者已合成特別用於遞送核酸之聚合物。特定言之，聚(β-胺基酯)已廣泛用於遞送核酸，因為其等容易合成及生物可降解性。此等合成聚合物亦適合作為本文之陽離子性聚合物。

【0406】 本文所採用「聚合物」係指其一般定義，亦即包含一或多個重覆單位(單體)利用共價鍵連結之分子結構式。重覆單位可以全部相同，或有些例子中，聚合物中有超過一種型態之重覆單位。有些例子中，聚合物為生物衍生，

亦即生物聚合物(如：蛋白質)。有些例子中，聚合物中可存在額外部份體，例如：靶向部份體(如：彼等如本文說明者)。

【0407】 若聚合物中存在超過一種型態之重覆單位，則該聚合物稱為「共聚物」。咸了解，本文所採用聚合物可為共聚物。形成共聚物之重覆單位可依任何方式排列。例如：重覆單位可依隨機順序、交替順序排列、或呈「嵌段」共聚物，亦即包含一或多個分別包含第一重覆單位(例如：第一嵌段)的區，及一或多個分別包含第二重覆單位(例如：第二嵌段)的區，依此類推。嵌段共聚物具有兩個(二嵌段共聚物)、三個(三嵌段共聚物)、或更多數量的獨立嵌段。

【0408】 有些實施例中，聚合物為生物相容性。生物相容性聚合物為通常在適度濃度下不會造成顯著細胞死亡之聚合物。有些實施例中，生物相容性聚合物為生物可降解，亦即聚合物可以在生理環境(如：身體內)條件下，經化學及/或生物性降解。

【0409】 有些實施例中，聚合物可為精蛋白或聚伸烷基亞胺，特定言之精蛋白。

【0410】 術語「精蛋白」係指相當低分子量之任何各種不同強鹼性蛋白質，其富含精胺酸，且已發現尤其與置換各種不同動物(如：魚)之精細胞中體組織蛋白之 DNA 相關。特定言之，術語「精蛋白」係指出現在魚的精子中之蛋白質，其為強鹼性、可溶於水、不會受熱凝結、及水解時主要產生精胺酸。其等以純化型式用於長效性胰島素調配物中，並中和肝素之抗凝血效應。

【0411】 根據本揭示，本文所採用術語「精蛋白」意指包含得自或衍生自天然或生物來源之任何精蛋白胺基酸序列，包括其片段及該胺基酸序列或其片段之多聚體型，及針對特定目的人造及特別設計且無法從天然或生物來源單離之(合成)多肽。

【0412】 有些實施例中，聚伸烷基亞胺包含聚伸乙基亞胺及/或聚伸丙基亞胺，較佳係聚伸乙基亞胺。較佳聚伸烷基亞胺為聚伸乙基亞胺(PEI)。PEI 之平均分子量較佳係 $0.75 \cdot 10^2$ 至 10^7 Da，較佳係 1,000 至 10^5 D，更較佳係 10,000 至 40,000 Da，更佳係 15,000 至 30,000 Da，甚至更佳係 20,000 至 25,000 Da。

【0413】 根據本揭示較佳係線性聚伸烷基亞胺(如：線性聚伸乙基亞胺(PEI))。

【0414】 本文考慮使用之陽離子性聚合物(包括聚陽離子性聚合物)包括可以靜電結合核酸之任何陽離子性聚合物。有些實施例中，本文考慮使用之陽離子性聚合物包括任何可與核酸聯結之陽離子性聚合物，例如：藉由與核酸形成複合物，或形成讓核酸囊封或包埋在其中之囊泡。

【0415】 本文所說明顆粒亦可包含陽離子性聚合物以外之聚合物，亦即非陽離子性聚合物及/或陰離子性聚合物。總言之，陰離子性及中性聚合物在本文中均稱為非陽離子性聚合物。

脂質及脂質樣材料

【0416】 術語「脂質」及「脂質樣材料」在本文中已廣泛定義為包含一或多個疏水性部份體或基團且可視需要亦包含一或多個親水性部份體或基團之分子。包含疏水性部份體及親水性部份體之分子亦經常稱為兩親性物。脂質通常難溶於水。在水性環境中，兩親性之性質可以讓分子自我組裝成有組織的結構及不同相。其中一相係由脂質雙層組成，因為其於水性環境中呈囊泡、多層/單層脂質體、或膜存在。疏水性可來自所包含之非極性基團，其包括(但不限於)：長鏈飽和及不飽和脂系烴基，且此等基團經一或多個芳香系、環脂系、或雜環系基團取代。親水性基團可包含極性及/或帶電荷基團，且包括碳水化合物、磷酸根、羧酸根、硫酸根、胺基、氫硫基、硝基、羥基、及其他類似基團。

【0417】 本文所採用術語「兩親性」係指同時具有極性部份及非極性部份之分子。兩親性化合物經常具有極性頭附接至長的疏水性尾。有些實施例中，極性部份可溶於水，而非極性部份不可溶於水。此外，極性部份可能具有形式正電荷或形式負電荷。或者，極性部份可同時具有形式正電荷及負電荷，且為兩性離子或內鹽。為了本揭示之目的，兩親性化合物可為(但不限於)：一種或複數種天然或非天然脂質及脂質樣化合物。

【0418】 術語「脂質樣材料」、「脂質樣化合物」或「脂質樣分子」係有關一種結構及/或功能上與脂質相關，但嚴格來說可能不被視為脂質之物質，特定言之兩親性物質。例如：該術語包括可以形成兩親性層之化合物，因為其等在水性環境中呈囊泡、多層/單層脂質體、或膜存在，且包括界面活性劑、或同時具有親水性及疏水性部份體之合成化合物。一般而言，該術語係指包含具

有不同結構組織之親水性及疏水性部份體之分子，其等可能類似或不類似脂質。可以自發性整合進入細胞膜中之脂質樣化合物包括功能性脂質構築體，如：合成性功能-間隔子-脂質構築體(FSL)、合成性功能-間隔子-固醇構築體(FSS)，及人造兩親性分子。脂質通常為圓柱形。兩個烷基鏈佔據的面積類似由極性頭基佔據的面積。脂質具有如同單體之低溶解性，傾向於凝集成水不可溶之平面雙層。傳統界面活性劑單體通常呈圓錐形。親水性頭基傾向於比線性烷基鏈佔據更大的分子空間。界面活性劑傾向於凝集至水可溶之球狀或橢球體膠束中。雖然脂質亦具有與界面活性劑相同之通式結構：-極性親水性頭基及非極性疏水性尾-，但脂質與界面活性劑之差異在於單體形狀、於溶液中形成之凝集物型態、及凝集所需之濃度範圍。本文所採用術語「脂質」亦構成涵括脂質及脂質樣材料二者，除非本文另有其他說明或顯然與本內容矛盾。

【0419】 可包括在兩親性層中之兩親性化合物之明確實例包括(但不限於)：磷脂、胺基脂質及神經鞘脂質。

【0420】 有些實施例中，兩親性化合物為脂質。術語「脂質」係指一群特徵在於不可溶於水，但可溶於許多種有機溶劑中之有機化合物。通常，脂質可以分成八類：脂肪酸、甘油基脂質、甘油基磷脂、神經鞘脂質、醣脂質、聚酮(衍生自酮基醯基子單位之縮合)、固醇脂質及孕烯醇酮脂質(衍生自異戊二烯子單位之縮合)。雖然術語「脂質」有時候用為脂肪的同義字，但脂肪為稱為三酸甘油酯之脂質子群。脂質亦涵括分子，如：脂肪酸及其等衍生物(包括三酸-、二酸-、單酸甘油酯，及磷脂)，及含固醇之代謝物(如：膽固醇)。

【0421】 脂肪酸或脂肪酸殘基為由末端具有羧酸根之烴鏈構成之多種不同分子群；此排列賦與分子具有極性之親水性端，及不可溶於水之非極性之疏水性端。通常具有 4 至 24 個碳之間長度之碳鏈可能為飽和或不飽和，且可能附接含氧、鹵素、氮、及硫之官能基。若脂肪酸包含雙鍵，則可能出現顯著影響分子組態之順式或反式幾何異構性。順式雙鍵造成脂肪酸鏈彎曲，其係與鏈中更多雙鍵化合的效應。脂肪酸類別中其他主要脂質類為脂肪酯類及脂肪醯胺類。

【0422】 甘油基脂質係由經單-、二-、及三-取代之甘油構成，最常見者為甘油之脂肪酸三酯，稱為三酸甘油酯。用語「三醯基甘油」有時候用為「三酸

甘油酯」之同義字。此等化合物中，甘油之三個羥基分別酯化，通常被不同脂肪酸酯化。其他甘油基脂質子類係由醣苷基甘油代表，其特徵在於存在一或多個糖殘基利用醣苷鏈結附接甘油。

【0423】 甘油基磷脂為兩親性分子(同時包含疏水區及親水區)，其包含甘油核心利用酯鏈結連接兩個脂肪酸衍生之「尾」基及利用磷酸酯鏈結連接一個「頭」基。甘油基磷脂通常稱為磷脂(但神經鞘磷脂亦歸類於磷脂)為磷脂醯基膽鹼(亦稱為 PC、GPCho 或卵磷脂)、磷脂醯基乙醇胺(PE 或 GPEtn)及磷脂醯基絲胺酸(PS 或 GPSer)。

【0424】 神經鞘脂質為具有鞘胺醇鹼主幹共通結構之化合物複合家族。哺乳動物中之主要鞘胺醇鹼通常稱為神經鞘胺醇。神經醯胺(N-醯基-鞘胺醇鹼)為具有醯胺連接脂肪酸之鞘胺醇鹼衍生物之主要子類。脂肪酸通常為飽和或單不飽和之長度 16 至 26 個碳原子之鏈。哺乳動物之主要磷酸神經鞘脂質為神經鞘磷脂(神經醯胺磷酸膽鹼)，其中昆蟲主要包含神經醯胺磷酸乙醇胺，及真菌具有植物性神經醯胺磷酸肌醇及含甘露糖之頭基。醣神經鞘脂質為不同的分子家族，其係由一或多個糖殘基利用糖苷鍵連接鞘胺醇鹼所構成。其等實例為單純及複合之醣神經鞘脂質，如：腦苷脂及神經節苷脂。

【0425】 固醇脂質，如：膽固醇及其衍生物，或生育酚及其衍生物，為膜脂質及甘油基磷脂與神經鞘磷脂之重要組份。

【0426】 醣脂質所說明之化合物係指其中脂肪酸直接連接糖主幹，形成可與膜雙層相容之結構。醣脂質中，由單糖取代甘油基脂質及甘油基磷脂中之甘油主幹。最常見之醣脂質為格蘭(Gram)-陰性細菌中脂多醣之脂質 A 組份之醯基化葡糖胺前體。典型脂質 A 分子為葡糖胺之雙糖，其經過多達 7 個脂肪醯基鏈衍化。大腸桿菌(E. coli)生長時所需之最基本脂多醣為 Kdo2-脂質 A，係經過兩個 3-去氧-D-甘露-辛酮糖酸(Kdo)殘基進行糖基化之葡糖胺之六醯基化雙糖。

【0427】 聚酮係由乙醯基及丙醯基子單位藉由傳統酵素及與脂肪酸合成酶具有共通機轉特色之疊代與多模式酵素進行聚合而合成。其等包含來自動物、植物、細菌、真菌、及海洋來源之大量二次代謝物及天然產物，且具有很大的結構多樣性。許多聚酮為環狀分子，其主幹經常經過糖基化、甲基化、羥基化、氧化、或其他過程進一步修飾。

【0428】 根據本揭示，脂質與脂質樣材料可為陽離子性、陰離子性、或中性。中性脂質或脂質樣材料在選定 pH 下會呈無電荷或中性兩性離子型。

陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料

【0429】 本文所說明核酸顆粒可包含至少一種陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料作為顆粒形成劑。本文考慮使用之陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料包括任何可以靜電結合核酸之陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料。有些實施例中，本文考慮使用之陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料可與核酸聯結，例如：藉由與核酸形成複合物或形成其中已囊封或包埋核酸之囊泡。

【0430】 本文所採用「陽離子性脂質」或「陽離子性脂質樣材料」係指具有淨正電荷之脂質或脂質樣材料。陽離子性脂質或脂質樣材料利用靜電交互作用結合帶負電荷核酸。通常，陽離子性脂質具有親脂性部份體，如：固醇、醯基鏈、二醯基鏈或更多醯基鏈，及通常帶正電荷之脂質頭基。

【0431】 有些實施例中，陽離子性脂質或脂質樣材料僅在某些 pH，特定言之酸性 pH 下才具有淨正電荷，而其在不同 pH，較佳在較高 pH(如：生理 pH)下較佳係沒有淨正電荷，較佳係沒有電荷，亦即其為中性。此可離子化行為被認為可以透過協助逃脫核內體及降低毒性而比在生理 pH 下仍保留陽離子性之顆粒更加強效力。

【0432】 為了本發明之目的，此等「可陽離子性離子化」脂質或脂質樣材料包括在術語「陽離子性脂質或脂質樣材料」中，除非與該環境矛盾。

【0433】 有些實施例中，陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料包含頭基，其包括至少一個帶正電荷或可以質子化之氮原子(N)。

【0434】 陽離子性脂質實例包括(但不限於)：1,2-二油醯基-3-三甲基銨丙烷(DOTAP)；N,N-二甲基-2,3-二油基氧丙基胺 (DODMA)、1,2-二-O-十八碳烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)、3-(N—(N′,N′-二甲基胺基乙烷)-胺甲醯基)膽固醇(DC-Chol)、二甲基二-十八烷基銨(DDAB)；1,2-二油醯基-3-二甲基銨-丙烷(DODAP)；1,2-二醯基氧-3-二甲基銨丙烷；1,2-二烷基氧-3-二甲基銨丙烷；二-十八烷基二甲基銨氯化物(DODAC)、1,2-二硬脂基氧-N,N-二甲基-3-胺基丙烷

(DSDMA)、2,3-二(十四烷氧基)丙基-(2-羥基乙基)-二甲基銨(DMRIE)、1,2-二豆蔻醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼 (DMEPC)、1,2-二豆蔻醯基-3-三甲基銨丙烷(DMTAP)、1,2-二油基氧丙基-3-二甲基-羥基乙基銨化溴(DORIE)、及 2,3-二油醯基氧- N-[2(精胺甲醯胺)乙基]-N,N-二甲基-l-丙銨三氟乙酸鹽(DOSPA)、1,2-二亞麻基氧-N,N-二甲基胺基丙烷(DLinDMA)、1,2-二次亞麻基氧-N,N-二甲基胺基丙烷(DLenDMA)、二-十八烷基醯胺基甘油基精胺(DOGS)、3-二甲基胺基-2-(膽固-5-烯-3-β-氧丁烷-4-氧)-1-(cis,cis-9,12-十八碳二烯氧)丙烷(CLinDMA)、2-[5′-(膽固-5-烯-3-β-氧)-3′-氧雜戊氧基)-3-二甲基-1-(cis,cis-9′,12′-十八碳二烯氧)丙烷(CpLinDMA)、N,N-二甲基-3,4-二油基氧苯甲基胺(DMOBA)、1,2-N,N′-二油基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DOcarbDAP)、2,3-二亞麻醯基氧-N,N-二甲基丙基胺(DLinDAP)、1,2-N,N′-二亞麻基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLincarbDAP)、1,2-二亞麻醯基胺甲醯基-3-二甲基胺基丙烷(DLinCDAP)、2,2-二亞麻基-4-二甲基胺基甲基-[1,3]-二氧雜環戊烷(DLin-K-DMA)、2,2-二亞麻基-4-二甲基胺基乙基-[1,3]-二氧雜環戊烷(DLin-K-XTC2-DMA)、2,2-二亞麻基-4-(2-二甲基胺基乙基)-[1,3]-二氧雜環戊烷(DLin-KC2-DMA)、三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-基-4-(二甲基胺基)丁酸酯(DLin-MC3-DMA)、N-(2-羥基乙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四烷基氧)-1-丙銨化溴(DMRIE)、(±)-N-(3-胺基丙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(cis-9-十四碳烯基氧)-1-丙銨化溴(GAP-DMORIE)、(±)-N-(3-胺基丙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十二烷基氧)-1-丙銨化溴(GAP-DLRIE)、(±)-N-(3-胺基丙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四烷基氧)-1-丙銨化溴(GAP-DMRIE)、N-(2-胺基乙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四烷基氧)-1-丙銨化溴(βAE-DMRIE)、N-(4-羧基苯甲基)-N,N-二甲基-2,3-雙(油醯基氧)丙烷-1-銨(DOBAQ)、2-({8-[(3β)-膽固-5-烯-3-基氧]辛基}氧)-N,N-二甲基-3-[(9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯-1-基氧]丙烷-1-胺(Octyl-CLinDMA)、1,2-二豆蔻醯基-3-二甲基銨-丙烷(DMDAP)、1,2-二棕櫚醯基-3-二甲基銨-丙烷(DPDAP)、N1-[2-((1S)-1-[(3-胺基丙基)胺基]-4-[二(3-胺基-丙基)胺基]丁基甲醯胺基)乙基]-3,4-二[油基氧]-苯甲醯胺(MVL5)、1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-乙基磷酸膽鹼(DOEPC)、2,3-雙(十二烷基氧)-N-(2-羥基乙基)-N,N-二甲基丙烷-1-銨化溴(DLRIE)、N-(2-胺基乙基)-N,N-二甲基-2,3-雙(十四烷基氧)丙烷-1-銨化溴(DMORIE)、二((Z)-壬-2-烯-1-基) 8,8'-((((2(二甲基胺基)乙基)硫)羰基)氮烷二基)

二辛酸酯(ATX)、N,N-二甲基-2,3-雙(十二烷基氧)丙烷-1-胺 (DLDMA)、N,N-二甲基-2,3-雙(十四烷基氧)丙烷-1-胺 (DMDMA)、二((Z)-壬-2-烯-1-基)-9-((4-(二甲基胺基丁醯基)氧)十七碳二酸酯(L319)、N-十二烷基-3-((2-十二烷基胺甲醯基-乙基)-{2-[(2-十二烷基胺甲醯基-乙基)-2-{(2-十二烷基胺甲醯基-乙基)-[2-(2-十二烷基胺甲醯基-乙基胺基)-乙基]-胺基}-乙基胺基)丙醯胺(類脂質 98N_{12}-5)、1-[2-[雙(2-羥基十二烷基)胺基]乙基-[2-[4-[2-[雙(2 羥基十二烷基)胺基]乙基]哌啡-1-基]乙基]胺基]十二烷-2-醇(類脂質 C12-200)。

【0435】 有些實施例中，陽離子性脂質可佔顆粒中總脂質之約 10 mol %至約 100 mol %、約 20 mol %至約 100 mol %、約 30 mol %至約 100 mol %、約 40 mol %至約 100 mol %、或約 50 mol %至約 100 mol %。

額外脂質或脂質樣材料

【0436】 本文所說明顆粒亦可包含陽離子性或可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料以外之脂質或脂質樣材料，亦即非陽離子性脂質或脂質樣材料(包括非可陽離子性離子化脂質或脂質樣材料)。總言之，陰離子性與中性脂質或脂質樣材料在本文中稱為非陽離子性脂質或脂質樣材料。除了可離子化/陽離子性脂質或脂質樣材料外，可藉由添加其他疏水性部份體，如：膽固醇及脂質，加強顆粒穩定性及核酸遞送效率，來優化核酸顆粒之調配物。

【0437】 可以包含可能會或可能不會影響核酸顆粒整體電荷之額外脂質或脂質樣材料。有些實施例中，額外脂質或脂質樣材料為非陽離子性脂質或脂質樣材料。非陽離子性脂質可能包含例如：一或多種陰離子性脂質及/或中性脂質。本文所採用「陰離子性脂質」係指在所選定 pH 下帶負電荷之任何脂質。本文所採用「中性脂質」係指在所選定 pH 下呈無電荷或中性兩性離子型之許多脂質物質中之任一者。較佳實施例中，該額外脂質包含以下其中一種中性脂質組份，例如：中性脂質組份：(1) 磷脂；(2) 膽固醇或其衍生物；或(3)磷脂與膽固醇或其衍生物之混合物。膽固醇衍生物之實例包括(但不限於)：膽固烷醇、膽固烷酮、膽固烯酮、腎固醇、膽固醇基-2'-羥基乙基醚、膽固醇基-4'- 羥基丁基醚、生育酚及其衍生物，及其混合物。

【0438】 可使用之明確磷脂包括(但不限於)：磷脂醯基膽鹼、磷脂醯基乙醇胺、磷脂醯基甘油、磷脂酸、磷脂醯基絲胺酸、或神經鞘磷脂。此等磷脂特定言之包括二醯基磷脂醯基膽鹼，如：二硬脂醯基磷脂醯基膽鹼(DSPC)、二油醯基磷脂醯基膽鹼(DOPC)、二豆蔻醯基磷脂醯基膽鹼(DMPC)、二-十五烷醯基磷脂醯基膽鹼、二月桂醯基磷脂醯基膽鹼、二棕櫚醯基磷脂醯基膽鹼(DPPC)、二花生醯基磷脂醯基膽鹼(DAPC)、二山嵛醯基磷脂醯基膽鹼(DBPC)、二-二十三烷醯基磷脂醯基膽鹼(DTPC)、二-二十四烷醯基磷脂醯基膽鹼(DLPC)、棕櫚醯基油醯基-磷脂醯基膽鹼(POPC)、1,2-二-O-十八碳烯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(18:0 Diether PC)、1-油醯基-2-膽固醇基半琥珀醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼(OChemsPC)、1-十六烷基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (C16 Lyso PC)及磷脂醯基乙醇胺，特定言之二醯基磷脂醯基乙醇胺，如：二油醯基磷脂醯基乙醇胺 (DOPE)、二硬脂醯基-磷脂醯基乙醇胺 (DSPE)、二棕櫚醯基-磷脂醯基乙醇胺 (DPPE)、二豆蔻醯基-磷脂醯基乙醇胺 (DMPE)、二月桂醯基-磷脂醯基乙醇胺 (DLPE)、二植烷醯基-磷脂醯基乙醇胺 (DPyPE)，及具有不同疏水性鏈之其他磷脂醯基乙醇胺脂質。

【0439】 某些較佳實施例中，該額外脂質為 DSPC 或 DSPC 及膽固醇。

【0440】 有些實施例中，核酸顆粒同時包括陽離子性脂質及額外脂質。

【0441】 在不希望受到理論限制下，至少一種陽離子性脂質之含量相較於至少一種額外脂質之含量可能影響重要的核酸顆粒特徵，如：核酸之電荷、顆粒大小、穩定性、組織選擇性、及生物活性。因此有些實施例中，至少一種陽離子性脂質對至少一種額外脂質之莫耳比例為約 10：0 至約 1：9、約 4：1 至約 1：2、或約 3：1 至約 1：1。

【0442】 有些實施例中，非陽離子性脂質，特定言之中性脂質(例如：一或多種磷脂及/或膽固醇)可能佔顆粒中總脂質之約 0 mol %至約 90 mol %、約 0 mol %至約 80 mol %、約 0 mol %至約 70 mol %、約 0 mol %至約 60 mol %、或約 0 mol %至約 50 mol %。

聚合物-接合脂質

【0443】 有些實施例中，顆粒可包含至少一種聚合物-接合脂質。聚合物-接合脂質通常為包含脂質部份及與其接合之聚合物部份之分子。有些實施例中，聚合物-接合脂質為 PEG-接合脂質，亦稱為聚乙二醇基化脂質或 PEG-脂質。

【0444】 有些實施例中，聚合物-接合脂質之設計在於藉由形成可以遮蔽疏水性脂質層之保護性親水性層，在立體上穩定脂質顆粒。有些實施例中，當於活體內投與此等脂質顆粒時，聚合物-接合脂質可以降低其與血清蛋白質之聯結及/或造成被網狀內皮系統吸收。

【0445】 各種不同 PEG-接合脂質係相關技藝習知且包括(但不限於)：聚乙二醇基化二醯基甘油 (PEG-DAG)(如：1-(單一甲氧基-聚乙二醇)-2,3-二豆蔻醯基甘油(PEG-DMG)、聚乙二醇基化 磷脂醯基乙醇胺(PEG-PE)、PEG 琥珀酸二醯基甘油(PEG-S-DAG)(如：4-O-(2' ,3 '-二(十四烷醯基氧)丙基-1-O-(ω-甲氧基(聚乙氧基)乙基)丁二酸酯(PEG-S-DMG)、聚乙二醇基化神經醯胺(PEG-cer)、或 PEG 二烷氧基丙基胺甲酸酯(如：ω-甲氧基(聚乙氧基)乙基-N-(2,3-二(十四烷氧基)丙基)胺甲酸酯、或 2,3-二(十四烷氧基)丙基-N-(ω 甲氧基(聚乙氧基)乙基)胺甲酸酯，及類似物。

【0446】 有些實施例中，顆粒可包含 WO 2017/075531 及 WO 2018/081480 中所說明一或多種 PEG-接合脂質或聚乙二醇基化脂質，其完整內容已為了說明本文之目的而分別以引用方式併入本文中。

脂質複合物(Lipoplex)顆粒

【0447】 本揭示有些實施例中，本文所說明 RNA 可呈 RNA 脂質複合物顆粒。

【0448】 脂質複合物(LPX)為靜電複合物，其通常由預先形成之陽離子性脂質脂質體與陰離子性 RNA 混合形成。所形成之脂質複合物由從脂質體結構轉形成為緊實的 RNA–脂質複合物，而擁有獨特之內部分子排列。此等調配物之特徵通常在於其等很難囊封核酸而且無法完全包埋核酸。

【0449】 脂質體為球形囊泡，其包含單層或多層磷酸脂質雙層包圍水性核心。其等係由具有極性頭(親水性)基團及非極性尾(疏水性)基團之材料製備。此

等基團之間之交互作用誘發形成囊泡。調配設計用於遞送核酸之脂質體時所使用之陽離子性脂質為兩親性之性質，且由帶正電荷(陽離子性)胺頭基利用甘油連接烴鏈或膽固醇衍生物所組成。

【0450】 帶正電荷脂質體通常可以利用陽離子性脂質(如：DOTMA)及額外脂質(如：DOPE)合成。有些實施例中，RNA 脂質複合物顆粒為奈米顆粒。

【0451】 有些實施例中，RNA 脂質複合物顆粒包括陽離子性脂質及額外脂質二者。一項例舉之實施例中，陽離子性脂質為 DOTMA 及該額外脂質為 DOPE。

【0452】 有些實施例中，至少一種陽離子性脂質對至少一種額外脂質之莫耳比例為約 10：0 至約 1：9、約 4：1 至約 1：2、或約 3：1 至約 1：1。明確實施例中，莫耳比例可為約 3：1、約 2.75：1、約 2.5：1、約 2.25：1、約 2：1、約 1.75：1、約 1.5：1、約 1.25：1、或約 1：1。例舉之實施例中，至少一種陽離子性脂質對至少一種額外脂質之莫耳比例為約 2：1。

【0453】 有些實施例中，本文所說明 RNA 脂質複合物顆粒具有之平均直徑範圍為約 200 nm 至約 1000 nm、約 200 nm 至約 800 nm、約 250 至約 700 nm、約 400 至約 600 nm、約 300 nm 至約 500 nm、或約 350 nm 至約 400 nm。明確實施例中，RNA 脂質複合物顆粒具有之平均直徑為約 200 nm、約 225 nm、約 250 nm、約 275 nm、約 300 nm、約 325 nm、約 350 nm、約 375 nm、約 400 nm、約 425 nm、約 450 nm、約 475 nm、約 500 nm、約 525 nm、約 550 nm、約 575 nm、約 600 nm、約 625 nm、約 650 nm、約 700 nm、約 725 nm、約 750 nm、約 775 nm、約 800 nm、約 825 nm、約 850 nm、約 875 nm、約 900 nm、約 925 nm、約 950 nm、約 975 nm、或約 1000 nm。一項實施例中，RNA 脂質複合物顆粒具有之平均直徑範圍為約 250 nm 至約 700 nm。另一項實施例中，RNA 脂質複合物顆粒具有之平均直徑範圍為約 300 nm 至約 500 nm。一項例舉之實施例中，RNA 脂質複合物顆粒具有之平均直徑為約 400 nm。

【0454】 RNA 脂質複合物顆粒可使用脂質體製備，該脂質體則可由含脂質之乙醇溶液注射至水或合適水相中製得。有些實施例中，水相具有酸性 pH。有些實施例中，水相包含乙酸，例如：含量為約 5 mM。脂質體可用於製備 RNA 脂質複合物顆粒，其係混合脂質體與 RNA。

【0455】 有些實施例中，脂質體與 RNA 脂質複合物顆粒包含至少一種陽離子性脂質及至少一種額外脂質。有些實施例中，至少一種陽離子性脂質包含 1,2-二-O-十八碳烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)及/或 1,2-二油醯基-3-三甲基銨-丙烷(DOTAP)。有些實施例中，至少一種額外脂質包含 1,2-二-(9Z-十八碳烯醯基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DOPE)、膽固醇(Chol)及/或 1,2-二油醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DOPC)。有些實施例中，至少一種陽離子性脂質包含 1,2-二-O-十八碳烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)及至少一種額外脂質包含 1,2-二-(9Z-十八碳烯醯基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺(DOPE)。有些實施例中，脂質體及 RNA 脂質複合物顆粒包含 1,2-二-O-十八碳烯基-3-三甲基銨丙烷(DOTMA)及 1,2-二-(9Z-十八碳烯醯基)-sn-甘油基-3-磷酸乙醇胺 (DOPE)。

脂質奈米顆粒(LNP)

【0456】 有些實施例中，本文所說明 RNA 係呈脂質奈米顆粒(LNP)形式。LNP 可能包含可以形成附接一或多個核酸分子之顆粒之任何脂質，其中一或多個核酸分子已囊封。

【0457】 LNP 通常包含四種組份：可離子化陽離子性脂質、中性脂質(如：磷脂)、類固醇(如：膽固醇)、及聚合物-接合脂質(如： PEG-脂質)。LNP 可由溶於乙醇中之脂質與核酸於水性緩衝液中混合製成。

【0458】 有些實施例中，本文所說明 RNA LNP 中之 mRNA 係利用佔據 LNP 中心核心之可離子化脂質來結合。PEG 脂質與磷脂一起形成 LNP 之表面。有些實施例中，該表面包含雙層。有些實施例中，呈帶電荷及無電荷型之膽固醇及可離子化脂質可以分佈在 LNP 上。

【0459】 有些實施例中，LNP 包含一或多種陽離子性脂質，及一或多種穩定化脂質。穩定化脂質包括中性脂質及聚乙二醇基化脂質。

【0460】 有些實施例中，LNP 包含陽離子性脂質、中性脂質、類固醇、聚合物-接合脂質；及囊封在脂質奈米顆粒中或與脂質奈米顆粒聯結之 RNA。

【0461】 有些實施例中，LNP 包含 40 至 55 莫耳百分比、40 至 50 莫耳百分比、41 至 50 莫耳百分比、42 至 50 莫耳百分比、43 至 50 莫耳百分比、44 至 50 莫耳百分比、45 至 50 莫耳百分比、46 至 50 莫耳百分比、46 至 49 莫耳百分

比、或約 47 或 48 莫耳百分比之陽離子性脂質。有些實施例中，LNP 包含約 46.0、46.1、46.2、46.3、46.4、46.5、46.6、46.7、46.8、46.9、47.0、47.1、47.2、47.3、47.4、47.5、47.6、47.7、47.8、47.9、48.0、48.1、48.2、48.3、48.4、48.5、48.6、48.7、48.8、48.9、或 49 莫耳百分比之陽離子性脂質。

【0462】 有些實施例中，中性脂質之含量濃度範圍為 5 至 15 莫耳百分比、7 至 13 莫耳百分比、或 9 至 11 莫耳百分比。有些實施例中，中性脂質之含量濃度為約 10 莫耳百分比。

【0463】 有些實施例中，類固醇之含量濃度範圍為 30 至 50 莫耳百分比、35 至 45 莫耳百分比或 38 至 43 莫耳百分比。有些實施例中，類固醇 之含量為約 41 莫耳百分比。

【0464】 有些實施例中，LNP 包含 1 至 10 莫耳百分比、1 至 5 莫耳百分比、或 1 至 2.5 莫耳百分比之聚合物-接合脂質。有些實施例中，聚合物-接合脂質之含量濃度為約 1.5、1.6、1.7、1.8、1.9 或 2.0 莫耳百分比。

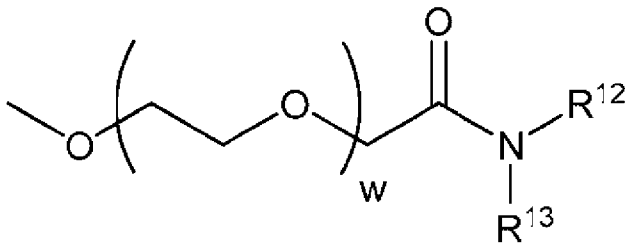
【0465】 有些實施例中，LNP 包含 45 至 50 莫耳百分比之陽離子性脂質；5 至 15 莫耳百分比之中性脂質；35 至 45 莫耳百分比之類固醇；1 至 5 莫耳百分比之聚合物-接合脂質；及囊封在脂質奈米顆粒中或與脂質奈米顆粒聯結之 RNA。

