I848953

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I848953 B**

(45)公告日： 中華民國 113 (2024) 年 07 月 21 日

(21)申請案號：108119701 (22)申請日： 中華民國 108 (2019) 年 06 月 06 日

(51)Int. Cl.： ***C07K16/46 (2006.01)*** ***A61K39/395 (2006.01)***
C12N15/13 (2006.01) ***C12N15/62 (2006.01)***
C12N15/63 (2006.01) ***C07H21/04 (2006.01)***
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2018/06/09 歐洲專利局 18176888.8
2018/06/09 歐洲專利局 18176889.6
2019/02/26 歐洲專利局 19159321.9

(71)申請人：德商百靈佳殷格翰國際股份有限公司 (德國) BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL GMBH (DE)
德國

(72)發明人：西帕 蘇珊娜 HIPP, SUSANNE (DE)；亞當 保羅 ADAM, PAUL (GB)；第茲格威斯基 麥克 DZIEGELEWSKI, MICHAEL (US)；甘奈森 哈庫瑪 GANESAN, RAJKUMAR (US)；加爾曼 菲利普 尼可拉斯 GORMAN, PHILIP NICHOLAS (US)；古塔 普利彥卡 GUPTA, PRIYANKA (IN)；古塔 班卡 GUPTA, PANKAJ (US)；謝爾 賈斯汀 SCHEER, JUSTIN (US)；渥諾福 夫拉米爾 H VOYNOV, VLADIMIR H. (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201708261A WO 2007/042261A2

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：29 項 圖式數：25 共 428 頁

(54)名稱

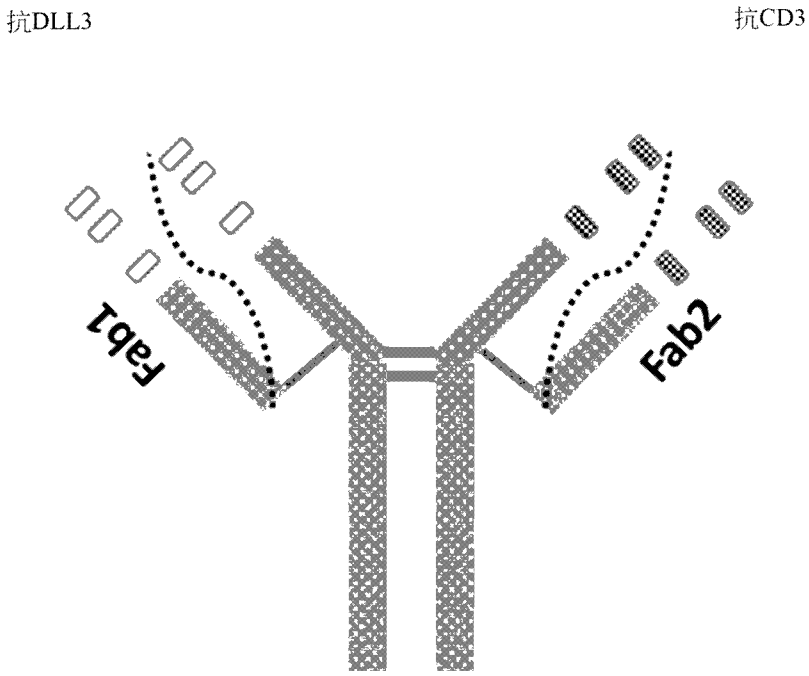
針對癌症治療之多特異性結合蛋白

(57)摘要

本發明係關於新穎的 DLL3/CD3 結合蛋白。本發明亦係關於編碼此類蛋白質之核酸；製備此類蛋白質之方法；表現或能夠表現此類蛋白質之宿主細胞；包含此類蛋白質之組合物；以及此類蛋白質或此類組合物之用途，尤其出於治療目的用於癌症疾病領域中之用途。

The present invention relates to novel DLL3/CD3 binding proteins. The invention also relates to nucleic acids encoding such proteins; to methods for preparing such proteins; to host cells expressing or capable of expressing such proteins; to compositions comprising such proteins; and to uses of such proteins or such compositions, in particular for therapeutic purposes in the field of cancer diseases.

指定代表圖：



【圖1】

公告本

I848953

【發明摘要】

【中文發明名稱】

針對癌症治療之多特異性結合蛋白

【英文發明名稱】

MULTI-SPECIFIC BINDING PROTEINS FOR CANCER TREATMENT

【中文】

本發明係關於新穎的DLL3/CD3結合蛋白。本發明亦係關於編碼此類蛋白質之核酸；製備此類蛋白質之方法；表現或能夠表現此類蛋白質之宿主細胞；包含此類蛋白質之組合物；以及此類蛋白質或此類組合物之用途，尤其出於治療目的用於癌症疾病領域中之用途。

【英文】

The present invention relates to novel DLL3/CD3 binding proteins. The invention also relates to nucleic acids encoding such proteins; to methods for preparing such proteins; to host cells expressing or capable of expressing such proteins; to compositions comprising such proteins; and to uses of such proteins or such compositions, in particular for therapeutic purposes in the field of cancer diseases.

【指定代表圖】

圖1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

針對癌症治療之多特異性結合蛋白

【英文發明名稱】

MULTI-SPECIFIC BINDING PROTEINS FOR CANCER TREATMENT

【技術領域】

【0001】 本發明係關於多特異性結合蛋白，其包含對DLL3具有特異性的第一抗原結合單元及對CD3具有特異性的第二抗原結合單元。本發明亦係關於編碼此類結合蛋白之核酸；用於製備此類結合蛋白之方法；表現或能夠表現此類結合蛋白之宿主細胞；包含此類結合蛋白之組合物及此類結合蛋白或此類組合物之用途，尤其出於治療目的用於癌症疾病領域之用途。

【先前技術】

【0002】 DLL3係屬於Notch配位體家族之I型跨膜蛋白。DLL3主要參與體節發生，其中相比於位於細胞表面上之其他DLL家族成員DLL1及DLL4，其主要位於高基氏體且充當Notch信號傳導之抑制劑。僅在過表現DLL3之癌細胞中，一些DLL3分子逃逸至細胞表面(Dylla, Molecular & Cellular Oncology 2016, 第3卷, 第2期)。藉由使用若干方法已將DLL3鑑別為腫瘤特異性目標，例如腫瘤組織之LC/MS分析(WO 2014/125273)、RNA定序(WO 2017/021349)及免疫組織化學(Saunders等人, Sci Transl Med. 2015年8月26日;7(302):302ra136；Saunders等人, AACR 2017；WO 2013/126746)分析。

【0003】 DLL3表現已在神經內分泌腫瘤中有所描述，諸如大細胞神經內分泌癌瘤(large cell neuroendocrine carcinoma；LCNEC)、小細胞肺癌(small cell lung cancer；SCLC)、神經內分泌前列腺癌、神經內分泌胰臟癌及神經膠母細胞瘤(Saunders等人, Sci Transl Med. 2015年8月26日;7(302):302ra136；Saunders等人, AACR 2017)。

【0004】 SCLC表示具有極高醫療需求之適應症。SCLC佔肺癌診斷之13%且相比NSCLC預後較差。此等癌症之習知治療主要包括化學療法、放射療法、手術或其組合，尚不存在可用的靶向療法。儘管對化學療法之初始響應率較高，但許多患者迅速復發化療抗性疾病，因此不存在可用的治療選擇。儘管在過去幾年此等癌症治療已有所改善，但此等腫瘤類型之總存活率仍未改變，因此，對更具針對性及強效的療法之需求仍未滿足。

【0005】 一種靶向療法方法由抗體藥結合物(ADC)提供，然而，對於DLL3而言，此策略由於DLL3之低細胞表面表現及對化學療法之高抵抗率而並非較佳的。因為大多數患者在化學療法治療之後復發且由於DLL3在細胞表面上的低表現，用ADC靶向DLL3可能具有限制。另外，ADC方法常常因連接子不穩定性或降解而具有由自由態藥物引起之脫靶毒性。

【0006】 已嘗試將DLL3靶向與其他蛋白質之靶向組合。舉例而言，WO2017/021349描述一種雙特異性抗體構築體，其組合與靶細胞表面上之人類DLL3結合及與T細胞表面上之人類CD3。然而，尚未證明此類方法能否成功且迄今沒有SCLC及神經膠母細胞瘤以及其他表現DLL3之腫瘤的靶向療法可供使用。

【0007】 鑒於此類癌症患者之較差前景，需要鑑別更加有效之療

法，尤其具有改善之耐受性的有效療法。因此，本發明之一目標為提供藥理學活性劑、組合物及/或治療方法，其相比於目前使用及/或此項技術中已知之藥劑、組合物及/或方法提供某些優勢。此等優勢包括活體內功效、改善之治療及藥理學特性、特異性增加、改善之安全概況、副作用較少、免疫原性降低，及其他有利特性，諸如改善之製備容易性或降低之商品成本、較高之穩定性/較長之半衰期、對投藥方案之需求頻率較少，尤其相比於此項技術中已知之候選藥物。

【發明內容】

【0008】 本發明係基於一種雙特異性T細胞接合方法，其採用多特異性結合蛋白，該等多特異性結合蛋白具有與T細胞上之CD3結合之結合臂及與腫瘤細胞之細胞表面上之DLL3結合的結合臂。經由與T細胞及腫瘤細胞之同時結合，T細胞接合劑迫使在兩個細胞之間形成溶細胞突觸且因此選擇性地重導向對靶向腫瘤細胞之T細胞活性。

【0009】 在一個態樣中，本發明提供多特異性結合蛋白，其包含與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，該與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元選自由i)至xviii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及

包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；

iv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:19 (CDR1)、SEQ ID NO:20 (CDR2)及SEQ ID NO:21 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:22 (CDR1)、SEQ ID NO:23 (CDR2)及SEQ ID NO:24 (CDR3)之重鏈CDR；

v)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:25 (CDR1)、SEQ ID NO:26 (CDR2)及SEQ ID NO:27 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:28 (CDR1)、SEQ ID NO:29 (CDR2)及SEQ ID NO:30 (CDR3)之重鏈CDR；

vi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:31 (CDR1)、SEQ ID NO:32 (CDR2)及SEQ ID NO:33 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:34 (CDR1)、SEQ ID NO:35 (CDR2)及SEQ ID NO:36 (CDR3)之重鏈CDR；

vii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:133 (CDR1)、SEQ ID NO:134 (CDR2)及SEQ ID NO:135 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:136 (CDR1)、SEQ ID NO:137 (CDR2)及SEQ ID NO:138 (CDR3)之重鏈CDR；

viii) 包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:139

(CDR1)、SEQ ID NO:140 (CDR2)及SEQ ID NO:141 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:142 (CDR1)、SEQ ID NO:143 (CDR2)及SEQ ID NO:144 (CDR3)之重鏈CDR；

ix)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:145 (CDR1)、SEQ ID NO:146 (CDR2)及SEQ ID NO:147 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:148 (CDR1)、SEQ ID NO:149 (CDR2)及SEQ ID NO:150 (CDR3)之重鏈CDR；

x)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:151 (CDR1)、SEQ ID NO:152 (CDR2)及SEQ ID NO:153 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:154 (CDR1)、SEQ ID NO:155 (CDR2)及SEQ ID NO:156 (CDR3)之重鏈CDR；

xi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:157 (CDR1)、SEQ ID NO:158 (CDR2)及SEQ ID NO:159 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:160 (CDR1)、SEQ ID NO:161 (CDR2)及SEQ ID NO:162 (CDR3)之重鏈CDR；

xii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:163 (CDR1)、SEQ ID NO:164 (CDR2)及SEQ ID NO:165 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:166 (CDR1)、SEQ ID NO:167 (CDR2)及SEQ ID NO:168 (CDR3)之重鏈CDR；

xiii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:169 (CDR1)、SEQ ID NO:170 (CDR2)及SEQ ID NO:171 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:172 (CDR1)、SEQ ID NO:173 (CDR2)及SEQ ID NO:174 (CDR3)之重鏈CDR；

xiv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:175 (CDR1)、SEQ ID NO:176 (CDR2)及SEQ ID NO:177 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:178 (CDR1)、SEQ ID NO:179 (CDR2)及SEQ ID NO:180 (CDR3)之重鏈CDR；

xv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:181 (CDR1)、SEQ ID NO:182 (CDR2)及SEQ ID NO:183 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:184 (CDR1)、SEQ ID NO:185 (CDR2)及SEQ ID NO:186 (CDR3)之重鏈CDR；

xvi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:187 (CDR1)、SEQ ID NO:188 (CDR2)及SEQ ID NO:189 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:190 (CDR1)、SEQ ID NO:191 (CDR2)及SEQ ID NO:192 (CDR3)之重鏈CDR；

xvii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:193 (CDR1)、SEQ ID NO:194 (CDR2)及SEQ ID NO:195 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:196 (CDR1)、SEQ ID NO:197 (CDR2)及SEQ ID NO:198 (CDR3)之重鏈CDR；以及

xviii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:199 (CDR1)、SEQ ID NO:200 (CDR2)及SEQ ID NO:201 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:202 (CDR1)、SEQ ID NO:203 (CDR2)及SEQ ID NO:204 (CDR3)之重鏈CDR。

【0010】在本發明之結合蛋白之一些實施例中，與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元包含第一輕鏈可變域及第一重鏈可變域且選自由i)至xviii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之重鏈可變域；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之重鏈可變域；

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之重鏈可變域；

iv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44之重鏈可變域；

v)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之重鏈可變域；

vi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之重鏈可變域；

vii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 205之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 206之重鏈可變域；

viii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 207之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 208之重鏈可變域；

ix)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 209之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 210之重鏈可變域；

x)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 211之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 212之重鏈可變域；

xi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 213之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 214之重鏈可變域；

xii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 215之

輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 216之重鏈可變域；

xiii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 218之重鏈可變域；

xiv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 219之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220之重鏈可變域；

xv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 222之重鏈可變域；

xvi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 223之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 224之重鏈可變域；

xvii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 225之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈可變域；以及

xviii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 227之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 228之重鏈可變域。

【0011】 在本發明之結合蛋白之一些實施例中，與CD3特異性結合之第二抗原結合單元選自由i)至iii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR；以及

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:96 (CDR1)、SEQ ID NO:97 (CDR2)及SEQ ID NO:98 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:99 (CDR1)、SEQ ID NO:100 (CDR2)及SEQ ID NO:101 (CDR3)之重鏈CDR。

【0012】 在本發明之結合蛋白之一些實施例中，與CD3特異性結合之第二抗原結合單元包含第二輕鏈可變域及第二重鏈可變域且選自由以下組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68之重鏈可變域；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 70之重鏈可變域；以及

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 102之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 103之重鏈可變域。

【0013】 在本發明之一些實施例中，與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元自其N端至C端包含：第一輕鏈可變域、第一輕鏈恆定域、第一肽連接子、第一重鏈可變域及第一重鏈恆定CH1域；且與CD3特異性結合之第二抗原結合單元自其N端至C端包含：第二輕鏈可變域、第二輕鏈恆定域、第二肽連接子、第二重鏈可變域及第二重鏈恆定CH1域。在本發明之一些實施例中，第一及/或第二肽連接子包含26至42個胺基酸，較佳30至40個胺基酸中之任一者，34至40個胺基酸，或36至39個胺基酸，更佳地38個胺基酸。在本發明之一些實施例中，第一連接子及/或第二連接子係Gly-Ser連接子，其較佳地包含胺基酸序列SEQ ID NO:89，更佳地該第一及第二肽連接子包含相同序列。

【0014】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白進一步包含第一及第二Fc域，該第一Fc域共價連接至該第一抗原結合單元，且該第二Fc域共價連接至該第二抗原結合單元。

【0015】 在本發明之一些實施例中，

i)該第一Fc域包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，且該第二Fc域包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]，或

ii)該第一Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第二Fc域包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]，或

iii)該第二Fc域包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，且該第一Fc域包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]，或

iv)該第二Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第一Fc域包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]，

較佳地該第一或該第二Fc域進一步包含在位置435處之精胺酸[H435R]及在位置436處之苯丙胺酸[Y436F]。在一些實施例中，第一及/或第二Fc域進一步包含在位置234處之丙胺酸[L234A]及在位置235處之丙胺酸[L235A]。在一些實施例中，第一輕鏈恆定域及第二輕鏈恆定域包含人類κ或λ域。

【0016】 在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO: 242、SEQ ID

NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO: 245、SEQ ID NO: 246、SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 249、SEQ ID NO: 250、SEQ ID NO: 251及SEQ ID NO: 252；及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80或SEQ ID NO:105。

【0017】在另一態樣中，本發明提供分離之核酸分子，其i)編碼本發明之蛋白質之第一抗原結合單元及/或第二抗原結合單元，視情況進一步編碼第一及/或第二Fc域，或ii)編碼本發明之蛋白質之第一及/或第二多肽鏈。本文提供之其他態樣係包含本發明之核酸分子之表現載體、經此類表現載體轉染之宿主細胞，及製造本發明之蛋白質之方法。

【0018】在本發明之另一態樣中，本文提供一種多特異性結合蛋白，其包含與DLL3特異性結合之第一多肽鏈及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含第一輕鏈、第一連接子及第一重鏈且該第二多肽鏈包含第二輕鏈、第二連接子及第二重鏈，較佳地該第一輕鏈之C端經由該第一肽連接子共價鍵結至該第一重鏈之N端且該第二輕鏈之C端經由該第二肽連接子共價鍵結至該第二重鏈之N端。

【0019】在本發明之結合蛋白之一些實施例中，與DLL3特異性結合之第一多肽鏈包含輕鏈可變域及重鏈可變域，該輕鏈可變域及重鏈可變域包含如對於本文所描述之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18之抗原結合單位所定義的CDR序列及/或VH/VL序列。在一些實施例中，與CD3特異性結合之第二多肽鏈包含輕鏈可變域及

重鏈可變域，該輕鏈可變域及重鏈可變域包含如對於本文所描述之CD3#1、CD3#2或CD3#3之抗原結合單位所定義之CDR序列及/或VH/VL序列。

【0020】 涉及本發明之結合蛋白的其他態樣、實施例、用途及方法將由以下本發明之實施方式及隨附申請專利範圍而變得清楚。

【0021】 本發明提供新穎的結合蛋白，其允許更高效治療表現DLL3之癌症，諸如SCLC、神經膠母細胞瘤或表現DLL3之神經內分泌腫瘤。

【圖式簡單說明】

【0022】

圖1：本發明之雙特異性結合蛋白之示意圖

圖2：用於抗原決定基域映射之在HEK293細胞上表現之DLL3全長蛋白質及DLL3域構築體的示意圖。對於DLL3域構築體，跨膜及胞內域來源於EpCAM。

圖3A：七種例示性DLL3/CD3結合蛋白之DLL3抗原決定基域映射。例示性DLL3/CD3結合蛋白識別DLL3之近膜肽EGF4、EGF1及DSL域。y軸描繪計數，x軸描繪PE-A (藻紅素信號區)。

圖3B：六種例示性DLL3/CD3結合蛋白之DLL3抗原決定基域映射。例示性DLL3/CD3結合蛋白識別DLL3之EGF1、EGF3、EGF4或EGF6。y軸描繪計數，x軸描繪PE-A (藻紅素信號)。

圖3C：六種例示性DLL3/CD3結合蛋白之DLL3抗原決定基域映射。例示性DLL3/CD3結合蛋白識別DSL域，或既不識別DSL、EGF，亦不識別DLL3之近膜肽。y軸描繪計數，x軸描繪PE-A (藻紅素信號)。

圖4：七種例示性DLL3/CD3結合蛋白與表現人類及食蟹獼猴DLL3之細胞株的結合。y軸描繪計數，x軸描繪PE-A (藻紅素信號區)。

圖5：七種例示性DLL3/CD3結合蛋白與表現人類DLL1及DLL4之細胞株的結合，未偵測到與人類DLL1及DLL4之結合。y軸描繪計數，x軸描繪PE-A (藻紅素信號區)。

圖6A：藉由流式細胞量測術分析之七種例示性DLL3/CD3結合蛋白與SCLC細胞株及人類T細胞之結合。

圖6 B：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對並非DSL、EGF1-6、近膜肽之肽)與SHP77細胞之結合。

圖6 C：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)與SHP77細胞之結合。

圖6 D：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF1域)與SHP77細胞之結合。

圖6 E：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF3域)與SHP77細胞之結合。

圖6 F：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF4域)與SHP77細胞之結合。

圖6 G：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)與SHP77細胞之結合。

圖6 H：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對近膜肽域)與SHP77細胞之結合。

圖6 I：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對並非DSL、EGF1-6、近膜肽之肽)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 J：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 K：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF1域)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 L：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF3域)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 M：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF4域)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 N：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 O：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對近膜肽域)與NCI-H82細胞之結合。

圖6 P：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對並非DSL、EGF1-6、近膜肽之肽)與T細胞之結合。

圖6 Q：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)與T細胞之結合。

圖6 R：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF1域)與T細胞之結合。

圖6 S：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF3域)與T細胞之結合。

圖6 T：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF4域)與T細胞之結合。

圖6 U：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF6域)與T細胞之結合。

圖6 V：例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對近膜肽域)與T細胞之結合。

圖7 A：將非刺激性PBMC重導向人類SCLC細胞株之七種DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能。

圖7 B：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性

DLL3/CD3結合蛋白(針對並非DSL、EGF1-6、近膜肽之肽)在溶解細胞中的效能。

圖7 C：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)在溶解細胞中的效能。

圖7 D：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF1域)在溶解細胞中的效能。

圖7 E：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF3域)在溶解細胞中的效能。

圖7 F：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF4域)在溶解細胞中的效能。

圖7 G：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF6域)在溶解細胞中的效能。

圖7 H：將非刺激性T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對近膜肽)在溶解細胞中的效能。

圖7 I：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對並非DSL、EGF1-6、近膜肽之肽)在溶解細胞中的效能。

圖7 J：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對DSL域)在溶解細胞中的效能。

圖7 K：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF1域)在溶解細胞中的效能。

圖7 L：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF3域)在溶解細胞中的效能。

圖7 M：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF4域)在溶解細胞中的效能。

圖7 N：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對EGF6域)在溶解細胞中的效能。

圖7 O：將非刺激性T細胞重導向人類NCI-H82細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白(針對近膜肽)在溶解細胞中的效能。

圖8：利用兩種例示性DLL3/CD3結合蛋白之活體外內化。使DLL3/CD3結合蛋白與DLL3陽性SHP77細胞一起預培育2及4小時，之後與人類PBMC共同培育48小時。

圖9：兩種例示性DLL3/CD3結合蛋白之藥物動力學。在單次1 mg/kg靜脈內給藥後DLL3#3/CD3#1 (空心方塊)及DLL3#3/CD3#2 (實心方塊)在雄性C57BL/6小鼠中之平均藥物動力學概況。

圖10：兩種例示性DLL3/CD3結合蛋白之抗腫瘤活性。y軸描繪中值腫瘤體積且x軸描繪時間。

圖11：將非刺激性PBMC重導向人類SHP77及RKO-E6細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能。

圖12：在SHP77細胞存在下例示性DLL3/CD3結合蛋白對T細胞活化之效能

圖13：在SHP77細胞存在下例示性DLL3/CD3結合蛋白對T細胞脫粒之效能

圖14A：在SHP77細胞存在下，例示性DLL3/CD3結合蛋白對PBMC之干擾素分泌之效能

圖14B：在SHP77細胞存在下，例示性DLL3/CD3結合蛋白對PBMC

之MCP-1分泌的效能

圖15：在SHP77細胞存在下例示性DLL3/CD3結合蛋白對T細胞增殖之效能

圖16：將非刺激性泛T細胞及原始T細胞重導向人類SHP77之例示性DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能。

圖17：將非刺激性$CD4^+$及$CD4^+$中央記憶T細胞重導向人類SHP77細胞之例示性DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能

圖18：將非刺激性$CD4^+$及$CD4^+$效應記憶T細胞重導向人類SHP77之例示性DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能

圖19：將非刺激性$CD8^+$及$CD8^+CD45RA^+$效應記憶T細胞重導向人類SHP77之例示性DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能

圖20：將非刺激性$CD8^+$及$CD8^+$記憶T細胞重導向人類SHP77之例示性DLL3/CD3結合蛋白在溶解細胞中的效能

圖21：具有例示性DLL3/CD3結合蛋白之SHP77異種移植腫瘤組織中之T細胞浸潤。

圖22：在ELISA分析中三種例示性抗-DLL3抗體與重組DLL3蛋白質之結合。y軸描繪計數，x軸描繪DLL3蛋白質之濃度。

圖23：藉由流式細胞量測術測定之例示性抗-DLL3抗體與DLL3陽性SCLC細胞株之結合。y軸描繪計數，x軸描繪抗-DLL3抗體之濃度。

圖24：具有5種例示性抗-DLL3抗體之SCLC組織樣本之代表性染色。抗-DLL3抗體DLL3#1及DLL3#5顯示，腫瘤細胞展現點狀及/或分散細胞質及/或膜DLL3染色。已藉由LEICA SCN400自動化掃描儀，以10×放大倍數來電子產生影像。

圖25：來自具有不同DLL3表現量之SCLC細胞株之細胞集結粒的代表性染色。Anti-DLL3抗體DLL3#5

【實施方式】

【0023】

所使用之術語及定義

本發明之以上及其他態樣及實施例將由本文中之進一步描述而變得清楚，其中：

【0024】 除非另外指明或定義，否則所用全部術語均具有其在此項技術中之常用含義，其對熟習此項技術者將為清楚的。例如參考標準手冊，諸如Sambrook等人, 「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」(第2版), 第1-3卷, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)；Lewin, 「Genes IV」, Oxford University Press, New York, (1990)及Roitt 等人, 「Immunology」 (第2版), Gower Medical Publishing, London, New York (1989)，以及本文中所引用之一般背景技術。此外，如熟習此項技術者將清楚，除非另外指明，否則所有未特定詳細描述之方法、步驟、技術及操作可以本身已知之方式進行且已以本身已知之方式進行。此外，針對實例參照標準手冊、上文所提及之一般先前技術及其中所引用之其他參考文獻。

【0025】 當在本文中使用時，術語「包含(comprising)」及其變型，諸如「包含(comprises)」及「包含(comprise)」可經術語「含有」或「包括」或「具有」取代。

【0026】 除非上下文需要更加受限之解釋，否則如本文所用之術語「序列」(例如，比如以下術語，「重鏈/輕鏈序列」、「抗體序列」、「可變

域序列」、「恆定域序列」或「蛋白質序列」)一般應理解為包括相關胺基酸序列以及編碼其之核酸序列或核苷酸序列。

【0027】 如本文所用之「抗原結合單元」係指能夠結合至其特定目標或抗原且包含允許靶標結合之來源於抗體(通常存在於抗體中)之最小結構需求的多肽。因此，抗原結合單元包含至少三個輕鏈及三個重鏈CDR序列，較佳至少輕鏈可變域及重鏈可變域的存在。

【0028】 抗體或免疫球蛋白之通用型結構為熟習此項技術者熟知。此等分子係雜四聚體糖蛋白，通常為約150,000道爾頓，由兩個相同輕(L)鏈及兩個相同重(H)鏈構成且通常稱為全長抗體。每個輕鏈藉由一個二硫鍵共價連接至重鏈以形成雜二聚體，且雜四聚體分子經由雜二聚體之兩個相同重鏈之間的共價二硫鍵連接形成。儘管該等輕鏈及重鏈藉由一個二硫鍵連接於一起，但兩個重鏈之間的二硫鍵數目因免疫球蛋白同型而不同。各重鏈及輕鏈亦具有有規律間隔之鏈內二硫橋鍵。每個重鏈在N端處具有可變域(VH)，之後為三個或四個(就IgE而言)恆定域(CH1、CH2、CH3及CH4)，以及在CH1與CH2之間的鉸鏈區。各輕鏈具有兩個結構域：N端可變域(VL)及C端恆定域(CL)。VL域非共價締合VH域，然而CL域通常經由二硫鍵共價連接至CH1域。咸信特定胺基酸殘基在輕鏈可變域與重鏈可變域之間形成界面(Chothia等人, 1985, J. Mol. Biol. 186:651-663)。可變域在本文中亦稱為可變區或Fv且表示藉由攜帶抗原結合位點賦予抗體對抗原之特異性的部分。

【0029】 如本文所用之「輕鏈可變域」 (或「輕鏈可變區」)及「重鏈可變域」 (或「重鏈可變區」)具有相同的通式結構且每個域基本上由四個框架(FR)區組成，該等框架區之序列係廣泛保守的，在此項技術及下文

中分別稱為「框架區1」或「FR1」;「框架區2」或「FR2」;「框架區3」或「FR3」;以及「框架區4」或「FR4」;該等框架區間雜有三個高變區HVR (或CDR)，其在此項技術中及本文中下文分別稱為「互補決定區1」或「CDR1」;「互補決定區2」或「CDR2」;以及「互補決定區3」或「CDR3」。因此，免疫球蛋白可變域之通用結構或序列可如下表示：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。框架區採用β-片層構形且CDR可形成連接β-片層結構之迴路。各鏈中之CDR藉由框架區保持在其三維結構中且與來自其他鏈之CDR一起形成抗原結合位點。

【0030】 在本發明之上下文內，對CDR之參考係基於CCG，亦稱為IMGT之定義(Lefranc MP, Pommié C, Ruiz M, Giudicelli V, Foulquier E, Truong L, Thouvenin-Contet V, Lefranc G. 「IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains.」 Dev Comp Immunol. 2003年1月;27(1):55-77；Giudicelli V, Brochet X, Lefranc MP. 「IMGT/V-QUEST: IMGT standardized analysis of the immunoglobulin (IG) and T cell receptor (TR) nucleotide sequences」. Cold Spring Harb Protoc. 2011;2011(6):695-715)。此項技術中已知之CDR之替代定義係基於Chothia (Chothia及Lesk, J. Mol. Biol. 1987, 196: 901-917)以及卡貝特(E.A. Kabat, T.T. Wu, H. Bilofsky, M. Reid-Miller及H. Perry, Sequence of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda (1983))。

【0031】 如本申請案內使用之術語「恆定域」或「恆定區」表示除可變區以外之抗體之結構域之總和。此類恆定域及恆定區為目前先進技術

所熟知且例如由Kabat等人(「Sequence of proteins of immunological interest」, US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, 公開案第91號)描述。

【0032】 抗體之「Fc部分」或「Fc域」不直接參與抗體與抗原之結合，但展現各種效應功能。「抗體之Fc部分/域」為熟習此項技術者熟知之術語且界定於抗體之木瓜酶裂解之基體上。視其重鏈之恆定區之胺基酸序列而定，抗體或免疫球蛋白分成以下類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM。根據重鏈恆定區，不同類別之免疫球蛋白分別稱為α、δ、ε、γ及μ。此等中之若干者可進一步分成子類(同型)，例如IgGl、IgG2、IgG3及IgG4、IgAl及IgA2。抗體之Fc部分直接參與ADCC (抗體依賴性細胞介導的細胞毒性)及CDC (補體依賴性細胞毒性)，基於補體活化、C1q結合及Fc受體結合。補體活化(complement activation；CDC)藉由補體因子C1q與大多數IgG抗體子類之Fc部分之結合來啟動。雖然補體系統上之抗體之影響取決於某些條件，但C1q結合係由Fc部分內之界定結合位點造成。此類結合位點係例如L234、L235、D270、N297、E318、K320、K322、P331及P329 (根據EU編號編號(Edelman等人, Proc Natl Acad Sci U S A. 1969年5月;63(1):78-85))。此等殘基中在介導IgG1中之C1q及Fcγ受體結合方面最關鍵的係L234及L235 (Hezareh等人, J. Virology 75 (2001) 12161- 12168，Shields等人 (2001) JBC, 276 (9): 6591-6604)。亞類IgGl及IgG3之抗體通常展示補充活化及Clq及C3結合，而IgG2及IgG4不活化補體系統且不結合Clq及C3。

【0033】 術語「抗體」或「抗體分子」 (本文中同義使用)涵蓋單株抗體、多株抗體、人類抗體、人類化抗體、嵌合抗體、多特異性抗體(例

如雙特異性抗體)、抗體片段(尤其Fv、Fab、Fab'或F(ab')2片段)、單鏈抗體(尤其單鏈可變片段(scFv)、單鏈Fab片段(scFab))、小模組化免疫藥物(SMIP)、結構域抗體、奈米抗體、雙功能抗體。抗體可具有效應功能，諸如ADCC或CDC，其通常藉由抗體之Fc部分(抗體恆定區)介導，或其可不具有效應功能，例如藉由缺乏Fc部分或具有阻斷、遮蔽之Fc部分，本質上免疫細胞或免疫系統組分(如補體系統)不識別或未充分識別之Fc部分。

【0034】 單株抗體(mAb)係胺基酸序列相同之單特異性抗體。其可藉由融合瘤技術自雜交細胞株(稱為融合瘤)製備，該雜交細胞株代表產生特異性抗體之B細胞與骨髓瘤(B細胞癌症)細胞之融合的純系(Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256:495-7)。可替代地，單株抗體可藉由在宿主細胞中之重組表現製備(Norderhaug L, Olafsen T, Michaelsen TE, Sandlie I. (1997年5月). 「Versatile vectors for transient and stable expression of recombinant antibody molecules in mammalian cells.」 J Immunol Methods 204 (1): 77-87；亦參見下文)。「重組抗體」或「重組結合蛋白」係已藉由以重組方式工程改造之宿主細胞產生之抗體或結合蛋白。其任擇地經分離或純化。

【0035】 全長抗體可用諸如木瓜酶或胃蛋白酶之酶處理，以產生適用抗體片段。使用木瓜酶消化以產生兩種相同的各具有單一抗原結合位點之稱為「Fab」片段之抗原結合抗體片段，及殘餘「Fc」片段。Fab片段亦含有輕鏈之恆定域及重鏈之CH1域。胃蛋白酶處理產生F(ab')2片段，其具有兩個抗原結合位點且仍能夠交聯抗原。

【0036】 Fab'片段與Fab片段之不同之處在於在CH1域之C端存在額外殘基，其包括一或多個來自抗體鉸鏈區之半胱胺酸。F(ab')2抗體片段係由鉸鏈區中之半胱胺酸殘基連接之Fab'片段對。抗體片段之其他化學偶合亦已知。

【0037】 「Fv」片段含有由一個重鏈可變域及一個輕鏈可變域之緊密非共價締合之二聚體組成的完整抗原識別及結合位點。在此組態中，各可變域之三個CDR相互作用以界定VH-VL二聚體表面上之抗原結合位點。六個CDR共同地賦予抗體以抗原結合特異性。

【0038】 「單鏈Fv」或「scFv」抗體片段係包含抗體之VH及VL域之單鏈Fv變體，其中該等域存在於單一多肽鏈中。單鏈Fv能夠識別且結合抗原。scFv多肽亦可視情況含有位於VH與VL域之間的多肽連接子以有助於藉由scFv形成抗原結合所需之三維結構(參見例如Pluckthun, 1994, The Pharmacology of monoclonal Antibodies, 第113卷, Rosenburg及Moore編, Springer-Verlag, New York, 第269-315頁)。

【0039】 「單鏈Fab」或「scFab」抗體片段係包含抗體之VL、CL、VH及CH1域之單鏈Fab變體，其中該等域存在於單一多肽鏈中。單鏈Fab能夠識別且結合抗原。scFab多肽亦可視情況含有位於CL與VH域之間的多肽連接子(Hust等人 (2007) BMC Biotechnology)。

【0040】 為用於人類，常常需要降低治療分子(諸如包含如本文所述之抗原結合單元的抗體或結合蛋白)之免疫原性，該等治療分子最初來源於其他物種，如小鼠。此可藉由構築嵌合抗體/結合蛋白，或藉由稱為「人類化」之方法完成。在此上下文中，「嵌合抗體」；或「嵌合抗原結合單元」應理解為包含與來源於不同物種(例如人類)之序列部分(例如恆定

域)融合的來源於一個物種(例如小鼠)之序列部分(例如可變域)的抗體或抗原結合單元。在此上下文中，「人類化抗體」、「人類化結合蛋白」或「人類化抗原結合單元」係包含最初來源於非人類物種之可變域之抗體、蛋白質或抗原結合單元，其中已使某些胺基酸突變以製備可變域更近似於人類可變域之序列的總體序列。抗體人類化之方法係此項技術中熟知的(Billetta R, Lobuglio AF. 「Chimeric antibodies」. Int Rev Immunol. 1993;10(2-3):165-76；Riechmann L, Clark M, Waldmann H, Winter G (1988). 「Reshaping human antibodies for therapy」. Nature: 332:323)。

【0041】「經優化抗體」或「經優化之抗原結合單元或蛋白質」係特定類型之人類化抗體或人類化抗原結合單元/蛋白，其包括免疫球蛋白胺基酸序列變體或其片段，該人類化抗體或人類化抗原結合單元/蛋白能夠與預定抗原結合且包含一或多個基本上具有人類免疫球蛋白之胺基酸序列的FR及一或多個基本上具有非人類免疫球蛋白之胺基酸序列的CDR。通常稱為「導入」序列之此非人類胺基酸序列通常獲自「導入」抗體域、尤其可變域。一般而言，經優化抗體至少包括插入人類重鏈或輕鏈可變域之FR之間的非人類抗體或來源於非人類抗體之CDR(或HVL)。應理解，某些小鼠FR殘基對於經優化抗體之功能而言為重要的且因此某些人類生殖系序列重鏈及輕鏈可變域殘基經修飾為與相應小鼠序列之彼等相同。在此過程期間，亦可移除或改變非所需胺基酸，例如以避免脫醯胺、非所需電荷或親脂性或非特異性結合。「經優化抗體」、「經優化抗體片段」或「優化」有時可稱為「人類化抗體」、「人類化抗體片段」或「人類化」，或「序列經優化」。

【0042】 此外，已開發出用於基於來源於人類基因組之序列產生抗體或VH/VL域之技術，例如藉由噬菌體呈現或使用轉基因動物(WWW. Ablexis.com/technology-alivamab.php；WO 90/05144；D. Marks, H.R. Hoogenboom, T.P. Bonnert, J. McCafferty, A.D. Griffiths及G. Winter (1991) 「By-passing immunisation. Human antibodies from V-gene libraries displayed on phage.」 J. Mol. Biol., 222, 581-597；Knappik等人, J. Mol. Biol. 296: 57-86, 2000；S. Carmen及L. Jermutus, 「Concepts in antibody phage display」. Briefings in Functional Genomics and Proteomics 2002 1(2):189-203；Lonberg N, Huszar D. 「Human antibodies from transgenic mice」. Int Rev Immunol. 1995;13(1):65-93.；Brüggemann M, Taussig MJ. 「Production of human antibody repertoires in transgenic mice」. Curr Opin Biotechnol. 1997年8月;8(4):455-8.)。在本發明之上下文中，此類抗體或抗原結合單位或VH/VL域係「人類抗體」、「人類抗原結合單位」或「人類VH/VL域」。

【0043】 如本文所用之術語「人類抗體」、「人類抗原結合單元」或「人類VH/VL域」意欲包括具有來源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變(及恆定，若適用)區的抗體、抗原結合單位或VH/VL域。本發明技術之人類抗體、抗原結合單位、蛋白質或VH/VL域可包括並非由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如在活體外藉由隨機或位點特異性突變誘發或在活體內藉由體細胞突變引入的突變)。然而，如本文所用之術語「人類抗體」、「人類抗原結合單元」或「人類VH/VL域」不意欲包括其中來源於另一種(哺乳動物物種) (諸如小鼠、大鼠或兔)之生殖系之CDR序列已移植於人類構架序列上的抗體。因此，如本文所用，術語「人

類抗體」、「人類抗原結合單元」或「人類VH/VL域」係指以下抗體、抗原結合單元或VH/VL域：其中基本上蛋白質之每一部分(例如CDR、構架、CL、CH域(例如CH1、CH2、CH3)、鉸鏈、VL、VH)在人類中基本上係非免疫原性的，僅有微小序列改變或變化。此類改變或變化視情況且較佳相對於未修飾抗體或抗原結合單位保留或降低在人類或其他物種中之免疫原性。

【0044】 因此，人類抗體、人類抗原結合單元或人類VH/VL域不同於例如嵌合或人類化抗體。應指出，人類抗體、人類抗原結合單元或人類VH/VL域可藉由能夠表現功能重排的人類免疫球蛋白(例如重鏈及/或輕鏈)基因之非人類動物或原核或真核生物細胞製備。

【0045】 術語「單體」係指如本文所述之抗體或多特異性蛋白質之均質形式。舉例而言，對於全長抗體，單體意謂具有兩條相同重鏈及兩條相同輕鏈之單體抗體。在本發明之上下文中，單體意謂具有如本文所述之對DLL3具有特異性之單一抗原結合單元，及對CD3具有特異性之單一抗原結合單元的本發明之蛋白質。舉例而言，本文所描述之結合蛋白之單體可具有兩條鏈：第一鏈，包含具有第一抗原結合單元之單鏈Fab及視情況存在之第一Fc域；及第二鏈，其包含具有第二抗原結合單元之單鏈Fab及視情況存在之第二Fc域。

【0046】 抗原決定基係與抗體或抗原結合部分(例如本文所描述之蛋白質之抗原結合單元)結合之抗原區。術語「抗原決定基」包括能夠特異性結合於抗體或抗原結合部分之任何多肽決定子。在某些實施例中，抗原決定基決定子包括分子之化學活性表面基團(諸如胺基酸、聚糖側鏈、磷醯基或磺醯基)，且在某些實施例中，可具有特定三維結構特徵，及/或特

定電荷特徵。構形抗原決定基與非構形抗原決定基之區別在於，在變性溶劑存在下，與前者的結合消失，但後者則不然。

【0047】 可「*結合*」、「*結合於*」、「*特異性結合*」或「*特異性結合於*」某一抗原決定基、抗原或蛋白質(或其至少一個部分、片段或抗原決定基)，對某一抗原決定基、抗原或蛋白質「*具有親和力*」、「*具有特異性 (is specific for/has specificity for)*」的抗原結合分子/蛋白質(諸如免疫球蛋白、抗體、抗原結合單元或此類抗原結合分子/蛋白質之片段)稱為「*對*」或「*針對*」該抗原決定基、抗原或蛋白質或相對於此類抗原決定基、抗原或蛋白質「*結合*」分子/蛋白質。

【0048】 如本文所用，術語「結合」及「特異性結合」係指在活體外分析中，較佳在利用經純化之野生型抗原之電漿子共振分析(Malmqvist M., 「Surface plasmon resonance for detection and measurement of antibody-antigen affinity and kinetics.」, Curr Opin Immunol. 1993年4月;5(2):282-6.)中，抗體或抗原結合部分(諸如免疫球蛋白、抗體、抗原結合單元或此類抗原結合分子/蛋白質之片段)與抗原之抗原決定基的結合。抗體親和力亦可使用動力學排斥分析(KinExA)技術(Darling, R.J.,及Brault P-A., 「Kinetic exclusion assay technology: Characterization of Molecular Interactions.」 ASSAY and Drug Development Technologies. 2004年12月2日(6): 647-657)來量測。

【0049】 一般而言，術語「*特異性*」係指特定抗原結合分子/蛋白質(諸如免疫球蛋白、抗體、抗原結合單元，或此類抗原結合分子/蛋白質之片段)可結合之不同類型之抗原或抗原決定基的數目。抗原結合分子/蛋白之特異性可基於其親和力及/或親合力進行測定。由抗原與抗原結合蛋白

之解離平衡常數(K_D)表示之親和力為抗原決定基與抗原結合分子/蛋白上的抗原結合位點之間的結合強度之量度：K_D值愈小，抗原決定基與抗原結合分子之間的結合強度愈強(可替代地，親和力亦可表示為親和力常數(K_A)，其為1/K_D)。如熟練人員將清楚(例如基於本文中之其他揭示內容)，親和力可以本身已知的方式進行測定，其視相關特異性抗原而定。親合力為抗原結合分子/蛋白(諸如免疫球蛋白、抗體、抗原結合單元，或此類抗原結合分子/蛋白之片段)與相關抗原之間的結合強度之量度。親合力與抗原決定基與抗原結合分子/蛋白上之其抗原結合位點之間的親和力及抗原結合分子/蛋白上所存在的相關結合位點之數目兩者有關。

【0050】 如本文中所使用之術語「分離」係指物質脫離其原始或原生環境(例如天然環境(若其為天然存在的))。舉例而言，存在於活動物中之天然產生之聚核苷酸或多肽未經分離，但藉由人類干預而與天然系統中之一些或所有共存物質分離的相同聚核苷酸或多肽經分離。該等聚核苷酸可為載體之一部分且/或該等聚核苷酸或多肽可為組合物之一部分，且仍經分離以使得此載體或組合物不為自然界中發現其之環境之一部分。舉例而言，當相較於自其獲得核酸、蛋白質/多肽分子的該核酸、蛋白質/多肽分子之天然生物源及/或反應介質或培養介質時，當該核酸、蛋白質/多肽分子已與至少一種其他組分，諸如另一核酸、另一蛋白質/多肽、另一生物組分或大分子或至少一種摻雜物、雜質或微量組分分離，其中該核酸、蛋白質/多肽分子通常與該至少一種其他組分締合於該源或介質中時，該核酸、蛋白質/多肽分子視為「(呈)基本上分離(形式)」。詳言之，當以至少2倍，尤其至少10倍、較尤其至少100倍且高達1000倍或大於1000倍純化核酸或蛋白質/多肽分子時，其視為「基本上分離」的。如使用適合技

術，諸如適合之層析技術，諸如聚丙烯醯胺-凝膠電泳所測定，「呈基本上分離形式」之核酸或蛋白質/多肽分子較佳為基本上均質的。

【0051】 如本文所使用，術語「一致」或「一致性百分比」在兩個或更多個核酸或多肽序列之情況下係指針對最大對應性比較及比對時兩個或更多個序列或子序列相同或有指定百分比之核苷酸或胺基酸殘基相同。為確定一致性百分比，出於最佳比較目的進行序列比對(例如為與第二胺基酸或核酸序列最佳比對，可在第一胺基酸或核酸序列之序列中引入間隙)。接著比較相應胺基酸位置或核苷酸位置處的胺基酸殘基或核苷酸。若第一序列中之位置被與第二序列中之相應位置相同的胺基酸殘基或核苷酸佔據，則分子在該位置處一致。兩個序列之間的一致性百分比係該等序列共有的一致位置數的函數(亦即，一致性% = 一致位置數/位置總數(亦即重疊位置) × 100)。在一些實施例中，適當時，在序列內引入間隙之後，進行比較之兩個序列長度相同(例如不包括延長超過比較序列之額外序列)。舉例而言，當比較可變區序列時，不考慮前導序列及/或恆定域序列。對於兩個序列之間的序列比較，「對應」CDR係指兩個序列中相同位置之CDR (例如各序列之CDR-H1)。

【0052】 可使用數學演算法實現確定兩個序列之間的一致性百分比或相似性百分比。用於比較兩個序列之數學演算法的較佳非限制性實例係Karlin及Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268之演算法，如Karlin及Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5877中所修改。將此類算法併入至Altschul等人, 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410之NBLAST及XBLAST程式中。BLAST核苷酸檢索可用NBLAST程式(得分=100，字長=12)執行以獲得與編碼所關注蛋白質之核酸同源之核苷

酸序列。BLAST蛋白質檢索可用XBLAST程式（得分=50，字長=3）執行以獲得與所關注蛋白質同源之胺基酸序列。為使間隙式比對達成比較目的，可如Altschul等人, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402中所述使用間隙式BLAST。可替代地，PSI-Blast可用於執行迭代檢索，其偵測分子間之遠距離關係(同上)。當利用BLAST、間隙式BLAST及PSI-Blast程式時，可使用對應程式(例如XBLAST及NBLAST)之預設參數。用於比較序列之數學演算法的另一個較佳非限制性實例係Myers及Miller, CABIOS (1989)之演算法。將此類演算法併入至ALIGN程式(2.0版)中，該ALIGN程式係GCG序列比對套裝軟體之一部分。當利用ALIGN程式來比較胺基酸序列時，可使用PAM120權重殘基表、間隙長度罰分12及間隙罰分4。用於序列分析之額外演算法在此項技術中已知且包括如Torellis及Robotti, 1994, Comput. Appl. Biosci. 10:3-5中所述之ADVANCE及ADAM；及Pearson及Lipman, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444-8中所述之FASTA。在FASTA內，ktup係設定檢索之敏感性及速度的對照選項。若ktup = 2，則藉由觀察比對殘基對得到比較之兩個序列中之類似區；若ktup = 1，則檢查單一比對胺基酸。對於蛋白質序列，ktup可設定為2或1，或對於DNA序列設定為1至6。若ktup未得以指定，則對於蛋白質預設值係2，且對於DNA係6。可替代地，可使用CLUSTAL W演算法進行蛋白質序列比對，如Higgins等人, 1996, Methods Enzymol. 266:383-402所描述。

【0053】 如本文所用之術語「共價連接」意謂殘基之間的直接共價鍵，或間接締合，其中兩個殘基不直接鍵結但皆共價鍵結於中間分子或域，例如免疫球蛋白之中間域。

【0054】 術語「競爭」或「交叉競爭」在本文中可互換使用，其係指抗體分子干擾抗體分子(例如本發明之抗-DLL3抗體分子)結合至目標(例如人類DLL3)的能力。干擾結合可為直接或間接的(例如經由抗體分子或標靶之異位調節)。抗體分子能夠干擾另一抗體分子結合至目標的程度且因此是否可稱其競爭可使用競爭結合分析(例如FACS分析、ELISA或BIACORE分析)測定。在一些實施例中，競爭結合分析為定量競爭分析。在一些實施例中，當在競爭結合分析(例如本文所描述之競爭分析)中第一抗體分子與目標之結合減少10%或更多，例如20%或更多、30%或更多、40%或更多、50%或更多、55%或更多、60%或更多、65%或更多、70%或更多、75%或更多、80%或更多、85%或更多、90%或更多、95%或更多、98%或更多、99%或更多時，稱第一抗-DLL3抗體分子與第二抗-DLL3抗體分子競爭結合於目標。

【0055】 在無明確敍述下且除非另外預期，否則推斷當本發明技術與多肽、蛋白質、聚核苷酸或抗體有關時，預期此類之等效物或生物等效物在本發明技術之範疇內。

【0056】 如本文所用，當提及參考蛋白質、抗體、多肽、聚核苷酸或核酸時，術語「其生物等效物」意欲與「其等效物」同義，且意指彼等具有最小的同源性同時仍維持所需結構或官能性。除非本文中專門敍述，否則預期本文中提及之任何核酸、聚核苷酸、多肽、蛋白質或抗體亦包括其等效物。舉例而言，等效物意指至少約80%同源性或一致性且可替代地，至少約85%、或可替代地至少約90%、或可替代地至少約95%、或可替代地98%百分比同源性或一致性且展現與參考蛋白質、多肽、抗體或核酸基本上等效的生物活性。

【0057】 如本文所用，術語「可偵測標記」係指可產生可偵測信號(亦即物理或化學信號，包括比色、螢光、電、放射及化學發光信號)之分子、化合物或組合物，該信號可藉由目視或儀器方法量測，且其指示樣本中標記之存在及/或數量/濃度。

【0058】 「可偵測信號」可藉由各種機制來產生，包括光子(包括射頻、微波頻率、紅外頻率、可見頻率及紫外線頻率光子)之吸收、放射及/或散射且包括但不限於比色、螢光、電、放射及化學發光信號。