【0466】 有些實施例中，莫耳百分比係基於脂質奈米顆粒中所包含脂質總莫耳數計。有些實施例中，莫耳百分比係基於脂質奈米顆粒中所包含陽離子性脂質、中性脂質、類固醇、及聚合物-接合脂質之總莫耳數計。

【0467】 有些實施例中，中性脂質係選自下列各物組成之群中：DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC、DOPE、DOPG、DPPG、POPE、DPPE、DMPE、DSPE，及 SM。有些實施例中，中性脂質係選自下列各物組成之群中：DSPC、DPPC、DMPC、DOPC、POPC、DOPE 及 SM。有些實施例中，中性脂質為 DSPC。

【0468】 有些實施例中，類固醇為膽固醇。

【0469】 有些實施例中，聚合物接合脂質為聚乙二醇基化脂質。有些實施例中，聚乙二醇基化脂質具有下列結構式：

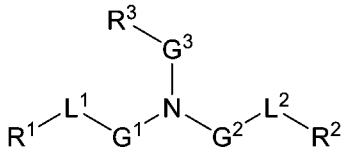


或其醫藥上可接受之鹽、互變異構物或立體異構物，其中：

R^{12} 及 R^{13} 分別獨立為包含 10 至 30 個碳原子之直鏈或分支、飽和或不飽和烷基鏈，其中烷基鏈可視需要穿插一或多個酯鍵；及 w 之平均值在 30 至 60 之範圍內。有些實施例中，R^{12} 與 R^{13} 分別獨立為包含 12 至 16 個碳原子之直鏈、飽和烷基鏈。有些實施例中，w 之平均值在 40 至 55 之範圍內。有些實施例中，平均值 w 為約 45。有些實施例中，R^{12} 與 R^{13} 分別獨立為包含約 14 個碳原子之直鏈、飽和烷基鏈，及 w 之平均值為約 45。

【0470】 有些實施例中，聚乙二醇基化脂質為或包含 2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺。

【0471】 有些實施例中，LNP 之陽離子性脂質組份具有式(III)結構式：



(III)

或其醫藥上可接受之鹽、互變異構物、前藥、或立體異構物，其中：

L^1 或 L^2 其中之一為–O(C=O)-、-(C=O)O-、-C(=O)-、-O-、-$S(O)_x$-、-S-S-、-C(=O)S-、SC(=O)-、-$NR^aC(=O)$-、-$C(=O)NR^a$-、$NR^aC(=O)NR^a$-、-$OC(=O)NR^a$-或-$NR^aC(=O)O$-，及另一個 L^1 或 L^2 為–O(C=O)-、-(C=O)O-、-C(=O)-、-O-、-$S(O)_x$-、-S-S-、-C(=O)S-、SC(=O)-、-$NR^aC(=O)$-、-$C(=O)NR^a$-、$NR^aC(=O)NR^a$-、-$OC(=O)NR^a$-或-$NR^aC(=O)O$-或一直接鍵；

G^1 與 G^2 分別獨立為未經取代之 C_1-C_{12} 伸烷基或 C_1-C_{12} 伸烯基；

G^3 為 C_1-C_{24} 伸烷基、C_1-C_{24} 伸烯基、C_3-C_8 伸環烷基、C_3-C_8 伸環烯基；

R^a 為 H 或 C_1-C_{12} 烷基；

R^1 與 R^2 分別獨立為 C_6-C_{24} 烷基或 C_6-C_{24} 烯基；

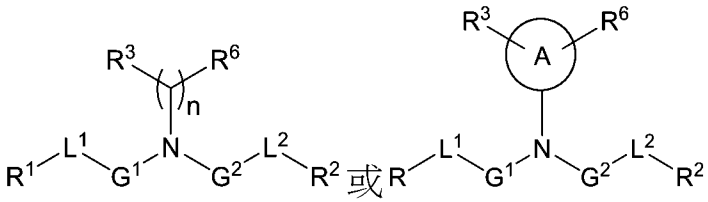
R^3 為 H、OR^5、CN、$-C(=O)OR^4$、$-OC(=O)R^4$ 或 $–NR^5C(=O)R^4$；

R^4 為 C_1-C_{12} 烷基；

R^5 為 H 或 C_1-C_6 烷基；及

x 為 0、1 或 2。

【0472】 有些上述式(III)之實施例中，脂質具有以下一種結構式(IIIA)或(IIIB)：



(IIIA) (IIIB)

其中：

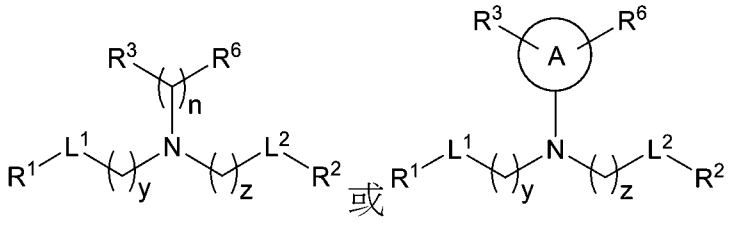
A 為 3 至 8-員環烷基或伸環烷基環；

R^6 每次出現時，分別獨立為 H、OH 或 C_1-C_{24} 烷基；

n 為 1 至 15 範圍內之整數。

【0473】 有些上述式(III)之實施例中，脂質具有結構式 (IIIA)，及其他實施例中，脂質具有結構式 (IIIB)。

【0474】 其他式(III)之實施例中，脂質具有以下一種結構式(IIIC)或(IIID)：

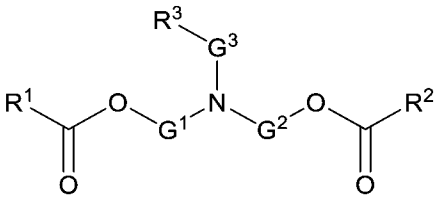


(IIIC) (IIID)

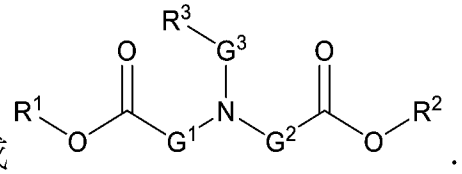
其中 y 與 z 分別獨立為 1 至 12 範圍內之整數。

【0475】 任何上述式(III)之實施例中，L^1 或 L^2 其中之一為 -O(C=O)-。例如：有些實施例中，各 L^1 與 L^2 為-O(C=O)-。有些上述不同實施例中，L^1 與 L^2 分別獨立為 -(C=O)O-或-O(C=O)-。例如：有些實施例中，各 L^1 與 L^2 為 -(C=O)O-。

【0476】 有些不同式(III)實施例中，脂質具有下列結構式(IIIE)或(IIIF)之一：

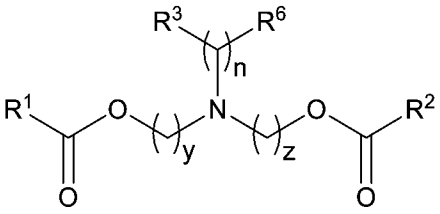


或

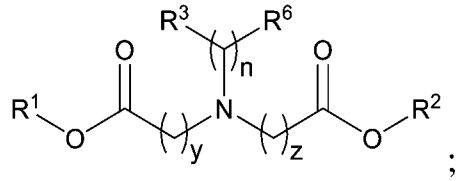


(IIIE) (IIIF)

【0477】 有些上述式(III)之實施例中，脂質具有以下其中一種結構式(IIIG)、(IIIH)、(IIII)、(IIIJ)：

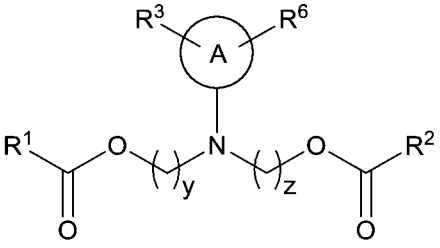


;

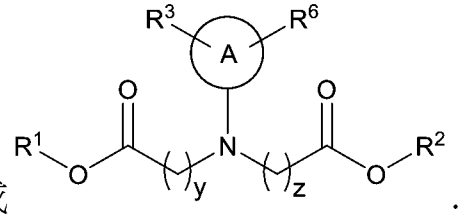


;

(IIIG) (IIIH)



或



(IIII) (IIIJ)

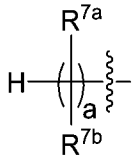
【0478】 有些上述式(III)之實施例中，n 為 2 至 12 範圍內之整數，例如：2 至 8 或 2 至 4。例如：有些實施例中，n 為 3、4、5 或 6。有些實施例中，n 為 3。有些實施例中，n 為 4。有些實施例中，n 為 5。有些實施例中，n 為 6。

【0479】 有些其他上述式(III)之實施例中，y 及 z 分別獨立為 2 至 10 範圍內之整數。例如：有些實施例中，y 及 z 分別獨立為 4 至 9 或 4 至 6 範圍內之整數。

【0480】 有些上述式(III)之實施例中，R^6 為 H。其他上述實施例中，R^6 為 C_1-C_{24} 烷基。其他實施例中，R^6 為 OH。

【0481】 有些式(III)實施例中，G^3 為未經取代。其他實施例中，G^3 為經取代。各種不同實施例中，G^3 為線性 C_1-C_{24} 伸烷基或線性 C_1-C_{24} 伸烯基。

【0482】 有些其他上述式(III)之實施例中，R^1或R^2、或二者為C_6-C_{24}烯基。例如：有些實施例中，R^1及R^2分別獨立具有下列結構式：



，

其中：

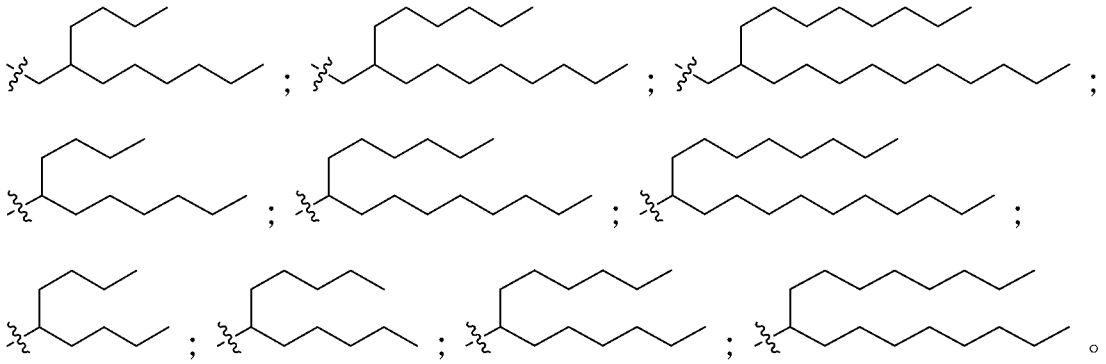
R^{7a}及R^{7b}每次出現時，分別獨立為H或C_1-C_{12}烷基；及

a為2至12之整數，

其中R^{7a}、R^{7b}及a係分別選擇，使得R^1及R^2分別獨立包含6至20個碳原子。例如：有些實施例中，a為5至9或8至12範圍內之整數。

【0483】 有些上述式(III)之實施例中，出現至少一次之R^{7a}為H。例如：有些實施例中，每次出現之R^{7a}為H。上述其他不同實施例中，出現至少一次之R^{7b}為C_1-C_8烷基。例如：有些實施例中，C_1-C_8烷基為甲基、乙基、正丙基、異丙基、正丁基、異丁基、第三丁基、正己基、或正辛基。

【0484】 式(III)之不同實施例中，R^1或R^2、或二者具有下列結構式之一：

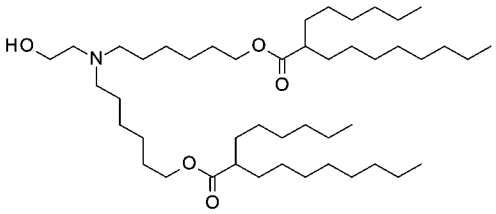
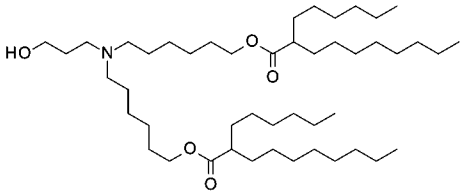
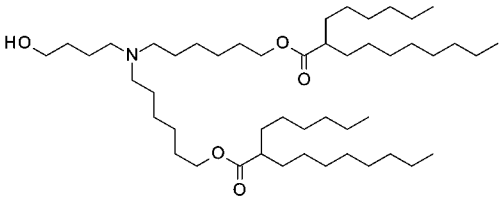
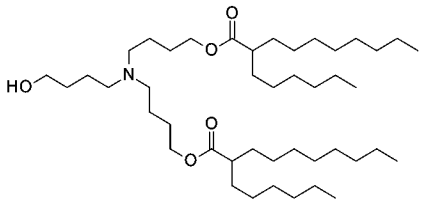
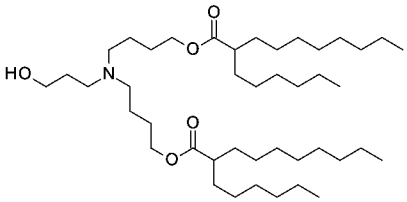
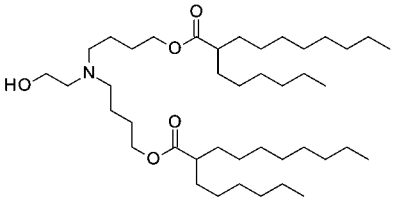
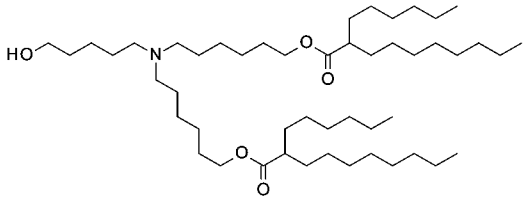
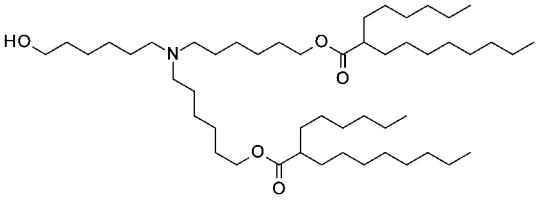


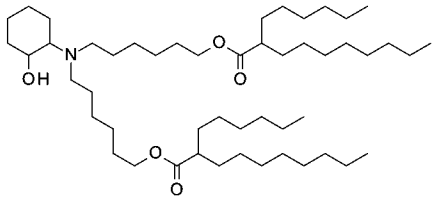
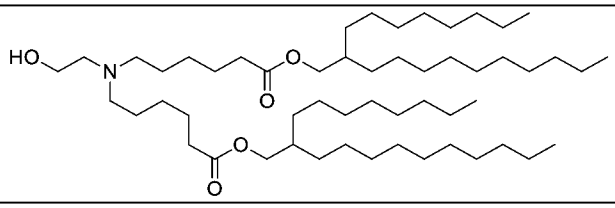
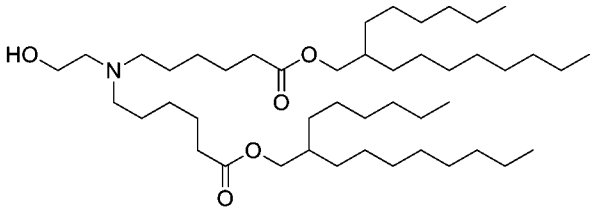
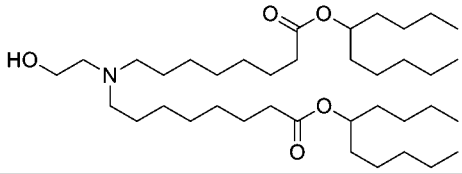
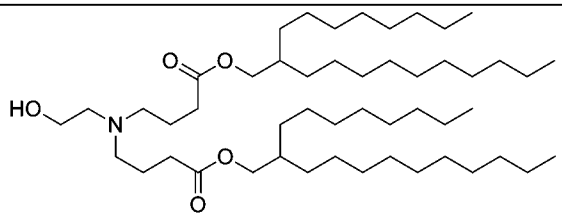
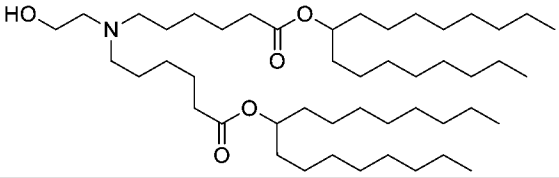
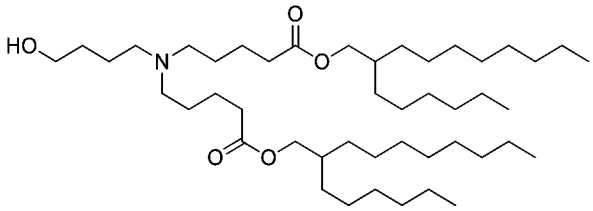
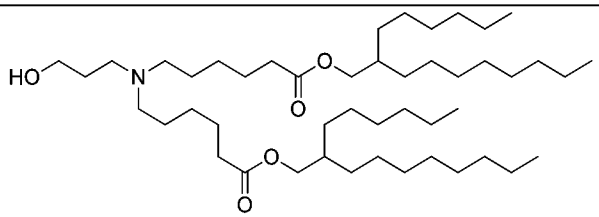
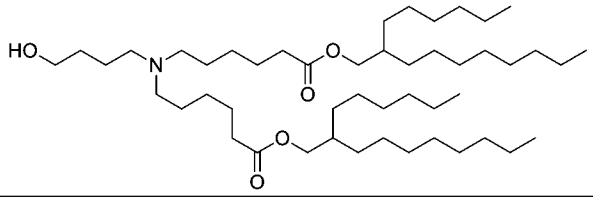
【0485】 有些上述式(III)之實施例中，R^3為OH、CN、-C(=O)OR^4、-OC(=O)R^4或–NHC(=O)R^4。有些實施例中，R^4為甲基或乙基。

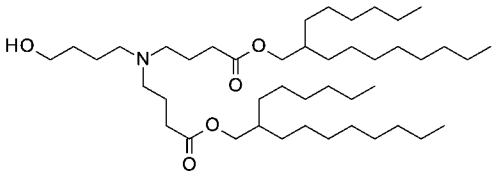
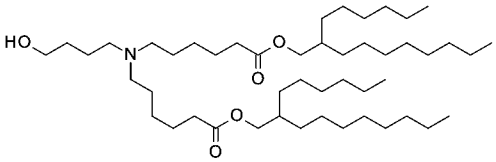
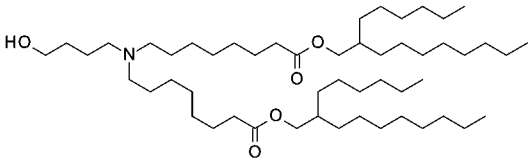
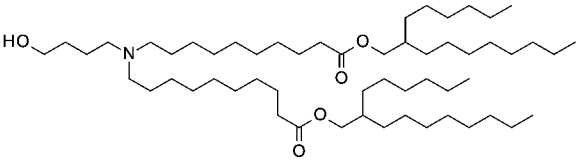
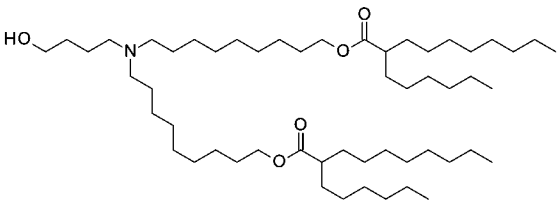
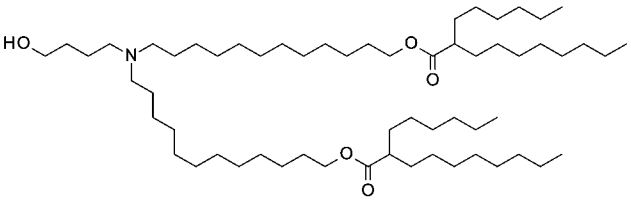
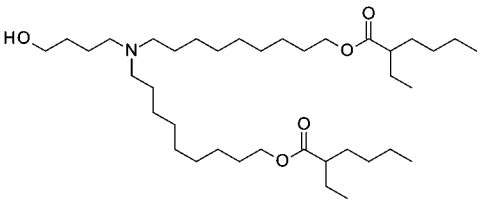
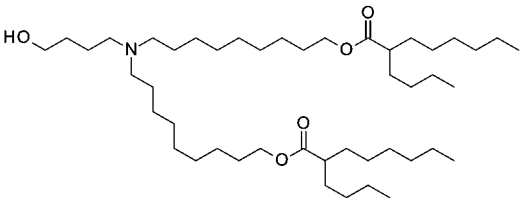
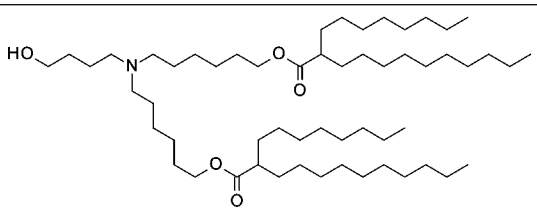
【0486】 各種不同實施例中，式(III)之陽離子性脂質具有下表所示結構式之一。

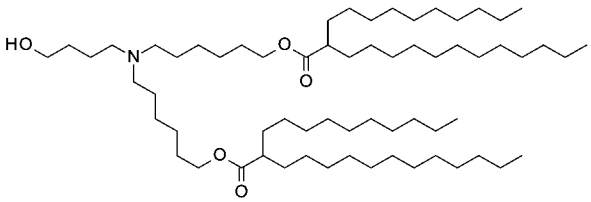
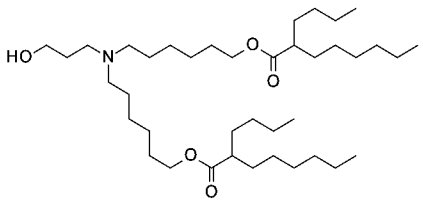
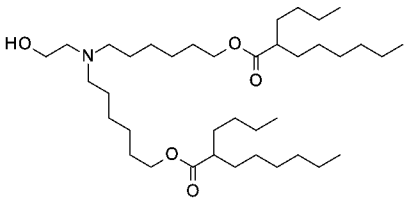
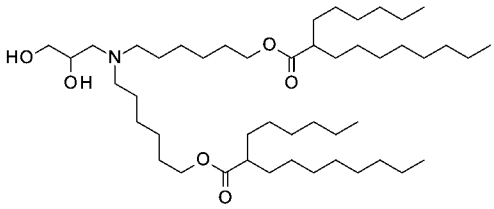
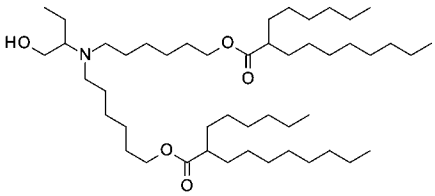
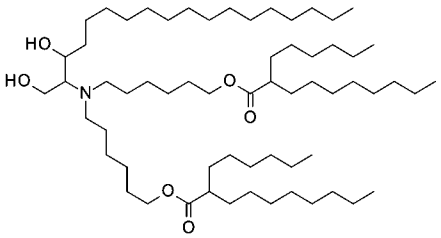
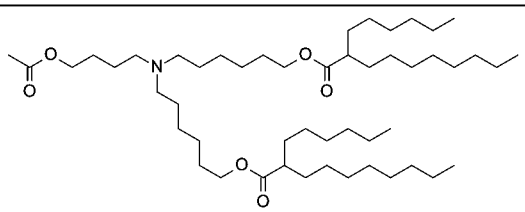
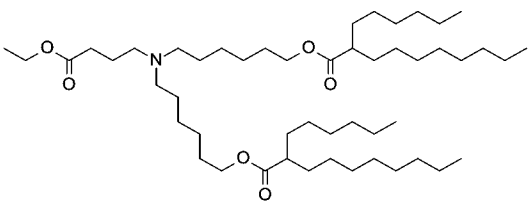
【0487】 代表性式(III)化合物。

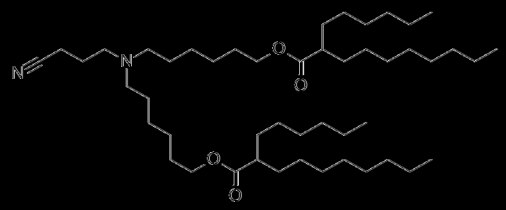
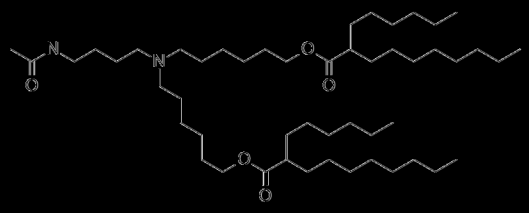
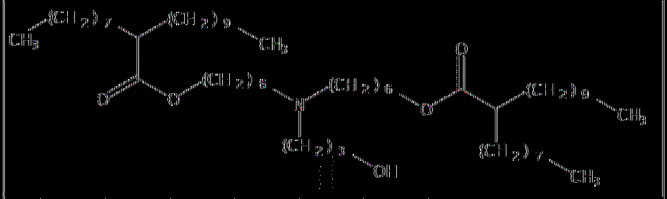
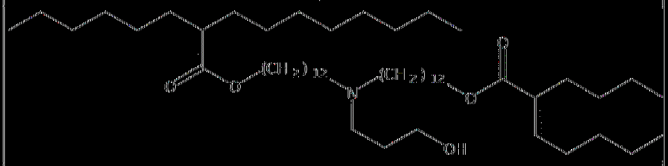
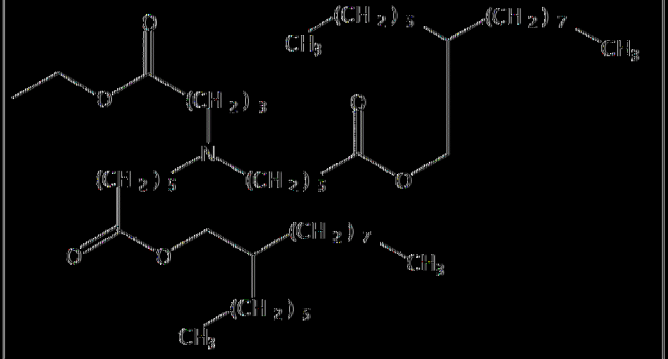
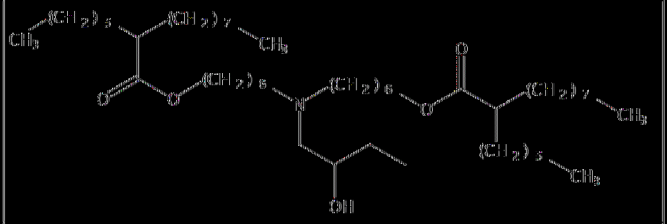
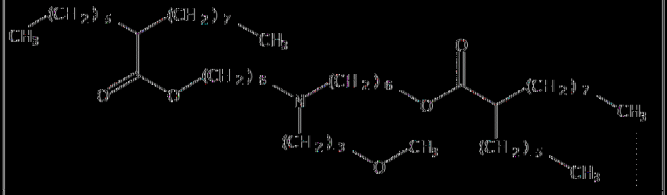
No.	結構式

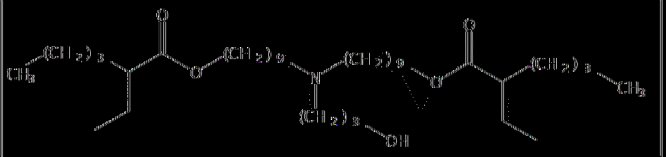
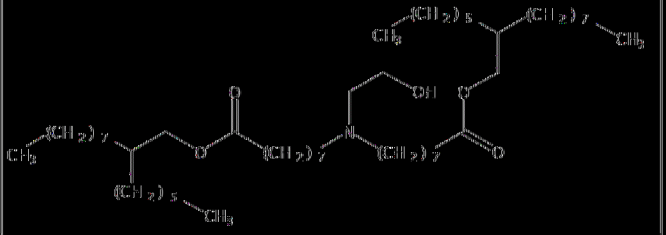
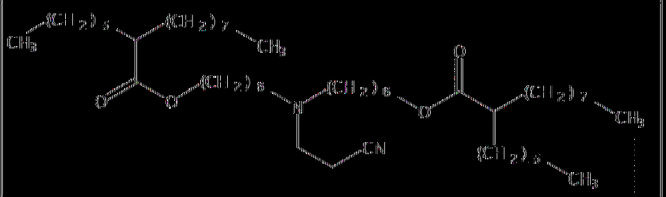
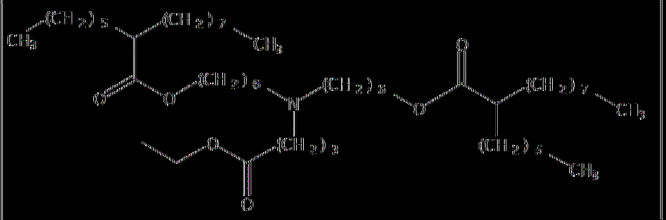
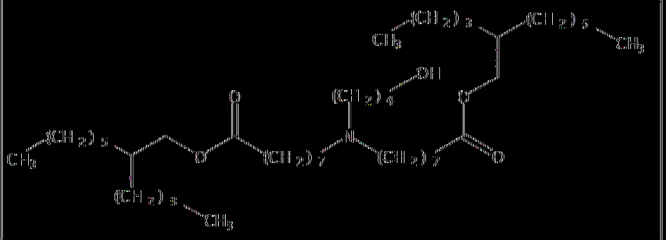
No.	結構式
III-1	
III-2	
III-3	
III-4	
III-5	
III-6	
III-7	
III-8	

No.	結構式
III-9	
III-10	
III-11	
III-12	
III-13	
III-14	
III-15	
III-16	
III-17	

No.	結構式
III-18	
III-19	
III-20	
III-21	
III-22	
III-23	
III-24	
III-25	
III-26	

No.	結構式
III-27	
III-28	
III-29	
III-30	
III-31	
III-32	
III-33	
III-34	

No.	結構式
III-35	
III-36	
III-37	
III-38	
III-39	
III-40	
III-41	
III-42	

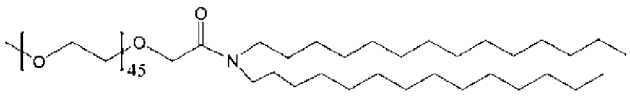
No.	結構式
III-43	
III-44	
III-45	
III-46	
III-47	
III-48	
III-49	

[0488] 各種不同脂質(包括例如：陽離子性脂質、中性脂質、及聚合物-接合脂質)係相關技藝者知者，且可於本文中用於形成脂質奈米顆粒，例如：靶向特定細胞型態(例如：肝細胞)之脂質奈米顆粒。在某實施例中，包括在本文所說明醫藥組成物中之陽離子性脂質可為((3-羥丙基)氮烷二基)雙(十烷-9,1-二基)雙(2-丁基辛酸酯)或其衍生物。在某實施例中，包括在本文所說明醫藥組成物中

之中性脂質可能為或可包含磷脂或其衍生物(例如：1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼 (DPSC)) 及/或膽固醇。有些實施例中，包括在本文所說明醫藥組成物中之聚合物-接合脂質可能為 PEG-接合脂質(例如：2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺或其衍生物)。

【0489】 有些實施例中，LNP 包含式(III)脂質、RNA、中性脂質、類固醇及聚乙二醇基化脂質。有些實施例中，式(III)脂質為化合物 III-45。有些實施例中，中性脂質為 DSPC。有些實施例中，類固醇為膽固醇。有些實施例中，聚乙二醇基化脂質為 ALC-0159。

ALC-0159：



【0490】 有些實施例中，陽離子性脂質在 LNP 中之含量為約 45 至約 50 莫耳百分比。有些實施例中，中性脂質在 LNP 中之含量為約 5 至約 15 莫耳百分比。有些實施例中，類固醇 在 LNP 中之含量為約 35 至約 45 莫耳百分比。有些實施例中，聚乙二醇基化脂質在 LNP 中之含量為約 1 至約 5 莫耳百分比。

【0491】 有些實施例中，LNP 包含含量約 45 至約 50 莫耳百分比之化合物 III-45、含量約 5 至約 15 莫耳百分比之 DSPC、含量約 35 至約 45 莫耳百分比之膽固醇、及含量約 1 至約 5 莫耳百分比之 ALC-0159。

【0492】 有些實施例中，LNP 包含含量約 47 或 48 莫耳百分比之化合物 III-45、含量約 10 莫耳百分比之 DSPC、含量約 41 莫耳百分比之膽固醇、及含量約 1.6 或 1.7 莫耳百分比之 ALC-0159。