【0059】 如本文所用，「表現」係指聚核苷酸轉錄為mRNA之過程及/或轉錄mRNA隨後轉譯為肽、多肽或蛋白質之過程。若聚核苷酸衍生自基因組DNA，則表現可包括真核細胞中mRNA之剪接。基因之表現量可藉由量測細胞或組織樣本中mRNA或蛋白質之量來測定。

【0060】 如本文所使用，術語「生物樣本」意謂來源於活細胞或與活細胞接觸之樣本材料。該術語意欲包括自個體分離之組織、細胞及生物流體。如本文所用，術語「組織樣本」應指代在離開獲得該樣本之個體時保留細胞之間的截面空間關係的細胞樣本。生物樣本亦可獲自內臟之切片或癌症。

【0061】 「組織化學」及「細胞化學」係用於藉由用特異性結合於分子之試劑以可在顯微鏡上觀測之方式標記樣本來鑑別完整細胞之環境內的分子之技術。「免疫組織化學」及「免疫細胞化學」係使用抗體標記分子之組織化學及細胞化學的類型。

本發明之多特異性結合蛋白

【0062】 本發明提供多特異性結合蛋白，其包含至少一個與DLL3特異性結合之抗原結合單元(第一抗原結合單元)，及至少一個與CD3特異

性結合之抗原結合單元(第二抗原結合單元)。此類(多特異性)結合蛋白在本文中亦稱為(多特異性)結合分子或DLL3/CD3結合蛋白或DLL3/CD3結合分子。

【0063】 本發明人已驚訝地發現，本發明之多特異性結合蛋白在T細胞存在下誘導DLL3陽性SCLC細胞株之選擇性溶解且已經在低效應物:目標細胞比率下具有活性。重要的是，本發明之結合蛋白在無DLL3陽性細胞存在下不引起T細胞活化、T細胞增殖及細胞介素分泌或DLL3陰性細胞溶解。

【0064】 為避免疑問，如本文所用之DLL3係指UniProt Q9NYJ7之人類DLL3及編碼該蛋白質之核酸序列。如本文所用之CD3係指人類CD3ε (UniProt P07766)及CD3γ (Uniprot:P09693)複合物(人類CD3εγ複合物)。

【0065】 預期用雙特異性T細胞接合方法靶向DLL3提供優於ADC方法之優勢，因為重導向T細胞不受對化學療法之抗性的影響且細胞表面上之低表現量對此作用模式不那麼關鍵。T細胞接合劑係多特異性結合蛋白，其具有與T細胞上之CD3結合之結合臂及與腫瘤細胞之細胞表面上之抗原結合的結合臂。經由與T細胞及腫瘤細胞之同時結合，T細胞接合劑迫使在兩個細胞之間形成溶細胞突觸且因此選擇性地重導向對靶向腫瘤細胞之T細胞活性。

【0066】 在一個態樣中，本發明之多特異性結合蛋白包含與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其中該第一結合單元選自由i)至xviii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及

包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#1)；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#2)；

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#3)；

iv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:19 (CDR1)、SEQ ID NO:20 (CDR2)及SEQ ID NO:21 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:22 (CDR1)、SEQ ID NO:23 (CDR2)及SEQ ID NO:24 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#4)；

v)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:25 (CDR1)、SEQ ID NO:26 (CDR2)及SEQ ID NO:27 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:28 (CDR1)、SEQ ID NO:29 (CDR2)及SEQ ID NO:30 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#5)；

vi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:31 (CDR1)、SEQ ID NO:32 (CDR2)及SEQ ID NO:33 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:34 (CDR1)、SEQ ID NO:35 (CDR2)及SEQ ID NO:36 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#6)；

vii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:133

(CDR1)、SEQ ID NO:134 (CDR2)及SEQ ID NO:135 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:136 (CDR1)、SEQ ID NO:137 (CDR2)及SEQ ID NO:138 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#7)；

viii) 包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:139 (CDR1)、SEQ ID NO:140 (CDR2)及SEQ ID NO:141 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:142 (CDR1)、SEQ ID NO:143 (CDR2)及SEQ ID NO:144 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#8)；

ix)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:145 (CDR1)、SEQ ID NO:146 (CDR2)及SEQ ID NO:147 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:148 (CDR1)、SEQ ID NO:149 (CDR2)及SEQ ID NO:150 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#9)；

x)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:151 (CDR1)、SEQ ID NO:152 (CDR2)及SEQ ID NO:153 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:154 (CDR1)、SEQ ID NO:155 (CDR2)及SEQ ID NO:156 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#10)；

xi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:157 (CDR1)、SEQ ID NO:158 (CDR2)及SEQ ID NO:159 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:160 (CDR1)、SEQ ID NO:161 (CDR2)及SEQ ID NO:162 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#11)；

xii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:163 (CDR1)、SEQ ID NO:164 (CDR2)及SEQ ID NO:165 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:166 (CDR1)、SEQ ID NO:167

(CDR2)及SEQ ID NO:168 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#12)；

xiii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:169 (CDR1)、SEQ ID NO:170 (CDR2)及SEQ ID NO:171 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:172 (CDR1)、SEQ ID NO:173 (CDR2)及SEQ ID NO:174 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#13)；

xiv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:175 (CDR1)、SEQ ID NO:176 (CDR2)及SEQ ID NO:177 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:178 (CDR1)、SEQ ID NO:179 (CDR2)及SEQ ID NO:180 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#14)；

xv)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:181 (CDR1)、SEQ ID NO:182 (CDR2)及SEQ ID NO:183 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:184 (CDR1)、SEQ ID NO:185 (CDR2)及SEQ ID NO:186 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#15)；

xvi)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:187 (CDR1)、SEQ ID NO:188 (CDR2)及SEQ ID NO:189 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:190 (CDR1)、SEQ ID NO:191 (CDR2)及SEQ ID NO:192 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#16)；

xvii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:193

(CDR1)、SEQ ID NO:194 (CDR2)及SEQ ID NO:195 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:196 (CDR1)、SEQ ID NO:197 (CDR2)及SEQ ID NO:198 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#17)；以及

xviii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:199 (CDR1)、SEQ ID NO:200 (CDR2)及SEQ ID NO:201 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:202 (CDR1)、SEQ ID NO:203 (CDR2)及SEQ ID NO:204 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元DLL3#18)。

【0067】 較佳地，本發明之結合蛋白之第一抗原結合單元係如上述CDR序列所定義之i)至iii)中之任一者。

【0068】 為避免疑問，本文中所列出的具體實施例中之每一者亦可視為本發明之獨立態樣。

【0069】 在本發明之結合蛋白之一些實施例中，該與CD3特異性結合之第二抗原結合單元選自由i)至iii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元CD3#1)；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元CD3#2)；以及

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:96 (CDR1)、SEQ ID NO:97 (CDR2)及SEQ ID NO:98 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:99 (CDR1)、SEQ ID NO:100 (CDR2)及SEQ ID NO:101 (CDR3)之重鏈CDR (抗原結合單元CD3#3)。

【0070】 如上文所概述之第一抗原結合單位i)至xviii)分別稱為DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17及DLL3#18，且如上文所概述之第二抗原結合單位i)至iii)分別稱為CD3#1、CD3#2及CD3#3。本文提供序列表，其容許容易地鑑別本發明之特定抗原結合單位及全長結合蛋白的單獨胺基酸序列。將概述提供於實例2中之表1中。

【0071】 如本文所用，一般而言相對於抗原結合單位之術語「第一」及「第二」僅意欲指示此等單位係兩種不同單位(因為其與不同目標抗原結合)。因此，此等術語不應理解為指代本發明之結合蛋白內單位之精確次序或序列。

【0072】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含：選自由如上文所述之各別CDR序列所定義之以下各者組成之群的第一抗原結合單元：DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17及DLL3#18及 如上文所述之各別CDR序列所定義之CD3#1之第二抗原結合單元。在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含選自由如上文所述之各別CDR序列所定義之DLL3#1、DLL3#2及DLL3#3組成之群的第一抗原結合單元及如上文

所述之各別CDR序列所定義之CD3#1之第二抗原結合單元。

【0073】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含：選自由如上文所述之各別CDR序列所定義之以下各者組成之群的第一抗原結合單元：DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17及DLL3#18及 如上文所述之各別CDR序列所定義之CD3#2之第二抗原結合單元。在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含選自由如上文所述之各別CDR序列所定義之DLL3#1、DLL3#2及DLL3#3組成之群的第一抗原結合單元及如上文所述之各別CDR序列所定義之CD3#2之第二抗原結合單元。

【0074】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含：選自由如上文所述之各別CDR序列所定義之以下各者組成之群的第一抗原結合單元：DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17及DLL3#18及 如上文所述之各別CDR序列所定義之CD3#3之第二抗原結合單元。在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含選自由如上文所述之各別CDR序列所定義之DLL3#1、DLL3#2及DLL3#3組成之群的第一抗原結合單元及如上文所述之各別CDR序列所定義之CD3#3之第二抗原結合單元。

【0075】 在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID

NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；以及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR。

【0076】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；以及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR。

【0077】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；以及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR。

【0078】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；以及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【0079】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；以及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【0080】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；以及與CD3特異性結合之

第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【0081】 除了如本文所闡述之CDR序列之外，本發明之結合蛋白之抗原結合單位包括免疫球蛋白構架區(FR)序列。此等序列較佳在人類中沒有免疫原性，且因此較佳為人類或人類化FR序列。適合之人類或人類化FR序列為此項技術中已知的。具體較佳之FR序列可取自下文所示之實施例，其揭示全部抗原結合單位且由此揭示CDR序列以及FR序列。

【0082】 在本發明之結合蛋白之較佳實施例中，第一及第二結合單元各自包含來源於抗體分子之輕鏈可變域及重鏈可變域，該等輕鏈/重鏈可變域由第一抗原結合單元之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者之CDR序列定義且該等輕/重鏈可變域由第二抗原結合單元之CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者之CDR序列定義。在本發明之結合蛋白之一些實施例中，DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17、DLL3#18、CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者或多者之抗原結合單位之VH及/或VL域係人類或人類化VH及/或VL域。

【0083】 在本發明之較佳實施例中，第一抗原結合單元之輕/重鏈可

變域進一步定義如下

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#1)；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#2)；或

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#3)；或

iv)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 43之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 44之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#4)；或

v)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 45之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 46之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#5)；或

vi)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#6)；或

vii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 205之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 206之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#7)；或

viii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 207之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 208之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#8)；或

ix)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 209之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 210之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#9)；或

x)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 211之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 212之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#10)；或

xi)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 213之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 214之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#11)；或

xii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 215之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 216之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#12)；或

xiii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 218之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#13)；或

xiv)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 219之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#14)；或

xv)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 222之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#15)；或

xvi)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 223之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 224之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#16)；或

xvii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 225之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#17)；或

xviii)包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:227之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:228之重鏈可變域(抗原結合單元DLL3#18)。

【0084】 較佳地，本發明之結合蛋白之第一抗原結合單元係如上述VL及VH序列所定義之i)至iii)中之任一者。

【0085】 在本發明之較佳實施例中，第二抗原結合單元之輕/重鏈可變域進一步定義如下

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68之重鏈可變域(抗原結合單元CD3#1)；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 70之重鏈可變域(抗原結合單元CD3#2)；或

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 102之輕鏈可變域及包含胺基酸序列

SEQ ID NO: 103之重鏈可變域(抗原結合單元CD3#3)。

【0086】在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含選自由以下組成之群的第一及第二抗原結合單元之組合：DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#4/CD3#1、DLL3#5/CD3#1、DLL3#6/CD3#1、DLL3#7/CD3#1、DLL3#8/CD3#1、DLL3#9/CD3#1、DLL3#10/CD3#1、DLL3#11/CD3#1、DLL3#12/CD3#1、DLL3#13/CD3#1、DLL3#14/CD3#1、DLL3#15/CD3#1、DLL3#16/CD3#1、DLL3#17/CD3#1、DLL3#18/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#4/CD3#2、DLL3#5/CD3#2、DLL3#6/CD3#2、DLL3#7/CD3#2、DLL3#8/CD3#2、DLL3#9/CD3#2、DLL3#10/CD3#2、DLL3#11/CD3#2、DLL3#12/CD3#2、DLL3#13/CD3#2、DLL3#14/CD3#2、DLL3#15/CD3#2、DLL3#16/CD3#2、DLL3#17/CD3#2、DLL3#18/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#3、DLL3#4/CD3#3、DLL3#5/CD3#3、DLL3#6/CD3#3、DLL3#7/CD3#3、DLL3#8/CD3#3、DLL3#9/CD3#3、DLL3#10/CD3#3、DLL3#11/CD3#3、DLL3#12/CD3#3、DLL3#13/CD3#3、DLL3#14/CD3#3、DLL3#15/CD3#3、DLL3#16/CD3#3、DLL3#17/CD3#3、DLL3#18/CD3#3，第一及第二抗原結合單元由如上文所述之抗原結合單位之CDR及/或VH及VL序列定義。在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含選自由以下組成之群的第一及第二抗原結合單元之組合：DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、

DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3及DLL3#3/CD3#3，第一及第二抗原結合單元由如上文所述之抗原結合單位之CDR及/或VH及VL序列定義。

【0087】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:38之重鏈可變域及(ii)與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:68之重鏈可變域。

【0088】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:40之重鏈可變域及(ii)與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:68之重鏈可變域。

【0089】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:42之重鏈可變域及(ii)與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:68之重鏈可變域。

【0090】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:38之重鏈可變域及(ii)與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:70之重鏈可變域。

【0091】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3

特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:40之重鏈可變域及(ii)與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:70之重鏈可變域。

【0092】 在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:42之重鏈可變域及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:70之重鏈可變域。

【0093】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含i)與DLL3 (例如，如上述各別CDR或VH/VL序列所定義之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者)特異性結合之第一抗原結合單元，其包含利用第一肽連接子直接地或間接地共價連接至第一重鏈可變域之第一輕鏈可變域及/或ii)與CD3 (例如，如上述各別CDR或VH/VL序列所定義之CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者)特異性結合之第二抗原結合單元，其包含利用第二肽連接子直接地或間接地共價連接至第二重鏈可變域之第二輕鏈可變域。

【0094】 在本發明之結合蛋白之一些實施例中，第一及/或第二抗原結合單元進一步包含如在習知抗體分子之輕/重Fab域中之CL及CH1域，因此該第一結合單元包含a)共價連接(直接地或間接地鍵結)至第一CL域之VL域(例　如　由DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、

DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者之輕鏈CDR (LCCDR)或VL序列定義)及b)共價連接(直接地或間接地鍵結)至第一CH1域之VH域(例如由DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者之重鏈CDR (HCCDR)或VH序列定義)且/或該第二抗原結合單元包含a)共價連接(直接地或間接地鍵結)至第二CL域之VL域(例如由CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者之LCCDR或VL序列定義)及b)共價連接(直接地或間接地鍵結)至第二CH1域之VH域(例如由CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者之HCCDR或VH序列定義)。

【0095】 在本發明之上下文中，CL域係抗體輕鏈，例如κ或λ輕鏈之恆定域。κ輕鏈之恆定區之實例示於SEQ ID NO:87中。λ輕鏈之恆定區之實例示於SEQ ID NO:88中。在一些實施例中，第一及第二CL域相同，例如第一及第二CL域皆為κ輕鏈恆定域或第一及第二CL域皆為λ輕鏈恆定域。在一些實施例中，第一及第二CL域不同，例如第一CL域係恆定κ域且第二CL域係恆定λ域或反過來。

【0096】 在本發明之上下文中，CH1域係抗體重鏈之第一恆定域。恆定CH1域之實例示於SEQ ID NO: 253中。

【0097】 在本發明之結合蛋白之較佳實施例中，本發明之結合蛋白之第一抗原結合單元(例如由如上文所概述之CDR及/或VH/VL序列定義之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、

DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者)自N端至C端包含：第一輕鏈可變域、第一CL域、第一連接肽、第一VH域及第一CH1域，且/或本發明之結合蛋白之第二結合單元(例如由如上文所概述之CDR及/或VH/VL序列定義之CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者)自N端至C端包含：第二輕鏈可變域、第二CL域、第二連接肽、第二VH域及第二CH1域。在此實施例中，第一及/或第二結合單元具有單鏈Fab之結構。對於兩者而言，第一及/或第二抗原結合單元在形成單鏈Fab時，順序可顛倒使得自N端至C端該抗原結合單元包含：VH-CH1-[連接肽]-VL-CL。在本發明之蛋白質之一些實施例中，當第一及/或第二抗原結合單元包含Fab或單鏈Fab時，恆定域可具有相同類型(例如兩個CL域為κ或λ輕鏈恆定域)或不同類型(第一CL域為κ且第二CL域為λ輕鏈恆定域或反過來)。

【0098】 在一個態樣中，用於本發明之結合蛋白之連接子包含26至42個胺基酸，例如30至40個胺基酸。在另一態樣中，用於本發明之蛋白質之連接子包含34至40個胺基酸，例如36至39個胺基酸，例如38個胺基酸。在一些實施例中，連接子包含序列SEQ ID NO: 89、90、91、92、93、94或95中之任一者，較佳地SEQ ID NO:89。

【0099】 連接子序列可為天然存在之序列或非天然存在之序列。若出於治療目的使用，連接子較佳在投與本發明之結合蛋白之個體中不具免疫原性。

【0100】 如WO1996/34103及WO1994/04678中所述，連接子序列之一個適用群為衍生自重鏈抗體之鉸鏈區的連接子。其他實例為聚丙胺酸

連接子序列，諸如Ala-Ala-Ala。

【0101】 連接子序列之更佳實例係具有不同長度之Gly/Ser連接子，諸如(glyxsery)z連接子，包括例如(gly4ser)3、(gly4ser)5、(gly4ser)7、(gly3ser)3、(gly3ser)5、(gly3ser)7、(gly3ser2)3、(gly3ser2)5及(gly3ser2)7或SEQ ID NO:89至95中之任一者之連接子。

【0102】 在本發明之結合蛋白之一些實施例中，第一抗原結合單元之VL域(例 如 由DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18之輕鏈CDR (LCCDR)或VL序列定義)經由第一Gly/Ser連接子(例如26至42個胺基酸、30至40個胺基酸、34至40個胺基酸或36至39個胺基酸中之任一者，較佳地38個胺基酸之Gly/Ser連接子)共價連接(例如直接鍵結)至第一抗原結合單元之VH域(例如由DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18之重鏈CDR (HCCDR)或VH序列定義)；且第二抗原結合單元之VL域(例如由CD3#1、CD3#2或CD3#3之輕鏈CDR (LCCDR)或VL序列定義)經由第二Gly/Ser連接子(例如26至42個胺基酸、30至40個胺基酸、34至40個胺基酸或36至39個胺基酸中之任一者，較佳38個胺基酸之Gly/Ser連接子)共價連接(例如直接鍵結)至第二抗原結合單元之VH域(例如由CD3#1、CD3#2或CD3#3之重鏈CDR (HCCDR)或VH序列定義)。更佳地，第一及第二連接子相同。甚至更佳地，第一及第二連接子各自包含胺基酸序列SEQ ID NO:89。

【0103】在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成對DLL3具有特異性之第一抗原結合單元且包含選自由以下組成之群的序列：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239及SEQ ID NO:240；及SEQ ID NO:71之第二單鏈Fab，其形成對CD3具有特異性之第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO: 49；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:71，形成第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:50；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:71，形成第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:51；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:71，形成第二抗原結合單元。

【0104】在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成對DLL3具有特異性之第一抗原結合單元且包含選自由以下組成之群的序列：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239及SEQ ID NO:240；及SEQ

ID NO:72之第二單鏈Fab，其形成對CD3具有特異性之第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO: 49；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:72，形成第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:50；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:72，形成第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:51；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:72，形成第二抗原結合單元。

【0105】在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成對DLL3具有特異性之第一抗原結合單元且包含選自由以下組成之群的序列：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239及SEQ ID NO:240；及SEQ ID NO:104之第二單鏈Fab，其形成對CD3具有特異性之第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:49；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:104，形成第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:50；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:104，形成第二抗原結合單元。在一較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一單鏈

Fab，其形成第一抗原結合單元，包含序列SEQ ID NO:51；及第二單鏈Fab，其包含序列SEQ ID NO:104，形成第二抗原結合單元。

【0106】 在一些實施例中，第一抗原結合單元(例如，如上文概述之CDR及/或VH/VL序列所定義之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18)及/或第二抗原結合單元(例如CD3#1、CD3#2或CD3#3)包含共價連接(例如直接鍵結)至CL域之VL域及連接於CH1域之VH域(亦即一起形成衍生自抗體之Fab片段)，且該CH1域進一步共價連接(例如直接鍵結)至Fc域，進而形成具有一個輕鏈及一個重鏈之習知Y形抗體分子之臂。在一些實施例中，第一及第二抗原結合單元各自形成分別共價連接(例如直接鍵結)至第一及第二Fc域之Fab片段，亦即第一及第二Fab片段，進而形成習知雜四聚體雙特異性及二價抗體分子。

【0107】 在較佳實施例中，第一抗原結合單元(例如，如上文概述之CDR及/或VH/VL序列所定義之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者)及/或第二抗原結合單元(例如CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者)包含單鏈Fab，亦即經由肽連接子(例如具有26至42個胺基酸、30至40個胺基酸、34至40個胺基酸或36至39個胺基酸中之任一者，較佳地38個胺基酸之Gly/Ser連接子，甚至更佳SEQ ID NO:89之連接子)共價連接至重鏈之VH-CH1域之抗體輕鏈(VL-CL)。在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含：第一多肽鏈，其包含與DLL3 (例

如，如由上文各別CDR或VH/VL序列所定義之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18中之任一者，較佳地第一抗原結合單元係DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3)特異性結合之第一單鏈Fab及第一Fc域(此多肽鏈在本文中亦稱為「DLL3鏈」)；及第二多肽鏈，其包含與CD3 (例如，如上文各別CDR或VH/VL序列所定義之CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者)特異性結合之第二單鏈Fab及第二Fc域(此多肽鏈在本文中亦稱為「CD3鏈」)。在一些實施例中，第一及第二Fc域相同。在較佳實施例中，第一及第二Fc域不同。本發明之所得結合蛋白具有完整Fc且具有兩個獨立結合位點：針對DLL3之第一結合單元及針對CD3之第二結合單元。在一些實施例中，第一抗原結合單元由單一多肽鏈(DLL3鏈)組成。在一些實施例中，第二抗原結合單元由單一多肽鏈(CD3鏈)組成。在一些實施例中，第一及第二抗原結合單元兩者分別由單一多肽鏈組成。

【0108】 在一些實施例中，本發明之蛋白質之第一抗原結合單元係藉由第一多肽鏈(DLL3鏈)形成且第二抗原結合單元係藉由第二多肽鏈(CD3鏈)形成。因此，在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含兩條不同多肽鏈，各自包含具有不同特異性之抗原結合單元、彼此共價連接，或經由二硫鍵或可能經由肽連接子共價連接之多肽鏈。在一些實施例中，本發明之結合蛋白係雙特異性二價雜二聚蛋白質，其包含兩個多肽鏈，一條多肽鏈(第一多肽鏈或DLL3鏈)包含與DLL3 (例如由各別CDR及/或VH/VL序列定義之DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、

DLL3#6 、DLL3#7 、DLL3#8 、DLL3#9 、DLL3#10 、DLL3#11 、DLL3#12 、DLL3#13 、DLL3#14 、DLL3#15 、DLL3#16 、DLL3#17 或DLL3#18中之任一者)特異性結合之抗原結合單元且另一多肽鏈(第二多肽鏈或CD3鏈)包含與CD3 (例如CD3#1、CD3#2或CD3#3中之任一者)特異性結合之抗原結合單元。

【0109】 在本發明之上下文中，Fc域例如衍生自IgG，例如IgG_1、IgG_2或IgG_4之重鏈。舉例而言，本發明之Fc域係IgG_1或IgG_4之重鏈之Fc域且包含鉸鏈區及兩個恆定域(CH_2及CH_3)。Fc域(包括鉸鏈區)之實例示於SEQ ID NO:81及84中。

【0110】 除非另外規定，否則本發明之蛋白質之胺基酸鏈中的胺基酸編號在本文中係根據EU編號體系((Edelman, Cunningham等人 1969)。除非另外規定，否則此意謂根據EU編號體系，本文中指示之胺基酸數目對應於在相應亞型(例如IgG_1或IgG_4)之重鏈中的位置。

【0111】 在一些實施例中，本發明之蛋白質中之第一Fc域及第二Fc域各自包含一或多個胺基酸變化，該等胺基酸變化減少第一或第二多肽鏈之均二聚體而非第一及第二多肽鏈之雜二聚體的形成。經由此等變化，藉由用較大側鏈(例如酪胺酸或色胺酸)置換來自其中一個重鏈之界面之一或多個小胺基酸側鏈而在一個Fc域中生成「突起」。藉由用較小胺基酸側鏈(例如丙胺酸或蘇胺酸)置換大胺基酸側鏈而在另一Fc域之界面上產生相同或類似尺寸之互補「空腔」。此提供一種相比於其他非所需最終產物(諸如均二聚體，尤其具有「突起」之Fc域之均二聚體)增加雜二聚體產率的機制(參見例如Ridgway等人 Protein Eng, 1996. 9(7): 第617-21頁；Atwell等人, JMB, 1997, 270, 26-35)。在一些實施例中，此類胺基酸變化係在第

一Fc域之位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]及在第二Fc域之407位置處之蘇胺酸(T) [Y407T]。在一些實施例中，第一Fc域包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]且第二Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]。在較佳實施例中，第一Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第二Fc域包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]。舉例而言，根據EU編號之Fc域之位置366對應於SEQ ID NO:81之人類IgG1 Fc序列中之胺基酸位置146，其自SEQ ID NO:81中之位置146處之T改變為SEQ ID NO:82中之位置146處之W；且根據EU編號之位置366、368及407分別對應於SEQ ID NO:81中之胺基酸位置146、148及187，其自SEQ ID NO:81中之此等位置處之T、L及Y改變為SEQ ID NO:83中之此等位置處之S、A及V。在此等實施例中之任一者中，針對第一Fc域描述之胺基酸變化可位於第二Fc域中且第二Fc域之各別胺基酸變化可位於第一Fc域中。換言之，術語「第一」及「第二」在此等實施例中可互換。在一些實施例中，此類Fc域係衍生自IgG_1或IgG_4之重鏈的Fc域。

【0112】 在一些實施例中，第一Fc域除了位置366處之色胺酸(W) [T366W]之外亦包含在位置354處之半胱胺酸(C) [S354C]且第二Fc域除了位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]之外亦包含在位置349處之半胱胺酸(C) [Y349C]。在一個態樣中，此類Fc域係衍生自IgG_4之重鏈之Fc域。

【0113】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白中之第一Fc域或第二Fc域進一步包含一或多個胺基酸變化，該等胺基酸變化減少Fc域與蛋白

質A之結合。在一些實施例中，此類胺基酸變化係Fc域中之一者之位置435處的精胺酸[H435R]及位置436處的苯丙胺酸[Y436F]。兩種變化來源於人類IgG3之序列(IgG3不與蛋白質A結合)。此等兩種突變位於CH3域中且併入Fc域中之一者中以減少與蛋白質A的結合(參見例如Jendeberg等人 J Immunol Methods, 1997. 201(1): 第25-34頁)。此等兩種變化促進在蛋白質純化期間包含此等變化之重鏈之均二聚體的移除。

【0114】 在一些實施例中，在本發明之結合蛋白中，包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]的Fc域進一步包含在位置435處之精胺酸[H435R]及在位置436處之苯丙胺酸[Y436F]。在此情況下，另一條重鏈包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，但不包括在位置435及436處之兩個變化。可替代地，在一些實施例中，在本發明之蛋白質中，包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]的Fc域進一步包含在位置435處之[H435R]及在位置436處之苯丙胺酸[Y436F]。在此情況下，另一Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，但不包括在位置435及436處之兩個變化。因此，包含產生如上文所述之「空腔」之胺基酸變化的Fc域亦包含減少與蛋白質A結合之胺基酸變化。包含此Fc域之均二聚體經由與蛋白質A之結合減少移除。包含「突起」之另一Fc域之均二聚體的產生因「突起」之存在而減少。

【0115】 在一些實施例中，本發明之蛋白質之Fc域可能或可能不進一步包含YTE突變(M252Y/S254T/T256E，EU編號(Dall'Acqua, Kiener等人 2006))。已展示此等突變經由優選地提高在pH 6.0下對新生FcRn受體之結合親和力來改善Fc域之藥物動力學特性。

【0116】在一些實施例中，來源於IgG1之本發明之第一及/或第二Fc域亦包括「KO」突變(L234A、L235A)。在另一態樣中，來源於IgG4之本發明之第一及/或第二Fc域亦包括Pro鉸鏈突變(S228P)。

【0117】在本發明之較佳實施例中，結合蛋白包含i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:73之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#1/CD3#1)，或ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:74之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#2/CD3#1)，或iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:75之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#3/CD3#1)，或iv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:76之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#4/CD3#1)，或v)包含胺基酸序列SEQ ID NO:77之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#5/CD3#1)，或vi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:78之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#6/CD3#1)；或vii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:241之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#7/CD3#1)；或viii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:242之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#8/CD3#1)；或ix)包含胺基酸序列SEQ ID NO:243之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#9/CD3#1)；或x)包含胺基酸序列SEQ ID NO:244之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#10/CD3#1)；或xi)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 245之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#11/CD3#1)；或xii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:246之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ

ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#12/CD3#1)；或xiii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 247之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#13/CD3#1)；或xiv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:248之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#14/CD3#1)；或xv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:249之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#15/CD3#1)，或xvi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:250之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#16/CD3#1)；或xvii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:251之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#17/CD3#1)；或xviii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:252之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:79之第二多肽鏈(DLL3#18/CD3#1)。較佳地，第一及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接且形成類似於習知Y形抗體分子之抗體樣結構(圖1)。

【0118】 在另一較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含選自由SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74及SEQ ID NO:75組成之群之胺基酸序列；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:79。

【0119】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:73；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:79。

【0120】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:74；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:79。

【0121】在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:75；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:79。

【0122】在本發明之較佳實施例中，結合蛋白包含i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:73之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#1/CD3#2)，或ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:74之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#2/CD3#2)，或iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:75之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#3/CD3#2)，或iv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:76之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#4/CD3#2)，或v)包含胺基酸序列SEQ ID NO:77之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#5/CD3#2)，或vi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:78之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#6/CD3#2)；或vii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:241之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#7/CD3#2)；或viii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:242之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#8/CD3#2)；或ix)包含胺基酸序列SEQ ID NO:243之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#9/CD3#2)；或x)包含胺基酸序列SEQ ID NO:244之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#10/CD3#2)；或xi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:245之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#11/CD3#2)；或xii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:246之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ

ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#12/CD3#2)；或xiii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 247之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#13/CD3#2)；或xiv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:248之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#14/CD3#2)；或xv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:249之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#15/CD3#2)，或xvi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:250之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#16/CD3#2)；或xvii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:251之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#17/CD3#2)；或xviii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:252之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:80之第二多肽鏈(DLL3#18/CD3#2)。較佳地，第一及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接且形成類似於習知Y形抗體分子之抗體樣結構(圖1)。

【0123】 在另一較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含選自由SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74及SEQ ID NO:75組成之群之胺基酸序列；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:80。

【0124】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:73；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:80。

【0125】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:74；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:80。

【0126】在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:75；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:80。

【0127】在本發明之較佳實施例中，結合蛋白包含i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:73之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#1/CD3#3)，或ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:74之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#2/CD3#3)，或iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:75之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#3/CD3#3)，或iv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:76之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#4/CD3#3)，或v)包含胺基酸序列SEQ ID NO:77之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#5/CD3#3)，或vi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:78之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#6/CD3#3)；或vii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:241之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#7/CD3#3)；或viii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:242之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#8/CD3#3)；或ix)包含胺基酸序列SEQ ID NO:243之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#9/CD3#3)；或x)包含胺基酸序列SEQ ID NO:244之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#10/CD3#3)；或xi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:245之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#11/CD3#3)；或xii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:246之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ

ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#12/CD3#3)；或xiii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 247之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#13/CD3#3)；或xiv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:248之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#14/CD3#3)；或xv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:249之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#15/CD3#3)，或xvi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:250之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#16/CD3#3)；或xvii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:251之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#17/CD3#3)；或xviii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:252之第一多肽鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:105之第二多肽鏈(DLL3#18/CD3#3)。較佳地，第一及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接且形成類似於習知Y形抗體分子之抗體樣結構(圖1)。

【0128】 在另一較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含選自由SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74及SEQ ID NO:75組成之群之胺基酸序列；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:105。

【0129】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:73；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:105。

【0130】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:74；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:105。

【0131】 在一個較佳實施例中，結合蛋白包含：對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:75；及對CD3具有特異性的第二多肽鏈，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:105。

【0132】 對於上述所有實施例，應理解，藉由使用術語「包含」，意欲亦包括其中各別結構域或分子「由」如所指示之胺基酸序列「組成」之實施例。

【0133】 在另一態樣中，本發明提供一種蛋白質，其包含與DLL3特異性結合之第一多肽鏈及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其中該第一鏈包含共價連接(例如直接鍵結)至第一連接子之第一輕鏈，該第一連接子自身共價連接(例如直接鍵結)至第一重鏈，且其中與CD3特異性結合之第二鏈包含共價連接(例如直接鍵結)至第二連接子之第二輕鏈，該第二連接子自身共價連接(例如直接鍵結)至第二重鏈。

【0134】 在一些實施例中，自其N端起始，第一多肽鏈包含與DLL3特異性結合之第一輕鏈可變區、第一輕鏈恆定區、第一連接子、對DLL3具有特異性的第一重鏈可變區及第一重鏈恆定區。在一些實施例中，自其N端起始，第二多肽鏈包含與CD3特異性結合之第二輕鏈可變區、第二輕鏈恆定區、第二連接子、對CD3具有特異性的第二重鏈可變區及第二重鏈恆定區。

【0135】 所得蛋白質具有略大於IgG之完整Fc且具有兩個獨立的結合位點(例如各結合位點對各別抗原係單價的)：針對DLL3之第一結合位點及針對CD3之第二結合位點。較佳地，第一及第二多肽鏈經由一或多個二硫鍵連接。因此，本發明之蛋白質係抗體樣結構，具有習知全長抗體之Y形結構(參見圖1)。此雙特異性型式在表現及純化之後極大地降低異質性

(例如藉由避免具有不同結合特異性之輕及重可變域之錯配)，同時維持結構內結合部分不大可能產生非所需免疫原性反應物之功能特性。此亦允許雜二聚蛋白質(例如在哺乳動物細胞中)之良好表現。

【0136】在本發明之蛋白質之一些實施例中，與DLL3特異性結合之第一多肽鏈包含第一輕鏈可變域及第一重鏈可變域，該第一輕鏈可變域及第一重鏈可變域包含選自由i)至xviii)組成之群的CDR序列：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；

ii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；

iii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；

iv) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:19 (CDR1)、SEQ ID NO:20 (CDR2)及SEQ ID NO:21 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:22 (CDR1)、SEQ ID NO:23 (CDR2)及SEQ ID NO:24 (CDR3)之重鏈CDR；

v) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:25 (CDR1)、SEQ ID NO:26 (CDR2)及SEQ ID NO:27 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ

ID NO:28 (CDR1)、SEQ ID NO:29 (CDR2)及SEQ ID NO:30 (CDR3)之重鏈CDR；以及

vi) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:31 (CDR1)、SEQ ID NO:32 (CDR2)及SEQ ID NO:33 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:34 (CDR1)、SEQ ID NO:35 (CDR2)及SEQ ID NO:36 (CDR3)之重鏈CDR；

vii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 133 (CDR1)、SEQ ID NO: 134 (CDR2)及SEQ ID NO: 135 (CDR3)之輕鏈CDR及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 136 (CDR1)、SEQ ID NO: 137 (CDR2)及SEQ ID NO: 138 (CDR3)之重鏈CDR；

viii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:139 (CDR1)、SEQ ID NO:140 (CDR2)及SEQ ID NO:141 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:142 (CDR1)、SEQ ID NO:143 (CDR2)及SEQ ID NO:144 (CDR3)之重鏈CDR；

ix) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:145 (CDR1)、SEQ ID NO:146 (CDR2)及SEQ ID NO:147 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:148 (CDR1)、SEQ ID NO:149 (CDR2)及SEQ ID NO:150 (CDR3)之重鏈CDR；

x) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:151 (CDR1)、SEQ ID NO:152 (CDR2)及SEQ ID NO:153 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:154 (CDR1)、SEQ ID NO:155 (CDR2)及SEQ ID NO:156 (CDR3)之重鏈CDR；

xi) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:157 (CDR1)、SEQ ID NO:158

(CDR2)及SEQ ID NO:159 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:160 (CDR1)、SEQ ID NO:161 (CDR2)及SEQ ID NO:162 (CDR3)之重鏈CDR；

xii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:163 (CDR1)、SEQ ID NO:164 (CDR2)及SEQ ID NO:165 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:166 (CDR1)、SEQ ID NO:167 (CDR2)及SEQ ID NO:168 (CDR3)之重鏈CDR；

xiii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:169 (CDR1)、SEQ ID NO:170 (CDR2)及SEQ ID NO:171 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:172 (CDR1)、SEQ ID NO:173 (CDR2)及SEQ ID NO:174 (CDR3)之重鏈CDR；

xiv) 包含：包含胺基酸序列SEQ ID NO:175 (CDR1)、SEQ ID NO:176 (CDR2)及SEQ ID NO:177 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:178 (CDR1)、SEQ ID NO:179 (CDR2)及SEQ ID NO:180 (CDR3)之重鏈CDR；

xv) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:181 (CDR1)、SEQ ID NO:182 (CDR2)及SEQ ID NO:183 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:184 (CDR1)、SEQ ID NO:185 (CDR2)及SEQ ID NO:186 (CDR3)之重鏈CDR；

xvi) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:187 (CDR1)、SEQ ID NO:188 (CDR2)及SEQ ID NO:189 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:190 (CDR1)、SEQ ID NO:191 (CDR2)及SEQ ID NO:192 (CDR3)之重鏈CDR；

xvii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:193 (CDR1)、SEQ ID NO:194 (CDR2)及SEQ ID NO:195 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:196 (CDR1)、SEQ ID NO:197 (CDR2)及SEQ ID NO:198 (CDR3)之重鏈CDR；以及

xviii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:199 (CDR1)、SEQ ID NO:200 (CDR2)及SEQ ID NO:201 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:202 (CDR1)、SEQ ID NO:203 (CDR2)及SEQ ID NO:204 (CDR3)之重鏈CDR。

【0137】由此等CDR序列定義之各別輕/重鏈可變域分別稱為DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17及DLL3#18。較佳地，CDR序列選自由如上文所定義之i)至iii) (DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3)組成之群。

【0138】在本發明之結合蛋白之較佳實施例中，該與CD3特異性結合之第二多肽鏈包含第二輕鏈可變域及第二重鏈可變域，該第二輕鏈可變域及第二重鏈可變域包含選自由以下組成之群的CDR序列：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR；

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR；

以及

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:96 (CDR1)、SEQ ID NO:97 (CDR2)及SEQ ID NO:98 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:99 (CDR1)、SEQ ID NO:100 (CDR2)及SEQ ID NO:101 (CDR3)之重鏈CDR。

【0139】由此等CDR序列定義之各別輕/重鏈可變域分別稱為CD3#1、CD3#2及CD3#3。

【0140】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含第一輕鏈可變域，該第一輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR及第一重鏈可變域，該第一重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含第二輕鏈可變域，該第二輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR及第二重鏈可變域，該第二重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO: 59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR。

【0141】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含第一輕鏈可變域，該第一輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR及第一重鏈可變域，該第一重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ

ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含第二輕鏈可變域，該第二輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR及第二重鏈可變域，該第二重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO: 59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR。

【0142】 在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含第一輕鏈可變域，該第一輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR及第一重鏈可變域，該第一重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含第二輕鏈可變域，該第二輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR及第二重鏈可變域，該第二重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR。

【0143】 在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含第一輕鏈可變域，該第一輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR及第一重鏈可變域，該第一重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包

含第二輕鏈可變域，該第二輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR及第二重鏈可變域，該第二重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【0144】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含第一輕鏈可變域，該第一輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR及第一重鏈可變域，該第一重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含第二輕鏈可變域，該第二輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR及第二重鏈可變域，該第二重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【0145】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含第一輕鏈可變域，該第一輕鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR及第一重鏈可變域，該第一重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含第二輕鏈可變域，該第二輕鏈可變域具有包含胺基酸序列

SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR及第二重鏈可變域，該第二重鏈可變域具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【0146】在本發明之蛋白質之較佳實施例中，該與DLL3特異性結合之第一多肽鏈包含選自由i)至xviii)組成之群的輕鏈可變域(第一輕鏈可變域)及重鏈可變域(第一重鏈可變域)：

i) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之重鏈可變域(DLL3#1)；

ii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之重鏈可變域(DLL3#2)；

iii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:42之重鏈可變域(DLL3#3)；

iv) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:43之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:44之重鏈可變域(DLL3#4)；

v) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:45之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:46之重鏈可變域(DLL3#5)；

vi) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 47之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 48之重鏈可變域(DLL3#6)；

vii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 205之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 206之重鏈可變域(DLL3#7)；

viii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:207之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:208之重鏈可變域(DLL3#8)；

ix) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 209之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 210之重鏈可變域(DLL3#9)；

x) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 211之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 212之重鏈可變域(DLL3#10)；

xi) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 213之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 214之重鏈可變域(DLL3#11)；

xii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO:215之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 216之重鏈可變域(DLL3#12)；

xiii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 217之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 218之重鏈可變域(DLL3#13)；

xiv) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 219之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 220之重鏈可變域(DLL3#14)；

xv) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 221之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 222之重鏈可變域(DLL3#15)；

xvi) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 223之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 224之重鏈可變域(DLL3#16)；

xvii) 包含胺基酸序列SEQ ID NO: 225之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 226之重鏈可變域(DLL3#17)；以及

xviii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:227之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:228之重鏈可變域(DLL3#18)。

【0147】 較佳地，輕鏈可變域及重鏈可變域序列選自由如上文所定義之i)至iii) (DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3)組成之群。

【0148】 在本發明之蛋白質之較佳實施例中，該與CD3特異性結合

之第二多肽鏈包含選自由以下組成之群的輕鏈可變域(第二輕鏈可變域)及重鏈可變域(第二重鏈可變域)：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68之重鏈可變域(CD3#1)；

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:70之重鏈可變域(CD3#2)；以及

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:102之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:103之重鏈可變域(CD3#3)。

【0149】 在一些實施例中，本發明之結合蛋白包含第一及第二多肽鏈，該第一及第二多肽鏈包含選自由以下組成之清單的輕/重鏈可變域之CDR及/或VH及VL序列：DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#4/CD3#1、DLL3#5/CD3#1、DLL3#6/CD3#1、DLL3#7/CD3#1、DLL3#8/CD3#1、DLL3#9/CD3#1、DLL3#10/CD3#1、DLL3#11/CD3#1、DLL3#12/CD3#1、DLL3#13/CD3#1、DLL3#14/CD3#1、DLL3#15/CD3#1、DLL3#16/CD3#1、DLL3#17/CD3#1、DLL3#18/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#4/CD3#2、DLL3#5/CD3#2、DLL3#6/CD3#2、DLL3#7/CD3#2、DLL3#8/CD3#2、DLL3#9/CD3#2、DLL3#10/CD3#2、DLL3#11/CD3#2、DLL3#12/CD3#2、DLL3#13/CD3#2、DLL3#14/CD3#2、DLL3#15/CD3#2、DLL3#16/CD3#2、DLL3#17/CD3#2、DLL3#18/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#3、DLL3#4/CD3#3、DLL3#5/CD3#3及DLL3#6/CD3#3、

DLL3#7/CD3#3、DLL3#8/CD3#3、DLL3#9/CD3#3、DLL3#10/CD3#3、DLL3#11/CD3#3、DLL3#12/CD3#3、DLL3#13/CD3#3、DLL3#14/CD3#3、DLL3#15/CD3#3、DLL3#16/CD3#3、DLL3#17/CD3#3、DLL3#18/CD3#3。在較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含第一及第二多肽鏈，該第一及第二多肽鏈包含選自由以下組成之清單的輕/重鏈可變域之CDR及/或VH及VL序列：DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3及DLL3#3/CD3#3。

【0150】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含SEQ ID NO:37之輕鏈可變域及SEQ ID NO:38之重鏈可變域；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含SEQ ID NO:67之輕鏈可變域及SEQ ID NO:68之重鏈可變域。

【0151】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含SEQ ID NO:39之輕鏈可變域及SEQ ID NO:40之重鏈可變域；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含SEQ ID NO:67之輕鏈可變域及SEQ ID NO:68之重鏈可變域。

【0152】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含SEQ ID NO:41之輕鏈可變域及SEQ ID NO:42之重鏈可變域；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含SEQ ID NO:67之輕鏈可變域及SEQ ID NO:68之重鏈可變域。

【0153】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含SEQ ID NO:37之輕鏈可變域及SEQ ID

NO:38之重鏈可變域；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及SEQ ID NO:70之重鏈可變域。

【0154】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含SEQ ID NO:39之輕鏈可變域及SEQ ID NO:40之重鏈可變域；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及SEQ ID NO:70之重鏈可變域。

【0155】在一個較佳實施例中，本發明之結合蛋白包含(i)與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，其包含SEQ ID NO:41之輕鏈可變域及SEQ ID NO:42之重鏈可變域；及(ii)與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其包含SEQ ID NO:69之輕鏈可變域及SEQ ID NO:70之重鏈可變域。

【0156】在本發明之一些實施例中，第一及/或第二連接肽包含如上文所述之連接子，例如來源於鉸鏈區之連接子、聚丙胺酸連接子或Gly/Ser連接子，其中該連接子包含26至42個胺基酸，例如30至40個胺基酸、34至40個胺基酸，或36至39個胺基酸中之任一者，較佳38個胺基酸。

【0157】在較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含以下中之任一者之胺基酸序列：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239或SEQ ID NO:240且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:71。

【0158】在一些實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含

以下中之任一者之胺基酸序列：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239或SEQ ID NO:240且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:72。

【0159】在一些實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含以下中之任一者之胺基酸序列：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239或SEQ ID NO:240且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:104。

【0160】在一個較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:49且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:71。

【0161】在一個較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:50且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:71。

【0162】在一個較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:51且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:71。

【0163】在一個較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈

包含胺基酸序列SEQ ID NO:49且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:72。

【0164】在一個較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:50且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:72。

【0165】在一個較佳實施例中，對DLL3具有特異性的第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:51且對CD3具有特異性的第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO:72。

【0166】在本發明之結合蛋白之一些實施例中，第一及第二多肽鏈包含來源於IgG (例如IgG1、IgG2或IgG4)之重鏈的Fc域。舉例而言，本發明之Fc域係IgG1或IgG4之重鏈之Fc域且包含鉸鏈區及兩個恆定域(CH2及CH3)。人類IgG之Fc域之實例示於SEQ ID NO:81及84中。

【0167】在本發明之結合蛋白之一些實施例中，重鏈包含一或多個胺基酸變化。舉例而言，此類胺基酸變化係第一重鏈之在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]及第二重鏈之在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]。在一些實施例中，第一重鏈包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]且第二重鏈包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]。在較佳實施例中，第一重鏈包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]且第二重鏈包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]。舉例而言，根據EU編號之Fc域之位置366對應於SEQ ID NO:81之人類IgG1 Fc序列中之胺基酸位置146，其自SEQ ID NO:81中之位置146處之T改變為SEQ ID NO:82中之位置146處之W；且

根據EU編號之位置366、368及407分別對應於SEQ ID NO:81中之胺基酸位置146、148及187，其自SEQ ID NO:81中之此等位置處之T、L及Y改變為SEQ ID NO:83中之此等位置處之S、A及V。在此等實施例中之任一者中，針對第一重鏈所描述之胺基酸變化可位於第二重鏈中且第二重鏈之各別胺基酸變化可位於第一重鏈中。換言之，術語「第一」及「第二」在此等實施例中可互換。在一些實施例中，重鏈來源於IgG_1或IgG_4之重鏈。

【0168】 在一些實施例中，本發明之蛋白質中之第一重鏈或第二重鏈進一步包含一或多個減少重鏈與蛋白質A結合之胺基酸變化。在一些實施例中，此類胺基酸變化係重鏈中之一者之在位置435處的精胺酸[H435R]及在位置436處的苯丙胺酸[Y436F]。

【0169】 在一些實施例中，在本發明之蛋白質中，包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]的重鏈進一步包含在位置435處之精胺酸[H435R]及在位置436處之苯丙胺酸[Y436F]。在此情況下，另一條重鏈包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，但不包括在位置435及436處之兩個變化。可替代地，在一些實施例中，在本發明之蛋白質中，包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]的重鏈進一步包含在位置435處之精胺酸[H435R]及在位置436處之苯丙胺酸[Y436F]。在此情況下，另一條重鏈包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，但不包括在位置435及436處之兩個變化。因此，包含產生如上文所述之「空腔」之胺基酸變化的重鏈亦包含減少與蛋白質A結合之胺基酸變化。包含此等重鏈之均二聚體經由與蛋白質A之減少結合移除。包含「突起」之另一重鏈之均二聚體的產生因「突起」之存在而減少。

【0170】在一些實施例中，本發明之蛋白質之重鏈可能或可能不進一步包含YTE突變(M252Y/S254T/T256E，EU編號(Dall'Acqua, Kiener等人 2006))。已展示此等突變經由優選地提高在pH 6.0下對新生FcRn受體之結合親和力來改善重鏈之藥物動力學特性。

【0171】在一些實施例中，來源於IgG1之本發明之第一及/或第二重鏈亦包括「KO」突變(L234A、L235A)。在另一態樣中，來源於IgG4之本發明之第一及/或第二重鏈亦包括Pro鉸鏈突變(S228P)。

【0172】在另一態樣中，本發明之蛋白質包含對人類及食蟹獼猴DLL3之親和力較佳≤10nM、更佳≤1nM、甚至更佳≤0.1nM、甚至更佳≤0.01 nM的對DLL3具有特異性的第一抗原結合單元或多肽鏈。如例如在實例或熟練人員所熟知之其他方法中所描述，可使用重組DLL3-蛋白質在SPR (BIAcore)分析中量測親和力。蛋白質包含對人類及食蟹獼猴CD3εγ複合物之親和力較佳≤500 nM、更佳地≤100 nM、甚至更佳≤10 nM的第二抗原結合單元或多肽鏈。

【0173】在另一態樣中，本發明之DLL3/CD3結合蛋白不與DLL3陰性細胞結合且不與人類及DLL3旁系同源物DLL1及DLL4交叉反應，如實例5中所示。

【0174】在另一態樣中，本發明之DLL3/CD3結合蛋白包含與DLL3蛋白質之近膜肽特異性結合之第一抗原結合單元或第一多肽鏈。在另一態樣中，本發明之蛋白質顯示與DLL3蛋白質表現細胞之微弱結合，例如直至100 nM之濃度亦未實現蛋白質與細胞表面之結合的飽和(參見例如圖6)。

【0175】在另一態樣中，本發明之DLL3/CD3結合蛋白能夠藉由以

下介導對腫瘤細胞之細胞毒性：為在表現DLL3之腫瘤細胞與T細胞之間形成溶細胞突觸提供最佳空間條件，以便選擇性地重導向對靶向腫瘤細胞之T細胞活性，從而導致腫瘤細胞溶解。