【0493】 N/P 值較佳係至少約 4。有些實施例中，N/P 值之範圍為 4 至 20、4 至 12、4 至 10、4 至 8、或 5 至 7。有些實施例中，N/P 值為約 6。

投與 RNA 之實施例

【0494】 有些實施例中，本文所說明組成物或醫用製劑包含編碼第一多肽鏈之 RNA 及編碼第二多肽鏈之 RNA，該第一及第二多肽鏈彼此交互作用，

形成本文所說明結合劑。同樣地，本文所說明方法包括投與此等 RNA。有些實施例中，RNA 為活體外轉錄之 RNA。

【0495】 有些實施例中，RNA 為核苷修飾 mRNA (modRNA)。有些實施例中，核苷修飾信息子 RNA(modRNA)藥物之活性成份為單股 mRNA，其在進入細胞(例如：肝細胞)中時轉譯。有些實施例中，modRNA 包含常用於優化 RNA 最大效力之結構性元素(5'-端帽、5'-UTR、3'-UTR、聚(A)尾)。有些實施例中，modRNA 改包含 1-甲基-假尿苷替代尿苷。有些實施例中，5'-端帽結構式為 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。有些實施例中，5'-UTR 及 3'-UTR 分別包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8 及核苷酸序列 SEQ ID NO：9。有些實施例中，聚(A)尾包含序列 SEQ ID NO：10。有些實施例中，對 modRNA 施加額外純化步驟，以降低在活體外轉錄反應期間產生之 dsRNA 污染物 。

【0496】 有些第一 RNA 與第二 RNA 之實施例說明於下文中。當說明其元素時，所用之某些術語具有下列定義：

5'UTR：人類 α-珠蛋白 mRNA 之 5'-UTR 序列，具有優化之「Kozak 序列」以提高轉譯效率。

sec：sec 對應於分泌訊號肽(sec)，其引導新生多肽鏈轉位至內質網。

3'UTR：3'-UTR 為衍生自「酶切胺基端增強子」(AES) mRNA (稱為 F)及粒線體編碼之 12S 核糖體 RNA(稱為 I)之兩種序列元素之組合。其等經過離體選拔過程判別賦與 RNA 穩定性及強化總蛋白質表現之序列。

聚 A：量測聚(A)-尾之長度為 110 個核苷酸，由一段 30 個腺苷殘基，接著 10 個核苷酸連接子序列及另一段 70 個腺苷殘基組成，其設計在於加強 RNA 穩定性及在樹突細胞中之轉譯效率。

VH(aCD3)：對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白重鏈可變區

VL(aCD3)：對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白輕鏈可變區

CH1：免疫球蛋白重鏈之恆定區 1

CL：免疫球蛋白輕鏈之恆定區

VH(aCLDN6)：對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白重鏈可變區

VL(aCLDN6)：對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白輕鏈可變區

RBP022.1 (SEQ ID NO：4；SEQ ID NO：5) –「第一 RNA」之實施例

CAP1($m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG)-5'UTR-sec-VH(aCD3)-CH1-VH(aCLDN6)-VL(aCLDN6)-3UTR-聚 A

RBP021.1 (SEQ ID NO：6；SEQ ID NO：7) –「第二 RNA」之實施例

CAP1($m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG)-5'UTR-sec-VL(aCD3)-CL-VH(aCLDN6)-VL(aCLDN6)-3'UTR-聚 A

RBP022.1 及 RBP021.1 之核苷酸序列

【0497】 核苷酸序列係以粗字體指示個別序列元素。此外，轉譯蛋白質之序列係以編碼核苷酸序列下方之斜體字表示 (* = 終止密碼子)。

RBP022.1

```
         10         20         30         40          50 53
AGAAYAAACY AGYAYYCYYC YGGYCCCCAC AGACYCAGAG AGAACCCGCC ACC
```

hAg-Kozak

```
        63         73         83         93        103        113
AYGAGAGYGA YGGCCCCYAG AACACYGAYC CYGCYGCYGY CYGGYGCCCY GGCYCYGACA
  M  R  V  M  A  P  R  T  L  I  L  L  L  S  G  A  L  A  L  T
```

sec

```
       123        131
GAAACAYGGG CCGGAYCY
  E  T  W  A  G  S
```

sec

```
       141        151        161        171        181        191
CAGGYGCAGC YCCAGCAAYC YGGYGCCGAA CYYGCYAGAC CYGGCGCCYC CGYGAAGAYG
  Q  V  Q  L  Q  Q  S  G  A  E  L  A  R  P  G  A  S  V  K  M
```

aCD3 VH

```
       201        211        221        231        241        251
AGCYGYAAAA CCAGCGGCYA CACCYYCACA CGGYACACCA YGCACYGGGY CAAGCAGAGG
  S  C  K  T  S  G  Y  T  F  T  R  Y  T  M  H  W  V  K  Q  R
```

aCD3 VH

```
       261        271        281        291        301        311
CCYGGACAGG GCCYYGAGYG GAYCGGCYAC AYCAACCCCA GCCGGGGCYA CACCAACYAC
  P  G  Q  G  L  E  W  I  G  Y  I  N  P  S  R  G  Y  T  N  Y
```

aCD3 VH

```
       321        331        341        351        361        371
AACCAGAAGY YCAAGGACAA GGCCACACYG ACCACCGACA AGAGCAGCAG CACAGCCYAC
  N  Q  K  F  K  D  K  A  T  L  T  T  D  K  S  S  S  T  A  Y
```

aCD3 VH

```
       381        391        401        411        421        431
AYGCAGCYGA GCAGCCYGAC CAGCGAAGAY AGCGCCGYGY ACYACYGCGC CCGGYACYAC
  M  Q  L  S  S  L  T  S  E  D  S  A  V  Y  Y  C  A  R  Y  Y
```

aCD3 VH

```
       441        451        461        471        481        488
GACGAYCACY ACAGCCYGGA YYACYGGGGC CAGGGAACAA CCCYGACAGY GYCYAGC
  D  D  H  Y  S  L  D  Y  W  G  Q  G  T  T  L  T  V  S  S
```

aCD3 VH

```
       498        508        518        528        538        548
GCCAGCACCA AGGGACCYAG CGYYYYCCCA CYGGCYCCCA GCAGCAAGAG CACAYCYGGY
  A  S  T  K  G  P  S  V  F  P  L  A  P  S  S  K  S  T  S  G
```

C H 1

```
       558        568        578        588        598        608
GGAACAGCCG CYCYGGGCYG CCYGGYCAAG GAYYACYYYC CCGAGCCYGY GACCGYGYCC
```

G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S

C H1

618 628 638 648 658 668

YGGAAYYCYG GCGCYCYGAC AAGCGGCGYG CACACCYYYC CAGCCGYGCY GCAAAGCAGC

W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S

C H1

678 688 698 708 718 728

GGCCYGYACY CYCYGAGCAG CGYGGYCACA GYGCCYAGCY CYAGCCYGGG CACCCAGACC

G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T

C H1

738 748 758 768 778 782

YACAYCYGCA AYGYGAACCA CAAGCCYAGC AACACCAAGG YGGACAAGAG AGYG

Y I C N V N H K P S N T K V D K R V

C H1

792 802 812 822 832 842

GAACCCAAGA GCYGYYCYGG ACCCGGCGGA GGAAGAYCYG GCGGAGGCGG YYCYGGYGGC

E P K S C S G P G G G R S G G G G S G G

連接子

851

GGAGGAYCY

G G S

連接子

861 871 881 891 901 911

GAAGYYCAGC YGCAACAGYC YGGCCCCGAG CYGGYYAAGC CYGGGGCCYC YAYGAAGAYC

E V Q L Q Q S G P E L V K P G A S M K I

aCLDN6 VH

921 931 941 951 961 971

YCCYGCAAGG CCYCCGGCYA CAGCYYYACC GGCYACACAA YGAAYYGGGY YAAGCAGYCC

S C K A S G Y S F T G Y T M N W V K Q S

aCLDN6 VH

981 991 1001 1011 1021 1031

CACGGCAAGY GCCYGGAAYG GAYCGGCCYG AYCAACCCYY ACAACGGCGG CACCAYCYAY

H G K C L E W I G L I N P Y N G G T I Y

aCLDN6 VH

1041 1051 1061 1071 1081 1091

AAYCAGAAGY YYAAAGGCAA GGCYACCCYC ACCGYGGACA AGYCYAGCYC CACCGCCYAC

N Q K F K G K A T L T V D K S S S T A Y

aCLDN6 VH

1101 1111 1121 1131 1141 1151

AYGGAACYGC YGAGCCYGAC CYCYGAGGAC YCCGCCGYGY AYYAYYGYGC CAGAGACYAC

M E L L S L T S E D S A V Y Y C A R D Y

aCLDN6 VH

1161 1171 1181 1191 1201 1202

GGCYYCGYGC YGGACYAYYG GGGACAGGGC ACYACACYGA CYGYGYCCAG Y

G F V L D Y W G Q G T T L T V S S

aCLDN6 VH

1212 1222 1232 1242 1252 1262

GGCGGYGGYG GCAGYGGCGG CGGAGGYAGC GGAGGYGGYG GAAGCGGAGG CGGAGGCYCY

G G G G S G G G G S G G G G S G G G S

連接子

1272 1282 1292 1302 1312 1322

CAAAYYGYGC YGACACAGAG CCCCAGCAYC AYGAGCGYYA GCCCYGGCGA GAAAGYGACC

Q I V L T Q S P S I M S V S P G E K V T

aCLDN6 VL

1332 1342 1352 1362 1372 1382

AYCACAYGCA GCGCCAGCYC CYCCGYGYCC YAYAYGCACY GGYYYCAGCA GAAGCCCGGC

I T C S A S S S V S Y M H W F Q Q K P G

aCLDN6 VL

1392 1402 1412 1422 1432 1442

ACAAGCCCCA AGCYGYCGAY CYACAGCACC AGCAACCYGG CCAGCGGAGY GCCYGCCAGA

T S P K L S I Y S T S N L A S G V P A R

aCLDN6 VL

1452 1462 1472 1482 1492 1502

YYYYCYGGYA GAGGCAGCGG CACCAGCYAC YCCCYGACAA YCYCYAGAGY GGCCGCCGAA

F S G R G S G T S Y S L T I S R V A A E

aCLDN6 VL

1512 1522 1532 1542 1552 1562

GAYGCCGCCA CCYACYACYG YCAGCAGCGG AGCAAYYACC CYCCYYGGAC CYYYGGCYGC

D A A T Y Y C Q Q R S N Y P P W T F G C

aCLDN6 VL

1572 1582 1589

GGCACCAAGC YGGAAAYCAA GYGAYGA

*G T K L E I K * *

aCLDN6 VL

1599 1609 1619 1629 1639 1649

GGAYCCGAYC YGGYACYGCA YGCACGCAAY GCYAGCYGCC CCYYYCCCGY CCYGGGYACC

FI 元素

1659 1669 1679 1689 1699 1709

CCGAGYCYCC CCCGACCYCG GGYCCCAGGY AYGCYCCCAC CYCCACCYGC CCCACYCACC

FI 元素

1719 1729 1739 1749 1759 1769

ACCYCYGCYA GYYCCAGACA CCYCCCAAGC ACGCAGCAAY GCAGCYCAAA ACGCYYAGCC

FI 元素

1779 1789 1799 1809 1819 1829

YAGCCACACC CCCACGGGAA ACAGCAGYGA YYAACCYYYA GCAAYAAACG AAAGYYYAAC

FI元素

```
      1839       1849       1859       1869       1879       1887
YAAGCYAYAC YAACCCCAGG GYYGGYCAAY YYCGYGCCAG CCACACCCYC GAGCYAGC
```

FI元素

```
      1897       1907       1917       1927       1937       1947
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAYAYGACY AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

```
      1957       1967       1977       1987       1997
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA
```

聚(A)

RBP021.1

```
         10         20         30         40          50 53
AGAAYAAACY AGYAYYCYYC YGGYCCCCAC AGACYCAGAG AGAACCCGCC ACC
```

hAg-Kozak

```
        63         73         83         93        103        113
AYGAGAGYGA YGGCCCCYAG AACACYGAYC CYGCYGCYGY CYGGYGCCCY GGCYCYGACA
  M  R  V   M  A  P   R  T  L  I   L  L  L   S  G  A   L  A  L  T
```

sec

```
       123        131
GAAACAYGGG CCGGAYCY
  E  T  W   A  G  S
```

sec

```
       141        151        161        171        181        191
CAGAYCGYGC YGACACAGAG CCCYGCCAYC AYGAGYGCCY CYCCAGGCGA GAAAGYGACC
  Q  I  V   L  T  Q   S  P  A  I   M  S  A   S  P  G   E  K  V  T
```

aCD3 VL

```
       201        211        221        231        241        251
AYGACCYGYA GAGCCAGCAG CAGCGYGYCC YACAYGAACY GGYAYCAGCA GAAGYCCGGC
  M  T  C   R  A  S   S  S  V  S   Y  M  N   W  Y  Q   Q  K  S  G
```

aCD3 VL

```
       261        271        281        291        301        311
ACAAGCCCCA AGCGGYGGAY CYACGAYACA AGCAAGGYGG CCAGCGGCGY GCCCYACAGA
  T  S  P   K  R  W   I  Y  D  T   S  K  V   A  S  G   V  P  Y  R
```

aCD3 VL

```
       321        331        341        351        361        371
YYYYCYGGCY CYGGCAGCGG CACCAGCYAC AGCCYGACAA YCAGCAGCAY GGAAGCCGAG
  F  S  G   S  G  S   G  T  S  Y   S  L  T   I  S  S   M  E  A  E
```

aCD3 VL

```
       381        391        401        411        421        431
GAYGCCGCCA CCYACYACYG CCAGCAGYGG YCCAGCAAYC CCCYGACAYY YGGAGCCGGC
  D  A  A   T  Y  Y   C  Q  Q  W   S  S  N   P  L  T   F  G  A  G
```

aCD3 VL

```
       441      449
ACCAAGCYGG AACYGAAG
  T  K  L   E  L  K
```

aCD3 VL

```
       459        469        479        489        499        509
CGGACAGYYG CCGCYCCYAG CGYGYYCAYC YYCCCACCYY CCGACGAGCA GCYGAAGYCY
  R  T  V   A  A  P   S  V  F  I   F  P  P   S  D  E   Q  L  K  S
```

C L