【0176】 可使用各種方法量測由本發明之DLL3/CD3結合蛋白介導之細胞毒性。舉例而言，可使用實例10中所描述之方法量測細胞毒性。效應細胞可為例如受刺激或未受刺激的(人類或食蟹獼猴) T細胞或其子組(例如CD4、CD8)或未受刺激的(人類或食蟹獼猴)周邊血液單核細胞(PBMC)。靶細胞應至少表現(人類或食蟹獼猴) DLL3之胞外域且可為具有內源性(天然) DLL3表現之細胞，諸如人類小細胞肺癌腫瘤細胞株SHP77、NCI-H82，亦可替代地表現全長DLL3或DLL3之胞外域的重組細胞。效應子:目標細胞比率(E:T)通常為約10:1，但可變化。可例如在培育48或72小時之後在LDH-釋放分析中測定DLL3/CD3結合分子之細胞毒活性。用於測定細胞毒性之培育時間及讀出的修改係可能的且為熟練人員已知。細胞毒性之讀出系統可包含MTT/MTS分析、基於ATP之分析、基於FACS之分析、51-鉻釋放分析、磺醯羅丹明B (SRB)分析、比色(WST)分析、細胞群落分析、ECIS技術及生物發光分析。

【0177】 本發明之DLL3/CD3結合蛋白介導之細胞毒活性較佳在基於細胞之細胞毒性分析中量測。細胞毒性由在細胞毒性分析中量測之EC_{90}值表示。熟練人員意識到，當使用經純化之T細胞作為效應細胞時，預期與PBMC相比EC_{90}可能更低，熟練人員亦意識到，當使用受刺激之T細胞時EC_{90}可能甚至更低。可進一步預期，相比於在細胞表面上表現較低數量DLL3分子之細胞，當靶細胞在細胞表面上表現大量DLL3時，EC_{90}值更低。DLL3/CD3結合蛋白之EC_{90}較佳$\leq$10 nM，更佳$\leq$5 nM且甚至更佳$\leq$1

nM。

【0178】 較佳地，本發明之多特異性結合蛋白不誘導/介導DLL3陰性細胞之溶解。術語「不誘導/介導」DLL3陰性細胞之「溶解」意謂DLL3/CD3結合分子不誘導或介導超過30%、較佳不超過20%、更佳不超過10%且尤其不超過5%的DLL3陰性細胞，而DLL3陽性肺癌瘤細胞株之溶解設定為100%。此通常適用於高達1000 nM之結合蛋白濃度。

【0179】 較佳地，本發明之DLL3/CD3結合蛋白不被靶向細胞內化。可例如如實例11中所描述分析內化率。較佳地，在使DLL3/CD3結合蛋白與靶細胞一起預培育4小時之後，內化率(例如量測為細胞毒性降低)≤50%，更佳地≤40%且甚至更佳≤30%。

【0180】 此外，本發明之DLL3/CD3結合蛋白示出為穩定的，其中單體含量高於95% (例如至少98%，參見實例14)，具有有利的藥物動力學特性及良好的下游可製造性且進一步預期具有良好的生物分佈(參見例如實例12)。本發明之蛋白質此外具有有利的免疫原性特徵(參見實例16)且具有良好的活體外及活體內穩定性(參見例如實例12及15)。此外，本發明之DLL3/CD3結合蛋白(例如DLL3#3/CD3#1，DLL3#3/CD3#2)在人類化活體內異種移植小鼠模型中展示有利的功效。DLL3/CD3結合蛋白誘導強烈的腫瘤消退，該腫瘤消退在DLL3/CD3結合蛋白之第一劑量之後已經開始。此外，本發明之DLL3/CD3結合蛋白以每週一次(q7d)投與0.25 mg/kg之極低劑量誘導腫瘤消退，進一步支持其治療適用性。詳言之，本發明之DLL3/CD3結合蛋白僅在DLL3陽性靶細胞存在下及DLL3陰性靶細胞不存在下誘導選擇性T細胞增殖、T細胞活化、T細胞脫粒及細胞介素分泌(參見實例18)，且進一步顯著增加進入腫瘤組織的T細胞浸潤(參見實例20)。

此外，實例19表明DLL3/CD3結合蛋白介導CD4+以及CD8+ T細胞重導引之溶解。詳言之，原始T細胞以及$CD4^+$效應記憶細胞、$CD4^+$中央記憶細胞、$CD8^+CD45RA^+$效應細胞及$CD8^+$記憶細胞有助於表現DLL3之腫瘤細胞之T細胞重導引的溶解。

【0181】本發明之另一態樣提供分離之核酸分子，其編碼本發明之多特異性結合蛋白之第一及/或第二抗原結合單元。在一些實施例中，核酸分子進一步分別編碼如本文所述之第一及/或第二Fc域，連接於編碼第一及/或第二抗原結合單元之核酸分子之3'端的第一及/或第二Fc域。在一些實施例中，核酸分子編碼i)第一多肽鏈，其包含對DLL3 (例如DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17及DLL3#18中之任一者)具有特異性的第一單鏈Fab，及視情況存在之第一Fc域及/或ii)第二多肽鏈，其包含對CD3 (例如CD3#1、CD3#2及CD3#3中之任一者)具有特異性的第二單鏈Fab及視情況存在之第二Fc域。

【0182】較佳地，核酸分子包含編碼以下各者中之任一者之第一單鏈Fab：SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:229、SEQ ID NO:230、SEQ ID NO:231、SEQ ID NO:232、SEQ ID NO:233、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:235、SEQ ID NO:236、SEQ ID NO:237、SEQ ID NO:238、SEQ ID NO:239或SEQ ID NO:240及/或SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72或SEQ ID NO:104之第二單鏈Fab的核苷酸序列。在一些實施例中，核酸分子包含編碼以下各者中之任一者之第一多肽鏈：SEQ ID

NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252及/或對CD3具有特異性的第二多肽鏈(其包含胺基酸序列SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80或SEQ ID NO:105)的核苷酸序列。

【0183】本發明之另一態樣提供含有DNA分子之表現載體，該DNA分子包含編碼第一及/或第二抗原結合域(例如本發明之第一及/或第二單鏈Fab)之核苷酸序列。較佳地，表現載體另外包含編碼連接於核酸分子之第一及/或第二Fc域的核酸分子，較佳DNA分子，較佳地編碼第一及/或第二抗原結合域(例如分別地，第一及/或第二單鏈Fab)之DNA分子。因此，表現載體包含：編碼包含連接於第一Fc域之第一單鏈Fab之多肽鏈的核苷酸序列；及/或編碼包含連接於第二Fc域之第二單鏈Fab之多肽鏈的核苷酸序列。

【0184】在一較佳實施例中，表現載體含有DNA分子，該DNA分子包含編碼本發明之第一及/或第二多肽鏈之核苷酸序列。在一較佳實施例中，表現載體包含核苷酸序列，該核苷酸序列編碼以下中之任一者之第一多肽鏈：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO: 245、SEQ ID NO: 246、SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 249、SEQ ID NO: 250、SEQ ID NO: 251或SEQ ID NO: 252及/或包含SEQ ID

NO:79之第二多肽鏈。

【0185】 在另外較佳實施例中，表現載體包含核苷酸序列，該核苷酸序列編碼以下中之任一者之第一多肽鏈：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO: 245、SEQ ID NO: 246、SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 249、SEQ ID NO: 250、SEQ ID NO: 251或SEQ ID NO: 252及/或包含SEQ ID NO:80之第二多肽鏈。

【0186】 在另外較佳實施例中，表現載體包含核苷酸序列，該核苷酸序列編碼以下中之任一者之第一多肽鏈：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO: 245、SEQ ID NO: 246、SEQ ID NO: 247、SEQ ID NO: 248、SEQ ID NO: 249、SEQ ID NO: 250、SEQ ID NO: 251或SEQ ID NO: 252及/或包含SEQ ID NO:105之第二多肽鏈。

【0187】 在特定較佳實施例中，可使用兩種表現載體，其中一種用於表現對DLL3具有特異性的第一多肽鏈，另一種用於表現對CD3具有特異性的第二多肽鏈，該等兩種表現載體接著均可轉染於宿主細胞中以供重組蛋白表現。

【0188】 較佳地，表現載體將為包含可操作地連接於至少一個調節序列之該核酸分子或該等核酸分子之載體，其中此類調節序列可為啟動子、強化子或終止子序列，及最佳地異源啟動子、強化子或終止子序列。

【0189】 在另一態樣中，本發明係關於一種宿主細胞，其具有編碼

本發明之對DLL3具有特異性之第一多肽鏈的表現載體及編碼本發明之對CD3具有特異性之第二多肽鏈的表現載體。

【0190】 根據尤其較佳實施例，該等宿主細胞係真核生物細胞，諸如哺乳動物細胞。在另一實施例中，此類宿主細胞係細菌細胞。其他有用細胞係酵母細胞或其他真菌細胞。

【0191】 適合之哺乳動物細胞包括例如CHO細胞、BHK細胞、HeLa細胞、COS細胞及類似細胞。然而，亦可使用兩棲動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞及用於此項技術以表現異源蛋白質之任何其他細胞。

抗-DLL3抗體

【0192】 DLL3一般表現在胞內膜上，包括胎腦中高基氏體之彼等，且在近軸中胚層中之體節發生中起關鍵作用(Geffers等人, J Cell Biol. 2007;178:465；Chapman等人, Hum. Mol. Genet. 2011;20:905-916)。對一些腫瘤類型(包括SCLC、LCNEC及神經膠母細胞瘤)中DLL3表現之明顯誘導導致定位至細胞表面：此連同非惡性細胞中可偵測細胞表面DLL3之缺少為腫瘤細胞特異性療法及抗-DLL3抗體作為診斷及預後工具之用途提供新的機會。

【0193】 若干抗-DLL3抗體(諸如LS-c167440, Lifespan；AP21739PU-N, Acris；LS-C148700, LSBio)係可商購的。然而，此等抗體在免疫組織化學(IHC)、FACS及ELISA分析中表現不佳且未能特異性結合於在細胞，尤其腫瘤細胞上表現之DLL3蛋白質。抗-DLL3抗體亦例如在WO2007111733中有所報導且建議用於神經膠質瘤患者中之診斷用途，但未展示IHC分析之資料。因此，抗-DLL3抗體作為可靠診斷工具以準確量測患者(例如腫瘤細胞/組織)中之DLL3表現及/或評估DLL3靶向療法之

功效的用途仍具挑戰性。

【0194】因此，需要鑑別替代的抗-DLL3抗體，其可用於準確及專門偵測在各種分析(諸如FACS、ELISA、免疫沈澱、西方墨點法、ELISA、放射免疫分析、流式細胞量測術、IHC及免疫測定分析)中任何種類之生物樣本中的DLL3蛋白質表現且可用作可靠的診斷試劑。

【0195】因此，本發明之另一態樣提供抗-DLL3抗體分子，其包含

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；或

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；或

iv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:19 (CDR1)、SEQ ID NO:20 (CDR2)及SEQ ID NO:21 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:22 (CDR1)、SEQ ID NO:23 (CDR2)及SEQ ID NO:24 (CDR3)之重鏈CDR；或

v)包含胺基酸序列SEQ ID NO:25 (CDR1)、SEQ ID NO:26 (CDR2)及SEQ ID NO:27 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:28

(CDR1)、SEQ ID NO:29 (CDR2)及SEQ ID NO:30 (CDR3)之重鏈CDR；或

vi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:31 (CDR1)、SEQ ID NO:32 (CDR2)及SEQ ID NO:33 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:34 (CDR1)、SEQ ID NO:35 (CDR2)及SEQ ID NO:36 (CDR3)之重鏈CDR；或

vii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:133 (CDR1)、SEQ ID NO:134 (CDR2)及SEQ ID NO:135 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:136 (CDR1)、SEQ ID NO:137 (CDR2)及SEQ ID NO:138 (CDR3)之重鏈CDR；或

viii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:139 (CDR1)、SEQ ID NO:140 (CDR2)及SEQ ID NO:141 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:142 (CDR1)、SEQ ID NO:143 (CDR2)及SEQ ID NO:144 (CDR3)之重鏈CDR；或

ix)包含胺基酸序列SEQ ID NO:145 (CDR1)、SEQ ID NO:146 (CDR2)及SEQ ID NO:147 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:148 (CDR1)、SEQ ID NO:149 (CDR2)及SEQ ID NO:150 (CDR3)之重鏈CDR；或

x)包含胺基酸序列SEQ ID NO:151 (CDR1)、SEQ ID NO:152 (CDR2)及SEQ ID NO:153 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:154 (CDR1)、SEQ ID NO:155 (CDR2)及SEQ ID NO:156 (CDR3)之重鏈CDR；或

xi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:157 (CDR1)、SEQ ID NO:158

(CDR2)及SEQ ID NO:159 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:160 (CDR1)、SEQ ID NO:161 (CDR2)及SEQ ID NO:162 (CDR3)之重鏈CDR；或

xii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:163 (CDR1)、SEQ ID NO:164 (CDR2)及SEQ ID NO:165 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:166 (CDR1)、SEQ ID NO:167 (CDR2)及SEQ ID NO:168 (CDR3)之重鏈CDR；或

xiii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:169 (CDR1)、SEQ ID NO:170 (CDR2)及SEQ ID NO:171 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:172 (CDR1)、SEQ ID NO:173 (CDR2)及SEQ ID NO:174 (CDR3)之重鏈CDR；或

xiv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:175 (CDR1)、SEQ ID NO:176 (CDR2)及SEQ ID NO:177 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:178 (CDR1)、SEQ ID NO:179 (CDR2)及SEQ ID NO:180 (CDR3)之重鏈CDR；或

xv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:181 (CDR1)、SEQ ID NO:182 (CDR2)及SEQ ID NO:183 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:184 (CDR1)、SEQ ID NO:185 (CDR2)及SEQ ID NO:186 (CDR3)之重鏈CDR；或

xvi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:187 (CDR1)、SEQ ID NO:188 (CDR2)及SEQ ID NO:189 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:190 (CDR1)、SEQ ID NO:191 (CDR2)及SEQ ID NO:192 (CDR3)之重鏈CDR；或

xvii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:193 (CDR1)、SEQ ID NO:194 (CDR2)及SEQ ID NO:195 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:196 (CDR1)、SEQ ID NO:197 (CDR2)及SEQ ID NO:198 (CDR3)之重鏈CDR；或

xviii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:199 (CDR1)、SEQ ID NO:200 (CDR2)及SEQ ID NO:201 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:202 (CDR1)、SEQ ID NO:203 (CDR2)及SEQ ID NO:204 (CDR3)之重鏈CDR。

【0196】如上文所概述之抗體i)至xviii)分別稱為DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18。本文提供序列表，其允許容易地鑑別本發明之特異性抗體之單獨胺基酸序列。

【0197】在本發明之較佳實施例中，抗體分子包含對應於DLL3#1或DLL3#5之如上文i)或v)所定義之CDR序列。

【0198】在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體係嵌合、人類化或人類抗體分子。在一些實施例中，抗體分子係單株抗體Fab、F(ab)2、Fv或scFv。在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體分子包含選自由以下組成之群的重鏈恆定區：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA及IgE恆定區。在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體分子之輕鏈恆定區係κ或λ。

【0199】在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體具有重鏈可變域，該重鏈可變域包含與SEQ ID NO:38、40、42、44、46、48、206、

208、210、212、214、216、218、220、222、224、226及228中之任一者至少85%一致的胺基酸序列。較佳地，抗體分子具有重鏈可變域，其包含胺基酸序列SEQ ID NO:38、40、42、44、46、48、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226或228。

【0200】 在一些實施例中，抗-DLL3抗體分子具有輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含與SEQ ID NO:37、39、41、43、45、47、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225及227中之任一者至少85%一致的胺基酸序列。較佳地，抗體分子具有輕鏈可變域，該輕鏈可變域包含胺基酸序列SEQ ID NO:37、39、41、43、45、47、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225或227。

【0201】 計算胺基酸序列一致性之方法為此項技術中所熟知且進一步在本文中說明書之定義部分中論述。

【0202】 在一些實施例中，抗-DLL3抗體分子具有i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:38之重鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:37之輕鏈可變域(DLL3#1)；或ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:40之重鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:39之輕鏈可變域(DLL3#2)；或iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:42之重鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:41之輕鏈可變域(DLL3#3)，或iv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:44之重鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:43之輕鏈可變域(DLL3#4)；或v)包含胺基酸序列SEQ ID NO:46之重鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:45之輕鏈可變域(DLL3#5)；或vi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:48之重鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:47之輕鏈可變域(DLL3#6)；或vii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:205之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:206之

重鏈可變域(DLL3#7)；或viii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:207之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:208之重鏈可變域(DLL3#8)；或ix)包含胺基酸序列SEQ ID NO:209之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:210之重鏈可變域(DLL3#9)；或x)包含胺基酸序列SEQ ID NO:211之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:212之重鏈可變域(DLL3#10)；或xi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:213之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:214之重鏈可變域(DLL3#11)；或xii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:215之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:216之重鏈可變域(DLL3#12)；或xiii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:217之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:218之重鏈可變域(DLL3#13)；或xiv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:219之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:220之重鏈可變域(DLL3#14)；或xv)包含胺基酸序列SEQ ID NO:221之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:222之重鏈可變域(DLL3#15)；或xvi)包含胺基酸序列SEQ ID NO:223之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:224之重鏈可變域(DLL3#16)；或xvii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:225之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:226之重鏈可變域(DLL3#17)；或xviii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:227之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO:228之重鏈可變域(DLL3#18)。

【0203】在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體係小鼠單株抗體。在本發明之上下文中，小鼠單株抗體包括以下抗體：其中VH及VL自以下獲得：用人類DLL3蛋白質免疫接種小鼠，之後選擇以一定親和力與人類DLL3結合之適合VH及VL序列，且接著進一步藉由重組技術將此類VH及VL序列連接至來源於小鼠之恆定域(例如小鼠IgG2a)；且其藉由宿

主細胞中之重組表現製得。本發明進一步涵蓋嵌合抗體，例如包含來自不同物種之可變區及恆定區。在一些實施例中，本發明之抗體分子係嵌合抗體，其包含如上文所述之來源於小鼠之VH及VL域且進一步包含來源於另一種物種(諸如人類、兔、大鼠、山羊、驢)之恆定域。在一些實施例中，嵌合抗體包含來源於小鼠之VH及VL域且進一步如上文所定義人類化或序列優化且進一步包含來源於另一物種之恆定域。在一些實施例中，嵌合抗體包含來源於包含人類IgG序列之轉殖基因動物(例如小鼠)之VH及VL域，因此包含人類VH及VL序列，且進一步包含來源於另一物種之恆定域。在如上文所概述之嵌合抗體之實施例中的任一者中，重鏈恆定區係小鼠、人類、兔、大鼠、山羊或驢重鏈區。

【0204】 在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體分子具有選自由以下組成之群的恆定域：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA及IgE恆定域。在一較佳實施例中，抗-DLL3抗體具有IgG2a之恆定域，其較佳包含序列SEQ ID NO:254。在一些實施例中，抗-DLL3抗體分子具有為κ或λ之輕鏈恆定域，較佳地該輕鏈恆定域係κ輕鏈恆定域，其較佳地包含序列SEQ ID NO:255。

【0205】 在一些實施例中，抗-DLL3抗體分子能夠結合於人類及食蟹獼猴DLL3，解離常數(KD)較佳≤10nM、更佳≤1nM、甚至更佳≤0.1nM、甚至更佳≤0.01 nM。親和力(KD值)可在SPR (BIAcore)分析中使用重組DLL3蛋白質量測，如例如實例或熟練人員所熟知之其他方法所描述。

【0206】 在一些實施例中，抗-DLL3抗體分子不與小鼠DLL3結合。

【0207】 在一些實施例中，抗-DLL3抗體分子能夠偵測組織樣本(例如石蠟包埋/福馬林固定組織樣本)，諸如腫瘤組織樣本或培養細胞株上之DLL3表現(例如細胞質及表面蛋白質表現)。視情況，石蠟包埋/福馬林固定之細胞培養或組織樣本進一步用抗原決定基取回器(諸如蛋白酶K)處理。

【0208】 在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體分子結合於與以下中之任一者相同之抗原決定基：DLL3#1、DLL2#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18抗體。在一些實施例中，本發明之抗-DLL3抗體分子與以下中之任一者交叉競爭結合於人類DLL3：DLL3#1、DLL2#2、DLL3#3、DLL3#4、DLL3#5、DLL3#6、DLL3#7、DLL3#8、DLL3#9、DLL3#10、DLL3#11、DLL3#12、DLL3#13、DLL3#14、DLL3#15、DLL3#16、DLL3#17或DLL3#18抗體分子。

【0209】 本發明之另一態樣提供分離之核酸分子，其編碼本發明之抗-DLL3抗體分子之重鏈可變域及/或輕鏈可變域。

【0210】 較佳地，核酸分子包含編碼以下中之任一者之重鏈可變域的核苷酸序列：SEQ ID NO:38、40、42、44、46、48、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226或228。較佳地，核酸分子包含編碼以下中之任一者之輕鏈可變域的核苷酸序列：SEQ ID NO:37、39、41、43、45、47、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225或227。

【0211】 本發明之另一態樣提供一種含有DNA分子之表現載體，該

DNA分子包含編碼本發明之抗-DLL3抗體分子之重鏈可變域及/或輕鏈可變域的核苷酸序列。

【0212】 較佳地，表現載體另外包含分別編碼連接於核酸分子之重鏈恆定域及/或輕鏈恆定域的核酸分子，較佳地DNA分子，較佳地分別編碼重鏈可變域及/或輕鏈可變域之DNA分子。

【0213】 在具體較佳實施例中，可使用兩種表現載體，其中一種用於表現重鏈，另一種用於表現輕鏈，該等兩種表現載體接著均可轉染於宿主細胞中以供重組蛋白表現。

【0214】 較佳地，表現載體將為包含可操作地連接於至少一個調節序列之該核酸分子或該等核酸分子之載體，其中此類調節序列可為啟動子、強化子或終止子序列，及最佳地異源啟動子、強化子或終止子序列。

【0215】 在另一態樣中，本發明係關於宿主細胞，其具有編碼本發明之抗-DLL3抗體分子之重鏈的表現載體及編碼本發明之抗-DLL3抗體分子之輕鏈的表現載體。

【0216】 根據尤其較佳實施例，該等宿主細胞係真核生物細胞，諸如哺乳動物細胞。在另一實施例中，此類宿主細胞係細菌細胞。其他有用細胞係酵母細胞或其他真菌細胞。

【0217】 適合之哺乳動物細胞包括例如CHO細胞、BHK細胞、HeLa細胞、COS細胞及類似細胞。然而，亦可使用兩棲動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞及用於此項技術以表現異源蛋白質之任何其他細胞。

製造及純化方法

【0218】 本發明進一步提供製造本發明之多特異性結合蛋白之方法，該等方法一般包含以下步驟：

- 在允許形成本發明之結合蛋白條件下培養宿主細胞，該等宿主細胞包含表現載體，該表現載體包含編碼本發明之結合蛋白之核酸；及，

- 自培養物回收由宿主細胞表現之結合蛋白；及

- 視情況進一步純化及/或修飾及/或調配本發明之結合蛋白。

【0219】 本發明進一步提供製造本發明之抗-DLL3抗體的方法，該等方法通常包含以下步驟：

- 在允許形成抗體分子之條件下培養宿主細胞，該等宿主細胞包含表現載體，該表現載體包含編碼本發明之抗體分子之核酸；及，

- 自培養物回收由宿主細胞表現之抗體分子；及

- 視情況進一步純化及/或修飾及/或調配本發明之抗體分子。

【0220】 本發明之核酸可例如為包含編碼序列以及調節序列及視情況選用之天然或人工內含子的DNA分子或可為cDNA分子。其可具有其初始密碼子或可具有最佳化密碼子使用，其特別適用於表現於所需宿主細胞或宿主生物體中。根據本發明之一個實施例，如上文所定義，本發明之核酸呈基本上分離之形式。

【0221】 可基於本文中給出之關於本發明之蛋白質的胺基酸序列之資訊，以本身已知之方式(例如藉由自動化DNA合成及/或重組DNA技術)製備或獲得本發明之核酸。

【0222】 本發明之核酸通常將併入表現載體中，亦即可在轉染於適合宿主細胞或其他表現系統中時提供蛋白質表現之載體。

【0223】 為製造本發明之結合蛋白或抗體，熟練技術人員可選自此項技術中熟知之大量表現系統，例如Kipriyanow及Le Gall, 2004綜述之彼等。

【0224】 表現載體包括質體、反轉錄病毒、黏質體、EBV源性游離基因體及類似物。選擇表現載體及表現控制序列以與宿主細胞相容。DLL3/CD3結合蛋白之編碼第一抗原結合單元(例如本發明之結合蛋白之DLL3特異性單鏈Fab或全長DLL3鏈)之核苷酸序列及編碼第二抗原結合單元(例如本發明之結合蛋白之CD3特異性單鏈Fab或全長CD3鏈)之核苷酸序列可插入至單獨載體中。在某些實施例中，兩個DNA序列插入至相同表現載體中。編碼DLL3抗體之輕鏈的核苷酸序列及編碼DLL3抗體之重鏈的核苷酸序列可插入至單獨載體中。在某些實施例中，兩個DNA序列插入至相同表現載體中。

【0225】 適宜載體係編碼功能完全人類CH (恆定重)免疫球蛋白序列之彼等，合適的限制位點經工程改造以使得可輕易插入及表現如上文所述之任何抗原結合單元，諸如單鏈Fab序列或任何重/輕鏈可變域。對於抗體重鏈，其可為但不限於任何IgG同型(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)或其他免疫球蛋白，包括對偶基因變異體。

【0226】 重組表現載體亦可編碼信號肽，該信號肽促進由宿主細胞分泌全長CD3或DLL3鏈或分泌抗-DLL3抗體之輕/重鏈。編碼蛋白質鏈之DNA可選殖於載體中，使得信號肽框內連接至成熟的全長鏈DNA之胺基端。信號肽可為免疫球蛋白信號肽或來自非免疫球蛋白蛋白質之異源信號肽。可替代地，編碼本發明之蛋白質之全長鏈的DNA序列可能已經含有信號肽序列。