```
       519        529        539        549        559        569
GGAACAGCCA GCGYCGYGYG CCYGCYGAAC AACYYCYACC CYCGGGAAGC CAAGGYGCAG
```

G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q

C L

579 589 599 609 619 629

YGGAAGGYGG ACAAYGCCCY CCAGYCCGGC AACAGCCAAG AGAGCGYGAC CGAGCAGGAC

W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D

C L

639 649 659 669 679 689

AGCAAGGACY CCACCYAYAG CCYGAGCAGC ACCCYGACAC YGAGCAAGGC CGACYACGAG

S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E

C L

699 709 719 729 739 749

AAACACAAGG YGYACGCCYG CGAAGYGACC CACCAGGGAC YGYCYAGCCC YGYGACCAAG

K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K

C L

759 769 770

AGCYYCAACA GAGGCGAGYG Y

S F N R G E C

780 788

GAYGYGCCYG GCGGCYCY

D V P G G S

連接子

798 808 818 828 838 848

GAAGYYCAGC YCCAGCAGYC YGGACCCGAG CYGGYYAAGC CYGGCGCCYC CAYGAAGAYC

E V Q L Q Q S G P E L V K P G A S M K I

aCLDN6 VH

858 868 878 888 898 908

YCYYGCAAGG CCYCCGGCYA CAGCYYCACC GGCYACACCA YGAAYYGGGY CAAGCAGAGC

S C K A S G Y S F T G Y T M N W V K Q S

aCLDN6 VH

918 928 938 948 958 968

CACGGCAAGY GCCYGGAAYG GAYCGGCCYG AYCAACCCCY ACAACGGCGG CACAAYCYAC

H G K C L E W I G L I N P Y N G G T I Y

aCLDN6 VH

978 988 998 1008 1018 1028

AACCAGAAGY YCAAGGGCAA AGCCACACYG ACCGYGGACA AGAGCAGCAG CACCGCCYAY

N Q K F K G K A T L T V D K S S S T A Y

aCLDN6 VH

1038 1048 1058 1068 1078 1088

AYGGAACYGC YGAGCCYGAC CAGCGAGGAC YCCGCCGYGY ACYACYGCGC CAGAGAYYAC

M E L L S L T S E D S A V Y Y C A R D Y

aCLDN6 VH

1098 1108 1118 1128 1138 1139

GGCYYCGYGC YGGACYAYYG GGGCCAGGGA ACAACCCYGA CAGYGYCYAG C

G F V L D Y W G Q G T T L T V S S

aCLDN6 VH

1149 1159 1169 1179 1189 1199

GGAGGCGGAG GAYCYGGYGG CGGAGGAAGY GGCGGAGGCG GYYCYGGCGG YGGYGGAYCY

G G G G S G G G G S G G G G S G G G S

連接子

1209 1219 1229 1239 1249 1259

CAAAYYGYCC YGACYCAGYC CCCYAGCAYC AYGAGCGYGY CACCCGGGGA GAAAGYGACA

Q I V L T Q S P S I M S V S P G E K V T

aCLDN6 VL

1269 1279 1289 1299 1309 1319

AYCACCYGYY CCGCCAGCYC CYCCGYGYCC YACAYGCACY GGYYCCAGCA GAAGCCCGGC

I T C S A S S S V S Y M H W F Q Q K P G

aCLDN6 VL

1329 1339 1349 1359 1369 1379

ACCYCCCCCA AGCYGYCCAY CYACYCCACC YCCAACCYGG CCYCCGGCGY GCCCGCCAGA

T S P K L S I Y S T S N L A S G V P A R

aCLDN6 VL

1389 1399 1409 1419 1429 1439

YYCYCYGGCA GAGGCYCCGG CACCAGCYAC YCCCYGACCA YCYCYAGAGY GGCCGCCGAG

F S G R G S G T S Y S L T I S R V A A E

aCLDN6 VL

1449 1459 1469 1479 1489 1499

GACGCYGCCA CAYAYYAYYG YCAGCAGCGG AGCAACYACC CYCCYYGGAC CYYYGGCYGC

D A A T Y Y C Q Q R S N Y P P W T F G C

aCLDN6 VL

1509 1519 1526

GGAACAAAGC YGGAAAYCAA GYGAYGA

*G T K L E I K * *

aCLDN6 VL

1536 1546 1556 1566 1576 1586

GGAYCCGAYC YGGYACYGCA YGCACGCAAY GCYAGCYGCC CCYYYCCCGY CCYGGGYACC

FI 元素

1596 1606 1616 1626 1636 1646

CCGAGYCYCC CCCGACCYCG GGYCCCAGGY AYGCYCCCAC CYCCACCYGC CCCACYCACC

FI 元素

1656 1666 1676 1686 1696 1706

ACCYCYGCYA GYYCCAGACA CCYCCCAAGC ACGCAGCAAY GCAGCYCAAA ACGCYYAGCC

FI 元素

1716 1726 1736 1746 1756 1766

YAGCCACACC CCCACGGGAA ACAGCAGYGA YYAACCYYYA GCAAYAAACG AAAGYYYAAC

FI元素

1776 1786 1796 1806 1816 1824

YAAGCYAYAC YAACCCCAGG GYYGGYCAAY YYCGYGCCAG CCACACCCYC GAGCYAGC

FI元素

1834 1844 1854 1864 1874 1884

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA GCAYAYGACY AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

1894 1904 1914 1924 1934

AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

聚(A)

[0498] 在典實施例中，本文所說明第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5。在典實施例中，本文所說明第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7。

[0499] 本文所說明 RNA 較佳係調配成脂質奈米粒子(LNP)。在典實施例中，LNP 包含陽離子性脂質、中性脂質、類固醇、柴合物接合脂質；及 RNA。在典實施例中，陽離子性脂質為 ALC-0366，中性脂質為 DSPC，類固醇為膽固醇，及柴合物接合脂質為 ALC-0159。較佳投藥模式為靜脈內投藥。

[0500] 在典實施例中，藥物產品包含如下示之組份

脂質	分子量	化學名稱與結構式
ALC-0366	724 Da	((3-羥丙基)氮烷二基)雙(十烷-9,1-二基)雙(2-丁基辛酸酯)
ALC-0159	~2400–2600 Da	2-[(柴乙二醇)-2000]-*N*,*N*-二-十四烷基乙醯胺
DSPC	790 Da	1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油基-3-磷酸膽鹼
膽固醇	387 Da	膽固-5-烯-3β-醇

【0501】 有些實施例中，藥物產品包含如下示之組份，較佳係依以下所示之比例或濃度：

組份	品質標準	功能	濃度(mg/mL)
BNT142 DS	自製	活性物	1.00
ALC-0366	自製	功能性脂質	10.64
ALC-0159	自製	功能性脂質	1.35
DSPC	自製	結構性脂質	2.43
膽固醇，合成性	Ph. Eur.	結構性脂質	4.96
蔗糖	USP-NF/Ph. Eur.	冷凍保護劑	102.69
NaCl	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	6.00
KCl	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	0.15
Na_2HPO_4	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	1.08
KH_2PO_4	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	0.15
注射用水	Ph. Eur.	溶劑/媒劑	q.s.

ALC-0366，((3-羥丙基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基)雙(2-丁基辛酸酯)；ALC-0159，2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺；DSPC = 1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油基-3-磷酸膽鹼；DS = 藥物；Ph. Eur. =歐洲藥典(Pharmacopoea Europaea)；q.s. = 足夠量(quantum satis)(儘可能足夠)；USP-NF = 美國藥典(United States Pharmacopeia and National Formulary)。

【0502】 有些實施例中，mRNA對總脂質(N/P)之比例為6.0至6.5之間(如：約6.0或約6.3。

醫藥組成物

【0503】 本文所說明製劑可呈醫藥組成物或醫藥投與，且可呈任何合適醫藥組成物型式投藥。

【0504】 有些實施例中，若醫藥組成物包含本文所說明第一RNA及第二RNA時，此等第一RNA及第二RNA之含量可為莫耳比例約3：1至約1：3，或有些實施例中，莫耳比例為約2：1至約1：2，或有些實施例中，莫耳比例為

約 1.5：1 至約 1：1.5。有些實施例中，此等第一 RNA 及第二 RNA 之含量可為莫耳比例約 3：1 至約 1：1，或有些實施例中，莫耳比例為約 2：1 至約 1：1，或有些實施例中，莫耳比例為約 1.5：1。

【0505】 有些實施例中，若醫藥組成物包含本文所說明第一 RNA 及第二 RNA 時，此等第一 RNA 及第二 RNA 之含量重量比(w/w)可為約 3:1 至約 1:3，或有些實施例中，(w/w)比為約 2：1 至約 1：2，或有些實施例中，(w/w)比為約 1.5:1 至約 1:1.5。有些實施例中，此等第一 RNA 及第二 RNA 之含量重量比(w/w)可為約 3：1 至約 1：1，或有些實施例中，(w/w)比為約 2：1 至約 1：1，或有些實施例中，(w/w)比為約 1.75：1 至約 1.25：1，或有些實施例中，(w/w)比為約 1.75：1 至約 1.5：1，或有些實施例中，(w/w)比為約 1.5：1 至約 1.25：1，或有些較佳實施例中，(w/w)比為約 1.5：1。

【0506】 有些實施例中，本文所說明醫藥組成物為供治療受試者癌症之組成物。

【0507】 本發明所有態樣之有些實施例中，本文所說明組份(如：編碼結合劑之 RNA)可呈可包含醫藥上可接受之載劑及可視需要包含一或多種佐劑、安定劑，等等之醫藥組成物投藥。有些實施例中，醫藥組成物係供醫療性或預防性處理，例如：用於治療或預防癌症。

【0508】 術語「醫藥組成物」係有關一種調配物，其包含醫療性有效劑，較佳係連同醫藥上可接受之載劑、稀釋劑及/或賦形劑。該醫藥組成物藉由對受試者投與該醫藥組成物，適用於治療、預防、或減輕疾病或疾患之嚴重性。相關技藝亦稱該醫藥組成物為醫藥調配物。

【0509】 根據本揭示醫藥組成物通常係依「醫藥有效量」及呈「醫藥上可接受之製劑」施用。

【0510】 術語 「醫藥上可接受」係指不會與醫藥組成物之活性組份交互作用之無毒性材料。

【0511】 術語 「醫藥有效量」或「醫療有效量」係指由單獨或連同其他劑量一起達到所需反應或所需效應時之量。治療特定疾病時，所需反應較佳係有關抑制疾病過程。此包含減慢疾病進程，特定言之干擾或逆轉疾病進程。治療疾病之所需反應亦可延遲該疾病或該病症發作或預防該疾病或該病症發作。

本文所說明組成物之有效量會隨所治療之病症、疾病之嚴重性、患者之個別參數而定，包括年齡、生理條件、體型大小及體重、治療時間期、併行療法(如果存在)之型態、明確之投藥途徑、及類似因子而定。因此，本文所說明投藥劑量可依各種不同此等參數而定。若患者使用初始劑量之反應不足時，可使用較高劑量(或可藉由不同之較局部之投藥途徑有效達成較高劑量)。

【0512】 有些實施例中，本文所說明醫藥組成物之各劑量或累進劑量可包含編碼 CLDN6-靶向結合劑之 RNA，含量為 0.05 μg/kg 或更高，例如：含量範圍為 0.05 μg/kg 至 5 mg/kg、或 0.05 μg/kg 至 500 μg/kg、或 0.5 μg/kg 至 500 μg/kg、或 1 μg/kg 至 50 μg/kg、或 5 μg/kg 至 150 μg/kg、或 15 μg/kg 至 150 μg/kg，其中 kg 係指接受治療之受試者體重(kg)。習此相關技藝者咸了解，由於本文所揭示結合劑包含兩種分別由分開 RNA 編碼的多肽，該所指定的量係有關編碼第一及第二多肽鏈之 RNA 之累積量。較佳係各劑量或累積劑量包含編碼第一及第二多肽鏈之 RNA 之混合物，總量為 5 μg/kg 至 150 μg/kg、或 15 μg/kg 至 150 μg/kg。

【0513】 有些實施例中，投與本文所說明醫藥組成物來遞送本文所說明編碼導向 CLDN6 之結合劑之 RNA(例如：mRNA)，以達到約 0.05 ng/mL 或更高之結合劑含量(例如：血漿含量及/或組織含量)。

【0514】 有些實施例中，投藥法可能涉及僅單一劑量。有些實施例中，投藥法可能涉及施加固定數量之劑量。有些實施例中，投藥法可能涉及間歇性(例如：分開時間的複數個劑量)及/或定期性(例如：依相同時間期分開個別劑量)投藥。有些實施例中，投藥法可能涉及連續投藥(例如：輸注)至少一段選定的時間期。

【0515】 有些實施例中，本文所說明醫藥組成物係依至少一或多個(包括例如：至少兩個、 至少三個、至少四個、至少五個、至少六個、至少七個、至少八個、或更多個)投藥週期投與罹患 CLDN6 陽性癌症(例如：CLDN6 陽性實體腫瘤)之受試者。有些實施例中，每一個投藥週期可為三週投藥週期。有些實施例中，本文所說明醫藥組成物係每個投藥週期投與至少一個劑量。有些實施例中，投藥週期涉及投與一組數量及/或型態的劑量；有些實施例中，投藥週期涉及投與一組累積劑量，例如：歷時一段特定時間，及可視需要藉由多重劑量，可能例如：依設定間隔及/或依據設定型態投藥。

【0516】 彼等習此相關技藝者咸了解癌症醫療經常依投藥週期投與。有些實施例中，本文所說明醫藥組成物係投與一或多個投藥週期。

【0517】 有些實施例中，一個投藥週期為至少 3 天或更多天(包括例如：至少 4 天、至少 5 天、至少 6 天、至少 7 天、至少 8 天、至少 9 天、至少 10 天、至少 11 天、至少 12 天、至少 13 天、至少 14 天、至少 15 天、至少 16 天、至少 17 天、至少 18 天、至少 19 天、至少 20 天、至少 21 天、至少 22 天、至少 23 天、至少 24 天、至少 25 天、至少 26 天、至少 27 天、至少 28 天、至少 29 天、至少 30 天)。

【0518】 有些實施例中，一個投藥週期可能涉及多重劑量，例如：根據一種型態，諸如例如：在一個週期內每天投與一個劑量，或在一個週期內每 2 天、每 3 天、每 4 天、每 5 天、每 6 天、每 7 天投與一個劑量。

【0519】 有些實施例中，可能投與多個週期。例如：有些實施例中，可投與至少 2 個週期(包括例如：至少 3 個週期、至少 4 個週期、至少 5 個週期、至少 6 個週期、至少 7 個週期、至少 8 個週期、至少 9 個週期、至少 10 個週期、或更多個週期)。有些實施例中，可投與至少 3-8 個投藥週期。

【0520】 有些實施例中，週期之間可以有「停藥期」；有些實施例中，週期之間可能沒有停藥期。有些實施例中，有時候週期之間可能有停藥期及有時候週期之間沒有停藥期。

【0521】 本揭示醫藥組成物可包含鹽類、緩衝劑、防腐劑，及可視需要包含其他醫療劑。有些實施例中，本揭示醫藥組成物包含一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑及/或賦形劑。

【0522】 適用於本揭示醫藥組成物中之防腐劑包括(但不限於)：氯化烷基二甲基苄基銨(benzalkonium chloride)、氯丁醇、對羥基苯甲酸酯(paraben)及硫柳汞(thimerosal)。

【0523】 本文所採用術語「賦形劑」係指可存在於本揭示醫藥組成物中，但不為活性成份之物質。賦形劑實例包括(但不限於)：載劑、結合劑、稀釋劑、潤滑劑、增稠劑、表面活性劑、防腐劑、安定劑、乳化劑、緩衝劑、調味劑、或著色劑。

【0524】 術語「稀釋劑」係有關一種稀釋及/或降黏劑(thinning agent)。此外，術語「稀釋劑」包括任何一或多種流體、液體或固體懸浮液及/或混合介質。合適稀釋劑實例包括乙醇、甘油及水。

【0525】 術語「載劑」係指可讓活性組份在其中組合，以促進、加強或得以投與醫藥組成物之天然、合成、有機、無機之組份。本文所採用載劑可為適合投與受試者之一或多種相容性固體或液體填料、稀釋劑或包埋物質。合適載劑包括(但不限於)：無菌水、林格氏液(Ringer)、乳酸化林格氏液、無菌氯化納溶液、等滲性生理鹽水、聚伸烷基二醇類、氫化萘及特定言之，生物可相容丙交酯聚合物、丙交酯/乙交酯共聚物或聚氧伸乙基/聚氧-伸丙基共聚物。有些實施例中，本揭示醫藥組成物包括等滲性生理鹽水。

【0526】 醫療用之醫藥上可接受之載劑、賦形劑或稀釋劑係相關醫藥技藝習知者，及說明於例如：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro 編輯，1985)。

【0527】 醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑可依計畫投藥途徑及標準醫藥操作選擇。

【0528】 有些實施例中，本文所說明醫藥組成物可能進一步包含一或多種添加劑，例如：有些實施例中，其等可在某些條件下加強此等組成物之穩定性。例如：有些實施例中，醫藥組成物可進一步包含冷凍保護劑(例如：蔗糖)及/或水性緩衝溶液，其可在有些實施例中，包括一或多種鹽類(例如：鈉鹽)。

【0529】 有些實施例中，本文所說明醫藥組成物可經靜脈內、動脈內、皮下、皮內、或肌內投藥。有些實施例中，醫藥組成物係調配成供局部投藥或全身投藥。全身投藥可包括經腸投藥，其涉及透過胃腸道吸收，或非經腸式投藥。本文所採用「非經腸式投藥」係指透過胃腸道以外之任何方式投藥，如：靜脈內注射。有些實施例中，醫藥組成物係調配供全身投藥，例如：靜脈內投藥。

【0530】 本文所採用術語「共同投藥」意指讓不同化合物或組成物投與同一位患者之過程。不同化合物或組成物可以依基本上相同時間同時投藥或可依序投藥。

本文所說明製劑及治療之效應

【0531】 本文所說明治療法可在標靶細胞上產生免疫效應子功能，例如：T 細胞介導之效應子功能，其可造成殺死標靶細胞。有些實施例中，本發明內容中之效應子功能包含活化細胞毒性 CD4+ 及/或 CD8+ 淋巴細胞(CTL)及例如：經由細胞凋亡或穿孔素(perforin)介導之細胞凋亡及細胞溶解來消除標靶細胞(亦即特徵在於表現抗原(亦即 CLDN6)之細胞)、產生細胞激素(如：IFN-γ 及 TNF-α)、及表現抗原之標靶細胞之特異性細胞毒性。

【0532】 細胞毒性淋巴細胞在活化時可啟動破壞標靶細胞。例如：細胞毒性 T 細胞可藉由以下一或兩種方式啟動破壞標靶細胞。首先，T 細胞在活化時會釋放細胞毒素，如：穿孔素、顆粒酶(granzyme)、及顆粒溶素(granulysin)。穿孔素及顆粒溶素在標靶細胞中產生孔洞，讓顆粒酶進入細胞並在細胞質中啟動凋亡蛋白酶(caspase)級聯反應，誘發細胞之細胞凋亡(進程式細胞死亡)。其次，可經由 T 細胞與標靶細胞之間之 Fas-Fas 配體交互作用誘發細胞凋亡。

【0533】 有些實施例中，本文所說明結合劑包含兩個對癌細胞所表現之 CLDN6 具有特異性之結合結構域及一個對 T 細胞所表現之 CD3 具有特異性之結合結構域，使表現 CD3 之 T 細胞之細胞毒性靶向表現 CLDN6 之癌細胞。有些實施例中，結合劑結合至 T 細胞上之 CD3，造成 T 細胞增生及/或活化。有些實施例中，T 細胞釋放細胞毒性因子，例如：穿孔素及顆粒酶，及引發癌細胞之細胞溶解及細胞凋亡。有些實施例中，結合劑誘發 T 細胞所介導對抗表現 CLDN6 之癌細胞之細胞毒性。有些實施例中，結合劑引發本文所說明免疫效應子功能。有些實施例中，該免疫效應子功能係對抗在其表面上帶有腫瘤相關抗原 CLDN6 之細胞。

【0534】 有些實施例中，癌細胞係來自選自以下各物所組成群中之癌症：膀胱癌、卵巢癌(特定言之卵巢腺癌瘤及卵巢畸胎癌)、肺癌(包括小細胞肺癌(SCLC)及非小細胞肺癌(NSCLC)，特定言之鱗狀細胞肺癌瘤及腺癌瘤或非鱗狀型非小細胞肺癌(NSCLC))、胃癌、乳癌、肝癌、胰臟癌、皮膚癌(特定言之基底細胞癌瘤及鱗狀細胞癌瘤)、惡性黑色素瘤、頭頸癌症(特定言之惡性多形性腺瘤)、肉瘤(特定言之滑膜肉瘤及癌肉瘤)、膽管癌、膀胱癌症(特定言之移行細胞癌瘤及乳突癌瘤)、腎臟癌(特定言之腎細胞癌瘤，包括透明細胞腎細胞癌瘤及乳突腎

細胞癌瘤)、結腸癌、小腸癌(包括迴腸之癌症，特定言之小腸腺癌瘤及迴腸之腺癌瘤)、睪丸胚胎性癌瘤、胎盤絨毛膜癌、子宮頸癌、睪丸癌(特定言之睪丸精原細胞癌、睪丸畸胎瘤及胚胎性睪丸癌)、子宮癌、生殖細胞腫瘤(如：畸胎癌或胚胎性癌瘤，特定言之睾丸之生殖細胞腫瘤)，及其轉移型。

【0535】 本文所採用「免疫反應」係指對抗原或表現抗原之細胞之整體身體反應，且指細胞免疫反應及/或體液免疫反應。免疫系統分成脊椎動物之第一線先天免疫系統及後天或適應性免疫系統，其分別包含體液及細胞組份。

【0536】 「細胞介導之免疫性」、「細胞免疫性」、「細胞免疫反應」、或類似術語意指包括針對特徵在於表現抗原，特定言之特徵在於呈現具有 I 類或 II 類 MHC 之抗原之細胞的細胞反應。細胞反應係有關一種免疫效應子細胞，特定言之稱為 T 細胞或 T 淋巴細胞之細胞，其係「助手」或「殺手」。助手 T 細胞(亦稱為 CD4+ T 細胞)在調節免疫反應上扮演中心角色，及殺手細胞(亦稱為細胞毒性 T 細胞、細胞溶解性 T 細胞)會殺死患病細胞(如：感染病毒之細胞)，防止產生更多患病細胞。

【0537】 本發明內容中之術語「免疫效應子細胞」或「免疫反應性細胞」係有關一種在免疫反應期間具有效應子功能之細胞。例如：免疫效應子細胞包含 T 細胞(細胞毒性 T 細胞、助手 T 細胞、腫瘤浸潤 T 細胞)、B 細胞、天然殺手細胞、嗜中性球、巨噬細胞、及樹突細胞。本發明內容中，「免疫效應子細胞」較佳係 T 細胞，較佳係 CD4+ 及/或 CD8+ T 細胞，最佳係 CD8+ T 細胞。根據本發明，術語「免疫效應子細胞」亦包括可以成熟成為具有合適刺激性之免疫細胞之細胞(如： T 細胞，特定言之 T 助手細胞、或細胞溶解性 T 細胞)。免疫效應子細胞包含 CD34+造血幹細胞、未成熟與成熟 T 細胞，及未成熟與成熟 B 細胞。T 細胞前驅體當曝露到抗原時，則類似免疫系統之株落選擇(clonal selection)，會分化形成細胞溶解性 T 細胞。

【0538】 術語「T 細胞」及「T 淋巴細胞」在本文中可交換使用，且包括(但不限於)：T 助手細胞(CD4+ T 細胞)及細胞毒性 T 細胞(CTL)，其包含細胞溶解性 T 細胞。

【0539】 T 細胞屬於一群稱為淋巴細胞之白血球細胞，在細胞介導之免疫性中扮演中心角色。其等可藉由其細胞表面上之特定受體(稱為 T 細胞受體(TCR))

來與其他淋巴細胞型態(如：B 細胞及天然殺手細胞)區分。胸腺為負責 T 細胞成熟之主要器官。已發現數種不同 T 細胞子群，分別具有獨立功能。

【0540】 T 助手細胞在免疫過程中協助其他白血球細胞，其中特別包括讓 B 細胞成熟成為漿細胞及活化細胞毒性 T 細胞與巨噬細胞等功能。此等細胞亦稱為 CD4+ T 細胞，因為其等在其表面上表現 CD4 醣蛋白。當助手 T 細胞呈遞表現在抗原呈現細胞(APC)表面上之第 II 類 MHC 分子肽抗原時，即變成活化。一旦活化，其等快速分裂及分泌稱為細胞激素之小型蛋白質，會調節或協助活性免疫反應。

【0541】 細胞毒性 T 細胞破壞感染病毒之細胞及腫瘤細胞，亦涉及移植排斥。此等細胞亦稱為 CD8+ T 細胞，因為其等在其表面上表現 CD8 醣蛋白。此等細胞藉由結合至與呈現在幾乎每一個身體細胞表面上之第 I 類 MHC 關聯之抗原來辨識其標靶。

【0542】 大多數 T 細胞具有 T 細胞受體(TCR)，其係呈數種蛋白質之複合物。T 細胞之 TCR 可以與已結合主要組織相容性複合物(MHC)分子且呈現在標靶細胞表面上之免疫原性肽(表位)交互作用。TCR 之特異性結合在 T 細胞內啟動訊號級聯反應，造成增生及分化成為成熟效應子 T 細胞。實際之 T 細胞受體係由兩條分開肽鏈構成，其等係由獨立之 T 細胞受體 α 及 β (TCRα 及 TCRβ)基因產生，且稱為 α-及 β-TCR 鏈。γδ T 細胞(gamma delta T 細胞)代表一小組 T 細胞，其在其等表面上具有獨立之 T 細胞受體(TCR)。然而，在 γδ T 細胞中，TCR 係由一個 γ-鏈及一個 δ-鏈構成。這群 T 細胞遠比 αβ T 細胞更少見(佔總 T 細胞之 2%)。

【0543】 「體液免疫性」或「體液免疫反應」係免疫性受到存在於胞外流體中之大分子(如：分泌之抗體、補體蛋白質、及某些抗微生物肽)介導之態樣。其與細胞介導之免疫性相反。其涉及抗體之態樣經常稱為抗體介導之免疫性。

【0544】 術語「巨噬細胞」係指由單核球分化產生之吞噬細胞子群。被發炎、免疫細胞激素或微生物產物活化之巨噬細胞會無特異性地吞噬及殺死外來病原菌，其在巨噬細胞內藉由水解及氧化性攻擊，造成病原菌降解。來自降解蛋白質之肽會展現在巨噬細胞細胞表面，在此被 T 細胞辨識，其等即可直接與 B

細胞表面上之抗體交互作用，造成 T 及 B 細胞活化及進一步刺激免疫反應。巨噬細胞屬於抗原呈現細胞類。有些實施例中，巨噬細胞為脾臟巨噬細胞。

【0545】 術語「樹突細胞」(DC)係指屬於抗原呈現細胞類之吞噬細胞的另一種亞型。有些實施例中，樹突細胞衍生自造血性骨髓祖細胞。此等祖細胞先轉化成未成熟樹突細胞。此等未成熟細胞之特徵在於高度吞噬細胞活性及低度 T 細胞活化潛力。未成熟樹突細胞持續探索周圍環境的病原菌(如：病毒及細菌)。一旦接觸到可呈現之抗原，其等即變得活化成為成熟樹突細胞，並開始移動至脾臟或淋巴結。未成熟樹突細胞會吞噬病原菌並降解其蛋白質成為小片，並在成熟時利用 MHC 分子將彼等片段呈現在其等細胞表面上。同時，其等上調細胞表面受體，其作為 T 細胞活化之共受體(如：CD80、CD86、及 CD40)，大幅加強其活化 T 細胞之能力。其等亦上調 CCR7，係一種誘發樹突細胞透過血流移動至脾臟或透過淋巴系統移動至淋巴結之趨化性受體。此時其等之作用為抗原呈現細胞，並藉由為其等呈現抗原，連同非抗原特異性共同刺激訊號，來活化助手 T 細胞與殺手 T 細胞及 B 細胞。因此樹突細胞可以活性誘發 T 細胞-或 B 細胞相關免疫反應。有些實施例中，樹突細胞為脾臟樹突細胞。

【0546】 術語「抗原呈現細胞」(APC)為多種不同可以在其細胞表面(或表面上)展現、取得、及/或呈現至少一種抗原或抗原片段之細胞。抗原呈現細胞可區分為專職抗原呈現細胞及非專職抗原呈現細胞。

【0547】 術語「專職抗原呈現細胞」係有關一種連續表現第 II 類主要組織相容性複合物(Major Histocompatibility Complex class II，第 II 類 MHC)分子之抗原呈現細胞，該分子係與原始 T 細胞交互作用時所必需。若 T 細胞與抗原呈現細胞之膜上第 II 類 MHC 分子複合物交互作用時，抗原呈現細胞會產生共刺激分子來誘發 T 細胞活化。專職抗原呈現細胞包含樹突細胞及巨噬細胞。

【0548】 術語「非專職抗原呈現細胞」係有關一種不會連續表現第 II 類 MHC 分子，但會受到諸如：干擾素 γ 等某些細胞激素刺激之抗原呈現細胞。非專職抗原呈現細胞實例包括纖維母細胞、胸腺上皮細胞、甲狀腺上皮細胞、神經膠質細胞、胰臟 β 細胞或血管內皮細胞。

【0549】 「抗原處理」係指抗原降解成產物之過程，該等產物係該抗原之片段(例如：蛋白質降解成肽)及一或多個此等片段(例如：藉由結合性)與 MHC 分子聯結供細胞呈現，如：由抗原呈現細胞呈遞給特異性 T 細胞。

【0550】 本文所採用「活化」或「刺激」係指諸如：T 細胞之免疫效應細胞之狀態已被充份刺激來誘發可檢測之細胞增生。活化亦可能與啟動訊號傳導途徑、誘發細胞激素產生、及可檢測之效應子功能相關。術語「活化之免疫效應子細胞」特別指正在進行細胞分裂之免疫效應子細胞。

【0551】 術語「促發」係指其中諸如：T 細胞之免疫效應子細胞第一次接觸其特異性抗原並造成分化成諸如：效應子 T 細胞之效應子細胞的過程。

【0552】 術語「株落擴張(clonal expansion)」或「擴張」係指其中特定實體倍增的過程。本揭示內容中，該術語較佳係用在免疫反應內容中，其中免疫效應子細胞受到刺激、增生，及使免疫效應子細胞擴增。較佳係株落擴張會造成免疫效應子細胞分化。

治療

【0553】 本發明提供一種為受試者治療或預防本文所說明疾病或疾患之方法及製劑，特定言之，與 CLDN6 之表現相關之疾病，如：CLDN6 陽性之癌症。本文所說明方法可包括投與有效量之包含編碼本文所說明結合劑之 RNA 之組成物。

【0554】 術語「與表現相關之疾病」當指抗原時，係指任何涉及抗原之疾病，例如：特徵在於有抗原存在之疾病。抗原可能為疾病相關抗原，如：腫瘤相關抗原，例如：CLDN6。有些實施例中，與抗原表現相關之疾病為涉及較佳在細胞表面上表現抗原之細胞之疾病。

【0555】 本發明醫療性化合物或組成物可以預防性投藥(亦即預防疾病或疾患)或醫療性投藥(亦即治療疾病或疾患)給已罹患疾病或疾患或處於(或容易)發展出疾病或疾患風險之受試者。此等受試者可以採用標準臨床方法判別。本發明內容中，預防性投藥係在出現疾病之明顯臨床症狀之前進行，以便預防疾病或疾患或者延緩其進展。醫學領域的內容中，術語「預防」涵括任何可以降低因疾病造成之死亡率或罹病率負擔之活性。可以在初級、二級及三級預防階

段進行預防。雖然初級預防可以避免疾病發展，但二級及三級階段的預防涵括目標在於預防疾病演進及症狀出現之活性，並藉由恢復功能及減少疾病相關併發症來降低已確立之疾病之負面衝擊 。

【0556】 有些實施例中，本發明製劑或組成物之投藥可以執行單一投藥或追加多次投藥。

【0557】 術語「疾病」係指影響個體身體之異常病症。疾病經常理解為與特定症狀及病癥相關之醫學病症。疾病可能由起源於外在來源之因素引起，如：感染性疾病，或其可由內在功能失常引起，如：自體免疫疾病。人類中，「疾病」經常更廣泛用於指會造成患病個體疼痛、功能失常、沮喪、社交問題、或死亡，或與個體接觸時造成類似問題之任何病症。廣義而言，其有時候包括傷害、失能、疾患、症候群、感染、單一症狀、行為偏差、及結構與功能之非典型變化，而在其他內容中及針對其他目的，此等可視為可區分之類別。疾病對個體之影響通常不僅身體上，而且為情感上，因為染上許多疾病及共存會改變個人的生命發展及人格。

【0558】 本文所採用術語「疾病」包括癌症，特定言之本文所說明彼等癌症型式。本文中提及之任何癌症或特定癌症型式亦包括其癌症轉移。有些實施例中，根據本申請案所治療之疾病為與表現 CLDN6 之細胞相關者。

【0559】 根據本發明「與表現 CLDN6 之細胞相關之疾病」或類似說法意指 CLDN6 表現在患病之組織或器官之細胞上。有些實施例中，患病之組織或器官之細胞之 CLDN6 表現比健康組織或器官狀態之表現增加。增加係指增加至少 10%，特定言之至少 20%、至少 50%、至少 100%、至少 200%、至少 500%、至少 1,000%、至少 10,000%或甚至更多。有些實施例中，該表現僅出現在患病組織中，而健康組織中之表現則被壓制。根據本發明，與表現 CLDN6 之細胞相關之疾病包括癌症疾病。此外，根據本發明，癌症疾病較佳係彼等其中癌細胞表現 CLDN6 者。

【0560】 本文所採用「癌症疾病」或「癌症」包括特徵在於細胞生長、增生、分化、附著及/或移動之調節異常之疾病。「癌細胞」意指不正常的細胞快速生長、失控的細胞增生、及在引發新生長的刺激停止後仍持續生長。較佳係

「癌症疾病」之特徵在於表現 CLDN6 之細胞及表現 CLDN6 之癌細胞。表現 CLDN6 之細胞較佳係癌細胞，較佳係本文所說明癌症之細胞。

【0561】 根據本發明術語「癌症」包括白血病、精原細胞癌、黑色素瘤、畸胎瘤、淋巴瘤、神經母細胞瘤、神經膠質瘤、直腸癌、子宮內膜癌、腎臟癌、腎上腺癌、甲狀腺癌、血癌、皮膚癌、腦部癌症、子宮頸癌、腸(intestinal)癌、肝癌、結腸癌、胃臟癌症、腸部(intestine)癌症、頭頸癌、胃腸癌、淋巴結癌症、食道癌、結腸直腸癌、胰臟癌、耳鼻喉部(ENT)癌症、乳癌、攝護腺癌、子宮之癌症、卵巢癌、及肺癌，及其轉移。其實例為肺癌瘤、乳房癌瘤、攝護腺癌瘤、結腸癌瘤、腎細胞癌瘤、子宮頸癌瘤、或上述癌症型態或腫瘤之轉移。根據本發明術語癌症亦包括癌症轉移。

【0562】 根據本發明「癌瘤」為衍生自上皮細胞之惡性腫瘤 。這一群代表最常見的癌症，包括常見的乳癌、攝護腺癌、肺癌、及結腸癌。

【0563】 「腺癌瘤」為源於腺性組織之癌症。此組織亦為已知為上皮組織之較大組織分類的一部份。上皮組織包括皮膚、腺體、及襯在體腔及器官下面的其他多種不同組織。上皮在胚胎學上係衍生自外胚層、內胚層及中胚層。為了腺癌瘤之分類，該細胞不一定需要為腺體之一部份，只要其等具有分泌性質即可。這種癌瘤型式可能發生在有些較高等哺乳動物，包括人類。分化完全的腺癌瘤傾向於類似衍生該癌瘤但卻不一定分化不良之腺性組織。藉由活體組織切片之細胞染色，病理學家可以判斷該腫瘤是否為腺癌瘤或有些其他癌症型態。由於腺體在體內無所不在的性質，腺癌瘤會出現在身體許多組織中。雖然每種腺體不一定分泌相同物質，但只要有外分泌至細胞之功能，即被視為腺性，因此其惡性型稱為腺癌瘤。惡性腺癌瘤會侵襲其他組織，且經常有足夠的時間轉移。卵巢腺癌瘤為最常見的卵巢癌瘤型態。其包括漿液及黏液腺癌瘤、透明細胞腺癌瘤及子宮內膜樣腺癌瘤。

【0564】 「轉移」係指癌細胞從其原始位點擴散至另一個身體部位。轉移的形成為非常複雜的過程，且依惡性細胞從原發腫瘤脫離，入侵胞外基質，滲入內皮基底膜進入體腔及血管，然後在藉由血液運送後，浸潤標靶器官。最後，新腫瘤會依賴生成新血管，在標靶位點生長。甚至經常在移除原發腫瘤之後發生腫瘤轉移，因為腫瘤細胞或組份仍殘留並發展出轉移潛力。有些實施例中，

根據本發明術語「轉移」係有關一種「遠距轉移」，其係有關從原發腫瘤及該區域淋巴系統遙控的轉移。有些實施例中，根據本發明術語「轉移」係有關一種淋巴結轉移。其中一種可以採用本發明療法治療之特別轉移型式為從以胃癌為原發位點的轉移。較佳實施例中，此等胃癌轉移為克魯肯貝格腫瘤(Krukenberg tumor)、腹膜轉移及/或淋巴結轉移。

【0565】 本文所採用術語「不可切除的腫瘤」通常指特徵在於出現以下一或多種特色之腫瘤：根據超音波醫學判斷，認為其指示該腫瘤無法利用手術安全地(例如：在避免不當傷害該受試者下)移除，及/或以適格的醫師專業觀點決定對該受試者移除腫瘤的風險高於此等移除可得到的相關利益。有些實施例中，不可切除的腫瘤係指該腫瘤涉及及/或已生長進入必要器官或組織(包括可能無法重建之血管)及/或無法在避免對一或多種其他重要或必要器官及/或組織(包括血管)造成不合理傷害風險下輕易利用手術到達其所在位置。有些實施例中，腫瘤之「不可切除性」係指達成邊緣-陰性(R0)切除的可能性。胰臟癌內容中，主要血管被腫瘤包裹(如：上腸繫膜動脈(SMA)或腹腔動脈軸)、門靜脈阻塞、及出現腹部或腹部主動脈旁淋巴結病變則一般認知為排除 R0 手術結果。彼等習此相關技藝者咸了解決定腫瘤是否可以切除的參數。

【0566】 「標靶細胞」應指任何不期望之細胞(如：癌細胞)。較佳實施例中，標靶細胞表現 CLDN6。

【0567】 有些實施例中，CLDN6 陽性癌症包含 CLDN6 陽性晚期實體腫瘤。有些實施例中，CLDN6 陽性癌症係選自下列各物組成之群中：晚期/轉移性 CLDN6 陽性卵巢癌、非鱗狀型之非小細胞肺癌(NSCLC)、子宮內膜及睪丸癌症，特定言之針對彼等可能無法從標準療法獲得臨床利益者。有些實施例中，CLDN6 陽性癌症包括未另行指定(Not Otherwise Specified)(NOS)腫瘤，包括罕見腫瘤及未知原發性之癌症。可以測試此等癌症之 CLDN6 表現。

【0568】 有些實施例中，CLDN6 陽性癌症係選自下列各物組成之群中：膀胱癌症、卵巢癌症(特定言之卵巢腺癌瘤及卵巢畸胎癌)、肺癌症(包括小細胞肺癌(SCLC)及非小細胞肺癌(NSCLC)，特定言之鱗狀細胞肺癌瘤及腺癌瘤或非鱗狀型之非小細胞肺癌症(NSCLC))、胃癌、乳癌、肝癌、胰臟癌、皮膚癌(特定言之基底細胞癌瘤及鱗狀細胞癌瘤)、惡性黑色素瘤、頭頸癌(特定言之惡性多形

性腺瘤)、肉瘤(特定言之滑膜肉瘤及癌肉瘤)、膽管癌、膀胱之癌症(特定言之移行細胞癌瘤及乳突癌瘤)、腎臟癌(特定言之腎細胞癌瘤，包括透明細胞腎細胞癌瘤及乳突腎細胞癌瘤)、結腸癌、小腸癌(包括迴腸之癌症，特定言之小腸腺癌瘤及迴腸之腺癌瘤)、睪丸胚胎性癌瘤、胎盤絨毛膜癌、子宮頸癌、睪丸癌(特定言之睪丸精原細胞癌、睪丸畸胎瘤及胚胎性睪丸癌症)、子宮癌、生殖細胞腫瘤(如：畸胎癌或胚胎性癌瘤，特定言之睾丸之生殖細胞腫瘤)，及其轉移型。

【0569】 本內容中，術語「治療」、「處理」或「醫療性干預」係有關受試者之管理及照護，目的在於對抗病症(如：疾病或疾患)。該術語計畫包括針對該罹患特定病症之受試者之全方位處理，如：投與醫療性有效化合物，以減輕症狀或併發症，延緩疾病、疾患或病症演進，減輕或緩解症狀及併發症，及/或治癒或消除疾病、疾患或病症，及預防該病症，其中咸了解預防為管理及照護個體，目的在於對抗疾病、病症或疾患，且包括投與活性化合物，供預防症狀或併發症發作。

【0570】 術語「醫療性處理」係有關改善個體之健康狀態及/或延長(增加)壽命之任何處理。該處理可能消除個體之疾病、遏阻或減慢個體之疾病發展、抑制或減慢個體之疾病發展、降低個體中症狀之頻率或嚴重性、及/或降低目前患有或過去曾患有該疾病之個體之復發。

【0571】 術語「防治性處理」或「預防性處理」係有關計畫預防個體發生疾病之任何處理。術語「防治性處理」或「預防性處理」在本文中可交換使用。

【0572】 術語 「個體」及「受試者」在本文中可交換使用。其等係指已罹患或易罹患但不一定已患有疾病或疾患之人類或另一種哺乳動物(例如：小鼠、大鼠、兔、狗、貓、牛、豬、綿羊、馬、或靈長類)。許多實施例中，個體為人類。除非另有其他說明，否則術語「個體」及「受試者」不代表特年齡，因此涵括成人、老年人、兒童、及新生兒。本發明實施例中，「個體」或「受試者」為「患者」。

【0573】 術語 「患者」意指接受治療之個體或受試者，特定言之患病之個體或受試者。

【0574】 本文摘錄之文件及研究並無意承認任何上述說明為相關先前技術。此等文件內容之所有敘述係依據申請者可取得之資料，不構成任何承認此等文件內容之正確性。

【0575】 下文呈現之說明可以讓習此相關技藝者製造及使用各種不同實施例。明確裝置、技術、及應用之說明僅供舉例說明。彼等習此相關技藝者顯然很容易對本文所說明實例進行各種不同修飾，且本文所界定之一般原理均可在不偏離各種不同實施例之精神及範圍下應用在其他實例及應用。因此各種不同實施例並無意限制本文所說明及出示之實例，但符合申請專利範圍。

實例

實例 1： BNT142 之物理、化學及醫藥性質

藥物物質

【0576】 BNT142 藥物物質為一種 RNA 混合物，其編碼針對 CLDN6 及 CD3 之基於抗原結合性片段(Fab)-$(scFv)_2$之雙特異性抗體－或三價抗體－之重鏈(HC)及輕鏈(LC)，因此稱為 RiboMab02.1。RiboMab02.1 辨識 CLDN6 及 CD3ε(ε)鏈之構形表位。藥物物質之活性成份為兩條單股、5'-端帽、及 N1-甲基假尿苷修飾 RNA 之混合物，其等轉譯成個別蛋白質子單位，並在標靶細胞中形成完整雙特異性抗體。圖 1 出示蛋白質-編碼 RNA 之一般結構圖解，其係由用為活體外 RNA 轉錄之模板之線性化質體去氧核糖核酸(DNA)之個別核苷酸序列判定。除了編碼 HC 及 LC 之序列以外，每一個 RNA 包含經優化達最大效力之穩定性及轉譯效率之共通結構元素(5'-端帽、5'-無轉譯區[UTR]、3'-UTR、及聚[A]-尾)。

藥物產品

藥物產品說明

【0577】 該藥物產品為含在水性緩衝液中之無菌 RNA-LNP 勻散液，供 IV 投藥。藥物產品之製造涉及由 RNA 囊封在由特製化脂質組份構成之奈米規格脂質顆粒中。一旦在 LNP 中調配，RNA 藥物即受到保護免於在血清中降解。LNP 調配物可以讓 RNA 逃脫核內體隔室進入細胞胞質液，在此用於轉譯成功能性蛋白質。BNT142 藥物產品之組成物示於表 2。

表 2：BNT142 藥物產品之組成物

組份	品質標準	功能	濃度(mg/mL)
BNT142 DS	自製	活性	1.0
ALC-0366	自製	功能性脂質	10.64
ALC-0159	自製	功能性脂質	1.35
DSPC	自製	結構性脂質	2.43
膽固醇，合成性	Ph. Eur.	結構性脂質	4.96
蔗糖	USP-NF/Ph. Eur.	冷凍保護劑	102.69
NaCl	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	6.00
KCl	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	0.15
Na_2HPO_4	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	1.08
KH_2PO_4	USP-NF/Ph. Eur.	緩衝劑	0.15
注射用水	Ph. Eur.	溶劑/媒劑	q.s.

ALC-0366，((3-羥丙基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基) 雙(2-丁基辛酸酯)；

ALC-0159，2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺；

DSPC = 1,2-二硬脂醯基-*sn*-甘油基-3-磷酸膽鹼；DS = 藥物；Ph. Eur. =歐洲藥典；q.s. =足夠的量(quantum satis)(儘可能足夠)；USP-NF = 美國藥典(United States Pharmacopeia and National Formulary)。

【0578】 藥物產品之 pH 及滲透壓通常分別在 pH 6.9 至 7.9 及 425 至 625 mOsmol/kg 之範圍內。由動態光散射(DLS)量測之 LNP 顆粒大小在約 50 至 100 nm 之範圍內，多分散性指數小於或等於 0.2。已選擇藥物產品之顆粒大小來優化其到達標靶組織、其藥物承載容量、及產物安全性之能力。

【0579】 當被標靶細胞吸收時，編碼重鏈及輕鏈之 RNA 會轉譯成個別蛋白質，折疊，及組裝形成完整雙特異性抗體，隨後分泌。抗體經全身利用，藉由募集細胞毒性 T 細胞至腫瘤細胞及誘發標靶依賴性多株 T-細胞活化及腫瘤細胞溶解，而特異性作用在表現 CLDN6 之腫瘤細胞上。

【0580】 BNT142 藥物產品係呈供注射用之冷凍濃縮懸浮液提供，在單次使用之玻璃小瓶中包含 1 mg/mL 之 RNA(包含第一及第二 RNA，重量比為 1.5：1)調配成 RNA-LNP。解凍後，藥物產品係於自商品取得之等滲性 NaCl 溶液(0.9%)中稀釋，及使用連線濾器過濾。IMP 係藉由 IV 投藥法投與患者。

實例 2：非臨床試驗

【0581】 BNT142 非臨床組合包含初級 PD 試驗，其建立 RiboMab02.1 之概念驗證(proof-of-concept)，並分析作用模式(mode-of-action)；及二級 PD 試驗，其預測脫靶型態及探討 RiboMab02.1 之非特異性 T-細胞活化及細胞激素釋放。此外，於遵循 GLP 之試驗中研究 RiboMab02.1 中 CLDN6-結合部份之組織交叉反應性。雖然 BNT142 在技術上不屬於國際醫藥法規協和會(International Council for Harmonization)(ICH)之範圍，但仍然遵守指南 S6、S7A/B、及 S9，及 FDA 針對 CD3 結合性 T-細胞銜接子之建議。

【0582】 當分析藥物產品(RNA-LNP)之安全性態樣時，上述指南亦適用。此時，已在安全性藥理學及(免疫)毒性研究中採用平台策略(platform approach)。如上證實，RNA 平台及使用之 LNP 固有之安全性態樣大多不依賴 RNA 序列或長度，反而依賴 RNA 及/或 LNP 之劑量及型態。基於此原因，依 RNA-LNP 平台研究，執行單劑量及遵循 GLP 之重覆劑量毒性研究，包括安全性藥理學量測器(safety pharmacology readouts)。此等活體內研究除了包括免疫毒理學量測器外，亦於活體外探討藥物產品介導之免疫毒理學。

【0583】 PK 研究法探討產品之不同樣貌。首先，在不同物種中分析所編碼 RiboMab02.1 之 PK 型態特徵，闡明 BNT142 之劑量曝露。其次，分析平台性質，如：採用代理 RNA，分析 LNP 及蛋白質表現之生物分佈性 。此外，於活體外分析 ALC-0366 及 ALC-0159 之代謝作用，及亦於活體內，在來自研究之大鼠血漿、尿液、糞便、及肝樣本中分析 ALC-0159 之代謝作用，其亦分析此脂質之血漿及肝 PK 型態特徵。

2.1 非臨床藥理學

初級藥物效應動力學

【0584】 初級 PD 研究為彼等探討諸如：BNT142 藥物轉譯成蛋白質之效應及所編碼雙特異性蛋白質 RiboMab02.1 之所需作用模式與其醫療性標靶人類 CD3 及 CLDN6 之相關性之活體外及活體內研究。

RiboMab02.1 特異性結合至人類 CD3 及致癌胎兒蛋白抗原 CLDN6

【0585】 為了測定 RiboMab02.1 針對 CLDN6 及人類 CD3 之標靶特異性，採用含有經過 BNT142 轉染之 HEK-293T-17 生產細胞所表現 RiboMab02.1 之細胞培養上清液進行流式細胞計結合分析法。以人類周邊血液單核細胞(PBMC)作為 RiboMab02.1 CD3-結合組之標靶細胞，而以來自食蟹獼猴之 PBMC 作為物種對照。以為了穩定表現蛋白質而經過 CLDN6 轉導之 HEK-293T-17 細胞作為兩個 RiboMab02.1 CLDN6-結合組之標靶細胞。為了分析 RiboMab02.1 與極相關之密連蛋白 CLDN3、CLDN4 及 CLDN9 之交叉結合性，測試 RiboMab02.1 對分別異源性表現其中一種 CLDN 分子之 HEK-293T-17 穩定轉導物之結合性。RiboMab02.1 特異性結合 CLDN6，不結合 CLDN3、CLDN4 或 CLDN9。同樣地，RiboMab02.1 僅辨識人類 CD3，但不辨識類人猿 CD3(圖 2)。

活體內產生之 RiboMab02.1 介導劑量依賴性及標靶特異性腫瘤細胞溶解

【0586】 接受 BNT142 投藥之 Balb/cJRj 小鼠所產生 RiboMab02.1 之生物活性係在 T-細胞介導細胞毒性分析法中，離體分析細胞毒性潛力來評估。採用表現螢光素酶之細胞株執行基於生物發光度之細胞毒性分析法。以 CLDN6 陽性人類卵巢癌細胞株 PA-1 及 OV-90 來測定標靶依賴性細胞溶解效率，而採用標靶-陰性人類乳癌細胞株 MDA-MB-231 作為陰性對照，來確認標靶特異性細胞溶解性。從 8 位不同之健康供體取得人類 PBMC，用為反映人類 T-細胞反應之供體依賴性異源性之效應子細胞。根據標靶陽性細胞株之倍增時間，含 PA-1 之分析法係培養 24 h 及 OV-90 係 48 h。對照組亦依此培養。在 Balb/cJRj 小鼠中產生之 RiboMab02.1 可以有效地介導標靶特異性及劑量依賴性之細胞毒性，依供體 PBMC 之活性而定，PA-1 之 EC_{50} 值在 0.004 至 0.200 ng/mL 之範圍(0.04 至 2.00 pM)及 OV-90 細胞之 0.07 至 2.07 ng/mL 之範圍(0.7 至 20.7 pM)(分別為圖 3 A 及 B)。

【0587】 使用 CLDN6-陰性 MDA-MB-231 細胞株，含有 RiboMab02.1 之小鼠血清不會誘發標靶非依賴性(非特異性)細胞溶解(圖 3)。

活體外表現之 RiboMab02.1 造成劑量依賴性及標靶特異性 T-細胞增生

【0588】 使用 BNT142 或 RiboMab-編碼 RNA 對照物轉染 HEK-293T-17 生產細胞。採用含有 RiboMab02.1 或對照物 RiboMab (特異性針對不相關之 TAA)之上清液作為試驗項目。添加含兩種濃度(100 或 1 ng/mL)之 RiboMab 上清液至標記羧基螢光素琥珀醯亞胺基酯(CFSE)之人類 PBMC 與標靶-陽性或-陰性細胞之共同培養物中。以 PA-1 或 OV-90 作為 CLDN6 陽性，及以 MDA-MB-231 作為標靶-陰性細胞。進一步包括 CLDN6-陰性 NUGC-4 細胞(表現不相關 TAA)及在沒有任何標靶細胞存在下之 PBMC 作為特異性對照物。本分析法比較來自三位健康供體之 PBMC。培養 72 h 後，由流式細胞計分析 T 細胞，測定標靶依賴性增生。在 PA-1 細胞之存在下，由 100 ng/mL 及 1 ng/mL RiboMab02.1 分別誘發約 58 ± 2%及 44 ± 7% T-細胞增生，而採用 OV-90 細胞時，則誘發 24 ± 3%及 2 ± 3% T-細胞增生(圖 4)。反之，在 PBMC 與 NUGC-4 或 MDA-MB-231 細胞共培養時或在沒有任何標靶細胞存在時，均沒有觀察到 RiboMab02.1 驅動之 T-細胞增生(圖 4)。以人類 CD3-特異性抗體 OKT3 用為 T-細胞活化之陽性對照，在標靶細胞之存在及不存在下均造成強力活化。

RiboMab02.1 僅在遠超過 EC_{50} 之劑量下才引發標靶非依賴性 T-細胞活化

【0589】 為了測定 RiboMab02.1 之標靶特異性生物活性範圍，採用 T-細胞活化作為初級作用模式之量測器(readout)。從接受 BNT142 或編碼螢光素酶之 RNA-LNP (Luc_RNA-LNP；偽處理)投藥之小鼠取得含 RiboMab02.1 及偽處理物之血清樣本。採用來自三位健康供體之人類 PBMC 作為效應子細胞。血清樣本從 4,000 ng/mL 開始經過一系列稀釋(10 倍，10 個點)，及加至單獨培養之 PBMC 或與 CLDN6 陽性 PA-1 標靶細胞共同培養之 PBMC，效應子-對標靶細胞之比例為 10：1。 培養 48 h 後，採用流式細胞計，分別分析 T 細胞表面之早期及晚期活化標記物 CD69 及 CD25 之表現。來自高達 40 ng/mL RiboMab02.1 之任何供體之 PBMC 均沒有觀察到脫靶 T-細胞活化。兩種最高 RiboMab02.1 濃度 400 及

4,000 ng/mL造成脫靶T-細胞活化(高於背景值)，分別為2至6%及6至19%(圖5，左圖)。在標靶細胞存在下，測得所有三位供體之平均值 EC_{50} 值(圖5，右圖)為0.026 ng/mL (0.3 pM)。在有及沒有標靶細胞下，OKT3陽性對照組均造成>50%T-細胞活化(未出示數據)。對T細胞上CD69之上調高於CD25；CD25陽性細胞幾乎獨特地呈CD69雙重陽性，表示其早期活化狀態(未出示數據)。

【0590】 結論為RiboMab02.1介導T細胞之標靶依賴性活化之濃度高達 EC_{50} 值以上之>1,500倍。

在小鼠中靜脈內投與之BNT142藉由重新導向T細胞至腫瘤來介導消除異種移植腫瘤

【0591】 為了測定活體內BNT142之抗腫瘤效力，採用CLDN6陽性人類卵巢癌瘤(OV-90)異種移植小鼠模式。簡言之，對免疫缺陷雄性及雌性NOD.Cg-Prkd^{scid} IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG)小鼠經皮下(SC)接種人類OV-90卵巢癌瘤細胞。對已確立腫瘤(平均大小 ≥30 mm^3)之小鼠經腹膜內(IP)植入來自健康供體之人類PBMC(產生之小鼠模式稱為NSG/PBMC)。七天後，開始治療療程，包括每週一次IV推注BNT142或對照物，共五次。BNT142之投藥劑量為每隻小鼠0.1或1 µg (~0.004及0.04 mg/kg)。施加1 µg編碼不相關TAA之對照RNA-LNP x CD3-結合性三價抗體蛋白質作為標靶特異性對照物。以單獨杜氏磷酸鹽緩衝生理鹽水(Dulbecco's phosphate-buffered saline) (DPBS，生理鹽水)及1 µg Luc_RNA-LNP作為陰性對照，及以重組純化CD3 x $(CLDN6)_2$ 三價抗體參考蛋白質(每隻動物100 µg，~4 mg/kg)作為陽性對照(圖6 A)。

【0592】 使用1 µg BNT142治療第二次後及使用0.1 µg BNT142或100 µg參考蛋白質治療第三次後，腫瘤體積開始縮小。維持穩定下降直到實驗結束(圖6 B、C)。一般而言，沒有任何陰性對照組出現腫瘤體積減小。

【0593】 每組四隻小鼠(僅0.1 µg BNT142組為五隻小鼠)在第三次注射後72 h執行安樂死，以分析異種移植腫瘤中之腫瘤浸潤之淋巴細胞(TIL)。分別在接受0.1及1 µg BNT142處理之小鼠觀察到每mm^{2}異種移植腫瘤組織平均為1,310及1,797個TIL (圖6 D及F)。參考蛋白質處理造成每mm^{2}腫瘤組織平均1,542個TIL，而陰性對照組則為每mm^{2}組織平均139至410個TIL。在接種OV-90

後第 38 天的不同時間點分析幾隻小鼠之腫瘤組織中 CLDN6 陽性細胞百分比。在來自接受 1 μg BNT142 處理組小鼠之腫瘤異種移植物觀察到之 CLDN6 陽性細胞百分比最低(表示增加殺死/消除腫瘤細胞)，其次為參考蛋白質處理組及 0.1 μg BNT142 處理組(圖 6 E 及 F)。

【0594】 總合言之，BNT142-及參考蛋白質-處理組之小鼠顯示腫瘤顯著縮小，且異種移植腫瘤中同時出現較高之 T-細胞浸潤及較低之 CLDN6 陽性率，此點與陰性對照組相反。

二級藥物效應動力學

【0595】 二級 PD 研究之定義為彼等探討所編碼雙特異性蛋白質 RiboMab02.1 與其醫療性標靶 CLDN6 無關之作用模式及效力之活體外及活體內研究。

RiboMab02.1 於活體外誘發標靶依賴性釋放人類促炎性細胞激素