【0227】 除了編碼DNA序列之DLL3/CD3鏈或編碼DNA序列之DLL3抗體之重/輕鏈之外，重組表現載體通常攜帶調節序列，視情況異源調節序列，該等調節序列包括啟動子、強化子、終止及聚腺苷酸化信號及

控制宿主細胞中蛋白鏈表現之其他表現控制元件。啟動子序列之實例(針對在哺乳動物細胞中表現所例示)係來源於CMV (諸如CMV猴病毒40(SV40)啟動子/強化子)、腺病毒(例如腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP))、多瘤病毒之啟動子及/或強化子，及強哺乳動物啟動子，諸如天然免疫球蛋白及肌動蛋白啟動子。聚腺苷酸化信號之實例係BGH polyA、SV40晚期或早期polyA；可替代地，可使用免疫球蛋白基因之3´UTR等。

【0228】 重組表現載體亦可攜帶調節宿主細胞中載體複製之序列(例如複製來源)及可選標記基因。可根據此項技術中熟知之轉染方法(包括脂質體介導之轉染、聚陽離子介導之轉染、原生質體融合、顯微注射、磷酸鈣沈澱、電穿孔或藉由病毒載體之轉移)將以下各者引入宿主細胞，例如細菌細胞或高級真核生物細胞，例如哺乳動物細胞中：編碼具有第一抗原結合單元(單鏈Fab及Fc域)或其抗原結合部分之全長鏈及/或具有第二抗原結合單元(單鏈Fab及Fc域)或其抗原結合部分之全長鏈的核酸分子，及包含此等DNA分子之載體。

【0229】 較佳地，編碼本發明之蛋白質之DLL3及CD3鏈的DNA分子存在於兩種表現載體上，該等表現載體經共轉染於宿主細胞，較佳哺乳動物細胞中。

【0230】 可用作宿主以表現之哺乳動物細胞株為此項技術中所熟知且尤其包括中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary；CHO)細胞、NS0、SP2/0細胞、HeLa細胞、嬰兒倉鼠腎(BHK)細胞、猴腎細胞(COS)、人類癌瘤細胞(例如Hep G2及A-549細胞)、3T3細胞或任何此類細胞株之衍生物/後代。可使用其他哺乳動物細胞，包括但不限於人類、小鼠、大鼠、猴及嚙齒動物細胞株；或其他真核生物細胞，包括但不限於酵母菌、昆蟲

及植物細胞；或原核細胞，諸如細菌。

【0231】 本發明之蛋白質係藉由將宿主細胞培養一段足以允許在宿主細胞中表現蛋白質的時間來製備。蛋白分子較佳自培養基以分泌之多肽形式回收或若例如在無分泌信號下表現，則其可自宿主細胞溶解產物回收。有必要使用用於重組蛋白及宿主細胞蛋白之標準蛋白質純化方法，以獲得蛋白質之基本上均質的製劑方式純化蛋白分子。藉助於實例，適用於獲得本發明之蛋白分子的最先進純化方法包括自培養基或溶解產物移除細胞及/或顆粒細胞碎片作為第一步驟。隨後例如藉由在免疫親和力或離子交換管柱上分餾、乙醇沈澱、逆相HPLC、葡聚糖凝膠層析、二氧化矽層析或在陽離子交換樹脂上自污染物可溶性蛋白質、多肽及核酸純化蛋白質。作為用於獲得蛋白質分子製劑之過程中之最終步驟，可乾燥，例如凍乾經純化之蛋白質分子，如下文治療應用所述。

【0232】 本發明係關於結合蛋白，其具有對至少兩種不同目標的結合特異性。相對於本發明，結合分子來源於抗體。用於製造結合分子之技術包括(但不限於)重組型共表現具有不同特異性之兩個免疫球蛋白鏈(參見Milstein及Cuello, Nature 305: 537 (1983))，WO 93/08829， 及Traunecker等人, EMBO J. 10: 3655 (1991))，及「杵-臼結構(knob-in-hole)」工程改造(參見例如美國專利案第5,731,168號；Atwell等人, JMB, 1997, 270, 26-35)。本發明之結合蛋白亦可如下製備：用於製備抗體Fc-雜二聚分子之工程改造靜電導向效應(WO 2009/089004A1)；使兩種或更多種抗體或片段交聯(參見例如美國專利第4,676,980號及Brennan等人, Science, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鏈產生雙特異性蛋白質(參見例如Kostelny等人, Immunol., 148(5):1547-1553 (1992))；使用用於製備雙

特異性抗體片段之「雙功能抗體」技術(參見例如Hollinger等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈Fv (sFv)二聚體(參見例如Gruber等人, J. Immunol., 152:5368 (1994))；及如例如Tutt等人, J. Immunol. 147: 60 (1991)中所描述製備三特異性抗體。

【0233】 本文揭示之組合物(例如多特異性結合蛋白及抗-DLL3抗體)及方法涵蓋具有指定序列，或與指定序列基本上相同或類似之序列，例如與指定序列至少85%、90%、95%相同或更高之序列的多肽及核酸。在胺基酸序列之情形下，術語「實質上一致」在本文中用於指第一胺基酸序列含有足夠或最小數目之i)與第二胺基酸序列中之所比對胺基酸殘基一致或ii)為第二胺基酸序列中之所比對胺基酸殘基之保守取代的胺基酸殘基，使得第一及第二胺基酸序列可具有共同結構域及/或共同功能活性。舉例而言，含有常見結構域之胺基酸序列具有與參考序列，例如本文所提供之序列至少約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。在核苷酸序列之上下文中，術語「基本上相同」在本文中用於指代第一核酸序列含有足夠或最小數目之與第二核酸序列中之所比對核苷酸一致的核苷酸，使得第一及第二核苷酸序列編碼具有共同功能活性之多肽，或編碼共同結構多肽結構域或共同功能多肽活性，例如具有與參考序列至少約85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%之一致性的核苷酸序列。

【0234】 本發明之核酸分子包括但不限於編碼示於序列表中之多肽序列的DNA分子。另外，本發明亦係關於核酸分子，該核酸分子在高嚴格度結合及洗滌條件下與編碼示於序列表中之多肽序列之DNA分子雜交，如WO 2007/042309中所定義。較佳之分子(自mRNA視角)係具有與

本文所描述之DNA分子中之一者至少75%或80% (較佳至少85%，更佳地至少90%且最佳地至少95%)的同源性或序列一致性的彼等分子。藉助於實例，鑒於表現真核生物細胞中之抗體，示於序列表中之DNA序列已設計成匹配真核生物細胞中之密碼子使用。若需要在大腸桿菌中表現抗體，可改變此等序列以匹配大腸桿菌密碼子使用。可以若干種不同方式構築本發明之DNA分子之變體，如例如WO 2007/042309中所描述。

【0235】 本發明之蛋白質可具有經修飾之N端序列，例如刪除一或多個N端胺基酸，或交換例如第一N端胺基酸(例如麩胺酸與丙胺酸交換)，以優化分子以藉由使用某些表現系統(諸如特定載體或宿主細胞)表現，或以包涵體或可溶形式表現，或分泌於培養基或周質空間中或含在細胞內，或用於獲得更加均質的產物。本發明之多肽可具有經修飾之C端序列，諸如額外的丙胺酸，及/或C端部分中或框架區中之任一者內其他定義位置處的其他胺基酸交換，如例如WO2012/175741、WO2011/075861或WO2013/024059中所解釋，以便例如進一步增強此類多肽之穩定性或降低此類多肽之免疫原性。

【0236】 為避免疑問，考慮涉及如本文所述之醫藥組合物、套組、治療方法、醫療用途、組合、投藥方法及劑量之所有實施例用於本文所描述之多特異性結合蛋白單獨或與其他治療劑(如在下文更詳細地指定)組合中之任一者。

醫藥組合物；投藥方法；劑量

【0237】 本發明進一步係關於用於治療疾病(如下文更詳細地指定)之醫藥組合物，其中此類組合物包含本發明之至少一種多特異性結合蛋白。本發明進一步涵蓋使用本發明之至少一種多特異性蛋白質或如下文闡

述之醫藥組合物治療疾病(如下文更詳細地指定)之方法，且進一步涵蓋製備用於使用本發明之此類結合蛋白或醫藥組合物治療此類疾病之藥劑。

【0238】視待使用之具體醫藥調配物或組合物而定，可以任何適合方式向有需要之患者投與本發明之結合蛋白(例如DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#4/CD3#1、DLL3#5/CD3#1、DLL3#6/CD3#1、DLL3#7/CD3#1、DLL3#8/CD3#1、DLL3#9/CD3#1、DLL3#10/CD3#1、DLL3#11/CD3#1、DLL3#12/CD3#1、DLL3#13/CD3#1、DLL3#14/CD3#1、DLL3#15/CD3#1、DLL3#16/CD3#1、DLL3#17/CD3#1、DLL3#18/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#4/CD3#2、DLL3#5/CD3#2、DLL3#6/CD3#2、DLL3#7/CD3#2、DLL3#8/CD3#2、DLL3#9/CD3#2、DLL3#10/CD3#2、DLL3#11/CD3#2、DLL3#12/CD3#2、DLL3#13/CD3#2、DLL3#14/CD3#2、DLL3#15/CD3#2、DLL3#16/CD3#2、DLL3#17/CD3#2、DLL3#18/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#3、DLL3#4/CD3#3、DLL3#5/CD3#3及DLL3#6/CD3#3、DLL3#7/CD3#3、DLL3#8/CD3#3、DLL3#9/CD3#3、DLL3#10/CD3#3、DLL3#11/CD3#3、DLL3#12/CD3#3、DLL3#13/CD3#3、DLL3#14/CD3#3、DLL3#15/CD3#3、DLL3#16/CD3#3、DLL3#17/CD3#3、DLL3#18/CD3#3中之任一者，較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)及/或包含其之組合物。因

此，本發明之結合蛋白及/或包含其之組合物可例如以以下方式以有效量或劑量投與：靜脈內(i.v.)、皮下(s.c.)、肌肉內(i.m.)、腹膜內(i.p.)、經皮、經口、舌下(例如呈置放於舌頭下且經由黏膜吸收至舌頭下的毛細血管網中的舌下錠劑、噴霧劑或滴劑形式)、經鼻(內) (例如呈鼻用噴霧劑形式及/或以氣溶膠形式)、局部、借助於栓劑、藉由吸入或任何其他適合方式。結合蛋白可藉由輸注、食團或注射投與。在較佳實施例中，投藥係藉由靜脈內輸注或皮下注射。

【0239】 根據適合於治療及/或緩解待治療或緩解之疾病、病症或病狀的治療療程來投與本發明之結合蛋白及/或包含其之組合物。臨床醫師一般將能夠視因素而定確定適合的治療方案，該等因素諸如待治療或緩解之疾病、病症或病狀、疾病之嚴重程度、其症狀之嚴重程度、待使用之本發明之特異性結合蛋白、具體投藥途徑及待使用之醫藥調配物或組合物、患者之年齡、性別、重量、飲食、一般條件，及臨床醫師熟知之類似因素。一般而言，治療方案將包含以治療有效量或劑量投與本發明之一或多種結合蛋白，或包含其之一或多種組合物。

【0240】 一般而言，為治療及/或緩解本文中提及之疾病、病症及病狀且視待治療的具體疾病、病症或病狀、待使用之本發明之特異性結合蛋白之效能、具體投藥途徑及所使用之具體醫藥調配物或組合物而定，本發明之結合蛋白一般將呈在每千克體重0.005與20.0 mg之間之量及劑量，較佳在0.05與10.0毫克/公斤/劑之間，連續(例如藉由輸注)或更佳以單次劑量(諸如一週兩次、每週一次或每月一次劑量；參見以下)投與，但可顯著變化，尤其視上文所提及之參數而定。因此，在一些情況下，使用小於上文給出之最小劑量可為足夠的，而在其他情況下可超過上限。當投與較大

量時，在一天內將其分成多個較小劑量可為可取的。

【0241】 視本發明之特異性結合蛋白及其特定藥物動力學及其他特性而定，其可經每日、每兩天、每三天、每四天、每五天或每六天、每週、每月一次及以類似方式投與。投藥療程可包括每週一次的長期治療。「長期」意謂持續時間為至少兩週且較佳數月或數年。

【0242】 可使用任何適合之活體外分析、基於細胞之分析、活體內分析及/或本身已知的動物模型或其任何組合測試本發明之多特異性蛋白質及包含其之組合物的功效，其視所涉及之特定疾病而定。適合之分析及動物模型對熟習此項技術者將為清楚的，且例如包括以下實例中所用之分析及動物模型。

調配物

【0243】 對於醫藥用途，本發明之結合蛋白可調配為醫藥製劑，其包含(i)本發明之至少一種結合蛋白(例如DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#4/CD3#1、DLL3#5/CD3#1、DLL3#6/CD3#1、DLL3#7/CD3#1、DLL3#8/CD3#1、DLL3#9/CD3#1、DLL3#10/CD3#1、DLL3#11/CD3#1、DLL3#12/CD3#1、DLL3#13/CD3#1、DLL3#14/CD3#1、DLL3#15/CD3#1、DLL3#16/CD3#1、DLL3#17/CD3#1、DLL3#18/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#4/CD3#2、DLL3#5/CD3#2、DLL3#6/CD3#2、DLL3#7/CD3#2、DLL3#8/CD3#2、DLL3#9/CD3#2、DLL3#10/CD3#2、DLL3#11/CD3#2、DLL3#12/CD3#2、DLL3#13/CD3#2、DLL3#14/CD3#2、DLL3#15/CD3#2、DLL3#16/CD3#2、DLL3#17/CD3#2、

DLL3#18/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#3、DLL3#4/CD3#3、DLL3#5/CD3#3及DLL3#6/CD3#3、DLL3#7/CD3#3、DLL3#8/CD3#3、DLL3#9/CD3#3、DLL3#10/CD3#3、DLL3#11/CD3#3、DLL3#12/CD3#3、DLL3#13/CD3#3、DLL3#14/CD3#3、DLL3#15/CD3#3、DLL3#16/CD3#3、DLL3#17/CD3#3、DLL3#18/CD3#3中之任一者，較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)及(ii)至少一種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑、佐劑及/或穩定劑，及(iii)視情況選用之一或多種其他藥理學活性多肽及/或化合物。「醫藥學上可接受」意謂當向個體投與時，相應物質不會顯示任何生物或者不合需要之作用且不會以有害方式與醫藥組合物中所含有之其他組分(諸如醫藥學上活性成分)中之任一者相互作用。特定實例可見於標準手冊，諸如雷明頓氏醫藥科學(Remington's Pharmaceutical Sciences), 第18版, Mack Publishing Company, USA (1990)。舉例而言，本發明之結合蛋白可以對於習知抗體及抗體片段及其他醫藥活性蛋白質本身已知之任何方式調配及投與。因此，根據另一實施例，本發明係關於一種醫藥組合物或製劑，其含有本發明之至少一種結合蛋白及至少一種醫藥學上可接受之載劑、稀釋劑、賦形劑、佐劑及/或穩定劑，及視情況選用之一或多種其他藥理學上活性物質，其呈凍乾或以其他方式乾燥之調配物或水溶液或非水溶液或懸浮液形式。

【0244】 用於非經腸投藥，諸如靜脈內、肌肉內、皮下注射或靜脈

內輸注之醫藥製劑可例如為包含活性成分且為視情況在另一溶解或稀釋步驟之後，適用於輸注或注射的無菌溶液、懸浮液、分散液、乳液或粉末。針對該等製劑的適合之載劑或稀釋劑例如包括(但不限於)無菌水及醫藥學上可接受之緩衝水溶液及諸如磷酸鹽緩衝生理鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)、右旋糖溶液及漢克氏溶液(Hank's solution)之溶液；水油；甘油；乙醇；諸如丙二醇之二醇以及礦物油、動物油及植物油，例如花生油、大豆油以及其適合之混合物。

【0245】 本發明之結合蛋白之溶液亦可含有防腐劑，諸如抗細菌劑及抗真菌劑以防止微生物生長，例如對羥基苯甲酸酯(p-hydroxybenzoate/paraben)、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞、乙二胺四乙酸(之鹼金屬鹽)及其類似物。在許多情況下，將較佳包括等張劑，例如，糖、緩衝劑或氯化鈉。視情況地，可使用乳化劑及/或分散劑。適當流動性可例如藉由形成脂質體、在分散液之情況下藉由維持所需粒度或藉由使用界面活性劑來維持。亦可添加延遲吸收之其他試劑，例如單硬脂酸鋁及明膠。可將溶液填充至注射小瓶、安瓿、輸注瓶及其類似瓶中。

【0246】 在所有情況下，最終劑型在製造及儲存條件下均必須為無菌、流體且穩定。無菌可注射溶液係藉由將所需量之活性化合物視需要與上文列舉之各種其他成分一起併入適當溶劑中，隨後過濾滅菌來製備。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末之情況下，較佳製備方法為真空乾燥及冷凍乾燥技術，其產生預先無菌過濾之溶液中所存在之活性成分加任何額外所需成分之粉末。

【0247】 通常，水溶液或懸浮液將為較佳的。一般而言，用於治療蛋白(諸如本發明之結合蛋白)之適合調配物係緩衝蛋白質溶液，諸如包括

以下之溶液：呈適合濃度(諸如0.001至400 mg/mL，較佳0.005至200 mg/mL，更佳地0.01至200 mg/mL，更佳地1.0-100 mg/mL，諸如1.0 mg/ml (靜脈內投藥)或100 mg/ml (皮下投藥))之蛋白質及水性緩衝液諸如：

- 磷酸鹽緩衝鹽水，pH 7.4，
- 其他磷酸鹽緩衝液，pH 6.2至pH 8.2，
- 乙酸鹽緩衝液，pH 3.2至pH 7.5，較佳pH 4.8至pH 5.5
- 組胺酸緩衝液，pH 5.5至pH 7.0，
- 丁二酸鹽緩衝液，pH 3.2至pH 6.6，及
- 檸檬酸鹽緩衝液，pH 2.1至pH 6.2，

及視情況選用的提供溶液之等張性的鹽(例如NaCl)及/或糖(諸如蔗糖及海藻糖)及/或其他多元醇(諸如甘露醇及甘油)。

【0248】 此外，其他試劑，諸如清潔劑，例如0.02% Tween-20或Tween-80可包括於該等溶液中。皮下施用之調配物可包括顯著較高濃度，諸如高達100 mg/ml或甚至大於100 mg/ml的本發明之抗體。然而，熟習此項技術者將清楚，如上所給出的成分及其量僅表示一種較佳選擇。其替代方案及變體對熟習此項技術者將直接顯而易知，或可易於自以上揭示內容開始進行構想。上述調配物可視情況以將在溶液(例如注射用水(WFI))中重組之凍乾調配物提供。

【0249】 根據本發明之另一態樣，本發明之結合蛋白可與適用於投與蛋白質之裝置，諸如注射器、注射筆、微型泵或其他裝置組合使用。

治療方法

【0250】 本發明之另一態樣提供一種治療癌症之方法，其包含向有

需要之患者投與治療有效量之本發明之結合蛋白。

【0251】 本發明之另一態樣提供用於治療癌症之方法的本發明之結合蛋白。

【0252】 本發明之另一態樣係本發明之結合蛋白用於製備用於治療癌症之醫藥組合物的用途。

【0253】 為避免疑問，本發明之醫療用途態樣可包含如上文所述之本發明之特異性結合蛋白中的任一者(例如DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#4/CD3#1、DLL3#5/CD3#1、DLL3#6/CD3#1、DLL3#7/CD3#1、DLL3#8/CD3#1、DLL3#9/CD3#1、DLL3#10/CD3#1、DLL3#11/CD3#1、DLL3#12/CD3#1、DLL3#13/CD3#1、DLL3#14/CD3#1、DLL3#15/CD3#1、DLL3#16/CD3#1、DLL3#17/CD3#1、DLL3#18/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#4/CD3#2、DLL3#5/CD3#2、DLL3#6/CD3#2、DLL3#7/CD3#2、DLL3#8/CD3#2、DLL3#9/CD3#2、DLL3#10/CD3#2、DLL3#11/CD3#2、DLL3#12/CD3#2、DLL3#13/CD3#2、DLL3#14/CD3#2、DLL3#15/CD3#2、DLL3#16/CD3#2、DLL3#17/CD3#2、DLL3#18/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#3、DLL3#4/CD3#3、DLL3#5/CD3#3及DLL3#6/CD3#3、DLL3#7/CD3#3、DLL3#8/CD3#3、DLL3#9/CD3#3、DLL3#10/CD3#3、DLL3#11/CD3#3、DLL3#12/CD3#3、DLL3#13/CD3#3、DLL3#14/CD3#3、DLL3#15/CD3#3、DLL3#16/CD3#3、DLL3#17/CD3#3、DLL3#18/CD3#3中之任一者，較

佳　　地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)。

【0254】 如本文中所使用，術語「癌症」意欲包括所有類型的癌腫生長或致癌過程、轉移性組織或惡性轉型細胞、組織或器官(無論組織病理型或侵襲階段)。

【0255】 其生長可使用本文所描述之多特異性結合蛋白抑制之例示性癌症係任何表現DLL3之腫瘤，較佳地SCLC、LCNEC、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤、黑素瘤或其他表現DLL3之神經內分泌腫瘤(例如神經內分泌前列腺癌或神經內分泌胰臟癌、小細胞膀胱癌)。

【0256】 神經內分泌腫瘤(NET)由分散之內分泌系統引起且可在許多不同身體區域中發生。傳統地，NET已根據其原始解剖單位分類且通常具有高度侵襲性。其最常位於胃腸道、胰臟或肺部(小細胞肺癌瘤及大細胞神經內分泌癌瘤)以及腎或泌尿生殖道(氣囊、前列腺、卵巢、子宮頸及子宮內膜)中。NET包括胃腸道及胰島細胞之某些腫瘤，某些胸腺及肺腫瘤，以及甲狀腺之濾泡旁細胞之髓性癌。

【0257】 其生長可使用本文所描述之多特異性結合蛋白抑制之其他癌症係偽神經內分泌腫瘤(pNET)，其與傳統定義之神經內分泌腫瘤共用某些基因型、表現型或生物化學特徵。

【0258】 在一些實施例中，以下癌症、腫瘤及其他增生性疾病可用本發明之多特異性結合蛋白治療：肺癌；較佳SCLC、NSCLC或LCNEC；乳癌；子宮頸癌；結腸癌；結腸直腸癌；子宮內膜癌；頭頸癌；肝癌(肝母細胞瘤或肝細胞癌)；卵巢癌；胰臟癌；前列腺癌；皮膚

癌；胃癌；睪丸癌；甲狀腺癌；腎上腺癌；腎臟癌；氣囊癌；子宮癌；食道癌；尿道上皮癌；腦瘤；淋巴瘤；尤文氏肉瘤；及其他神經內分泌及小藍圓細胞腫瘤。

【0259】 在本發明之一較佳實施例中，癌症係小細胞肺癌(SCLC)或神經膠母細胞瘤。

【0260】 藉由其在體內的特定位置/源表徵之上述所有癌症、腫瘤、贅瘤等意謂包括原發腫瘤及自其衍生之轉移性腫瘤。

【0261】 若患者具有特徵在於具有高DLL3表現之癌症，則有可能該患者更可能對用本發明之結合蛋白(如本文所述)之治療起反應。因此，在一些實施例中，待用本發明之結合蛋白治療之癌症係具有高DLL3表現之癌症，例如DLL3表現高於在罹患相同類型之DLL3表現癌之患者群體的癌細胞中之平均表現。

【0262】 本發明之結合蛋白可用於第一線、第二線或任何其他線治療之情形中的治療療程中。

【0263】 本發明之結合蛋白可用於預防、短期或長期治療以上所提到的疾病，其視情況亦與放射療法、一或多種額外治療劑及/或手術組合。

【0264】 在較佳實施例中，本發明之蛋白質與PD-1拮抗劑(諸如抗PD-1抗體或抗PDL-1抗體)組合使用以用於治療癌症。較佳地，該抗PD-1抗體選自由以下組成之群：派立珠單抗(pembrolizumab)、納武單抗(nivolumab)、皮立珠單抗(pidilizumab)、PD1-1、PD1-2、PD1-3、PD1-4及PD1-5，如本文(如下表A中之序列所定義)及WO2017/198741 (以引用之方式併入本文中)中所述。較佳地，該抗PDL-1抗體選自由阿特珠單抗

(atezolizumab)、阿維魯單抗(avelumab)及德瓦魯單抗(durvalumab)組成之群。在尤佳實施例中，本發明之結合蛋白(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2或DLL3#3/CD3#3中之任一者)係與PD1-1組合用於治療癌症。在尤佳實施例中，本發明之結合蛋白(較佳地，DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2或DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-2組合用於治療癌症。在尤佳實施例中，本發明之結合蛋白(較佳地，DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-3組合用於治療癌症。在尤佳實施例中，本發明之結合蛋白(較佳地，DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-4組合用於治療癌症。在尤佳實施例中，本發明之結合蛋白(較佳地，DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-5組合用於治療癌症。

表A：抗PD1抗體PD1-1、PD1-2、PD1-3、PD1-4、PD1-5之重鏈及輕鏈序列之胺基酸序列及SEQ ID NO.