【0596】 分析得自 T-細胞活化分析法之細胞培養上清液，來探討 RiboMab02.1-依賴性誘發中靶-及脫靶細胞激素釋放。採用訂製之多工 ELISA 套組量測人類促炎細胞激素 IFN-γ、IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10 及 TNF-α 之含量。在標靶細胞之存在下，RiboMab02.1 依劑量及供體-依賴性方式誘發釋放所有細胞激素。除了在一種供體及最高濃度之 RiboMab02.1 下觀察到低度誘發之 IL-6 外，在 CLDN6 陽性 PA-1 標靶細胞不存在下，沒有觀察到誘發之細胞激素(圖 7)。陽性對照 OKT3 在標靶細胞之存在及不存在，均誘發細胞激素釋放，而偽處理組血清(來自 Luc_RNA-LNP-投藥組)則未誘發任何細胞激素產生(未出示數據)。

對 PBMC-人源化小鼠活體內投與 BNT142 沒有誘發人類促炎細胞激素釋放

【0597】 在第三次 BNT142 投藥(參見上文)後 6 及 72 h，從帶有 OV-90 人類異種移植腫瘤之 NSG/PBMC 小鼠取得血清樣本，量測人類促炎細胞激素 IFN-γ、IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10 及 TNF-α。另一組無腫瘤 NSG/PBMC 小鼠接受 1 μg BNT142 處理。BNT142-處理組或對照組在任一分析時間點均未觀察到細胞激素誘發(圖 8 A)，而參考蛋白質組小鼠之所有六種細胞激素，則在 6 個時間點均顯

示暫時但顯著升高。數據經過生理鹽水對照組在每個時間點所得之數值校正。活性藥物RiboMab02.1 (由 1 μg BNT142 編碼)及參考蛋白質具有類似之全身可利用性(圖 8 B)。

遵循 GLP 之組織交叉反應性研究

【0598】 為了探討 RiboMab02.1 之潛在非特異性結合性，採用親本嵌合 IgG 抗體 IMAB206-C46S (其等具有共通之一致抗-CLDN6 CDR)，在三種濃度(10、5、1 μg/mL)下，遵循 GLP 執行完全人類組織交叉反應性(TCR)研究。所分析之成人正常人類組織(FDA 1997)及結果綜合於表 3。

表 3：遵循 GLP 之 TCR 研究之結果

觀察	組織(陽性樣本/試驗樣本之數量)
其中三種濃度之親本抗體 IMAB206-C46S (其與 RiboMab02.1 有共通之一致抗-CLDN6 CDR)判定陽性結合及對照組沒有結合之組織	腎上腺(內分泌細胞 1/3)，胎盤(絨毛 1/3)

其中任何濃度之親本抗體均沒有判定結合性之組織	血液(3/3)， 乳房(3/3)， 子宮頸(3/3)， 眼睛(3/3)， 輸卵管(3/3)， 心臟(3/3)， 腎臟(3/3)， 肺(3/3)， 淋巴結(3/3)， 卵巢(3/3)， 胰臟(3/3)， 副甲狀腺(3/3)， 攝護腺(3/3)， 脾臟(3/3)， 橫紋肌(3/3)， 扁桃體(3/3)， 子宮內膜(3/3)

其中一或多種濃度之親本抗體及對照組均觀察到結合性之組織	小腦(白質 3/3)， 腦皮質(白質 3/3)， 肝(肝細胞 2/3)， 周邊神經(纖維 2/3)， 腦垂體後葉(神經葉 1/3)， 唾液腺(潤管 1/3)， 脊柱(神經組織 3/3)， 睾丸(曲精小管 2/3)， 甲狀腺(濾泡上皮 1/3)， 輸尿管(尿路上皮 1/3)， 膀胱(尿路上皮 2/3)， 骨髓(巨噬細胞 2/3)， 結腸(巨噬細胞 2/3)， 迴腸(巨噬細胞 3/3)， 胃(巨噬細胞 3/3)， 胸腺(巨噬細胞 2/3)， 十二指腸(上皮黏膜 1/3)， 皮膚(上皮 1/3)

【0599】 簡言之，所有測試之組織中，在施加所有三種濃度之試驗項目中，僅腎上腺之內分泌細胞及胎盤之絨毛之染色在 1/3 供體中呈陽性。沒有檢測到膜染色，及所有觀察到之結合均為細胞質性質。僅可能發生細胞質結合的原因係細胞隔室已被切片過程人工曝露，讓試驗物質得以靠近。此狀況不會發生在活體內，因此細胞質結合不再視為相關。沒有觀察到其他交叉反應性或非特異性結合性。

脫靶結合分析法(非 GLP)

【0600】 使用三價抗體參考蛋白質(序列與 RiboMab02.1 一致)執行細胞微陣列篩選，探討 RiboMab02.1 之潛在非特異性標靶。篩選該三價抗體對固定之

人類 HEK293 細胞之結合性，其分別過度表現 6,239 種不同之全長人類細胞膜蛋白質及細胞表面繫鏈之人類分泌蛋白質，包括 371 種雜二聚體。

【0601】 該三價抗體參考蛋白質顯示與其初級標靶 CD3ε(當其呈與 CD3δ 或 CD3γ 形成之雜二聚體表現時)及 CLDN6 之特異性交互作用。儘管如此，亦另外觀察到與 CLDN9 之弱脫靶交互作用。沒有觀察到其他結合性。

安全性藥理學

【0602】 ICH 指南 S7A 指示，安全性藥理學研究之核心動力應在任何醫藥產品接觸到人類之前先執行。分析至高~5 mg/kg RNA-LNP 對中樞神經系統(CNS)及呼吸系統之潛在影響作為在小鼠中遵循 GLP 執行之重覆劑量毒性研究之一部份。此外，在食蟹獼猴中進行非 GLP 研究，分析至高 0.15 mg/kg BNT142 對心血管安全性終點(血壓、心跳速率、及心電圖參數)之影響。在小鼠研究中，包括接受空 LNP 處理之對照組。

呼吸安全性

【0603】 在以 Balb/c 小鼠執行之遵循 GLP 之重覆劑量毒性研究中所包括之衛星實驗動物上分析 RNA-LNP 之呼吸安全性。每週注射投藥，共四次，並在投藥前、及第二次與第四次注射後 4 及 24 h 執行全身體積描記法。

【0604】 小鼠分配成四組，每組包含四隻雄鼠及四隻雌鼠。第 1 組及第 2 組為對照組，並接受生理鹽水(第 1 組)及沒有 RNA 但含有與 ~5 mg/kg 組同等脂質含量之空 LNP(第 2 組)。處理組接受 RNA-LNP，劑量為~1.5 mg/kg (第 3 組)及~5 mg/kg (第 4 組)。體積描記法顯示沒有與試驗項目相關之影響。

CNS 安全性

【0605】 在 Balb/c 小鼠中，遵循 GLP，在兩種劑量程度(~1.5 mg/kg 及 ~5 mg/kg)下，研究 RNA-LNP 所誘發之神經、行為、及自律性影響。

【0606】 此研究係在用於呼吸安全性研究之相同動物(相同 RNA-LNP 劑量組及對照組)上進行。在第一次投藥之前及之後 48 h，及在第四次投藥之前及之後 48 h，檢視 RNA-LNP 對 40 個神經藥理學參數之影響。

【0607】 在雄性動物中，在第一次投與~5 mg/kg 後，注意到後肢握力強度出現與試驗項目相關之暫時性下降(~ -37%)。此效應亦出現在同一組之雌性動物中(~ -4%)。該下降係可逆性，因為在第四次投藥之前及之後觀察到後肢握力強度沒有與試驗項目相關之差異。在所有時間點觀察之前肢握力強度均沒有變化，且在肌肉或坐骨神經沒有檢測到宏觀或微觀性之變化，表示後肢握力強度之暫時性下降不是由肌肉或神經傷害引起。沒有觀察到其他與試驗項目相關之效應。

心血管安全性

【0608】 在食蟹獼猴之非 GLP PK 及耐受性研究中包括探討 BNT142 投藥之潛在心血管效應。

【0609】 本研究中，由食蟹獼猴分配成四組，每組包含三隻雌性動物。第 1 組接受生理鹽水，而第 2、3 及 4 組分別接受 0.015、0.05 及 0.15 mg/kg 劑量之 BNT142 投藥一次。在動物開始處理之前及投藥後 6 h 及 24 量測血壓。在試驗項目處理組動物中量測之周邊動脈收縮壓及舒張血壓，及所得之平均血壓均在正常生理限值內。此外，在投藥前開始至投藥後至少 20 hr 記錄心電圖(ECG)。此段時間內，心跳速率及 ECG 定量與定性參數均未受 BNT142 投藥影響。

非臨床藥理學 – 結論

【0610】 在初級與二級活體外及活體內 PD 研究中，BNT142-編碼 RiboMab02.1 證實劑量-及標靶-依賴性之作用模式。由 RiboMab02.1 在活體外引發非特異性 T-細胞活化時之濃度比 EC_{50}(26 pg/mL)高出>1,500 倍，表示其具有寬廣之醫療窗口。

【0611】 首先在遵循 GLP 之組織交叉反應性研究中測試 RiboMab02.1 之安全性(使用具有一致抗-CLDN6 CDR 之代理 IgG)，結果為未判別到非特異性結合。隨後採用 RiboMab02.1 參考蛋白質進行細胞微陣列研究，僅對 CLDN9(其與 CLDN6 密切相關)觀察到弱的脫靶結合性。由於除了表現在內耳之緊密連接區外，大多數正常組織沒有 CLDN9 表現，因此應該不會出現不要之脫靶效應。

【0612】 總言之，認為 RiboMab02.1 不太可能與 CLDN6 及 CD3 以外之標靶結合。

【0613】 安全性藥理學分析顯示對心血管參數(食蟹獼猴)或呼吸參數(小鼠)沒有影響。對小鼠第一次投與~5 mg/kg RNA-LNP 後 48 h，觀察到後肢握力強度暫時下降。此效應為暫時性，並在後續三次 RNA-LNP 投藥後沒有檢測到。在組織之病理學檢查中，沒有發現神經或肌肉異常，表示此等效應不同於神經毒性。

【0614】 總言之，此等數據顯示 BNT142-編碼 RiboMab02.1 在活體內及活體外二者之非臨床模式中為標靶限制性及具生物活性。在至高~5 mg/kg RNA-LNP (涵括高達 0.15 mg/kg 及更高之預期臨床劑量範圍)下，小鼠之生理功能沒有觀察到試驗項目介導之效應。

2.2 非臨床藥物動力學研究

【0615】 BNT142 之 PK 可以分成兩部份。第一，在 IV 注射後，RNA-LNP 全身分佈並遞送 RNA 承載物至計畫的標靶器官，即肝臟。第二，經 LNP 轉染之肝細胞轉譯該 RNA 並分泌所編碼蛋白質 RiboMab02.1 至全身循環。

【0616】 為了分析第一部份，在小鼠之不同器官中分析經放射標記之 LNP 之生物分佈性。為了分析第二部份，採用在 LNP 中調配之編碼螢火蟲螢光素酶之經修飾 RNA 來分析肝靶向性及活體內轉譯之 RNA 之動力學。此外，在小鼠及食蟹獼猴中(NHP 模式)，在單次 IV 投藥後分析所分泌之 RiboMab02.1 之活體內 PK 型態特徵。

【0617】 在活體內及活體外分析含在 LNP 中之 PEG 脂質賦形劑 (ALC-0159)之 PK 型態，並分析 ALC-0159 之代謝性。於活體內，ALC-0159 從血漿快速分佈至肝臟，此時之 ALC-0159 之活體外及活體內代謝似乎慢慢發生。ALC-0159 分別經過酯與醯胺官能基之水解性代謝作用代謝掉，且在所有分析之試驗物種(小鼠、大鼠、猴、人類)中均觀察到此水解性代謝作用。雖然尿液中沒有檢測到脂質排泄，但糞便中 ALC-0159 無變化移除之劑量百分比為~50%。採用活體外代謝研究法分析胺基脂質 ALC-0366 之穩定性。在所有物種中，ALC-0366 在肝微粒體、S9 部份中保持穩定 120 min 及在肝細胞中保持 240 min。

分佈

【0618】 LNP於活體內之生物分佈性係採用具有與BNT142相同LNP調配物但使用不同RNA之RNA-LNP探討。對小鼠IV投與經放射標記之RNA-LNP。採用液體閃爍譜計定量鼠組織中之LNP分佈。利用生物發光顯影法研究LNP之器官靶向及螢光素酶編碼mRNA之後續表現。

經放射標記之LNP之分佈

【0619】 於CD-1小鼠(n = 4/性別/時間點)中，在單次IV推注1 mg/kg(依據RNA含量計)後，探討LNP之組織分佈型態。針對此研究，採用不可交換、不可代謝之脂質標記物：[^{3}H]-膽固醇基十六烷基醚([^{3}H]-CHE)標記含RNA之LNP，以追蹤脂質顆粒分佈。小鼠安樂死，及在投藥後0.083 (5 min)、0.25、0.5、1、2、4、8及24 h收集血液、血漿及組織。採用標準液體閃爍計數法測定所有樣本中之放射活性，及採用所得數值來計算各種不同組織中總脂質當量(脂質$_{eq}$)濃度及佔注射劑量之百分比。

【0620】 LNP在小鼠血液及血漿中具有雙相動力學，其血液/血漿濃度先快速下降，接著為緩慢消除期。在雄性及雌性小鼠中觀察到類似之血液/血漿濃度-時間型態。LNP進入組織之分佈通常快速，在注射後不到4 h即在大多數組織中出現高峰或達到平頂期。肝臟為主要分佈器官，注射後4 h，雄性及雌性小鼠之平均濃度分別為282及355 µg脂質eq/g組織，其係注射劑量之約70%至74%。LNP亦在投藥後4 h分佈進入脾臟，造成投藥後4 h之含量為61.7至77.1 µg脂質$_{eq}$/g組織(佔注射劑量之0.84%至1.15%)。在其他組織中觀察到最少量或沒有分佈。進行此研究來判別LNP分佈之主要器官，沒有影響到所投與LNP之總質量平衡。

【0621】 綜上所述，LNP會快速且主要分佈在肝臟。

活體內轉譯之RNA之肝臟靶向及動力學

【0622】 採用利用LNP調配之編碼螢火蟲螢光素酶之經修飾mRNA分析蛋白質表現之生物分佈性，以評估肝臟靶向及活體內轉譯之mRNA之動力學。

經 IV 投藥後，螢光素酶蛋白質顯示時間依賴性轉譯，高度生物發光訊號主要位在肝臟(圖 9)。作為次要分佈器官之脾臟所展現之生物發光訊號比肝臟降低達因數 10。在心臟、肺、腎臟及淋巴結檢測到少量發光訊號。

脂質賦形劑 (ALC-0159)之藥物動力學

【0623】 BNT142 在奈米顆粒中包含 PEG 脂質賦形劑 ALC-0159。對 Wistar Han 大鼠 IV 投與單劑之螢光素酶編碼 RNA(在使用類似脂質組成物(不同胺基脂質)之 LNP 中調配)，1.96 mg ALC-0159/kg，其 ALC-0159 血漿濃度快速下降，初始 $t_{½}$值為 1.72 h。ALC-0159 隨後快速從血漿中清除，最終清除 $t_{½}$ 為 72.7 h。分佈至肝之脂質劑量估計為~20%。

RiboMab02.1 活體內藥物動力學

對小鼠投與 BNT142 後之 RiboMab02.1 有效轉譯、組裝及分泌

【0624】 下列研究證實活體內(Balb/cJRj 小鼠)吸收 BNT142 後之 RiboMab02.1 轉譯、組裝及分泌。在 IV 投與單劑 30 µg BNT142 後 2 及 6 h 收集含有分泌之 RiboMab02.1 之血清。採用 ELISA(圖 10 A)及西方墨點(圖 10 B)分析血清，證實其於活體內產生完全組裝且結構穩定(單體)之 RiboMab02.1。

BNT142 於小鼠中之重覆劑量 PK 研究

【0625】 在 Balb/cJRj 小鼠中執行重覆劑量 PK 研究，以分析是否可藉由每週投與 BNT142 來維持全身 RiboMab02.1 濃度。處理組依每周間隔接受五次 IV 推注 10 或 30 µg BNT142 (分別約 0.4 及 1.2 mg/kg)或 30 µg Luc_RNA-LNP。在每次投與 BNT142 之後 6 h ($t_{最大值}$)及之前 24 h (最後可檢測濃度[$C_{最低值}$])從動物抽血，製備血清樣本。時間點分別對應於第一次注射 BNT142 或 Luc-RNA-LNP 對照物之後 6、174、342、510，及 678 h ($C_{最大值}$)或 144、312、480 及 648 h ($C_{最低值}$)。最後一次血液係在第一次注射後 816 h (34 天)抽出。在最後一次注射 10 µg 及 30 µg BNT142 後 6 h，依 ELISA 所測定，RiboMab02.1 峰值($C_{最大值}$)分別達到至高 7.4 µg/mL 及 46 µg/mL。抗體濃度在每次注射 7 天內快速下降，$C_{最低值}$ 數值

比 $C_{最大值}$ 數值低約 130 倍。重要的是，任一 BNT142 劑量之後續注射之間所觀察到之 RiboMab02.1 轉譯均沒有損失(圖 11)。

BNT142 在食蟹獼猴中之單劑量 PK 研究

【0626】 在雌性食蟹獼猴中進行單劑量 PK 研究，每組三隻動物。處理組接受單次 IV 推注劑量之 BNT142(涵蓋預期臨床劑量範圍(0.150、0.05、及 0.015 mg/kg)或作為對照之生理鹽水。在不同時間點(注射後 0、1、3、6、12、24、48、72、168，及 336 h)收集血清樣本，利用 ELISA 分析 RiboMab02.1 濃度，以評估曝露劑量。所有組均在投與 BNT142 後 6h(中值 $t_{最大值}$)達到 RiboMab02.1 濃度峰值($C_{最大值}$)(平均值[中值 $t_{最大值}$]：0.015 mg/kg 組= 7.3 ng/mL；0.050 mg/kg 組 = 27.5 ng/mL；0.150 mg/kg 組= 155.0 ng/mL)。0.015 mg/kg 組在投與 BNT142 後 3 h 直到 72 h，及在 0.15 mg/kg 與 0.05 mg/kg 組則在長達 168 h (7 天)後均可檢測到 RiboMab02.1 濃度(圖 12 及表 4)。測得 RiboMab02.1 之有效半衰期為 27 至 37 小時之間。然而，兩個較低劑量組之 RiboMab02.1 半衰期測定受到限制，因為 ELISA 定量法之定量下限值(LLOQ)為 0.1 ng/mL。生理鹽水對照樣本或投與 BNT142 後 336 h (14 天)均沒有檢測到訊號(檢測可能受到 LLOQ 限制)。個別動物之 PK 參數及平均/中值綜合說明於表 4。

【0627】 綜上所述，所有三種 BNT142 劑量在食蟹獼猴中所產生之效價均在生物活性 RiboMab02.1 之醫療範圍內，在注射後 6 h 達中值 $C_{最大值}$。分別觀察 RiboMab02.1 濃度在 $C_{最大值}$時之個體之間變異，最低劑量組之差異為 2 至 7 倍，中間劑量組為 1 至 2 倍，及最高劑量組為 2 倍。

表 4：對食蟹獼猴單次靜脈內推注投與 BNT142 後之血清中 RiboMab02.1 之 PK 參數

BNT142 劑量 (mg/kg)	受試者 ID	$t_{最大值}$ (h)	$C_{最大值}$ (ng/mL)	$C_{最低值}$ (ng/mL)	$t_{最後}$ (h)	終點 $t_{½}$ (h)	有效 $t_{½}$ [a] (h)
0.015	2501	6	7.3	1.5	72	NR	NR
	2502	12	2.2	1.1	24	NC	NC
	2503	6	12.4	2.2	72	25.1	26.5

	n	3	3	3	3	1	1
	平均值 [b]	6	7.3	1.6	72	25.1	26.5
	SD	N/A	5.1	0.6	N/A	N/A	N/A
0.050	3501	6	32.8	0.6	168	27.7	28.1
	3502	6	19.1	4.8	72	NR	NR
	3503	12	30.7	5.6	72	26.0	28.1
	n	3	3	3	3	2	2
	平均值 [b]	6	27.5	3.6	72	26.8	28.1
	SD	N/A	7.4	2.7	N/A	N/A	N/A
0.150	4501	12	242.0	15.1	168	42.1	40.1
	4502	6	107.0	4.8	168	39.6	37.9
	4503	6	117.0	3.0	168	32.7	31.8
	n	3	3	3	3	3	3
	平均值 [b]	6	155.0	7.6	168	38.1	36.6
	SD	N/A	75.4	6.6	N/A	4.8	4.3

a. 採用 $MRT_{0\text{-}inf}$ (藥物平均滯留時間零至無限)計算有效 $t_{½}$.

b. $t_{最大值}$及 $t_{最後}$之中值

$C_{最大值}$ = 最大觀測濃度；$C_{最低值}$ = 最後可檢測濃度；h =小時；n =數量；N/A =不適用；NC =不可計算；NR =未報告 (測定係數低於 0.8)；SD =標準偏差；t =時間；$t_{½}$ =半衰期；$t_{最後}$ =最後可量測濃度之時間；$t_{最大值}$ =達最大觀測濃度之時間。

代謝及排泄

【0628】 RNA(包括 N1-甲基假尿苷修飾 mRNA)對細胞 RNAase 酶之降解敏感並會進行核酸代謝。細胞內會持續發生核苷酸代謝，核苷被降解及排泄或再循環進行核苷酸合成。

【0629】 LNP 調配物使用四種脂質作為賦形劑，其中兩種為天然物(膽固醇及 DSPC)，且如同其等之內因性對應物會被代謝及排泄。於活體外研究非天然脂質(ALC-0366 及 ALC-0159)之代謝及排泄，及 ALC-0159 則亦進行活體內研究。

【0630】 在小鼠、大鼠、猴、及人類肝微粒體、S9 部份、及肝細胞中分析 ALC-0366 (胺基脂質)之活體外代謝穩定性。在所有物種及測試系統中，ALC-0366 可以穩定留在肝微粒體(保留 ALC-0366 >89%)及 S9 部份(保留 ALC-0366 >88%)中 120 min 及在肝細胞中 240 min(保留 ALC-0366 >94%)。

【0631】 活體外檢測 ALC-0159 之代謝時，使用均來自小鼠、大鼠、猴及人類之血液、肝 S9 部份及肝細胞，及在來自 PK 研究之大鼠血漿、尿液、糞便、與肝進行離體檢測。此等研究測得 ALC-0159 藉由醯胺鍵水解產生 N,N-二-十四烷基胺的代謝相當慢。在所分析物種之間可觀測到此水解性代謝。

【0632】 大鼠 PK 研究中，在 IV 投與 RNA-LNP 後，沒有在尿液中檢測到排泄之 ALC-0159。然而，糞便中移除約~50% 未改變之 ALC-0159。

非臨床藥物動力學及代謝 – 概述及結論

【0633】 BNT142 之 PK 可以分成兩部份：

- BNT142 之 PK：IV 注射後，RNA-LNP 在 4 h 內分佈全身，並遞送 RNA 承載物至計畫標靶器官，即肝臟。
- BNT142-編碼雙特異性抗體 RiboMab02.1 之 PK：遞送至肝細胞中後，RNA 轉譯並釋放編碼之 RiboMab02.1 蛋白質至循環中。

【0634】 探討第一部份時，使用含有經放射標記脂質之 LNP，在小鼠中執行生物分佈性研究。LNP 之分佈通常快速，在注射後 4h 內即在大多數組織中達到峰值。觀察到肝臟為主要分佈器官，接著為脾臟，在這裡僅有一部份 LNP 分佈，及很少量或沒有分佈至其他組織。對小鼠投與 LNP-調配之螢光素酶(Luc)-編碼 RNA 後之活體內顯影顯示靶向肝中之 RNA 轉譯。在注射後長達 144 h，在肝中觀察到 Luc 轉譯(生物發光)，而脾臟顯示之訊號強度則降低 10 倍。

【0635】 在大鼠 IV PK 研究中，在此 2 週研究期間，血漿中 PEG 脂質 (ALC-0159)濃度下降約 8,000 倍。ALC-0159 組之血漿中表觀最終 $t_{½}$為 72.7 h，其可能代表脂質從組織重新分佈，其開始吸收 LNP 回到血漿以供清除，大多數沒有變化即進入糞便。活體外之 ALC-0159 藉由醯胺官能基之水解性代謝作用而緩慢代謝，非天然胺基脂質(ALC-0366)之活體外代謝研究則顯示其在所有物種及試驗系統中安定。

【0636】 BNT142-編碼雙特異性抗體 RiboMab02.1 之 PK 參數係藉由小鼠之重覆劑量研究及在 NHP 中透過定量血清中轉譯之 RiboMab02.1 之單劑量研究決定。

【0637】 在每週接受 BNT142 投藥之小鼠中檢測到劑量依賴性 RiboMab02.1 血清濃度。在 30 µg (~1.2 mg/kg)劑量組中，在第 5 次投藥後達到 $C_{最大值}$ 為 46 µg/mL，證實恢復了 RiboMab02.1 曝露量。

【0638】 在 NHP 之單劑量 PK 研究中，RiboMab02.1 展現劑量依賴性表現，其在投與 0.15 mg/kg BNT142(最高試驗劑量)後，在投藥後 6h 達中值 $t_{最大值}$(如同在小鼠之觀察)及平均 $C_{最大值}$為 155 ng/mL。可在 NHP 中檢測到 RiboMab02.1，直到投藥後 7 天研究結束時。

【0639】 綜上所述，小鼠及 NHP 之 PK 數據證實 BNT142 為劑量依賴性，但不與 RiboMab02.1 曝露劑量成比例。在投藥後 6h 達 RiboMab02.1 高峰濃度，之後即下降。由於 RiboMab02.1 之非臨床有效半衰期為 27 至 37 h，因此從人體完全清除抗體預計約需 5 個半衰期(~135 至 185 h 或 6 至 8 天)。因此，每週投藥將可以支持 RiboMab02.1 血漿濃度之維持，在 q1w 臨床治療間隔期間賦與生物活性。

2.3 毒理學

【0640】 評估 RNA-LNP 所介導效應之非臨床(免疫)毒理學計畫係採用平台策略，包括使用人類細胞及血液組份之活體外研究，及在小鼠及食蟹獼猴中之活體內研究。

【0641】 在小鼠之非 GLP 單劑量毒性研究中，可以耐受高達 4 mg/kg RNA-LNP 之劑量。

【0642】 其結果包括臨床觀測(豎毛及脫水)、最少的體重流失、及延遲的體重增加、肝轉胺酶小幅上升、脾臟重量增加、及肝臟中最低至輕度之混合白血球浸潤，其符合最低之肝損傷，及輕度之發炎反應。所有效應均可在 28 天內逆轉。

【0643】 在重覆劑量毒性研究中，小鼠耐受之 RNA-LNP 劑量高達 ~5 mg/kg。研究結果包括攝食量小幅下降、總白血球數暫時減少、及鹼性磷酸鹽

與肝酶暫時上升。此外，在 5 mg/kg 劑量下，除了肝臟的可逆性微觀變化外，尚注意到腎臟及肝臟重量增加，及脾臟骨髓外造血、及動脈周圍淋巴鞘之淋巴組織增生，其亦與脾臟重量增加有關。經過 2 週恢復期後，此等變化緩解，且大多數例子已完全逆轉。

【0644】 NHP 之非 GLP PK/耐受性研究中，測試單劑量至高 0.15 mg/kg BNT142，任何參數均沒有觀測到變化。

【0645】 免疫毒性分析法中，對小鼠投藥後 6 h，~1.5 mg/kg 及~5 mg/kg RNA-LNP 誘發細胞激素(IFN-α、IFN-γ、IL-6、及 TNF-α)暫時升高，經過重覆投藥，則較不明顯。對食蟹獼猴活體內投與單劑至高 0.15 mg/kg 時，沒有觀測到 BNT142-誘發升高之細胞激素。在活體外研究中使用人類全血，BNT142 在濃度 ≥4 μg/mL (人類等效劑量 ≥0.32 mg/kg)下誘發分泌 IFN-γ、IL-1β-、IL-2、IL-6、IL-8 及 TNF-α。於活體外濃度至高 40 μg/mL(人類等效劑量 3.2 mg/kg)下，沒有觀測到 RNA-LNP 活化補體系統。

RiboMab02.1 安全性研究之相關物種選擇

【0646】 根據 ICH S6 (R1)，相關物種為試驗材料在其中具有藥理活性之一。RiboMab02.1 雙特異性抗體之藥理活性需要個別物種之 T 細胞上 CD3 受體之結合及該腫瘤標靶表位(CLDN6)之表現。然而，RiboMab02.1 之抗 CD3 部份不會與人類靈長類以外之任何其他物種之 CD3 交叉反應。

【0647】 由於沒有合適之試驗物種可以適當取得 RiboMab02.1 之安全性型態，因此該抗體沒有進行動物之安全性研究。改用 CLDN6 親本抗體 IMAB206-C46S 或與 RiboMab02.1 一致之重組參考蛋白質進行如上述之活體外安全性研究。

RNA-LNP 藥物產品之非臨床安全性評估

【0648】 有些 RNA-LNP 安全性研究中，採用之藥物產品具有與 BNT142 一致但具有不同 RNA 之 LNP 脂質組成物。由於預期 RNA 序列或長度之差異不會對 RNA-LNP 介導之安全性型態有很大的影響程度，因此認為該結果可以代表 RNA-LNP 所介導 BNT142 之毒性。過去已接受此平台毒性評估策略 。

單劑量毒理學

【0649】 在雄性及雌性 CD-1 小鼠中進行非 GLP 單劑量毒性研究。此研究分析 1 至 4 mg/kg 之 RNA-LNP 劑量之潛在毒性特徵，由 RNA-LNP 之毒性與個別對照項目(亦即空 LNP)比較，來判別 LNP 介導之毒性，並在 4 週觀察期後(於第 29 天結束)評估 RNA-LNP 之可逆性、演進及/或可能延遲之效應。

【0650】 小鼠於第 1 天接受單劑 IV 之 RNA-LNP 或對照項目(生理鹽水或空 LNP)。動物於第 3 天(主要動物)或第 29 天(恢復動物)安樂死。研究終點包括死亡率、臨床觀察、體重變化、臨床病理、屍檢觀察、器官重量、及組織病理學(肝臟、脾臟及胃)。

【0651】 雄性及雌性 CD-1 小鼠可以耐受單劑量至高 4 mg/kg RNA-LNP。其結果包括臨床觀察(豎毛及脫水)、最少的體重流失、及延遲的體重增加。第 3 天時，可檢測到肝轉胺酶(丙胺酸轉胺酶[ALT]及/或天冬胺酸轉胺酶[AST])小幅上升、脾臟重量增加，有一隻接受 4 mg/kg 之雌鼠之肝臟蒼白，及肝臟中最低度混合白血球浸潤，其符合最低之肝損傷，及輕度之發炎反應。性別之間之結果沒有差異。所有效應均顯示第 29 天時完全或部分恢復的證據，其係由肝臟中混合白血球浸潤所證實，表示輕度發炎反應正在解除中。

重覆劑量毒理學

【0652】 在雄性及雌性 Balb/cJRj 小鼠中進行遵循 GLP 之平台重覆劑量毒性研究，評估 LNP-及 RNA 介導之毒性。此研究分析四次每週~1.5 及~5 mg/kg 之 RNA-LNP 劑量之潛在毒性特徵，由 RNA-LNP 之毒性與個別對照項目(亦即空 LNP)比較，來判別 LNP 介導之毒性，並在 2 週觀察期後評估 RNA-LNP 之可逆性、演進及/或可能延遲之效應。RNA-LNP 之試驗劑量(至高~5 mg/kg)超過預期臨床劑量(0.00005 mg/kg 至 0.15 mg/kg)達 30 至 30,000x 之因數。在遵循 GLP 之小鼠毒性研究中，依據最大可行體積及可以 IV 遞送之濃度，最高劑量(100 μg/隻動物等同~5 mg/kg)被視為最高可行劑量。

【0653】 使用每週 IV 注射 RNA-LNP 處理四次，小鼠可耐受之劑量為 30 及 100 μg/隻動物(分別為~1.5 及~5 mg/kg)。在高劑量組中，動物顯示暫時減少食

物攝取(雄性為-8.2%或雌性為-13.6%)。然而，此等食物攝取的改變並未同時造成體重減少。處理或恢復期間沒有觀察到死亡。

【0654】 針對主要研究動物在第三次投藥後 24 h (第 16 天試驗日)及針對恢復動物在最後處理後一週(第 30 天試驗日)評估血液學參數。使用 30 μg (~1.5 mg/kg)或 100 μg (~5 mg/kg) RNA-LNP 處理時，造成第 16 天試驗日之總白血球細胞下降 (雄性分別為-59%或-62%，及雌性分別為-67 %或-74%)。此主要歸因於淋巴細胞顯著減少(雄性分別為-67%或-72%，及雌性分別為-74%或-79%)。

【0655】 亦在接受空 LNP 處理之動物中觀察到絕對數量減少之白血球(雄性之-24.1% ，及雌性之-37.4 %)及淋巴細胞(雄性之-37.2%，及雌性之-48.7 %)。在恢復動物之血液學參數中沒有發現與試驗項目相關之差異，表示所有變化均為可逆性。

【0656】 在最後一劑後 24 h(第 23 天試驗日)及恢復期結束時(第 37 天試驗日)評估臨床化學。接受 30 μg (~1.5 mg/kg)處理之雌性小鼠在第 23 天試驗日觀察到完全可逆性升高之肝臟酵素 ALT (+51 %)、AST (+45%)及乳酸脫氫酶(LDH) (+69%) 。此劑量組中之生化參數，沒有觀察到其他與試驗項目相關之差異。高劑量組(100 μg，~5 mg/kg RNA-LNP)中，在雌性動物處理組中觀察到升高之肝臟酵素(ALT、AST)及 LDH(分別為+8,170%、+4,992 %及+2,787 %)。接受空 LNP 處理之雌性動物組中，亦觀察到升高之肝臟酵素活性(ALT、AST)及 LDH (+274%、+44%及+40%)。此外，亦觀察到兩種性別組之鹼性磷酸酶(ALP)均增加(雄性+39%，雌性 +93%)。整個恢復期下降之程度仍在研究結束時升高至超過實驗室正常值(雄性 +19 %，雌性+21%)。

【0657】 此外，在第 23 天試驗日，雄性動物(+31%)及雌性動物(+36%)之球蛋白濃度均增加。因此，雄性動物(-15%)及雌性動物(-21%)觀測到下降之白蛋白/球蛋白比例。此等變化已恢復期結束時消退。

【0658】 第 23 天試驗日，第四次投藥後約 24 h，解剖主要研究動物。在第 37 天試驗日進行所有恢復動物之屍檢。在主要研究結束時，來自兩種劑量組之有些雌性動物脾臟腫大。此效應與脾臟重量增加(雄性動物+68%及雌性動物+99%)有關。此外，屍檢顯示一隻雌性動物之肝臟蒼白及另一隻雌性動物之表面平滑的肝臟部份蒼白，兩隻均接受 100 μg 之劑量。亦注意到此高劑量組中兩種

性別之肝臟重量(雄性+17%及雌性+34%)及腎臟重量 (雄性+15% 及雌性+18%)均增加。恢復期間，對脾臟及肝臟重量之影響尚未完全補償，但所有其他效應已消退。

【0659】 在主要研究結束時，僅有一隻雌性動物之肝臟(細胞質變化、單核球發炎細胞浸潤、多核化巨細胞、及壞死)出現組織病理學變化。此等結果在恢復期後，除了一隻雌性動物外，所有其他動物均可完全逆轉。在低劑量及高劑量組中，均觀察到雌性動物脾臟中完全可逆之組織病理學結果，其包括髓外造血、充血、色素沉積及動脈周圍淋巴鞘之淋巴組織增生。任何時間點之雄性動物均未進行組織病理學觀測。

BNT142 在食蟹獼猴中之單劑量藥物動力學及耐受性研究

【0660】 該研究之目的在於對食蟹獼猴投投與單劑 IV 後，取得 BNT142 之 PK 及耐受性。

【0661】 對獼猴 IV 推注投與單劑 BNT142，其耐受劑量至高為 0.15 mg/kg。沒有與 BNT142 投藥相關之提早死亡者、臨床觀察或變化之體重、體溫、血壓、眼科學、聽覺檢查、心血管評估、臨床病理學參數(血液學、凝血、臨床化學、及尿液分析)或細胞激素。

免疫毒性研究

【0662】 在兩個獨立研究中(如下文說明)評估免疫毒理學參數，且作為在小鼠中遵循 GLP 之重覆劑量毒性研究及在 NHP 中之單劑量 PK 研究之一部份。在小鼠中之細胞激素分析係在第一次投藥後 6、24、及 48 h(第 1、2、及 3 天試驗日)及亦在第三次投藥後 6、24、及 48 h(第 15、16、及 17 天試驗日)進行。兩種劑量組(~1.5 mg/kg 及~5 mg/kg)之雄性及雌性動物在第 1 天試驗日及第 15 天試驗日之 IFN-α、IFN-γ、IL-6、及 TNF-α 均在投藥後 6h 暫時性升高。其升高程度在重覆投藥(第 15 天試驗日)後即下降。IL-6 與 TNF-α 濃度在投藥後 24h 完全下降，而 IFN-α 與 IFN-γ 濃度則在投藥後 48h 回到基線值。任何一組均沒有觀察到升高之 IL-1β、IL-2、IL-10、或 IL-12p70。NHP 中，在投與至高 0.15 mg/kg 劑量

後 6、24 或 48 h，任何試驗之細胞激素均沒有觀察到與試驗項目相關之細胞激素升高。沒有觀察到指示全身免疫毒性之臨床癥兆。

人類血清之活體外補體活化

【0663】 透過正常人類血清與 RNA-LNP 濃度 0.04 至 40 μg/mL(代表劑量~0.003 至~3.2 mg/kg)(其涵蓋預期之臨床曝露量)之培養，評估藥物產品於活體外活化人類補體之可能性。與 RNA-LNP 培養後，沒有觀察到補體活化。

BNT142 之全血細胞激素釋放

【0664】 在 BNT142 與全血培養後，分析促炎細胞激素(IFN-α、IFN-γ、IL-1β、IL-2、IL-6、IL-8、IL-12p70、IP-10、及 TNF-α)之分泌。所試驗之稀釋範圍(0.0625 至 64 μg/ml)為藥物產品之代表性濃度且超過預期濃度(等同劑量 0.005 至 5.12 mg/kg)。在至高濃度 2 μg/mL(人類等效劑量 0.16 mg/kg)下沒有檢測到與試驗項目相關之細胞激素分泌。在更高劑量下，BNT142 在濃度 ≥4 μg/mL (人類等效劑量 ≥0.32 mg/kg)下誘發分泌 IL-1β、IL-6、IL-8，及在濃度 ≥32 μg/mL (人類等效劑量≥2.56 mg/kg)下誘發分泌 IFN-γ、IL-2、TNF-α。

毒理學 – 結論

【0665】 BNT142 之毒理學評估分成兩部份 – 一部份評估所編碼抗體 RiboMab02.1 之活體外安全性，其歸因於缺少可以讓化合物在其中呈現活性之藥理上相關物種。在數項活體內及活體外研究中改用 RNA-LNP 進行試驗，其中有些使用相同型式但具有不同序列(例如：編碼螢光素酶)之經修飾 mRNA 作為替代物。已在其他情況下證明可以信賴此策略。

【0666】 已在小鼠及猴之三種活體內毒性/耐受性研究中評估 RNA-LNP 之安全性。其中在 NHP 耐受性研究中觀察到，在 BNT142 之預期較高臨床劑量範圍(0.015 至 0.15 mg/kg)，沒有觀察到與 RNA-LNP 相關之效應，較高之單一或多重劑量 RNA-LNP (1 至~5 mg/kg)在小鼠中主要係以劑量依賴性方式，造成對臨床病理學參數、器官重量、及組織病理學變化的影響。此等效力經常僅出現或較顯著出現在雌性動物。

【0667】 在重覆投與~1.5 或~5 mg/kg RNA-LNP 後，兩種性別之淋巴細胞數量(及因此指白血球計數)下降及球蛋白濃度提高。單劑量之 2 mg/kg(雌性)及 4 mg/kg (兩種性別)誘發最低升高量之 ALT 及 AST，此點在接受多重劑量之 ~1.5 mg/kg 或~5 mg/kg RNA-LNP 重覆投藥後之雌性動物中更顯著，且觀察到連同 LDH 亦升高。因此，此等效應與肝臟組織病理學(細胞質變化、單核球發炎細胞浸潤、多核化巨細胞(群)及壞死)之最低-輕度(單劑量)或最低-顯著(重覆投藥)變化相關。亦在接受~1.5 mg/kg 或~5 mg/kg RNA-LNP 重覆投藥之雌性動物脾臟中發現微觀性變化，如：充血、髓外造血、 動脈周圍淋巴鞘之淋巴組織增生、或色素沉積。雖然在雄性及雌性動物中觀察到肝臟、脾臟及腎臟重量增加，但亦觀察其他組織病理學。兩種劑量組中，大多數所說明效應在 2 至 3 週內完全可逆轉，除了 ALP 濃度仍稍升高且接受較高劑量(單劑量之~4 mg/kg 或四個連續劑量之~5 mg/kg)之雌性動物有些病理變化外，其在恢復期結束時仍顯示有緩解。

【0668】 RNA-LNP 之活體外免疫毒理學評估顯示，在高達人類等效劑量 ~3.2 mg/kg 下仍沒有人類補體活化，但在人類等效劑量 0.3 mg/kg 或更高下則出現藥物產品濃度依賴性之細胞激素釋放。支持此等結果之 GLP 毒性研究中，對小鼠投與~1.5 或~5 mg/kg RNA-LNP 後，發現可逆性之細胞激素升高，但在重覆投藥後，細胞激素升高程度下降。在 NHP 耐受性研究中，在單次投與較高臨床劑量範圍 0.015 至 0.15 mg/kg BNT142 後，沒有發現細胞激素升高 。

【0669】 綜上所述，基於上述討論之非臨床毒理學結果，認為首次人體試驗劑量(first-in-human-dose)0.00005 mg/kg (0.05 μg/kg)有合理的安全性，因而期望在人體產生藥理學上相關之 RiboMab02.1 曝露量。

實例 3：活體內表現之 RiboMab02.1 為高度單體且其在小鼠中所誘發 ADA 反應低於替代之前導結構候選 RiboMab_712/711 C53W

【0670】 在親本抗-CLDN6 VL (VL(CLDN6)中位置 53 (C53)，依據 IMGT 編號)之游離半胱胺酸已在 RiboMab02.1 中被取代成絲胺酸(C53S) (SEQ ID NO：4 及 6，分別由 mRNA 序列 SEQ ID NO：5 及 7 編碼)或在 RiboMab_712/711 中取代成色胺酸(C53W) (SEQ ID NO：31 及 33，分別由 mRNA 序列 SEQ ID NO：32 及 34 編碼)。親本抗-CLDN6 VL 之位置 53 對應於序列 SEQ ID NO：4 及 31

之位置449及序列SEQ ID NO:6及33之位置428。其亦對應於相對於VL(CLDN6)之CDR1之位置+15及/或相對於VL(CLDN6)之CDR2之位置-3。

【0671】 於小鼠中，比較編碼前導結構變體之兩種CD3 x $(CLDN6)_2$之蛋白質凝集性及對RiboMab特異性抗-藥物抗體(ADA)之誘發性。

【0672】 由四隻雌性Balb/cJRj小鼠，每隻接受IV單劑30 µg RNA-LNP(~1.4 mg/kg)。在投藥前及投藥後6、24、48、96、168、216、265及528小時(0.25至22天)取得血清樣本。

【0673】 取注射後6小時得到之血清樣本，利用西方墨點分析法，在非還原條件下分析(圖13A；每一組之#4小鼠之代表性西方墨點影像)。採用同等體積之Melon G-純化血清。帶有C53W取代之boMab_712/711，相對於其等表現程度，造成HMW物質之產量高於C53S變體(RiboMab02.1)。RiboMab02.1之HMW幾乎無法在活體內檢測到。此點係重要差異，因為藥物HMW之形成經常與提高之免疫原性有相關性。

【0674】 在來自Gyros Protein Technologies之AB Gyros xPand™ XPA1025 ELISA裝置中測定小鼠血清中之抗-RiboMab02.1及抗-RiboMab_712/711藥物抗體(ADA)。在Gyrolab Bioaffy 200 CD上進行夾心式免疫分析法。

【0675】 採用100 µg/mL生物素基化藥物捕捉抗體Anti-RiboMab ADA。使用25 nM Alexa Fluor 647-接合AffiniPure山羊抗-小鼠IgG(係Fc片段特異性抗體)檢測血清ADA含量。採用200-3W-002-A方法產生數據，採用Gyrolab Evaluator軟體分析結果。

【0676】 依據浮動切割點(floating cut-point)測定陽性ADA反應。因此，採用陰性血清(抽血前)及以下公式計算切割點：校正因數(NF) +陰性對照(NC)平均值。

NF = 陰性樣本之X*SD；X = 1.645；SD =陰性血清(抽血前)之標準偏差；NC = 3個陰性對照(集合之陰性血清)。

【0677】 數據(圖13B)顯示，RiboMab02.1在小鼠中之免疫原性潛力低於RiboMab_712/711，此點符合RiboMab02.1之較高單體含量(圖13A)。較低免疫原性無法由表現程度的差異來解釋，因為免疫原性與表現程度沒有緊密的相關性。

【0678】 結論為兩種 RiboMab02.1 序列中之游離半胱胺酸 C53 被絲胺酸取代，比在兩種 RiboMab_712/711 序列中取代成色胺酸時造成較低之 HMW 形成量及 ADA 誘發量。

實例 4：RiboMab02.1-編碼藥物物質中間物之 HC：LC 重量比 1.5：1 造成有效表現高度單體 RiboMab02.1

【0679】 採用電穿孔法，以 HC-及 LC-編碼藥物中間物(RNA)，依 HC：LC 重量比 1：1、1.25：1、1.5：1、1.75：1、2：1、2.25：1、2.5：1 及 2.75：1 轉染 HEK-293T-17 生產細胞(總 RNA 濃度：100 μg/mL RNA；總體積：250 μL)。本實例採用之 HC-及 LC-編碼藥物中間物(RNA)(分別為 SEQ ID NO：5 及 7)編碼 RiboMab02.1 SEQ ID NO：4 及 6 之兩個多肽。這兩個多肽在本文中稱為 HC 及 LC，因為其等分別包含衍生自靶向 CD3 之親本抗體重鏈及輕鏈之可變區。RiboMab02.1 之多肽均不包含抗體之完整重鏈或輕鏈。

【0680】 轉染 48 h 後，取細胞培養上清液(SN)樣本進行西方墨點(WB)及 ELISA 分析(圖 14)。

【0681】 進行 WB 分析時(圖 14A)，SN 樣本經過熱處理使蛋白質變性後，在非還原性條件下進行 SDS-PAGE。採用兩種參考三價抗體蛋白質製劑作為陽性對照：一種包含 0.23% 高分子量(HMW；單體參考物)物質及另一種包含 96.5% HMW(HMW 參考物)物質。隨後取被 SDS-PAGE 分離之蛋白質泳帶墨點在硝基纖維素膜上，與分別靶向 κ 輕鏈或 IgG Fd 區之兩種 HRP-接合山羊抗-人類檢測抗體一起培養。之後，吸墨膜使用化學發光試劑顯影，並曝光 4 秒。隨後採用軟體分析影像，定量個別泳帶之訊號強度及百分比比例(表 5)。游離 LC 型之特徵在於所有試驗之 SN 樣本之低分子量 (LMW)物質含量均低。在所測試之 HC：LC RNA 比例之間，整體之單體含量高(>90%)及 HMW 物質– 主要為 200 kDa 之 HC 二聚物–之變異為 2.4%至 9.1%。

【0682】 採用夾心式免疫分析法定量 RiboMab02.1 時，採用 Gyros xPand™ XPA1025 ELISA 裝置，分別使用供捕捉及檢測之生物素基化或 AlexaFlour647-接合山羊抗-小鼠 IgG 抗體，分析來自兩個獨立實驗之技術性二重覆之 SN 樣本。

在 Gyrolab Bioaffy 20 HC CD 上執行該分析法。採用 Gyrolab huIgG (高效價法 (High Titer method) v2)產生數據，所得結果使用 Gyrolab Evaluator 軟體分析。

【0683】 結果(圖 14B)顯示 HC-編碼 RNA 含量與 ELISA 所檢測單體 RiboMab 含量成負相關 。因此 1.25：1 及 1.5：1 之 HC：LC RNA 比例在 SN 中產生最高 RiboMab 濃度(~3.5 µg/mL)，並且依劑量依賴性方式，2.75：1 之 HC：LC 比例產生最低量之 RiboMab02.1 (~2.0 µg/mL)。選擇 1.5：1 之 HC：LC RNA 比例用於下游發展 RiboMab02.1-編碼藥物及藥物產品(表 5)，因為其展現最有利之 RiboMab02.1 產量-相對-HMW 含量。

表 5： 各種不同 RiboMab02.1-編碼藥物物質中間物比例之轉染後 RiboMab2.1 濃度及單體含量

RiboMab02.1-編碼 HC：LC RNA 重量比	**RiboMab02.1**			
	濃度，平均值± SD (µg/µL)	**單體 (%)**	**HMW (%)**	**LMW (%)**
1：1	3.21 ± 0.11	90.7	9.1	0.3
1.25：1	3.45 ± 0.34	93.4	6.3	0.3
1.5：1	**3.52 ± 0.48**	**94.8**	**4.9**	**0.3**
1.75：1	2.86 ± 0.44	94.8	4.8	0.4
2：1	2.53 ± 0.36	96.0	3.7	0.3
2.25：1	2.06 ± 0.11	96.6	3.1	0.3
2.5：1	2.07 ± 0.19	96.6	3.1	0.3
2.75：1	1.74 ± 0.07	97.3	2.4	0.3

供進一步發展所選擇之 HC:LC RNA 比值係以粗字體表示。LC =輕鏈；LMW = 低分子量；HC =重鏈；HMW = 高分子量；SD = 標準偏差

【符號說明】無

【生物材料寄存】無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing  nonEnglishFreeTextLanguageCode="tw" dtdVersion="V1_3"
fileName="111203_202212-SeqList-TC.xml" softwareName="WIPO Sequence"
softwareVersion="2.2.0" productionDate="2022-12-21">
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>111126241</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-07-13</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>674-414 PCT2</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>PCT/EP2021/069869</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2021-07-15</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="tw">德商拜恩迪克公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>BioNTech SE</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="tw">用以治療CLDN6 陽性癌症之藥劑</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>36</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>220</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLWMSCVVQSTGQM
QCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHA
IIRDFYNPLVAEAQKRELGASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPSHYMARYSTSAPAISRGPSEYPTKNYV</
INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>220</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q2">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MASAGMQILGVVLTLLGWVNGLVSCALPMWKVTAFIGNSIVVAQVVWEGLWMSCVVQSTGQM
QCKVYDSLLALPQDLQAARALCVIALLVALFGLLVYLAGAKCTTCVEEKDSKARLVLTSGIVFVISGVLTLIPVCWTAHA
VIRDFYNPLVAEAQKRELGASLYLGWAASGLLLLGGGLLCCTCPSGGSQGPSHYMARYSTSAPAISRGPSEYPTKNYV</
INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="3">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>207</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..207</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q3">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHN
DKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITG
GLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQRDLYSGLNQRRI</INSDSeq_seque
nce>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>510</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..510</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q4">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>Fd sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>Fd序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..510</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q5">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHW
VKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCSGPGGGRSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNW
VKQSHGKCLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLSIYSTSNLASGVPA
RFSGRGSGTSYSLTISRVAAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="5">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1997</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1997</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q6">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Fd sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>Fd序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1997</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q7">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaataaactagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtg
atggcccctagaacactgatcctgctgctgtctggtgccctggctctgacagaaacatgggccggatctcaggtgcagct
ccagcaatctggtgccgaacttgctagacctggcgcctccgtgaagatgagctgtaaaaccagcggctacaccttcacac
ggtacaccatgcactgggtcaagcagaggcctggacagggccttgagtggatcggctacatcaaccccagccggggctac
accaactacaaccagaagttcaaggacaaggccacactgaccaccgacaagagcagcagcacagcctacatgcagctgag
cagcctgaccagcgaagatagcgccgtgtactactgcgcccggtactacgacgatcactacagcctggattactggggcc
agggaacaaccctgacagtgtctagcgccagcaccaagggacctagcgttttcccactggctcccagcagcaagagcaca
tctggtggaacagccgctctgggctgcctggtcaaggattactttcccgagcctgtgaccgtgtcctggaattctggcgc
tctgacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctgcaaagcagcggcctgtactctctgagcagcgtggtcacagtgc
ctagctctagcctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtg
gaacccaagagctgttctggacccggcggaggaagatctggcggaggcggttctggtggcggaggatctgaagttcagct
gcaacagtctggccccgagctggttaagcctggggcctctatgaagatctcctgcaaggcctccggctacagctttaccg
gctacacaatgaattgggttaagcagtcccacggcaagtgcctggaatggatcggcctgatcaacccttacaacggcggc
accatctataatcagaagtttaaaggcaaggctaccctcaccgtggacaagtctagctccaccgcctacatggaactgct
gagcctgacctctgaggactccgccgtgtattattgtgccagagactacggcttcgtgctggactattggggacagggca
ctacactgactgtgtccagtggcggtggtggcagtggcggcggaggtagcggaggtggtggaagcggaggcggaggctct
```

caaattgtgctgacacagagccccagcatcatgagcgttagccctggcgagaaagtgaccatcacatgcagcgccagctc
ctccgtgtcctatatgcactggtttcagcagaagcccggcacaagccccaagctgtcgatctacagcaccagcaacctgg
ccagcggagtgcctgccagattttctggtagaggcagcggcaccagctactccctgacaatctctagagtggccgccgaa
gatgccgccacctactactgtcagcagcggagcaattaccctccttggacctttggctgcggcaccaagctggaaatcaa
gtgatgaggatccgatctggtactgcatgcacgcaatgctagctgccccttttcccgtcctgggtaccccgagtctccccc
gacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctctgctagttccagacacctcccaagcacg
cagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaacctttagcaataaacgaaa
gtttaactaagctatactaaccccagggttggtcaatttcgtgccagccacaccctcgagctagcaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>489</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..489</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q8">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>L sequence</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>L序列</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..489</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q9">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQ
QKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGECDVPGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKCLEWIGLINPYNGG
TIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
QIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLSIYSTSNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISRVAAE
DAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1934</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1934</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q10">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>L sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>L序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1934</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q11">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaataaactagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtg
atggcccctagaacactgatcctgctgctgtctggtgccctggctctgacagaaacatgggccggatctcagatcgtgct
gacacagagccctgccatcatgagtgcctctccaggcgagaaagtgaccatgacctgtagagccagcagcagcgtgtcct
acatgaactggtatcagcagaagtccggcacaagccccaagcggtggatctacgatacaagcaaggtggccagcggcgtg
ccctacagattttctggctctggcagcggcaccagctacagcctgacaatcagcagcatggaagccgaggatgccgccac
ctactactgccagcagtggtccagcaatcccctgacatttggagccggcaccaagctggaactgaagcggacagttgccg
ctcctagcgtgttcatcttcccaccttccgacgagcagctgaagtctggaacagccagcgtcgtgtgcctgctgaacaac
ttctaccctcgggaagccaaggtgcagtggaaggtggacaatgccctccagtccggcaacagccaagagagcgtgaccga
gcaggacagcaaggactccacctatagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaaacacaaggtgt
acgcctgcgaagtgacccaccagggactgtctagccctgtgaccaagagcttcaacagaggcgagtgtgatgtgcctggc
ggctctgaagttcagctccagcagtctggacccgagctggttaagcctggcgcctccatgaagatctcttgcaaggcctc
cggctacagcttcaccggctacaccatgaattgggtcaagcagagccacggcaagtgcctggaatggatcggcctgatca
acccctacaacggcggcacaatctacaaccagaagttcaagggcaaagccacactgaccgtggacaagagcagcagcacc
gcctatatggaactgctgagcctgaccagcgaggactccgccgtgtactactgcgccagagattacggcttcgtgctgga
ctattggggccagggaacaaccctgacagtgtctagcggaggcggaggatctggtggcggaggaagtggcggaggcggtt
ctggcggtggtggatctcaaattgtcctgactcagtcccctagcatcatgagcgtgtcacccggggagaaagtgacaatc
acctgttccgccagctcctccgtgtcctacatgcactggttccagcagaagcccggcacctcccccaagctgtccatcta
ctccacctccaacctggcctccggcgtgcccgccagattctctggcagaggctccggcaccagctactccctgaccatct
ctagagtggccgccgaggacgctgccacatattattgtcagcagcggagcaactaccctccttggacctttggctgcgga
acaaagctggaaatcaagtgatgaggatccgatctggtactgcatgcacgcaatgctagctgcccctttcccgtcctggg
taccccgagtctcccccgacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctctgctagttcca
gacacctcccaagcacgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaacc
tttagcaataaacgaaagtttaactaagctatactaaccccagggttggtcaatttcgtgccagccacaccctcgagcta
gcaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>47</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..47</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q12">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>5&apos;-UTR</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>5´非轉譯區</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..47</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q13">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aactagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccacc</INSDSeq_seque
nce>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="9">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>278</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..278</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q14">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>3&apos;-UTR</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>3´非轉譯區</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..278</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q15">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ctggtactgcatgcacgcaatgctagctgccccttcccgtcctgggtaccccgagtctccc
ccgacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctctgctagttccagacacctcccaagca
cgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaacctttagcaataaacga
aagtttaactaagctatactaaccccagggttggtcaatttcgtgccagccacacc</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="10">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q16">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>A30L70</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>A30L70</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="11">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="12">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>15</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q20">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..15</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q21">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>20</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q22">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..20</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q23">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>25</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q24">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..25</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q25">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>30</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q26">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..30</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="16">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>18</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q28">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..18</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q29">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGPGGGRSGGGGSGGGGS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q30">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Linker</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>連接子</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q31">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>DVPGGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q32">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q33">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

```
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GYTFTRYT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q34">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>INPSRGYT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q36">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q37">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ARYYDDHYSLDY</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q39">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ARYYDDHYCLDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q40">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q41">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SSVSY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
```

```
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QQWSSNPLT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q46">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GYSFTGYT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="26">
 <INSDSeq>
```

```
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q48">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q49">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>INPYNGGT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q50">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q51">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ARDYGFVLDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q52">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q53">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SSVSY</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="29">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="30">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q56">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>CDR</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>互補決定區</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q57">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QQRSNYPPWT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="31">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>510</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
```

```
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..510</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q58">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Fd sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>Fd序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..510</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q59">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQVQLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHW
VKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYSLDYWGQGTTLT
VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG
TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCSGPGGGRSGGGGSGGGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNW
VKQSHGKCLEWIGLINPYNGGTIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVS
SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSQIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPA
RFSGRGSGTSYSLTISRVAAEDAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1997</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1997</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q60">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Fd sequence</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>Fd序列</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1997</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q61">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaataaactagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtg
atggcccctagaacactgatcctgctgctgtctggtgccctggctctgacagaaacatgggccggatctcaggtgcagct
ccagcaatctggtgccgaacttgctagacctggcgcctccgtgaagatgagctgtaaaaccagcggctacaccttcacac
ggtacaccatgcactgggtcaagcagaggcctggacagggccttgagtggatcggctacatcaaccccagccggggctac
accaactacaaccagaagttcaaggacaaggccacactgaccaccgacaagagcagcagcacagcctacatgcagctgag
cagcctgaccagcgaagatagcgccgtgtactactgcgcccggtactacgacgatcactacagcctggattactggggcc
agggaacaaccctgacagtgtctagcgccagcaccaagggacctagcgttttcccactggctcccagcagcaagagcaca
tctggtggaacagccgctctgggctgcctggtcaaggattactttcccgagcctgtgaccgtgtcctggaattctggcgc
tctgacaagcggcgtgcacaccttccagccgtgctgcaaagcagcggcctgtactctctgagcagcgtggtcacagtgc
ctagctctagcctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcctagcaacaccaaggtggacaagagagtg
```