SEQ ID 編號:	序列之簡單說明	序列
SEQ ID NO:256	PD1-1 HC	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMSWV RQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYAMDY

SEQ ID 編號:	序列之簡單說明	序列
		WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:257	PD1-1 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMNW YQQKPGQAPKLLIYVASNQGSGIPARFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:258	PD1-2 HC	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMSWV RQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNPNYYAMDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:259	PD1-2 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMNW YQQKPGQAPKLLIYVASNQGSGIPARFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:260	PD1-3 HC	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSWV RQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYAMDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:261	PD1-3 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMNW YQQKPGQAPKLLIYVASNQGSGIPARFSGSGSGTDFTLT

SEQ ID 編號:	序列之簡單說明	序列
		ISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:262	PD1-4 HC	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSWV RQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYAMDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:263	PD1-4 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMNW YQQKPGQAPKLLIYVASNQGSGIPARFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:264	PD1-5 HC	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSWV RQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNYYAMDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:265	PD1-5 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMNW YQQKPGQAPKLLIYVASNQGSGIPARFSGSGSGTDFTLT ISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【0265】 根據此等較佳實施例及本發明之任何其他態樣，抗體PD1-1、PD1-2、PD1-3、PD1-4及PD1-5係如WO2017/198741所揭示之抗體分子，且由如上文表A中所示之序列定義。

【0266】 因此，PD1-1具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:256之重鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:257之輕鏈；

PD1-2具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:258之重鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:259之輕鏈；

PD1-3具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:260之重鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:261之輕鏈；

PD1-4具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:262之重鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:263之輕鏈；且

PD1-5具有包含胺基酸序列SEQ ID NO:264之重鏈及包含胺基酸序列SEQ ID NO:265之輕鏈。

【0267】 上文亦包括本發明之結合蛋白在藉由向有需要之患者投與治療有效劑量來治療上文疾病之各種方法中的用途，以及此等結合蛋白用於製造用於治療此類疾病之藥劑的用途，以及包括本發明之此類結合蛋白之醫藥組合物，以及包括本發明之此類結合蛋白之藥劑之製劑及/或製造，及類似者。

與其他活性物質或治療之組合

【0268】 本發明之結合蛋白可自行使用或與一或多種額外治療劑組合使用，尤其與以下各者組合使用：化學治療劑類DNA損傷劑、抑制血管生成之治療活性化合物、信號轉導路徑抑制劑、EGFR抑制劑、免疫調節物、免疫檢查點抑制劑、有絲分裂檢查點抑制劑或激素療法試劑。

【0269】 額外治療劑可視情況與相同醫藥製劑之組分同時投與，或在投與DLL3/CD3結合蛋白之前或之後投與。

【0270】 可與本發明之結合分子組合投與之細胞抑制及/或細胞毒性

活性物質包括但不限於激素、激素類似物及抗激素、芳香酶抑制劑、LHRH促效劑及拮抗劑、生長因子(生長因子例如血小板衍生生長因子(PDGF)、纖維母細胞生長因子(FGF)、血管內皮生長因子(VEGF)、表皮生長因子(EGF)、胰島素樣生長因子(IGF)、人類表皮生長因子(HER，例如HER2、HER3、HER4)及肝細胞生長因子(HGF))之抑制劑，抑制劑係例如(抗)生長因子抗體、(抗)生長因子受體抗體及酪胺酸激酶抑制劑，諸如西妥昔單抗(cetuximab)、吉非替尼(gefitinib)、阿法替尼(afatinib)、尼達尼布(nintedanib)、伊馬替尼(imatinib)、拉帕替尼(lapatinib)、伯舒替尼(bosutinib)及曲妥珠單抗(trastuzumab)；抗代謝物(例如諸如甲胺喋呤之抗葉酸劑、雷替曲塞(raltitrexed)、諸如5-氟尿嘧啶(5-FU)之嘧啶類似物、吉西他濱(gemcitabine)、伊立替康(irinotecan)、小紅莓、TAS-102、卡培他濱(capecitabine)及吉西他濱(gemcitabine)、嘌呤及腺苷類似物，諸如巯基嘌呤、硫鳥嘌呤、克拉屈濱(cladribine)及噴司他丁(pentostatin)、阿糖胞苷(ara C)、氟達拉賓(fludarabine))；抗腫瘤抗生素(例如蒽環黴素)；鉑衍生物(例如順鉑、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑)；烷基化試劑(例如雌莫司汀、氮芥、美法侖(melphalan)、氯芥苯丁酸、白消安、達卡巴嗪(dacarbazin)、環磷醯胺、異環磷醯胺、替莫唑胺、亞硝基脲諸如卡莫司汀(carmustin)及洛莫司汀(lomustin)、噻替派)、抗有絲分裂劑(例如長春花屬生物鹼，諸如長春鹼、長春地辛(vindesin)、長春瑞賓(vinorelbin)及長春新鹼；及紫杉烷，諸如太平洋紫杉醇、多西他賽)；血管生成抑制劑，包括貝伐單抗(bevacizumab)、雷莫蘆單抗(ramucirumab)及阿柏西普(aflibercept)、微管蛋白抑制劑；DNA合成抑制劑、PARP抑制劑、拓樸異構酶抑制劑(例如表鬼臼毒素，諸如依託泊苷(etoposide)及

凡畢複(etopophos)、替尼泊甙(teniposide)、安吖啶(amsacrin)、拓朴替康(topotecan)、伊立替康(irinotecan)、米托蒽醌(mitoxantrone))、絲胺酸/蘇胺酸激酶抑制劑(例如PDK1抑制劑、Raf抑制劑、A-Raf抑制劑、B-Raf抑制劑、C-Raf抑制劑、mTOR抑制劑、mTORC1/2抑制劑、PI3K抑制劑、PI3Kα抑制劑、雙mTOR/PI3K抑制劑、STK33抑制劑、AKT抑制劑、PLK1抑制劑(諸如伏拉塞替(volasertib)、CDK之抑制劑，包括CDK9抑制劑、Aurora激酶抑制劑)、酪胺酸激酶抑制劑(例如PTK2/FAK抑制劑)、蛋白質蛋白質相互作用抑制劑、MEK抑制劑、ERK抑制劑、FLT3抑制劑、BRD4抑制劑、IGF-1R抑制劑、Bcl-xL抑制劑、Bcl-2抑制劑、Bcl-2/Bcl-xL抑制劑、ErbB受體抑制劑、BCR-ABL抑制劑、ABL抑制劑、Src抑制劑、雷帕黴素類似物(例如依維莫司(everolimus)、坦羅莫司(temsirolimus)、地磷莫司(ridaforolimus)、西羅莫司(sirolimus))、雄激素合成抑制劑、雄激素受體抑制劑、DNMT抑制劑、HDAC抑制劑、ANG1/2抑制劑、CYP17抑制劑、放射性藥品、免疫治療劑，諸如免疫檢查點抑制劑(例如CTLA4、PD1、PD-L1、LAG3及TIM3結合分子/免疫球蛋白，諸如伊匹單抗、納武單抗、派立珠單抗)及各種化學治療劑，諸如阿米福汀(amifostin)、阿那格雷(anagrelid)、氯膦酸鹽(clodronat)、非格司亭(filgrastin)、干擾素、干擾素α、甲醯四氫葉酸、利妥昔單抗、丙卡巴肼、左旋咪唑、美司鈉(mesna)、米托坦(mitotane)、帕米膦酸鹽及卟吩姆；蛋白酶體抑制劑(諸如硼替佐米)；Smac及BH3模擬物；恢復p53功能性之藥劑，包括mdm2-p53拮抗劑；Wnt/β-連環蛋白信號傳導路徑之抑制劑；及/或週期素依賴性激酶9抑制劑。

【0271】 尤其較佳的係用本發明之結合分子與一或多種免疫治療劑

(包括抗-PD-1及抗PD-L1藥劑及抗LAG3藥劑)組合治療：例示性抗PD1藥劑包括但不限於抗PD-1抗體PDR-001、派立珠單抗、納武單抗、皮立珠單抗及如本文(表A)及WO2017/198741所揭示之PD1-1、PD1-2、PD1-3、PD1-4及PD1-5。例示性抗PDL-1藥劑包括但不限於阿特珠單抗、阿維魯單抗(avelumab)及德瓦魯單抗(durvalumab)。在較佳實施例中，本發明之結合分子(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-1組合。在較佳實施例中，使本發明之結合分子(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-2組合。在較佳實施例中，使本發明之結合分子(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-3組合。在較佳實施例中，使本發明之結合分子(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-4組合。在較佳實施例中，使本發明之結合分子(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)與PD1-5組合。

【0272】在某些實施例中，額外治療劑可為其他免疫治療劑，諸如以下各者之調節物：TIM-1、TIM-3、TIM-4、PD-L2、LAG3、CTLA-

4、半乳糖凝集素9、半乳糖凝集素-1、CD69、CD113、GPR56、CD48、GARP、CAECAM-1、BTLA、TIGIT、CD160、LAIR1、2B4、CEACAM、CD39、TGFβ、IL-10、Fas配位體、ICOS、B7家族(B7-1、B7-2、B7-H1 (PDL-1)、B7-DC (PD-L2)、B7-H2 (ICOS-L)、B7-H3、B7-H4、B7-H5 (VISTA)或B7-H6)。

【0273】在一些實施例中，額外免疫治療劑係與同源TNF受體家族成員結合之分子之TNF家族的成員，其包括CD40及CD40L、OX-40、OX-40L、CD70、CD27L、CD30、CD30L、4-lBBL, CD137、GITR、TRAIL/Apo2-L、TRAILR1/DR4、TRAILR2/DR5、TRAILR3、TRAILR4、OPG、RANK、RANKL、TWEAKR/Fn14、TWEAK、BAFFR、EDAR、XEDAR、TACI、APRIL、BCMA、LIGHT、DcR3、HVEM、VEGI/TLlA、TRAMP/DR3、EDAR、EDAl、XEDAR、EDA2、TNFRl、淋巴毒素α/TNFβ、TNFR2、TNFα、LTβR、淋巴毒素α1β2、FAS、FASL、RELT、DR6、TROY、NGFR。

【0274】在一些實施例中，額外治療劑係SMAC模擬劑。SMAC模擬物係與細胞凋亡蛋白質之抑制劑(IAP)結合且具有免疫調節功能且在投與動物或人類時介導全身性細胞介素(例如IL-6、TNFα等)及趨化激素(例如MCP-1)的化合物。在一些實施例中，SMAC模擬劑係(i) LCL161，亦即WO 2008/016893之實例1 (第28/29頁；[122])中之化合物A，或其醫藥學上可接受之鹽；(ii)稱為Debio-1143之SMAC模擬劑，或其醫藥學上可接受之鹽；(iii)稱為比林納潘特(birinapant)之SMAC模擬劑，或其醫藥學上可接受之鹽；(iv)稱為ASTX-660之SMAC模擬劑，或其醫藥學上可接受之鹽；或(v)稱為CUDC-427之SMAC模擬劑，或其醫藥學上可接受之

鹽。

【0275】 在一些實施例中，額外的免疫治療劑係選自(i)抑制T細胞活化之細胞介素(例如IL-6、IL-10、TGF-B、VEGF；「免疫抑制性細胞介素」)之拮抗劑及/或(ii)刺激T細胞活化之細胞介素及/或用於刺激免疫反應，例如用於治療增生性疾病(諸如癌症)之細胞介素(諸如IL2)之促效劑。

【0276】 在一些實施例中，額外的免疫治療劑係刺激T細胞活化之蛋白質之促效劑，諸如CD28、GITRL、OX40L、CD27及CD28H。

【0277】 在一些實施例中，額外治療劑係溶瘤病毒，包括但不限於來源於痘瘡病毒、腺病毒(AdV)、單純疱疹病毒(HSV1或HSV2)、呼腸孤病毒、黏液瘤病毒(MYXV)、脊髓灰白質炎病毒、水泡性口炎病毒(VSV)、馬拉巴病毒、水痘病毒、麻疹病毒(MV)或新城雞瘟病毒(NDV)的溶瘤病毒。

診斷性用途

【0278】 本發明之抗-DLL3抗體分子適用於診斷及預後方法且可用於藉由連接對不同抗原具有結合特異性之染料、藥物或另一種分子來標記、定位或鑑別表現DLL3之細胞或組織(例如在ELISA分析、FACS分析、免疫組織學或類似分析中)。舉例而言，可偵測標記可與本發明之抗-DLL3抗體分子結合或特異性結合於本發明之抗體分子且與可偵測標記結合之第二試劑(例如二次抗體)可用於此類診斷方法。在一些實施例中，DLL3特異性抗體特異性結合於在細胞中(在細胞質中及/或在細胞表面處)表現之DLL3，且用於定位及/或鑑別此類細胞。在一些實施例中，本文提供之DLL3特異性抗體用於鑑別表現DLL3之細胞或組織(例如腫瘤細胞)。

【0279】 選擇本發明之抗體使得其具有高水準之抗原決定基結合特

異性及與DLL3多肽之高結合親和力。一般而言，抗體之結合親和力愈高，在免疫檢定中可進行更加嚴格的洗滌條件以在不移除靶多肽的情況下移除非特異性結合材料。

【0280】 因此，本文進一步提供偵測生物樣本中DLL3之方法。具體而言，在一個態樣中，本發明提供偵測樣本(例如組織樣本、腫瘤組織樣本)中DLL3之方法，其包含

(a) 使樣本與本發明之抗體接觸；及

(b) 偵測與DLL3結合之抗-DLL3抗體。

【0281】 生物樣本可獲自/分離自個體之任何組織(包括生物檢體)、細胞或體液。在一較佳實施例中，樣本係組織樣本，較佳地腫瘤組織樣本。在特定實施例中，樣本係固定之(腫瘤)組織樣本，較佳地福馬林固定、石蠟包埋(FFPE)之組織樣本，更佳地福馬林固定、石蠟包埋(FFPE)之腫瘤組織樣本。

【0282】 樣本通常分成若干部分且貼附至培養基以供微觀分析，諸如顯微鏡載片。在樣本係組織樣本的情況下，若干部分可為組織切片。在一些實施例中，連續切片取自FFPE組織樣本。在一些實施例中，連續切片取自複數個不同的FFPE組塊部位，可完成此以獲取切片內異質性及塊內異質性。在一些實施例中，連續切片取自複數個自相同腫瘤之不同位置獲取之不同的生檢樣本，可進行此以獲取切片內異質性及腫瘤內異質性。通常，組織樣本在抗原偵測之前首先經歷去石蠟化、抗原擷取(例如用蛋白酶K)。組織樣本可獲自/分離自多種組織(例如生檢)，具體而言獲自腫瘤之組織，該等腫瘤包括但不限於SCLC、LCNEC、神經膠質瘤、神經膠母細胞瘤、黑素瘤或其他神經內分泌腫瘤(例如神經內分泌前列腺癌或神

經內分泌胰臟癌、小細胞膀胱癌)。

【0283】 可獲得/分離(組織)樣本之其他例示性腫瘤包括肺癌；較佳SCLC、NSCLC或LCNEC；乳癌；子宮頸癌；結腸癌；結腸直腸癌；子宮內膜癌；頭頸癌；肝癌(肝母細胞瘤或肝細胞癌)；卵巢癌；胰臟癌；前列腺癌；皮膚癌；胃癌；睪丸癌；甲狀腺癌；腎上腺癌；腎臟癌；氣囊癌；子宮癌；食道癌；尿道上皮癌；腦瘤；淋巴瘤；尤文氏肉瘤(Ewing sarcoma)；及其他神經內分泌(包括偽內分泌腫瘤)及小藍圓細胞腫瘤。

【0284】 樣本中DLL3偵測之例示性方法係免疫細胞化學(ICC)、免疫組織化學(IHC)、西方墨點法、流式細胞量測術及/或ELISA。

【0285】 在一較佳實施例中，使用IHC偵測DLL3。

【0286】 在本發明之一特定態樣中，偵測組織樣本中DLL3之方法包含

a) 使組織樣本(例如腫瘤組織，諸如SCLC、神經膠母細胞瘤或神經內分泌腫瘤)與本發明之抗體(例如DLL3#1或DLL3#5)接觸，較佳地該組織樣本係固定之組織樣本(例如福馬林固定及石蠟包埋)

b) 允許在該樣本中形成抗體-抗原複合物；以及

c) 偵測與DLL3結合之抗-DLL3抗體。

【0287】 在本發明之方法之一些實施例中，抗-DLL3抗體係藉由可偵測信號偵測，較佳地，可偵測信號係藉由可偵測標記來產生。在本發明之方法之一較佳實施例中，可偵測信號係在IHC分析中偵測。在一些實施例中，可偵測信號係在ELISA分析中，藉由流式細胞量測術或藉由西方墨點法偵測。在一些實施例中，本文所述之方法可用於例如使用流式細胞量測術偵測存在於細胞(例如腫瘤細胞)之細胞表面上的DLL3。在一些實施

例中，本文所述之方法可用於使用ELISA、西方墨點法或IHC偵測組織樣本(例如腫瘤組織樣本)中DLL3之存在。

【0288】 在一些實施例中，可偵測標記與抗-DLL3抗體直接結合且因此在抗-DLL3抗體與DLL3結合後沈積於樣本上，此一般稱為直接標記法。直接標記法常常可更加直接地定量，但常常缺少敏感性。在其他實施例中，可偵測標記之沈積係藉由使用第二偵測試劑來實現，該第二偵測試劑與本發明之抗體分子特異性結合且與可偵測標記(例如二次抗體)結合，此一般稱為間接標記法。在一些實施例中，特異性第二偵測試劑可為物種特異性二次抗體、與半抗原結合之抗-DLL3抗體結合的抗半抗原抗體，或與生物素標記之抗-DLL3抗體結合之生物素結合蛋白。

【0289】 可與本發明之抗-DLL3抗體或與第二偵測試劑結合之可偵測標記包括顯色、螢光、磷光、發光及放射性分子及材料、將一種物質轉化為另一種物質以提供可偵測差異之催化劑(諸如藉由將無色物質轉化為著色物質或反過來，或藉由產生沈澱物或增加樣本濁度)、可經由抗體-半抗原結合相互作用使用額外的可偵測標記之抗體結合物偵測的半抗原，及順磁性及磁性分子或材料。

【0290】 舉例而言，可偵測標記可為酶，諸如辣根過氧化酶(HRP)、鹼性磷酸酶(AP)、酸性磷酸酵素、葡萄糖氧化酶、β-半乳糖、β-葡萄糖醛酸苷酶及β-內醯胺酶；螢光團，諸如螢光素、發光體、香豆素、BODIPY染料、試鹵靈及若丹明；奈米顆粒，諸如量子點(美國專利第6,815,064號、第6,682,596號及第6,649,138號)；金屬螯合物，諸如放射性或順磁性金屬離子(Gd <3+>)之DOTA及DPTA螯合物；及脂質體，例如含有捕獲之螢光分子之脂質體。

【0291】 在可偵測標記包括酶之情況下，可偵測基質(諸如色素原、螢光化合物或發光化合物)可與酶組合使用以產生可偵測信號。顯色化合物之特定實例包括二胺基聯苯胺(DAB)、4-硝基苯基磷酸鹽(pNPP)、堅牢紅、溴氯吲哚基磷酸鹽(BCIP)、氮藍四唑(NBT)、BCIP/NBT、堅牢紅、AP橙、AP藍、四甲基聯苯胺(TMB)、2,2'-次偶氮基-二-[3-乙基苯并噻唑啉磺酸鹽] (ABTS)、鄰二甲氧苯胺、4-氯萘酚(4-CN)、硝苯基- -D-哌喃半乳糖苷(ONPG)、鄰苯二胺(OPD)、5-溴-4-氯-3-吲哚基--哌喃半乳糖苷(X-Gal)、甲基傘形基- -D-哌喃半乳糖苷(MU-Gal)、對硝苯基- a-D-哌喃半乳糖苷(PNP)、5-溴-4-氯-3-吲哚基- -D-葡萄糖苷酸(X-Gluc)、3-胺基-9-乙基咔唑(AEC)、品紅、碘基硝基四唑鎓(INT)、四唑藍及四唑紫。

【0292】 在一些實例中，可偵測部分係螢光團，其屬於若干常見化學類別，包括香豆素、螢光素(或螢光素衍生物及類似物)、若丹明、試鹵靈、發光體及花青。

【0293】 在其他實施例中，可偵測部分係可經由亮視野顯微鏡術偵測之分子，諸如染料，包括二胺基聯苯胺(DAB)、4-(二甲胺基)偶氮苯-4'-磺醯胺(DABSYL)、四甲基若丹明(DISCOVERY Purple)、N,N'-雙羧基戊基-5,5'-二磺酸根基-吲哚-二羰花青(Cy5)及若丹明110 (若丹明)。

【0294】 半抗原係與抗體特異性結合之小分子，但其自身將不會引發動物中之免疫反應且必須首先連接至較大載體分子，諸如蛋白質以產生免疫反應。半抗原之實例包括二-硝苯基、生物素、地高辛及螢光素。

【0295】 本文在一個態樣中進一步提供將腫瘤診斷或鑑別為表現DLL3之腫瘤(表現細胞質及/或細胞表面中之DLL3)之方法，其包含使用本發明之抗-DLL3抗體(例如腫瘤組織樣本) (例如DLL3#1或DLL3#5)偵測

個體之樣本(例如使用腫瘤組織樣本上之IHC)中的DLL3。在另一態樣中，本文提供選擇用於個體之DLL3靶向療法之方法，其包含使用本發明之抗-DLL3抗體(例如DLL3#1或DLL3#5) (例如使用腫瘤組織樣本上之IHC)偵測個體之樣本(例如腫瘤組織樣本)中之DLL3。在另一態樣中，本文提供監測個體中之治療效果(例如DLL3靶向療法之治療效果)之方法，其包含使用本發明之抗-DLL3抗體(例如DLL3#1或DLL3#5) (例如使用腫瘤組織樣本上之IHC)偵測個體之樣本(例如腫瘤組織樣本)中之DLL3。

【0296】 本發明之抗-DLL3抗體分子亦可用於靶向細胞。在一些實施例中，本文提供之DLL3特異性抗體用於藉由將此類藥物或細胞毒性劑連接至該DLL3抗體來將藥物或細胞毒性劑遞送至靶細胞(例如表現DLL3之腫瘤細胞)，進而例如殺滅該靶細胞。

套組

【0297】 本發明亦涵蓋套組，其至少包含本發明之多特異性結合蛋白(例如DLL3#1/CD3#1、DLL3#2/CD3#1、DLL3#3/CD3#1、DLL3#4/CD3#1、DLL3#5/CD3#1、DLL3#6/CD3#1、DLL3#7/CD3#1、DLL3#8/CD3#1、DLL3#9/CD3#1、DLL3#10/CD3#1、DLL3#11/CD3#1、DLL3#12/CD3#1、DLL3#13/CD3#1、DLL3#14/CD3#1、DLL3#15/CD3#1、DLL3#16/CD3#1、DLL3#17/CD3#1、DLL3#18/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#2/CD3#2、DLL3#3/CD3#2、DLL3#4/CD3#2、DLL3#5/CD3#2、DLL3#6/CD3#2、DLL3#7/CD3#2、DLL3#8/CD3#2、DLL3#9/CD3#2、DLL3#10/CD3#2、DLL3#11/CD3#2、DLL3#12/CD3#2、DLL3#13/CD3#2、DLL3#14/CD3#2、DLL3#15/CD3#2、

DLL3#16/CD3#2、DLL3#17/CD3#2、DLL3#18/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#3、DLL3#4/CD3#3、DLL3#5/CD3#3及DLL3#6/CD3#3、DLL3#7/CD3#3、DLL3#8/CD3#3、DLL3#9/CD3#3、DLL3#10/CD3#3、DLL3#11/CD3#3、DLL3#12/CD3#3、DLL3#13/CD3#3、DLL3#14/CD3#3、DLL3#15/CD3#3、DLL3#16/CD3#3、DLL3#17/CD3#3、DLL3#18/CD3#3中之任一者，較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)及視情況選用之選自由用於治療如上文所述之疾病及病症之其他藥物組成之群的一或多種其他組分。

【0298】 在一個實施例中，套組包括在單位劑型中含有有效量之本發明之結合蛋白的組合物。

【0299】 本發明亦涵蓋套組，其至少包含本發明之多特異性結合蛋白，及選自由如上文所述之用於治療疾病及病症之其他藥物組成之群的一或多種其他組分。

【0300】 在一個實施例中，該套組包括組合物，其在單位劑型中含有有效量之本發明之多特異性結合蛋白(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)。在另一實施例中，該套組包括以下兩者：在單位劑型中含有有效量之本發明之多特異性結合蛋白(較佳地DLL3#1/CD3#1、DLL3#1/CD3#2、DLL3#1/CD3#3、DLL3#2/CD3#1、DLL3#2/CD3#2、

DLL3#2/CD3#3、DLL3#3/CD3#1、DLL3#3/CD3#2、DLL3#3/CD3#3中之任一者)的組合物；及在單位劑型中含有有效量之PD-1拮抗劑(諸如如本文(例如表A)及WO2017/198741所述之抗PD-1抗體，最佳地PD1-1、PD1-2、PD1-3、PD1-4及PD1-5)的組合物。

【0301】 在一些實施例中，套組包含無菌容器，其含有此類組合物；此等容器可為盒、安瓿、瓶、小瓶、管、袋、小袋、泡殼包裝或此項技術中已知的其他合適之容器形式。此類容器可由塑膠、玻璃、層壓紙、金屬箔片或適合於保存藥劑之其他材料製成。另外，該套組可包含在具有本發明之結合蛋白之第一容器中呈凍乾形式的醫藥組合物及具有用於注射之醫藥學上可接受之稀釋劑(例如無菌水)的第二容器。醫藥學上可接受之稀釋劑可用於重組或稀釋結合蛋白。

【0302】 視需要，本發明之多特異性結合蛋白連同用於向患有癌症之個體投與多特異性結合蛋白的說明書一起提供。該等說明書一般將包括關於治療或預防癌症之組合物之用途的資訊。在其他實施例中，該等說明書包括以下中之至少一者：治療劑之說明書、治療或預防癌症或其症狀之劑量時程及投藥、注意事項、警告、適應症、不適應症、過量資訊、不良反應、動物藥理學、臨床研究及/或參考文獻。該等說明書可直接印刷在容器(若存在)上或作為施加於容器上之標籤，或作為供應於容器中或與容器一起供應之獨立紙片、小冊子、卡片或資料夾。

【0303】 如本文所闡述，本發明進一步提供用於測定生物樣本中DLL3表現之診斷方法。在一個態樣中，本發明提供用於執行此等方法之套組以及用於實施本發明之方法(諸如收集組織及/或執行偵測分析，及/或分析結果)的說明書。

【0304】 該套組包含本發明之DLL3抗體組合物(例如單株抗體)及使用說明書，或可替代地基本上由其組成，或又進一步由其組成。該等套組適用於偵測生物樣本(例如任何體液或身體組織之生檢)中DLL3多肽之存在。在一些實施例中，該套組可包含：一或多種能夠結合樣本中DLL3多肽之DLL3抗體(例如抗-DLL3抗體DLL3#1或DLL3#5)；用於偵測樣本中DLL3多肽之構件；及視情況選用之用於比較樣本中DLL3多肽之信號/量與對照的構件。可標記本發明之一或多種抗-DLL3抗體。套組組分(例如試劑)可包裝在合適容器中。該套組可進一步包含使用套組偵測DLL3多肽之說明書。在某些實施例中，該套組包含本發明之抗-DLL3抗體(第一抗體)及不同的第二抗體，該第二抗體與DLL3多肽或第一抗體結合且與可偵測標記結合。

【0305】 套組亦可包含例如緩衝劑、防腐劑或蛋白穩定劑。套組可進一步包含用於偵測可偵測標記必需之組分，例如酶或受質。套組亦可含有對照樣本或一系列對照樣本，其可經分析且與測試樣本比較。套組之各組分可密封於單獨的容器內，且全部多個容器可連同用於解釋使用套組所進行之分析的結果的說明書一起在單一包裝內。本發明之套組可含有在套組容器上或中之書面產品。書面產品描述如何使用包含於套組中之試劑。

【0306】 為了方便起見，此等表明套組組分可以熟習此項技術者慣用之方式封裝。舉例而言，此等表明套組組分可呈溶液或呈液體分散液或類似形式提供。

實例

【0307】 以下實例說明本發明。此等實例不應理解為限制本發明之範疇。

實例1：設計及構築CD3/DLL3結合蛋白

【0308】本發明人已開發出多特異性結合蛋白，其結合DLL3及CD3且誘導T細胞活化，從而導致表現DLL3之腫瘤細胞之溶解。所使用之分子設計具有IgG抗體骨架及IgG樣結構。其特徵在於Fc中之杵臼技術以用於雜二聚杵(抗-DLL3)及臼(抗-CD3)臂。另外，結合蛋白在各臂中之輕鏈與相應重鏈之間具有可撓性肽序列。因此，結合蛋白包含兩個臂，一個結合於CD3，另一個結合於DLL3，各臂包含單鏈Fab及Fc區。

【0309】較佳地，結合分子係雙特異性的及二價的(對於兩個目標中之每一者為單價)。

使用自雜交瘤及培養之單B細胞回收之高通量V基因製備識別DLL3及CD3之結合域.