gaacccaagagctgttctggacccggcggaggaagatctggcggaggcggttctggtggcggaggatctgaagttcagct
gcaacagtctggccccgagctggttaagcctggggcctctatgaagatctcctgcaaggcctccggctacagctttaccg
gctacacaatgaattgggttaagcagtcccacggcaagtgcctggaatggatcggcctgatcaacccttacaacggcggc
accatctataatcagaagtttaaaggcaaggctaccctcaccgtggacaagtctagctccaccgcctacatggaactgct
gagcctgacctctgaggactccgccgtgtattattgtgccagagactacggcttcgtgctggactattggggacagggca
ctacactgactgtgtccagtggcggtggtggcagtggcggcggaggtagcggaggtggtggaagcggaggcggaggctct
caaattgtgctgacacagagccccagcatcatgagcgttagccctggcgagaaagtgaccatcacatgcagcgccagctc
ctccgtgtcctatatgcactggtttcagcagaagcccggcacaagccccaagctgtggatctacagcaccagcaacctgg
ccagcggagtgcctgccagattttctggtagaggcagcggcaccagctactccctgacaatctctagagtggccgccgaa
gatgccgccacctactactgtcagcagcggagcaattaccctccttggacctttggctgcggcaccaagctggaaatcaa
gtgatgaggatccgatctggtactgcatgcacgcaatgctagctgccccttcccgtcctgggtaccccgagtctccccc
gacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctctgctagttccagacacctcccaagcacg
cagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaacctttagcaataaacgaaa
gtttaactaagctatactaaccccagggttggtcaatttcgtgccagccacaccctcgagctagcaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>489</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..489</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q62">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>L sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>L序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..489</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>

```
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q63">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MRVMAPRTLILLLSGALALTETWAGSQIVLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQ
QKSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELKRTVAAPSVFI
FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVT
HQGLSSPVTKSFNRGECDVPGGSEVQLQQSGPELVKPGASMKISCKASGYSFTGYTMNWVKQSHGKCLEWIGLINPYNGG
TIYNQKFKGKATLTVDKSSSTAYMELLSLTSEDSAVYYCARDYGFVLDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
QIVLTQSPSIMSVSPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGRGSGTSYSLTISRVAAE
DAATYYCQQRSNYPPWTFGCGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1934</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1934</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q64">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>L sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>L序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..1934</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q65">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>agaataaactagtattcttctggtccccacagactcagagagaacccgccaccatgagagtg
atggcccctagaacactgatcctgctgctgtctggtgccctggctctgacagaaacatgggccggatctcagatcgtgct
gacacagagccctgccatcatgagtgcctctccaggcgagaaagtgaccatgacctgtagagccagcagcagcgtgtcct
acatgaactggtatcagcagaagtccggcacaagccccaagcggtggatctacgatacaagcaaggtggccagcggcgtg
ccctacagattttctggctctggcagcggcaccagctacagcctgacaatcagcagcatggaagccgaggatgccgccac
ctactactgccagcagtggtccagcaatcccctgacatttggagccggcaccaagctggaactgaagcggacagttgccg
ctcctagcgtgttcatcttcccaccttccgacgagcagctgaagtctggaacagccagcgtcgtgtgcctgctgaacaac
ttctaccctcgggaagccaaggtgcagtggaaggtggacaatgccctccagtccggcaacagccaagagagcgtgaccga
gcaggacagcaaggactccacctatagcctgagcagcaccctgacactgagcaaggccgactacgagaaacacaaggtgt
acgcctgcgaagtgacccaccagggactgtctagccctgtgaccaagagcttcaacagaggcgagtgtgatgtgcctggc
ggctctgaagttcagctccagcagtctggacccgagctggttaagcctggcgcctccatgaagatctcttgcaaggcctc
cggctacagcttcaccggctacaccatgaattgggtcaagcagagccacggcaagtgcctggaatggatcggcctgatca
acccctacaacggcggcacaatctacaaccagaagttcaagggcaaagccacactgaccgtggacaagagcagcagcacc
gcctatatggaactgctgagcctgaccagcgaggactccgccgtgtactactgcgccagagattacggcttcgtgctgga
ctattggggccagggaacaaccctgacagtgtctagcggaggcggaggatctggtggcggaggaagtggcggaggcggtt
ctggcggtggtggatctcaaattgtcctgactcagtcccctagcatcatgagcgtgtcacccggggaaaaagtgacaatc
acatgcagcgccagctcctccgtgtcttatatgcactggttccagcaaaagccagggacctctcctaagctctggatcta
cagcaccagcaacctggcctctggcgtgccagctagattttccggtagaggctccggcacctcttactccctgaccatct
ctagagtggccgccgaggacgctgccacatattattgtcagcagcggagcaactaccctccttggacctttggctgcgga
acaaagctggaaatcaagtgatgaggatccgatctggtactgcatgcacgcaatgctagctgcccctttcccgtcctggg
taccccgagtctcccccgacctcgggtcccaggtatgctcccacctccacctgccccactcaccacctctgctagttcca
gacacctcccaagcacgcagcaatgcagctcaaaacgcttagcctagccacacccccacgggaaacagcagtgattaacc
tttagcaataaacgaaagtttaactaagctatactaaccccagggttggtcaatttcgtgccagccacaccctcgagcta
gcaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaagcatatgactaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
aaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa</INSDSeq_sequence>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="35">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1536</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1536</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q66">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Coding sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>編碼序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1536</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q67">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgagagtgatggcccctagaacactgatcctgctgctgtctggtgccctggctctgacaga
aacatgggccggatctcaggtgcagctccagcaatctggtgccgaacttgctagacctggcgcctccgtgaagatgagct
gtaaaaccagcggctacaccttcacacggtacaccatgcactgggtcaagcagaggcctggacagggccttgagtggatc
ggctacatcaaccccagccggggctacaccaactacaaccagaagttcaaggacaaggccacactgaccaccgacaagag
cagcagcacagcctacatgcagctgagcagcctgaccagcgaagatagcgccgtgtactactgcgcccggtactacgacg
```

atcactacagcctggattactggggccagggaacaaccctgacagtgtctagcgccagcaccaagggacctagcgttttc
ccactggctcccagcagcaagagcacatctggtggaacagccgctctgggctgcctggtcaaggattactttcccgagcc
tgtgaccgtgtcctggaattctggcgctctgacaagcggcgtgcacacctttccagccgtgctgcaaagcagcggcctgt
actctctgagcagcgtggtcacagtgcctagctctagcctgggcacccagacctacatctgcaatgtgaaccacaagcct
agcaacaccaaggtggacaagagagtggaacccaagagctgttctggacccggcggaggaagatctggcggaggcggttc
tggtggcggaggatctgaagttcagctgcaacagtctggccccgagctggttaagcctggggcctctatgaagatctcct
gcaaggcctccggctacagctttaccggctacacaatgaattgggttaagcagtcccacggcaagtgcctggaatggatc
ggcctgatcaacccttacaacggcggcaccatctataatcagaagtttaaaggcaaggctaccctcaccgtggacaagtc
tagctccaccgcctacatggaactgctgagcctgacctctgaggactccgccgtgtattattgtgccagagactacggct
tcgtgctggactattggggacagggcactacactgactgtgtccagtggcggtggtggcagtggcggcggaggtagcgga
ggtggtggaagcggaggcggaggctctcaaattgtgctgacacagagccccagcatcatgagcgttagccctggcgagaa
agtgaccatcacatgcagcgccagctcctccgtgtcctatatgcactggtttcagcagaagcccggcacaagccccaagc
tgtcgatctacagcaccagcaacctggccagcggagtgcctgccagattttctggtagaggcagcggcaccagctactcc
ctgacaatctctagagtggccgccgaagatgccgccacctactactgtcagcagcggagcaattaccctccttggacctt
tggctgcggcaccaagctggaaatcaagtgatga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="36">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>1473</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>RNA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>misc_feature</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1473</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q68">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Coding sequence</INSDQualifier_value>
       <NonEnglishQualifier_value>編碼序列</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..1473</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>

```
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>other RNA</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q69">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>atgagagtgatggcccctagaacactgatcctgctgctgtctggtgccctggctctgacaga
aacatgggccggatctcagatcgtgctgacacagagccctgccatcatgagtgcctctccaggcgagaaagtgaccatga
cctgtagagccagcagcagcgtgtcctacatgaactggtatcagcagaagtccggcacaagccccaagcggtggatctac
gatacaagcaaggtggccagcggcgtgccctacagattttctggctctggcagcggcaccagctacagcctgacaatcag
cagcatggaagccgaggatgccgccacctactactgccagcagtggtccagcaatcccctgacatttggagccggcacca
agctggaactgaagcggacagttgccgctcctagcgtgttcatcttcccaccttccgacgagcagctgaagtctggaaca
gccagcgtcgtgtgcctgctgaacaacttctaccctcgggaagccaaggtgcagtggaaggtggacaatgccctccagtc
cggcaacagccaagagagcgtgaccgagcaggacagcaaggactccacctatagcctgagcagcaccctgacactgagca
aggccgactacgagaaacacaaggtgtacgcctgcgaagtgacccaccagggactgtctagccctgtgaccaagagcttc
aacagaggcgagtgtgatgtgcctggcggctctgaagttcagctccagcagtctggacccgagctggttaagcctggcgc
ctccatgaagatctcttgcaaggcctccggctacagcttcaccggctacaccatgaattgggtcaagcagagccacggca
agtgcctggaatggatcggcctgatcaacccctacaacggcggcacaatctacaaccagaagttcaagggcaaagccaca
ctgaccgtggacaagagcagcagcaccgcctatatggaactgctgagcctgaccagcgaggactccgccgtgtactactg
cgccagagattacggcttcgtgctggactattggggccagggaacaaccctgacagtgtctagcggaggcggaggatctg
gtggcggaggaagtggcggaggcggttctggcggtggtggatctcaaattgtcctgactcagtcccctagcatcatgagc
gtgtcacccggggagaaagtgacaatcacctgttccgccagctcctccgtgtcctacatgcactggttccagcagaagcc
cggcacctccccaagctgtccatctactccacctccaacctggcctccggcgtgcccgccagattctctggcagaggct
ccggcaccagctactccctgaccatctctagagtggccgccgaggacgctgccacatattattgtcagcagcggagcaac
taccctccttggacctttggctgcggaacaaagctggaaatcaagtgatga</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

【發明申請專利範圍】

【請求項1】　一種組成物或醫用製劑，其包含：

(i)　編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))；及

(ii)　編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))。

【請求項2】　如請求項 1 之組成物或醫用製劑，其中第一多肽鏈與第二多肽鏈交互作用，形成一個對 CD3 具有特異性之結合結構域及兩個對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【請求項3】　如請求項 1 或 2 之組成物或醫用製劑，其中

第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域，

第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域，及

第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【請求項4】　如請求項 1 至 3 中任一項之組成物或醫用製劑，其中該第一及第二多肽鏈包含衍生自免疫球蛋白之重鏈恆定區 1(CH1)或其功能變體及衍生自免疫球蛋白之輕鏈恆定區(CL)或其功能變體。

【請求項5】　如請求項 1 至 4 中任一項之組成物或醫用製劑，其中免疫球蛋白為 IgG1。

【請求項6】　如請求項 5 之組成物或醫用製劑，其中 IgG1 為人類 IgG1。

【請求項7】　如請求項 4 至 6 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第一多肽鏈上之 VH、VL、及 CH1 從 N 端往 C 端之排列依序為

VH(CD3)-CH1-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VH(CD3)-CH1-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【請求項8】　如請求項 4 至 7 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 CH1 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。

【請求項9】　如請求項 8 之組成物或醫用製劑，其中該肽連接子包含胺基酸序列 SGPGGGRS$(G_4S)_2$或其功能變體。

【請求項10】　如請求項 4 至 9 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第二多肽鏈上之 VH、VL、及 CL 從 N 端往 C 端之排列依序為

VL(CD3)-CL-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VL(CD3)-CL-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【請求項11】　如請求項 4 至 10 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 CL 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。

【請求項12】　如請求項 11 之組成物或醫用製劑，其中該肽連接子包含胺基酸序列 DVPGGS 或其功能變體。

【請求項13】　如請求項 1 至 12 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)利用肽連接子彼此連結。

【請求項14】　如請求項 13 之組成物或醫用製劑，其中該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_x$或其功能變體，其中 x 為 2、3、4、5 或 6。

【請求項15】 如請求項 14 之組成物或醫用製劑，其中該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_4$或其功能變體。

【請求項16】 如請求項 4 至 15 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第一多肽鏈上之 CH1 與第二多肽鏈上之 CL 交互作用。

【請求項17】 如請求項 1 至 16 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【請求項18】 如請求項 1 至 17 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【請求項19】 如請求項 1 至 18 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【請求項20】 如請求項 1 至 19 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及較佳相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基及/或相對於 CDR2 位置 -3 之絲胺酸殘基。

【請求項21】 如請求項 1 至 20 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及較佳係 VL(CLDN6)包含相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基及/或相對於 CDR2 位置-3 之絲胺酸殘基 。

【請求項22】 如請求項 1 至 21 中任一項之組成物或醫用製劑，其中

VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體，

VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體，

VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體，及/或

VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【請求項23】 如請求項 1 至 22 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體。

【請求項24】 如請求項 1 至 23 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【請求項25】 如請求項 1 至 24 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體，及第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【請求項26】 如請求項 1 至 25 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第一多肽與第二多肽中至少一者係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【請求項27】 如請求項 1 至 26 中任一項之組成物或醫用製劑，其中各該第一多肽及第二多肽係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【請求項28】 如請求項 1 至 27 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 RNA 包含以經修飾核苷替代尿苷。

【請求項29】 如請求項 28 之組成物或醫用製劑，其中經修飾核苷係選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)。

【請求項30】 如請求項 1 至 29 中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【請求項31】 如請求項 1 至 30 中任一項之組成物或醫用製劑，其中每一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$。

【請求項32】 如請求項 1 至 31 中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項33】 如請求項 1 至 32 中任一項之組成物或醫用製劑，其中每一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項34】 如請求項 1 至 33 中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項35】 如請求項 1 至 34 中任一項之組成物或醫用製劑，其中每一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項36】 如請求項 1 至 35 中任一項之組成物或醫用製劑，其中至少一個 RNA 包含聚 A 序列。

【請求項37】 如請求項 1 至 36 中任一項之組成物或醫用製劑，其中每一個 RNA 包含聚 A 序列。

【請求項38】 如請求項 36 或 37 之組成物或醫用製劑，其中聚 A 序列包含至少 100 個核苷酸。

【請求項39】 如請求項 36 至 38 中任一項之組成物或醫用製劑，其中聚 A 序列包含或其組成為核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【請求項40】 如請求項 1 至 39 中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 第一 RNA 與第二 RNA 之 (w/w)比值為約 1.75∶1 至約 1.25∶1、或約 1.5：1 至約 1.25：1、或較佳約 1.5：1；及/或

(ii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷；及/或

(iii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷，其中該經修飾核苷係分別獨立選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)；及/或

(iv) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$；及/或

(v) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vi) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含聚 A 尾，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【請求項41】 如請求項 1 至 40 中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項42】 如請求項 1 至 41 中任一項之組成物或醫用製劑，其中

(i) 第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項43】 一種組成物或醫用製劑，其包含：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列。

【請求項44】 如請求項 1 至 43 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項45】 如請求項 1 至 44 中任一項之組成物或醫用製劑，其中第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項46】 如請求項 1 至 45 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 RNA 為 mRNA。

【請求項47】 如請求項 1 至 46 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 RNA 係調配成液體、調配成固體、或其組合。

【請求項48】 如請求項 1 至 47 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 RNA 係調配或計畫調配供注射。

【請求項49】 如請求項 1 至 48 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 RNA 係調配或計畫調配供靜脈內投藥。

【請求項50】 如請求項 1 至 49 中任一項之組成物或醫用製劑，其中 RNA 係調配或計畫調配成顆粒。

【請求項51】 如請求項 50 之組成物或醫用製劑，其中顆粒為脂質奈米顆粒(LNP)。

【請求項52】 如請求項 51 之組成物或醫用製劑，其中 LNP 顆粒包含((3-羥丙基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基)雙(2-丁基辛酸酯)、2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、及膽固醇。

【請求項53】 如請求項 1 至 52 中任一項之組成物或醫用製劑，其為醫藥組成物，其中該醫藥組成物較佳包含劑量為 0.05 μg/kg 或更多、或 0.05 μg/kg 至 5 mg/kg、或 0.05 μg/kg 至 500 μg/kg、或 0.5 μg/kg 至 500 μg/kg、或 1 μg/kg 至 50 μg/kg、或 5 μg/kg 至 150 μg/kg、或 15 μg/kg 至 150 μg/kg 之編碼第一與第二多肽之 RNA，其中 kg 係指接受治療之受試者之 kg 體重。

【請求項54】 如請求項 53 之組成物或醫用製劑，其中醫藥組成物進一步包含一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑及/或賦形劑。

【請求項55】 如請求項 1 至 52 中任一項之組成物或醫用製劑，其中醫用製劑為套組。

【請求項56】 如請求項 55 之組成物或醫用製劑，其中 RNA 及可視需要選用之形成顆粒之組份係在分開的小瓶中。

【請求項57】　如請求項 55 或 56 之組成物或醫用製劑，其進一步包含指示該組成物或醫用製劑於治療或預防癌症上用法之說明書。

【請求項58】　如請求項 1 至 57 中任一項之組成物或醫用製劑，其供醫藥用途。

【請求項59】　如請求項 58 之組成物或醫用製劑，其中該醫藥用途包含疾病或疾患之醫療性或預防性處理。

【請求項60】　如請求項 59 之組成物或醫用製劑，其中疾病或疾患之醫療性或預防性處理包含治療或預防癌症。

【請求項61】　如請求項 59 或 60 之組成物或醫用製劑，其中疾病或疾患之醫療性或預防性處理進一步包含投與其他療法。

【請求項62】　如請求項 62 之組成物或醫用製劑，其中其他療法包含一或多種選自下列各物所組成群中：(i) 腫瘤之手術去除、切除、或減積，(ii) 放射療法，及(iii) 化學療法。

【請求項63】　如請求項 62 之組成物或醫用製劑，其中該其他療法包含投與其他醫療劑。

【請求項64】　如請求項 63 之組成物或醫用製劑，其中其他醫療劑包含抗癌醫療劑。

【請求項65】　如請求項 1 至 64 中任一項之組成物或醫用製劑，其係投與人類。

【請求項66】　一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：

(i)　編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含衍生自對 CD3 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CD3))、衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之重鏈之可變區(VH)(VH(CLDN6))、及衍生自對 CLDN6 具有特異性之免疫球蛋白之輕鏈之可變區(VL)(VL(CLDN6))。

【請求項67】 如請求項 66 之方法，其中第一多肽鏈與第二多肽鏈交互作用，形成一個對 CD3 具有特異性之結合結構域及兩個對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【請求項68】 如請求項 66 或 67 之方法，其中

第一多肽鏈之 VH(CD3)與第二多肽鏈之 VL(CD3)交互作用，形成對 CD3 具有特異性之結合結構域，

第一多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域，及

第二多肽鏈之 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)交互作用，形成對 CLDN6 具有特異性之結合結構域。

【請求項69】 如請求項 66 至 68 中任一項之方法，其中該第一及第二多肽鏈包含衍生自免疫球蛋白之重鏈恆定區 1(CH1)或其功能變體及衍生自免疫球蛋白之輕鏈恆定區(CL)或其功能變體。

【請求項70】 如請求項 66 至 69 中任一項之方法，其中免疫球蛋白為 IgG1。

【請求項71】 如請求項 70 之方法，其中 IgG1 為人類 IgG1。

【請求項72】 如請求項 69 至 71 中任一項之方法，其中第一多肽鏈上之 VH、VL、及 CH1 從 N 端往 C 端之排列依序為

VH(CD3)-CH1-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VH(CD3)-CH1-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【請求項73】 如請求項 69 至 72 中任一項之方法，其中 CH1 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。

【請求項74】 如請求項 73 之方法，其中該肽連接子包含胺基酸序列 SGPGGGRS$(G_4S)_2$或其功能變體。

【請求項75】 如請求項 69 至 74 中任一項之方法，其中第二多肽鏈上之 VH、VL、及 CL 從 N 端往 C 端之排列依序為

VL(CD3)-CL-VH(CLDN6)-VL(CLDN6)，或

VL(CD3)-CL-VL(CLDN6)-VH(CLDN6)。

【請求項76】 如請求項 69 至 75 中任一項之方法，其中 CL 係利用肽連接子連結至 VH(CLDN6)或 VL(CLDN6)。

【請求項77】 如請求項 76 之方法，其中該肽連接子包含胺基酸序列 DVPGGS 或其功能變體。

【請求項78】 如請求項 66 至 77 中任一項之方法，其中 VH(CLDN6)與 VL(CLDN6)係利用肽連接子彼此連結。

【請求項79】 如請求項 78 之方法，其中該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_x$或其功能變體，其中 x 為 2、3、4、5 或 6。

【請求項80】 如請求項 79 之方法，其中該肽連接子包含胺基酸序列$(G_4S)_4$或其功能變體。

【請求項81】 如請求項 69 至 80 中任一項之方法，其中第一多肽鏈上之 CH1 與第二多肽鏈上之 CL 交互作用。

【請求項82】 如請求項 66 至 81 中任一項之方法，其中 VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【請求項83】 如請求項 66 至 82 中任一項之方法，其中 VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【請求項84】 如請求項 66 至 83 中任一項之方法，其中 VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3。

【請求項85】 如請求項 66 至 84 中任一項之方法，其中 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3，及較佳相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基及/或相對於 CDR2 位置-3 之絲胺酸殘基。

【請求項86】 如請求項 66 至 85 中任一項之方法，其中 VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及 VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列之 CDR1、CDR2、及 CDR3；及較佳係 VL(CLDN6)包含相對於 CDR1 位置+15 之絲胺酸殘基及/或相對於 CDR2 位置-3 之絲胺酸殘基。

【請求項87】 如請求項 66 至 86 中任一項之方法，其中

VH(CD3)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 27 至 145 之胺基酸序列或其功能變體，

VL(CD3)包含 SEQ ID NO：6 中胺基酸 27 至 132 之胺基酸序列或其功能變體，

VH(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 267 至 383 之胺基酸序列或其功能變體，及/或

VL(CLDN6)包含 SEQ ID NO：4 中胺基酸 404 至 510 之胺基酸序列或其功能變體。

【請求項88】 如請求項 66 至 87 中任一項之方法，其中第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體。

【請求項89】 如請求項 66 至 88 中任一項之方法，其中第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【請求項90】　如請求項 66 至 89 中任一項之方法，其中第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4 或其功能變體，及第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6 或其功能變體。

【請求項91】　如請求項 66 至 90 中任一項之方法，其中第一多肽與第二多肽中至少一者係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【請求項92】　如請求項 66 至 91 中任一項之方法，其中各第一多肽及第二多肽係由已經過密碼子優化及/或其 G/C 含量已相較於野生型編碼序列增加之編碼序列編碼，其中密碼子優化及/或 G/C 含量之增加較佳係不會改變所編碼胺基酸序列之序列。

【請求項93】　如請求項 66 至 92 中任一項之方法，其中 RNA 包含以經修飾核苷替代尿苷。

【請求項94】　如請求項 93 之方法，其中該經修飾核苷係選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)。

【請求項95】　如請求項 66 至 94 中任一項之方法，其中至少一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-O}}$Gppp($m_1^{2'\text{-O}}$)ApG。

【請求項96】　如請求項 66 至 95 中任一項之方法，其中每一個 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-O}}$Gppp($m_1^{2'\text{-O}}$)ApG。

【請求項97】　如請求項 66 至 96 中任一項之方法，其中至少一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項98】　如請求項 66 至 97 中任一項之方法，其中每一個 RNA 包含 5’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項99】 如請求項 66 至 98 中任一項之方法，其中至少一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項100】 如請求項 66 至 99 中任一項之方法，其中每一個 RNA 包含 3’UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項101】 如請求項 66 至 100 中任一項之方法，其中至少一個 RNA 包含聚 A 序列。

【請求項102】 如請求項 66 至 101 中任一項之方法，其中每一個 RNA 包含聚 A 序列。

【請求項103】 如請求項 101 或 102 之方法，其中聚 A 序列包含至少 100 個核苷酸。

【請求項104】 如請求項 101 至 103 中任一項之方法，其中聚 A 序列包含或其組成為核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【請求項105】 如請求項 66 至 104 中任一項之方法，其中

(i) 第一 RNA 與第二 RNA 之 (w/w)比值為約 1.75：1 至約 1.25：1、或約 1.5：1 至約 1.25：1、或較佳約 1.5：1；及/或

(ii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷；及/或

(iii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含以經修飾核苷替代每一個尿苷，其中該經修飾核苷係分別獨立選自：假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)、及 5-甲基-尿苷(m5U)；及/或

(iv) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5’端帽 $m_2^{7,3'\text{-}O}Gppp(m_1^{2'\text{-}O})ApG$；及/或

(v) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 5'UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：8，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：8 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vi) 第一 RNA 與第二 RNA 包含 3'UTR，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：9，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：9 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列；及/或

(vii) 第一 RNA 與第二 RNA 包含聚 A 尾，其包含核苷酸序列 SEQ ID NO：10。

【請求項106】 如請求項 66 至 105 中任一項之方法，其中

(i) 第一多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項107】 如請求項 66 至 106 中任一項之方法，其中

(i) 第二多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及/或

(ii) 第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項108】 一種治療受試者之癌症之方法，其包括對該受試者投與：

(i) 編碼第一多肽鏈之第一 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：4，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：4 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列；及

(ii) 編碼第二多肽鏈之第二 RNA，該多肽鏈包含胺基酸序列 SEQ ID NO：6，或與胺基酸序列 SEQ ID NO：6 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之胺基酸序列。

【請求項109】 如請求項 66 至 108 中任一項之方法，其中第一 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：5，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：5 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項110】 如請求項 66 至 109 中任一項之方法，其中第二 RNA 包含核苷酸序列 SEQ ID NO：7，或與核苷酸序列 SEQ ID NO：7 具有至少 99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%、或 80%一致性之核苷酸序列。

【請求項111】 如請求項 66 至 110 中任一項之方法，其中 RNA 為 mRNA。

【請求項112】 如請求項 66 至 111 中任一項之方法，其中 RNA 係調配成液體、調配成固體、或其組合。

【請求項113】 如請求項 66 至 112 中任一項之方法，其中 RNA 係經注射投藥，較佳係一週一次。

【請求項114】 如請求項 66 至 113 中任一項之方法，其中 RNA 係經靜脈內投藥。

【請求項115】 如請求項 66 至 114 中任一項之方法，其中 RNA 係調配成顆粒。

【請求項116】 如請求項 115 之方法，其中顆粒為脂質奈米顆粒(LNP)。

【請求項117】 如請求項 116 之方法，其中 LNP 顆粒包含((3-羥丙基)氮烷二基)雙(壬烷-9,1-二基) 雙(2-丁基辛酸酯)、2-[(聚乙二醇)-2000]-N,N-二-十四烷基乙醯胺、1,2-二硬脂醯基-sn-甘油基-3-磷酸膽鹼、及膽固醇。

【請求項118】 如請求項 66 至 117 中任一項之方法，其中 RNA 係調配成醫藥組成物，其中醫藥組成物較佳包含劑量為 0.05 μg/kg 或更多、或 0.05 μg/kg 至 5 mg/kg、或 0.05 μg/kg 至 500 μg/kg、或 0.5 μg/kg 至 500 μg/kg、或 1 μg/kg 至 50 μg/kg、或 5 μg/kg 至 150 μg/kg、或 15 μg/kg 至 150 μg/kg 之編碼第一與第二多肽之 RNA，其中 kg 係指接受治療之受試者之 kg 體重。

【請求項119】 如請求項 118 之方法，其中醫藥組成物進一步包含一或多種醫藥上可接受之載劑、稀釋劑及/或賦形劑。

【請求項120】 如請求項 66 至 119 中任一項之方法，其進一步包括投與其他療法。

【請求項121】 如請求項 120 之方法，其中該其他療法包含一或多種選自下列各物所組成群中：(i) 腫瘤之手術去除、切除、或減積，(ii) 放射療法，及(iii) 化學療法。

【請求項122】 如請求項 121 之方法，其中該其他療法包含投與其他醫療劑。

【請求項123】 如請求項 122 之方法，其中該其他醫療劑包含抗癌醫療劑。

【請求項124】 如請求項 66 至 123 中任一項之方法，其中該受試者為人類。

【請求項125】 如請求項 66 至 124 中任一項之方法，其中該癌症為 CLDN6 陽性癌症。

【請求項126】 如請求項 1 至 65 中任一項之組成物或醫用製劑，其用於如請求項 66 至 125 中任一項之方法。

(發明圖式)

[圖2]

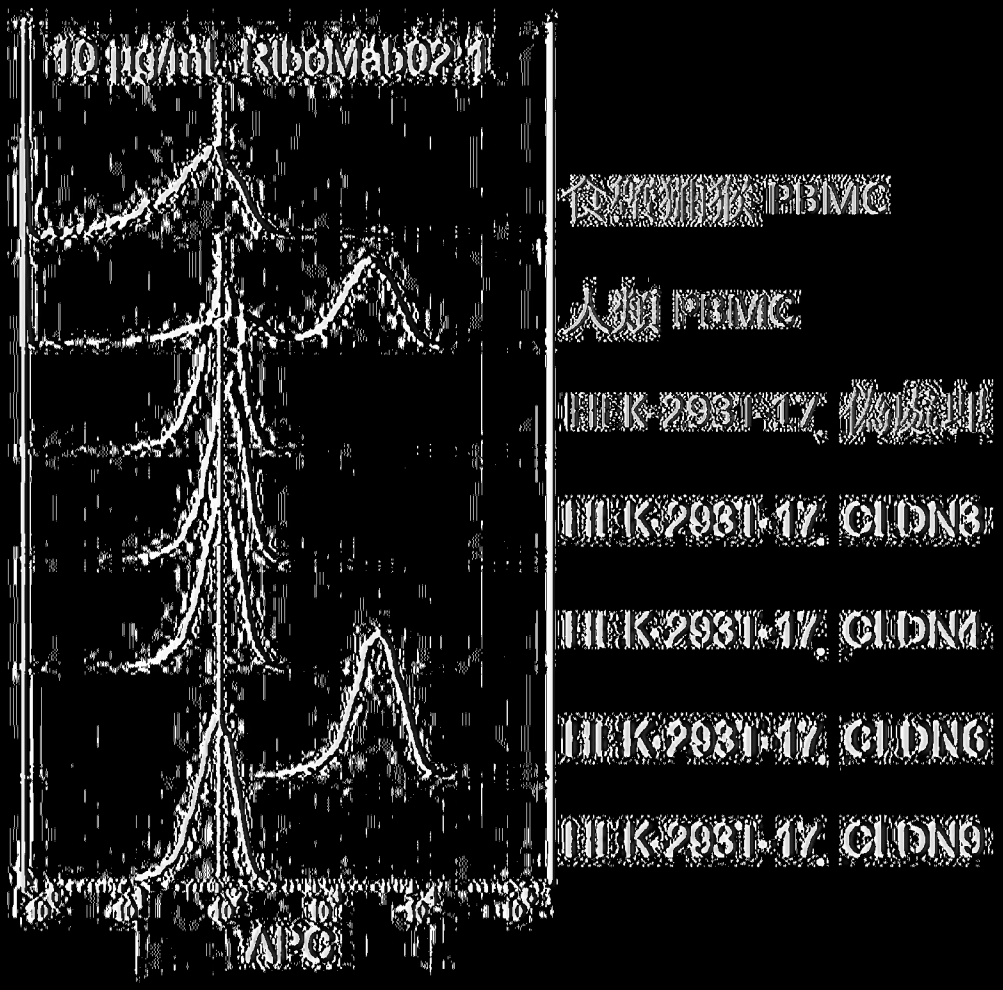
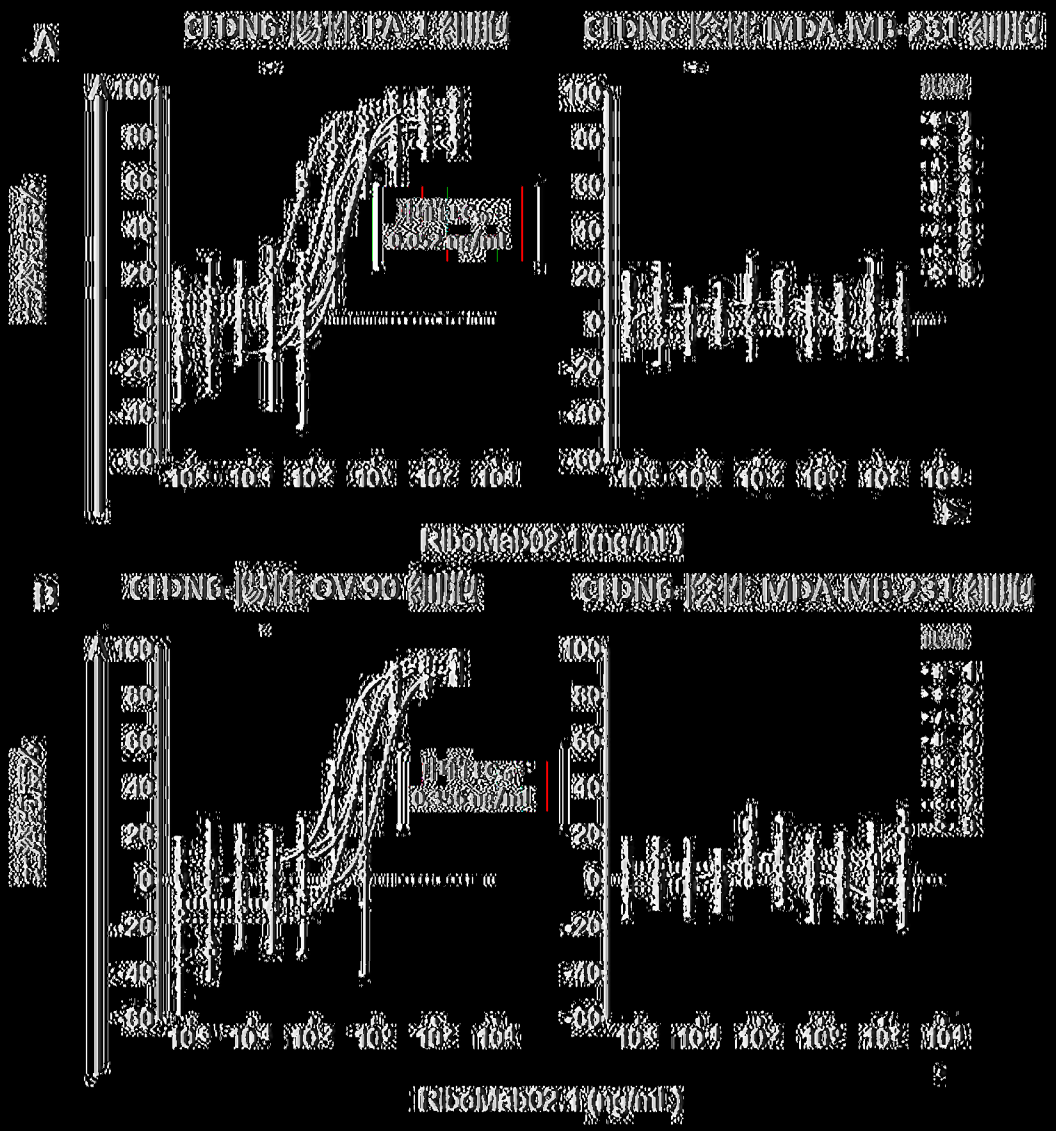
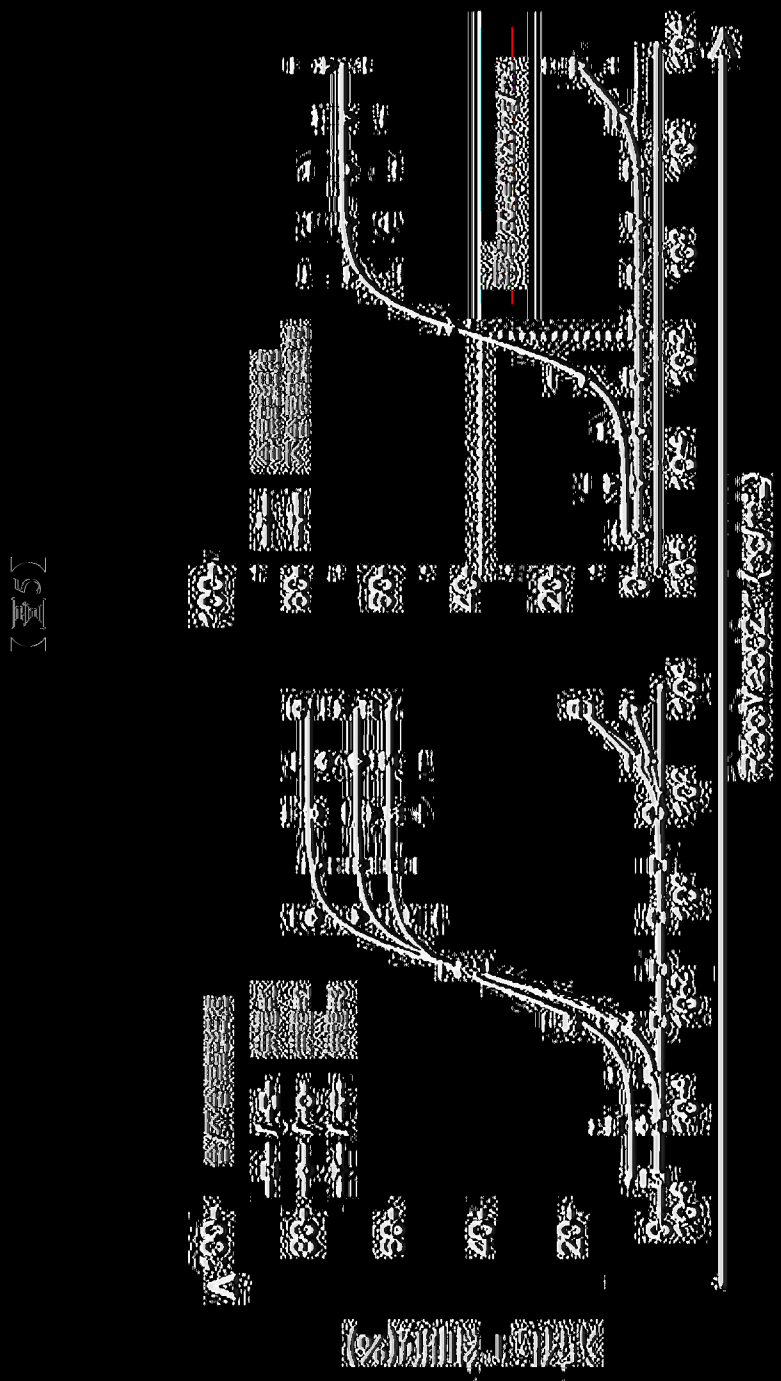
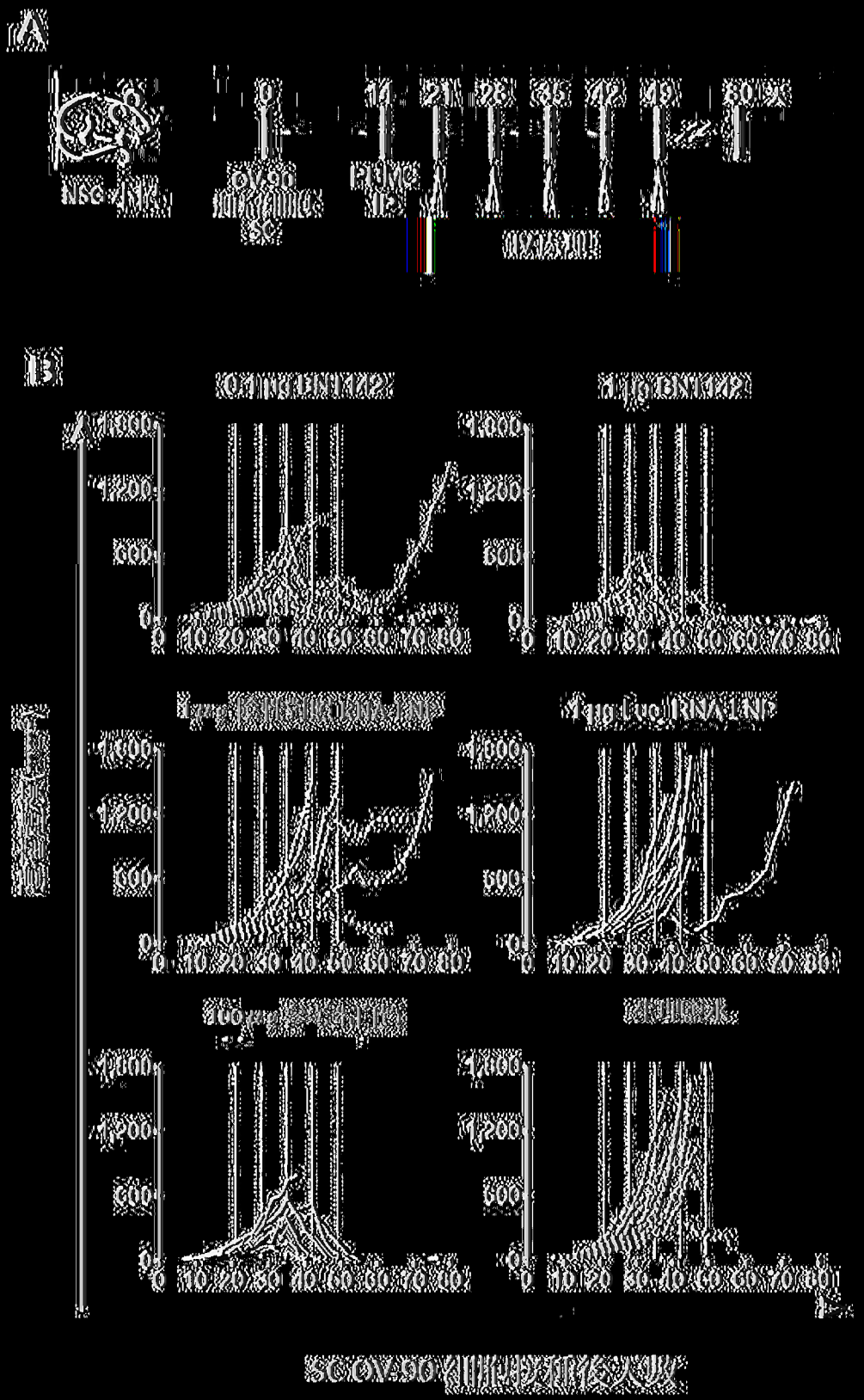

10 μg/mL RibomAb021
食蟹猴 PBMC
人類 PBMC
HEK-293T-CZ 偽旋型
HEK-293T-CZ CLDN3
HEK-293T-CZ CLDN4
HEK-293T-CZ CLDN6
HEK-293T-CZ CLDN9
APC

圖3

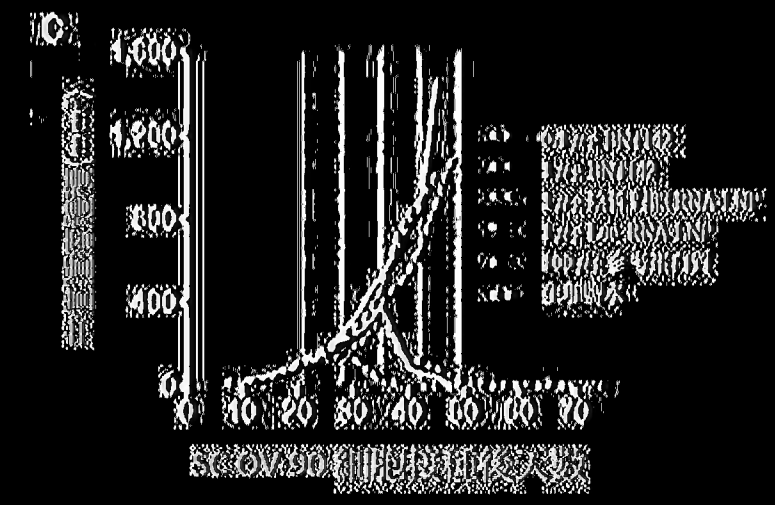

A
CHONG 肝癌 HCA-1 細胞
CHONG 乳癌 MDA-MB-231 細胞
RiboMab02-1 (ng/mL)
B
CHONG 肝癌 OV-90 細胞
CHONG 乳癌 MDA-MB-231 細胞
RiboMab02-4 (ng/mL)

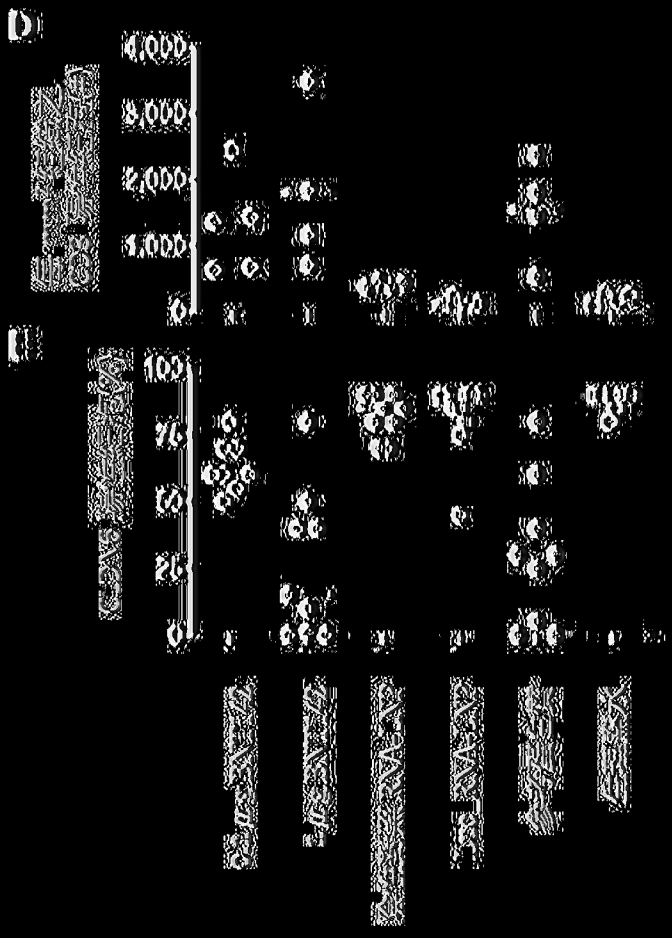

圖 5

[圖6]

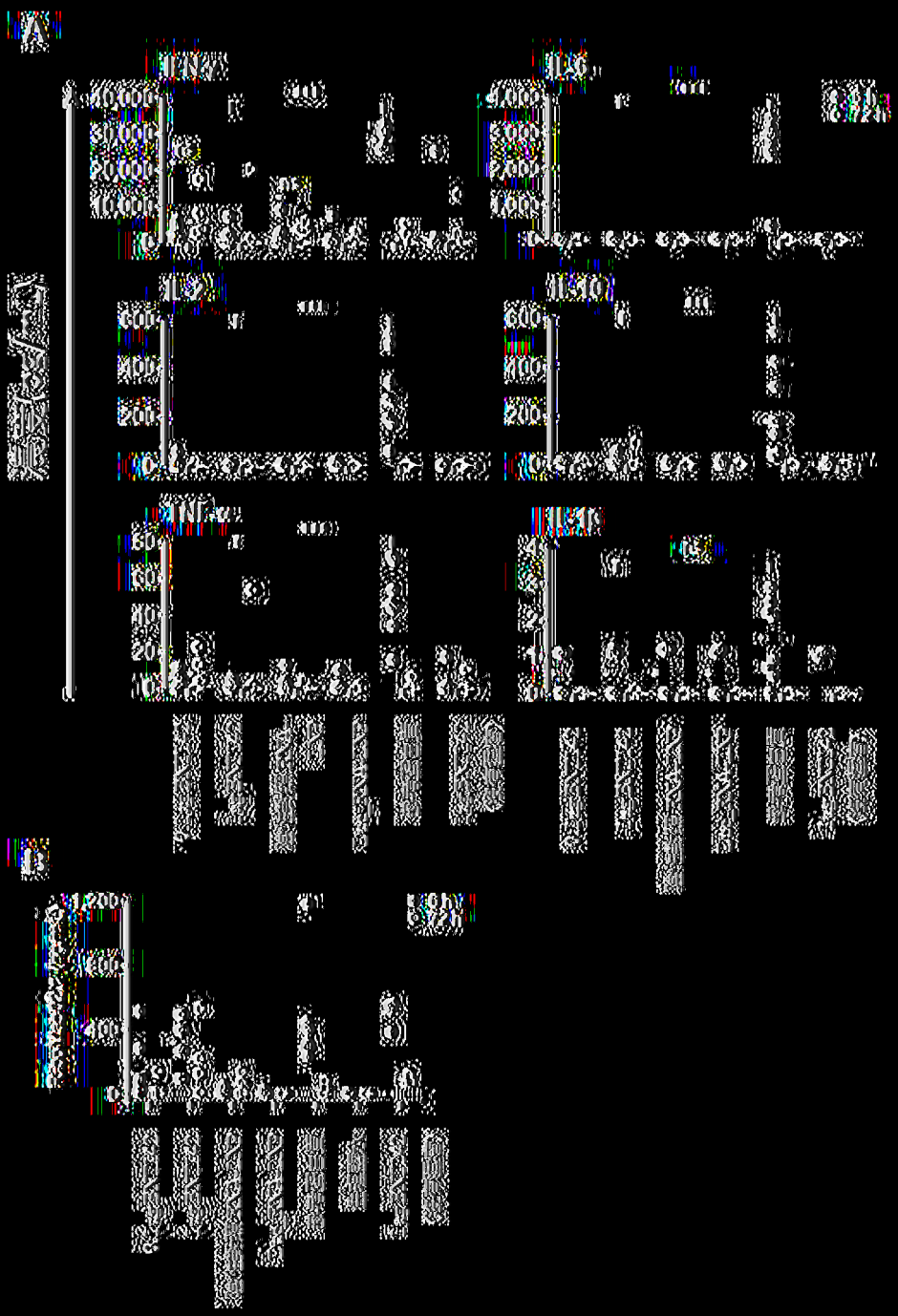

A
0
14
21
28
35
42
49
80天
B
0.1 mg/kg BNT162
1 mg/kg BNT162
10 mg/kg BNT162
SC OV-90小鼠模型植入腫瘤

【圖6】


1,600
1,200
800
400
0
10
20
30
40
50
60
70


D
4,000
3,000
2,000
1,000
0
100
75
50
25
0

END

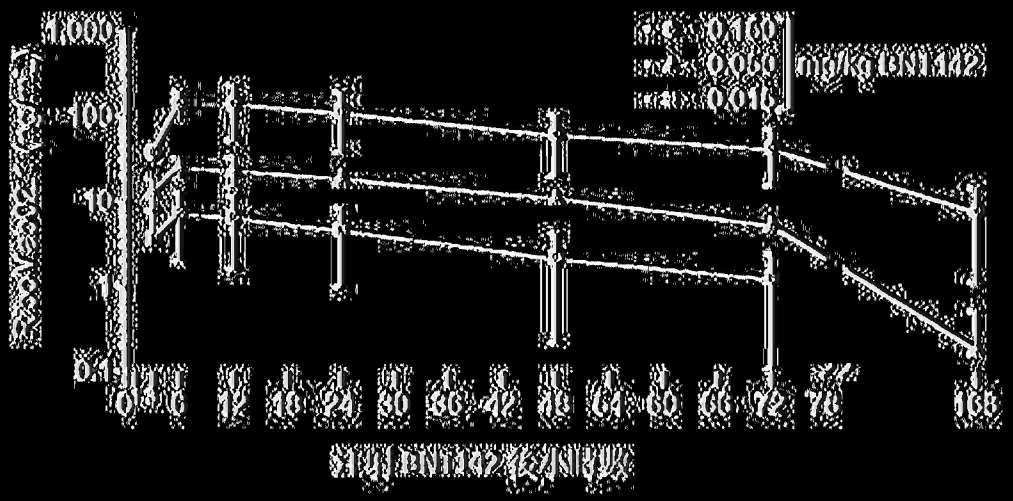


【圖10】

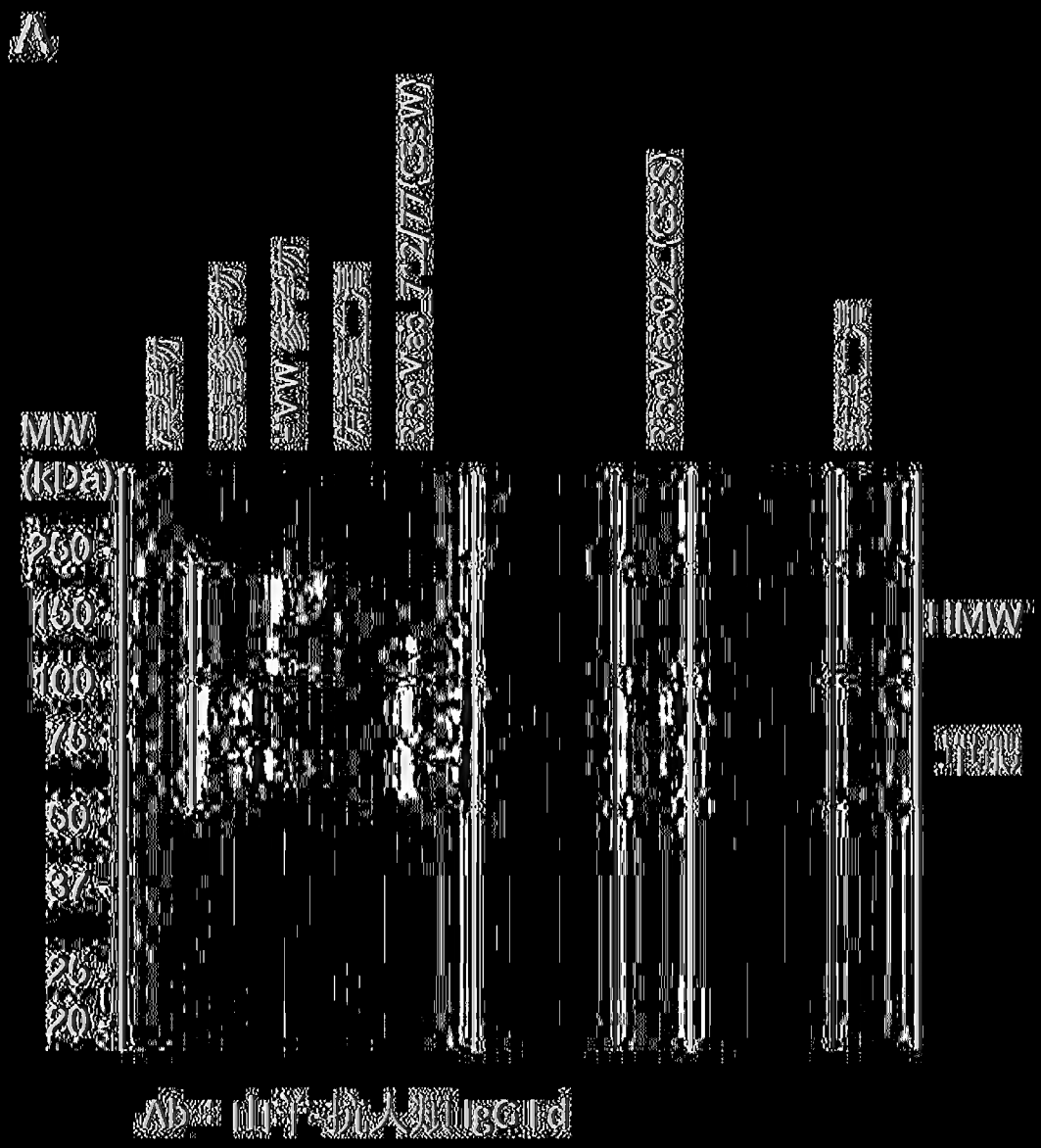


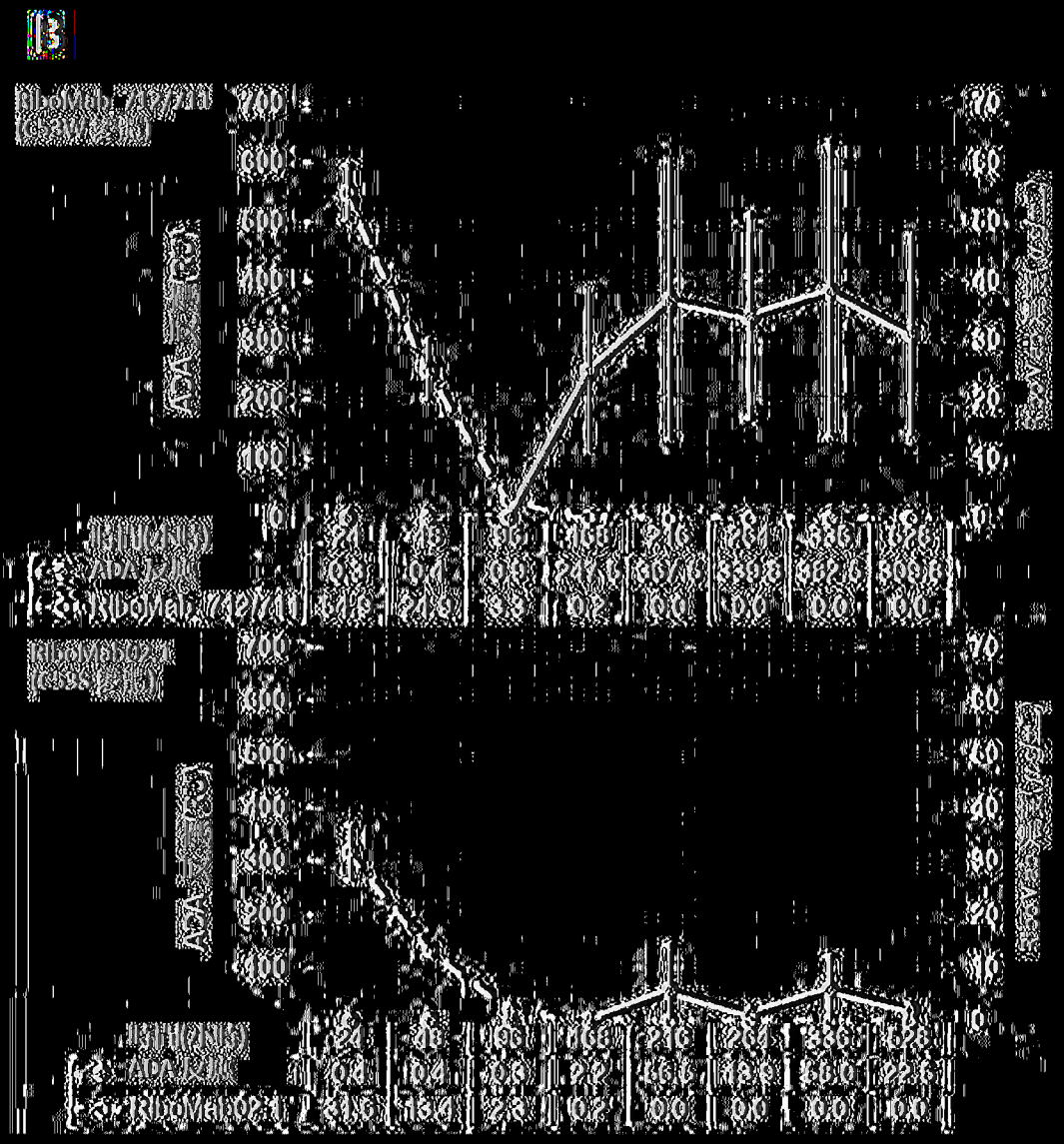
圖 3
ribomab021 (pgfm1)

[圖12]

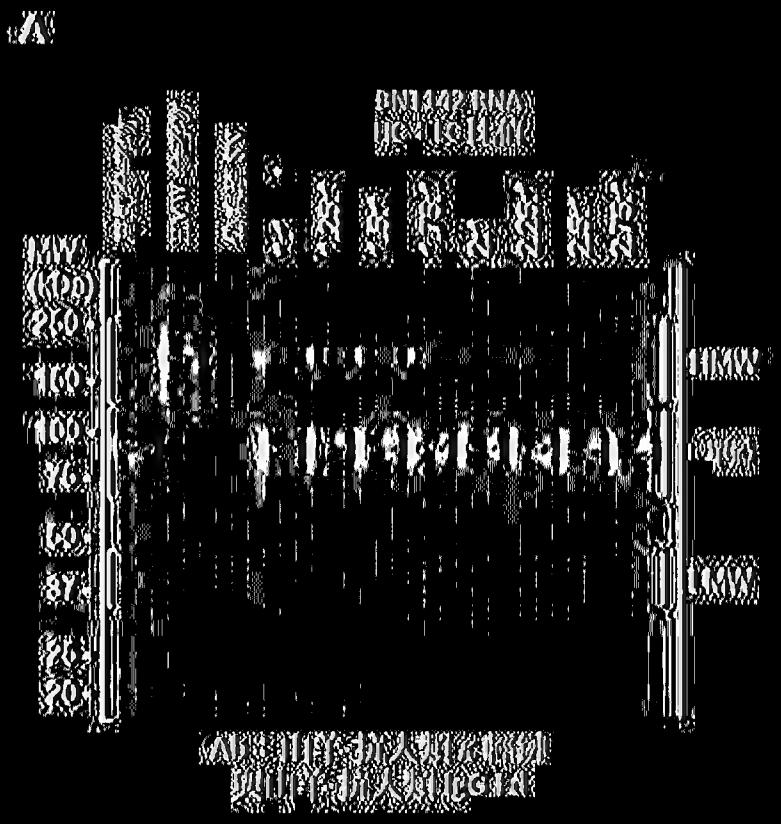

1,000
100
10
1
0.1
0
3
6
12
18
24
30
36
42
48
54
60
66
72
78
168
0.160
0.050
0.016
mg/kg (BN1442)
BN1442 (h)

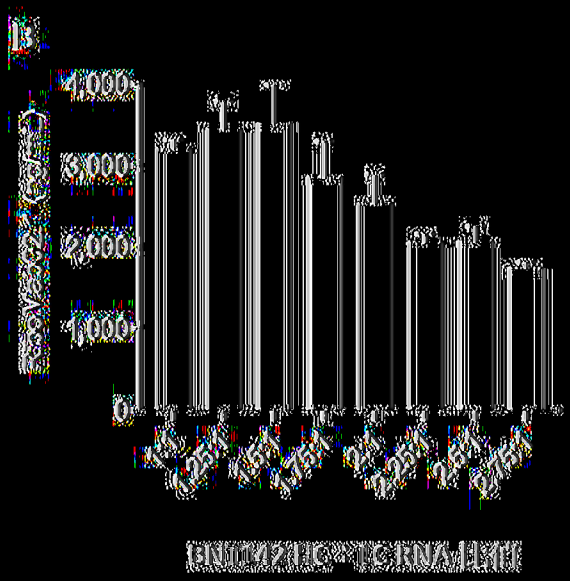
[圖13]





[圖14]


A
BN1422RNA
MW
(100)
260
160
100
76
60
87
76
20
1MW
0.5MW
1MW


B
4000
3000
2000
1000
0