【0310】為獲得抗-DLL3結合子，在活體外培養來源於經DLL3免疫接種之野生型及AlivaMab人類化小鼠(Ablexis, San Francisco, CA, USA: 具有人類免疫球蛋白基因座之AlivaMab基因轉殖小鼠平台)的雜交瘤或單B細胞。藉由AlphaLISA (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)針對對重組人類DLL3之反應性，及藉由流式細胞量測術針對對表現人類DLL3之SHP77細胞(ATCC®, CRL-2195TM)篩分上清液。

【0311】隨後自鑑別之陽性純系擴增免疫球蛋白(Ig) VH及VL基因。為自雜交瘤RNA，將約2×10^6個來自單一純系之細胞粒化且用作源材料。對於單一B細胞，將自單獨分離之B細胞擴增之100至500個細胞用作源材料。使用RNeasy Plus (Qiagen, Hilden, Germany)分離RNA。隨後根據製造商之說明書使用Smarter cDNA合成套組(Clontech, Mountain View, CA)合成cDNA。為促進cDNA合成，使用oligodT引發所有信使

RNA之逆轉錄，之後用Smarter IIA寡核苷酸「5'加帽」。使用靶向Smarter IIA端帽之5'引子及靶向CH1中之共有區之3'引子，使用2步驟PCR擴增進行VH及VL片段之後續擴增。簡言之，各50 μl PCR反應物由20 μM正向及反向引子混合物、25 μl PrimeStar Max DNA聚合酶預混合物(Clontech)、2 μl未純化之cDNA，及21 μl雙蒸餾H2O組成。循環程式在94℃下開始持續3 min，繼之以35個週期(94℃持續30秒，50℃持續1 min，68℃持續1 min)，且在72℃下持續7 min結束。用VL及VH第2輪引子進行第二輪PCR，該等引子含有「重疊」其各別pTT5母載體中之各別區域(VH及VL)之15bp互補延伸。用以下程式進行第二輪PCR：94℃持續3 min；35個週期(94℃持續30秒，50℃持續1 min，68℃持續1 min)，及在72℃下持續7 min結束。

【0312】 使用In-Fusion® HD選殖套組(Clontech, U.S.A.)將VL基因定向選殖於pTT5 huIgK載體中且將VH基因定向選殖於pTT5 huIgG1KO載體中。為促進In-Fusion® HD選殖，PCR產物在In-Fusion HD選殖之前經純化且用選殖增強劑處理。根據製造商之方案(Clontech, U.S.A.)進行選殖及轉化。使少量製備之DNA(Mini-prep DNA)進行桑格定序(Sanger sequencing)以證實獲得完整的V基因片段。

【0313】 使用此方法，製備Ig VH及VL基因對，其編碼對DLL3具有特異性之結合域。藉由用相應的重鏈及輕鏈編碼質體瞬時轉染CHO-E37細胞製備重組抗體。

重組抗體之證實篩選

【0314】 藉由流式細胞量測術針對與表現人類或食蟹獼猴DLL3之細胞株的結合分析含有所表現重組抗體之上清液。簡言之，使細胞與重組

上清液一起培育，洗滌，且用抗人類-IgG-APC偵測來自上清液之結合mAb (Jackson ImmunoResearch 109-136-098)。藉由以樣本之中值螢光強度(MFI)除以同型對照之中值螢光強度來計算信號/背景比(S/B) (可變區對不相關蛋白質及不同恆定區主鏈)。

【0315】 在Biacore 400上對重組上清液進行表面電漿子共振(SPR)。簡言之，經由蛋白質A/G將HTP上清液中之非最佳化之IgG捕獲於傳感器表面上，在10 ul/min下持續60秒。監測100 nM人類DLL3與捕獲IgG之結合，在30 ul/min下締合180秒，之後在HBS-EP緩衝液中解離120秒。在每個結合循環之間用甘胺酸pH 2.1進行蛋白質A/G表面之再生。將以下材料用於此分析：蛋白質試劑：以重組方式表現之人類DLL3。系統操作緩衝液：HBS-EP (10 mM HEPES pH 7.4，150 mM NaCl，3 mM EDTA及0.005% v/v聚山梨醇酯P20)。捕獲試劑：蛋白質A/G G (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)，具有對所有人類IgG同型之特異性。

【0316】 選擇相關純系(Kd<300 pM)以用於多特異性格式化。生成多特異性結合蛋白且進一步在機制及功能性篩分中評估(諸如如下所述之細胞結合、細胞毒性及T細胞活化)。

DLL3及CD3結合子之人類化

【0317】 如上文所述之DLL3結合子以及文獻(Pessano等人, EMBO J. 1985年2月; 4(2): 337-44；Salmerón A等人, J Immunol. 1991年11月1日;147(9):3047-52)中所描述之CD3結合子之序列經人類化及/或優化。抗體之序列優化/人類化係用於工程改造在非人類物種中產生(對特異性抗原/抗原決定基)之用作治療劑之抗體的方法，該等抗體與在人類中產生之抗

體類似且藉此在保留特異性的同時消除可能存在之不良影響，諸如免疫原性。本文利用之序列優化/人類化方法係由Singh等人, 2015 (Singh S等人, mAbs 2015: 7(4):778-91)描述。簡言之，電子雜交鑑別接近匹配的人類生殖系，且使用噬菌體篩選方法評估優化/人類化變體。基於結合、百分比人類評分及Epivax (潛在免疫原性之電子雜交預測工具)評分選擇最終前導候選序列。

構築結合DLL3及CD3之雙特異性蛋白質

【0318】 使用常見分子生物學技術，將DLL3及CD3結合子之可變區選殖於表現載體pTT5 (國家研究委員會(National Research Council)，加拿大)中，以形成雙特異性結合蛋白，其具有：一個DLL3特異性結合單元，該結合單元包含結合於DLL3之單鏈Fab及Fc區(此類結合單元在本文中亦稱為「DLL3臂」或「DLL3鏈」)；及CD3特異性結合單元，該結合單元包含結合於CD3之單鏈Fab及Fc區(此類結合單元在本文中亦稱為「CD3臂」或「CD3鏈」)。DLL3及CD3臂之Fc區包括「杵」或「臼」突變(Atwell等人, JMB, 1997, 270, 26-35)且各別鏈稱為杵或臼鏈。對於多片段DNA組裝，根據製造商之方案，使用Gibson組裝及NEBuilder HiFi DNA組裝方法(New England Biolabs, Ipswich, MA, USA)。對少量製備之DNA進行定序。

【0319】 各表現載體含有鏈編碼基因(DLL3或CD3臂/鏈)，亦即編碼信號序列及輕鏈及重鏈之基因的真核生物啟動子元件、原核生物選擇標記基因之表現卡匣(諸如安比西林(ampicillin)、及複製起點。使此等DNA質體在安比西林抗性大腸桿菌菌落及培養物中繁殖且純化。

實例2：結合DLL3及CD3之雙特異性二價結合蛋白之表現及純化

【0320】藉由用攜帶DLL3/CD3-鏈編碼基因之pTT5載體瞬時轉染CHO-E細胞來製備結合DLL3及CD3之雙特異性分子。簡言之，在140 rpm攪拌下，37℃及5% CO2下，於搖瓶中培育在無血清培養基中之懸浮液中生長之經轉染的CHO-E細胞且保持在指數生長之條件下。在轉染當天，用杵-鏈質體及臼-鏈質體，依1:3質量比，以化學方式轉染細胞。隨後依1至2×10^6個細胞/毫升，接種於1 L Gibco® FreeStyle™ CHO表現培養基(LifeTechnologies, NY, US)中。隨後在環繞式振盪下培育細胞10天，一次進料200 ml商業進料溶液，以供蛋白質表現。使用Octet®儀器(Pall ForteBio, CA, US)及A埠生物感測器探針頭，根據製造商之說明書，測定細胞培養上清液中之抗體力價。

【0321】以兩步法，自培養上清液純化重組DLL3/CD3結合蛋白：首先藉由蛋白質A親和層析法，使用MabSelect™管柱(GE Healthcare)；第二，藉由陽離子交換層析使用50 HS管柱(Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA)。將經兩步驟純化之材料儲存於50 mM醋酸鈉及100 mM NaCl，pH 5.0純度之最終緩衝液中且藉由分析型尺寸排阻層析、質譜分析及分析型超速離心評估樣本之異質性程度。進行功能性測試之樣本包含經兩步驟純化之材料，具有約99%單體含量。

表1：本文所描述之蛋白質/抗體構築體之CDR、VH、VL、scFab、DLL3臂及CD3臂之胺基酸序列及SEQ ID NO：

SEQ ID 編號	**序列之簡單說明**	**序列**
SEQ ID NO: 1	DLL3#1 LCCDR1	RASQSVSSNFLV
SEQ ID NO:2	DLL3#1 LCCDR2	GASTRAS
SEQ ID NO:3	DLL3#1 LCCDR3	QQYGDSPYT
SEQ ID NO:4	DLL3#1 HCCDR1	GNTFTNYYMH

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
SEQ ID NO:5	DLL3#1 HCCDR2	IIDPSVGSKSYAQKFLG
SEQ ID NO:6	DLL3#1 HCCDR3	AGKRFGESYFDY
SEQ ID NO:7	DLL3#2 LCCDR1	RASQGISNYLA
SEQ ID NO:8	DLL3#2 LCCDR2	AASSLQS
SEQ ID NO:9	DLL3#2 LCCDR3	LQHNSSPYT
SEQ ID NO:10	DLL3#2 HCCDR1	GYTFTSYYMH
SEQ ID NO:11	DLL3#2 HCCDR2	IINPSGGSTSYAQKFQG
SEQ ID NO:12	DLL3#2 HCCDR3	GEAVGGNYYYYGMDV
SEQ ID NO:13	DLL3#3 LCCDR1	RASQGISNYLV
SEQ ID NO:14	DLL3#3 LCCDR2	AVSSLYS
SEQ ID NO:15	DLL3#3 LCCDR3	LQHDSYPYT
SEQ ID NO:16	DLL3#3 HCCDR1	GYTFTSYYVH
SEQ ID NO:17	DLL3#3 HCCDR2	IINPGGGTTSYAQKFLG
SEQ ID NO:18	DLL3#3 HCCDR3	GEAVTGNYFYYGMDV
SEQ ID NO:19	DLL3#4 LCCDR1	RASKSVSSFGYSFMH
SEQ ID NO:20	DLL3#4 LCCDR2	LASNLES
SEQ ID NO:21	DLL3#4 LCCDR3	QHSRELPWT
SEQ ID NO:22	DLL3#4 HCCDR1	VYTFTSYFMY
SEQ ID NO:23	DLL3#4 HCCDR2	EISPTNGNSNLNERFKN
SEQ ID NO:24	DLL3#4 HCCDR3	GGDGYLDY
SEQ ID NO:25	DLL3#5 LCCDR1	QASQDISNYLN
SEQ ID NO:26	DLL3#5 LCCDR2	DASNLET
SEQ ID NO:27	DLL3#5 LCCDR3	QQYDNLPTWT
SEQ ID NO:28	DLL3#5 HCCDR1	GFTFTGYYIH

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
SEQ ID NO:29	DLL3#5 HCCDR2	WINPNSGGTNYAQKFQG
SEQ ID NO:30	DLL3#5 HCCDR3	GWDY
SEQ ID NO:31	DLL3#6 LCCDR1	RASQDISNYFA
SEQ ID NO:32	DLL3#6 LCCDR2	AASTLQS
SEQ ID NO:33	DLL3#6 LCCDR3	QQLNSYPYT
SEQ ID NO:34	DLL3#6 HCCDR1	GGSISSYFWS
SEQ ID NO:35	DLL3#6 HCCDR2	RIYTSGSTNYNPSLNS
SEQ ID NO:36	DLL3#6 HCCDR3	RGDWGGFDI
SEQ ID NO:37	DLL3#1 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNFLVWYQQ KPGQAPRPLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGADFTLTISRL EPEDFALYYCQQYGDSPYTFGQGTTLEIK
SEQ ID NO:38	DLL3#1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGNTFTNYYMHW VRQAPGPGLEWMGIIDPSVGSKSYAQKFLGRVTIARDT STSTVFLDLYSLRSEDTAVYFCARAGKRFGESYFDYWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO:39	DLL3#2 VL	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQ KPGKVPEPLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSVTEFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHNSSPYTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:40	DLL3#2 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGEAVGGNYYYYG MDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:41	DLL3#3 VL	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLVWFQQ KPGKAPKRLIYAVSSLYSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHDSYPYTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:42	DLL3#3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYVHW VRQAPGQGLEWMVIINPGGGTTSYAQKFLGRVTMTRD TSTNTVYMELKSLRSEDTAVYYCARGEAVTGNYFYYG MDVWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:43	DLL3#4 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSFGYSFMHW YQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLN IHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:44	DLL3#4 VH	QVQLQQSGTELVKPGASVKLSCKASVYTFTSYFMYWV KQRPGHGLEWIGEISPTNGNSNLNERFKNKATLTVDKS SSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRGGDGYLDYWGQGTT LTVSS
SEQ ID NO:45	DLL3#5 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQYDNLPTWTFGQGTKVEIK

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
SEQ ID NO:46	DLL3#5 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGFTFTGYYIHWV RQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRD SSINTAFMELSRLTSDDTAVYYCAAGWDYWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO:47	DLL3#6 VL	DIQLTQSPSFLSTSVGDRVTITCRASQDISNYFAWYQQK PGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGGGSGTEFTLTISSLQ PEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:48	DLL3#6 VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYFWSWIRQ PAGKGLEWIGRIYTSGSTNYNPSLNSRLTMSVDTSKNQ FSLKLSSVTAADTAVYYCARRGDWGGFDIWGQGTVVT VSS
SEQ ID NO:49	DLL3#1 scFab	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNFLVWYQQ KPGQAPRPLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGADFTLTISRL EPEDFALYYCQQYGDSPYTFGQGTTLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSES KSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGNTFTNYYMHWVRQAPGPGLEWMGIIDP SVGSKSYAQKFLGRVTIARDTSTSTVFLDLYSLRSEDTA VYFCARAGKRFGESYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:50	DLL3#2 scFab	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQ KPGKVPEPLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSVTEFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHNSSPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKS TEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCARGEAVGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:51	DLL3#3 scFab	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLVWFQQ KPGKAPKRLIYAVSSLYSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHDSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKS TEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTSYYVHWVRQAPGQGLEWMVIINPGG GTTSYAQKFLGRVTMTRDTSTNTVYMELKSLRSEDTAV YYCARGEAVTGNYFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		VNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:52	DLL3#4 scFab	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSFGYSFMHW YQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLN IHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGS GSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQSGTELV KPGASVKLSCKASVYTFTSYFMYWVKQRPGHGLEWIG EISPTNGNSNLNERFKNKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCTRGGDGYLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:53	DLL3#5 scFab	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQYDNLPTWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSE SKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGFTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDSSINTAFMELSRLTSD DTAVYYCAAGWDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:54	DLL3#6 scFab	DIQLTQSPSFLSTSVGDRVTITCRASQDISNYFAWYQQK PGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGGGSGTEFTLTISSLQ PEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKS TEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGGSISSYFWSWIRQPAGKGLEWIGRIYTSGSTN YNPSLNSRLTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA RRGDWGGFDIWGQGTVVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSC
SEQ ID NO:55	CD3#1 LCCDR1	RSSTGAVTTSNYAN
SEQ ID NO:56	CD3#1 LCCDR2	GTNKRAP
SEQ ID NO:57	CD3#1 LCCDR3	ALWYSNLWV
SEQ ID NO:58	CD3#1 HCCDR1	GFTFNTYAMN
SEQ ID	CD3#1	RIRSKYNNYATYYADSVKD

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:59	HCCDR2	
SEQ ID NO:60	CD3#1 HCCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
SEQ ID NO:61	CD3#2 LCCDR1	RSSTGAVTTSNYAN
SEQ ID NO:62	CD3#2 LCCDR2	GTNKRAP
SEQ ID NO:63	CD3#2 LCCDR3	ALWYSNLWV
SEQ ID NO:64	CD3#2 HCCDR1	GFTFNTYAMN
SEQ ID NO:65	CD3#2 HCCDR2	RIRSKYINYATYYADSVKD
SEQ ID NO:66	CD3#2 HCCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
SEQ ID NO:67	CD3#1 VL	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO:68	CD3#1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWF AYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:69	CD3#2 VL	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO:70	CD3#2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKYINYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWF AYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:71	CD3#1 scFab	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWK ADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECSGGGGSEGKSSGSG SESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNL KTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:72	CD3#2 scFab	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWK ADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECSGGGGSEGKSSGSG SESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGLVQP

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		GGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYINYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK TEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSA ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:73	DLL3#1 鏈	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSNFLVWYQQ KPGQAPRPLIYGASTRASGIPDRFSGSGSGADFTLTISRL EPEDFALYYCQQYGDSPYTFGQGTTLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSES KSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGA SVKVSCKASGNTFTNYYMHWVRQAPGPGLEWMGIIDP SVGSKSYAQKFLGRVTIARDTSTSTVFLDLYSLRSEDTA VYFCARAGKRFGESYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:74	DLL3#2 鏈	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQ KPGKVPEPLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSVTEFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHNSSPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKS TEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTSYYMHWVRQAPGQGLEWMGIINPSG GSTSYAQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAV YYCARGEAVGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTK GPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNS GALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYIC NVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:75	DLL3#3 鏈	DIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRASQGISNYLVWFQQ KPGKAPKRLIYAVSSLYSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQ PEDFATYYCLQHDSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		EVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKS TEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASV KVSCKASGYTFTSYYVHWVRQAPGQGLEWMVIINPGG GTTSYAQKFLGRVTMTRDTSTNTVYMELKSLRSEDTAV YYCARGEAVTGNYFYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:76	DLL3#4 鏈	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSSFGYSFMHW YQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLN IHPVEEEDAATYYCQHSRELPWTFGGGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGS GSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQSGTELV KPGASVKLSCKASVYTFTSYFMYWVKQRPGHGLEWIG EISPTNGNSNLNERFKNKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTS EDSAVYYCTRGGDGYLDYWGQGTTLTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALT SGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS REEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:77	DLL3#5 鏈	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTVTCQASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQYDNLPTWTFGQGTKVEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSE SKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPG ASVKVSCKASGFTFTGYYIHWVRQAPGQGLEWMGWI NPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDSSINTAFMELSRLTSD DTAVYYCAAGWDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		KNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:78	DLL3#6 鏈	DIQLTQSPSFLSTSVGDRVTITCRASQDISNYFAWYQQK PGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGGGSGTEFTLTISSLQ PEDFATYYCQQLNSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS GNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKS TEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQESGPGLVKPSETLS LTCTVSGGSISSYFWSWIRQPAGKGLEWIGRIYTSGSTN YNPSLNSRLTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA RRGDWGGFDIWGQGTVVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPG
SEQ ID NO:79	CD3#1 鏈	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWK ADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECSGGGGSEGKSSGSG SESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNL KTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVS AASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAP EAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:80	CD3#2 鏈	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWK ADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECSGGGGSEGKSSGSG SESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGLVQP

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		GGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYINYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK TEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSA ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:81	Fc域* (IgG1)	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:82	Fc W域 (IgG1, LALA)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:83	Fc SAV域 (IgG1， RF/LALA)	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:84	Fc域 (IgG4Pro)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:85	Fc W域 (IgG4Pro)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLWCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
SEQ ID NO:86	Fc SAV域 (IgG4Pro， RF)	ESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLSCAVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSLG
SEQ ID	κ輕鏈之恆	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:87	定區	QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
SEQ ID NO:88	λ輕鏈之恆定區	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVK VAWKADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPE QWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS
SEQ ID NO:89	連接子	GGGGSEGKSSGSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGS
SEQ ID NO:90	連接子	GGGGSGGGGSGGSGGSGGGGGS
SEQ ID NO:91	連接子	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGGS
SEQ ID NO:92	連接子	GGGGSGGGGGGSGGGGGGSGGGGSGGGGGS
SEQ ID NO:93	連接子	GGGGSGGGGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGGS
SEQ ID NO:94	連接子	GGGGSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGG GS
SEQ ID NO:95	連接子	GGGGSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGG SGGGGS
SEQ ID NO:96	CD3#3 LCCDR1	RSSTGAVTTSNYAN
SEQ ID NO:97	CD3#3 LCCDR2	GTNKRAP
SEQ ID NO:98	CD3#3 LCCDR3	ALWYSNLWV
SEQ ID NO:99	CD3#3 HCCDR1	GFTFNTYAMN
SEQ ID NO:100	CD3#3 HCCDR2	RIRSKYANYATYYADSVKD
SEQ ID NO:101	CD3#3 HCCDR3	HGNFGNSYVSWFAY
SEQ ID NO:102	CD3#3 VL	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
SEQ ID NO:103	CD3#3 HL	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKYANYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWF AYWGQGTLVTVSA
SEQ ID NO:104	CD3#3 scFab	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWK ADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECSGGGGSEGKSSGSG SESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYANYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		TEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSA ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:105	CD3#3 鏈	EAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QEKPGQLPRGLIGGTNKRAPWVPARFSGSLLGGKAALT LSGAQPEDEAEYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWK ADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECSGGGGSEGKSSGSG SESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVQLVESGGGLVQP GGSLKLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARI RSKYANYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLK TEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSA ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE AAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:133	DLL3#7 LCCDR1	RASQSVNSNFLA
SEQ ID NO:134	DLL3#7 LCCDR2	GTSSRAT
SEQ ID NO:135	DLL3#7 LCCDR3	QQYGSSPWT
SEQ ID NO:136	DLL3#7 HCCDR1	GFTFSSYGMF
SEQ ID NO:137	DLL3#7 HCCDR2	VIWLDGDDEDYVDSVKG
SEQ ID NO:138	DLL3#7 HCCDR3	VLDY
SEQ ID NO:139	DLL3#8 LCCDR1	KSSQSVLDTSNNKNYLV
SEQ ID NO:140	DLL3#8 LCCDR2	WASTRES
SEQ ID NO:141	DLL3#8 LCCDR3	QHYYNSPYT
SEQ ID NO:142	DLL3#8 HCCDR1	GYTFTDYYMH
SEQ ID NO:143	DLL3#8 HCCDR2	WINPNSGGTNYEQKFQG
SEQ ID NO:144	DLL3#8 HCCDR3	DAVVIPMDY
SEQ ID	DLL3#9	RASQSISRSYLA

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:145	LCCDR1	
SEQ ID NO:146	DLL3#9 LCCDR2	GASSRAT
SEQ ID NO:147	DLL3#9 LCCDR3	QQYGTSPIT
SEQ ID NO:148	DLL3#9 HCCDR1	GGSISSYYWS
SEQ ID NO:149	DLL3#9 HCCDR2	YRYYSGNTNYNPSLKS
SEQ ID NO:150	DLL3#9 HCCDR3	IGVAGFYFDY
SEQ ID NO:151	DLL3#10 LCCDR1	RASQSLNSIFLA
SEQ ID NO:152	DLL3#10 LCCDR2	GASSRAT
SEQ ID NO:153	DLL3#10 LCCDR3	QQYGGSMNT
SEQ ID NO:154	DLL3#10 HCCDR1	GYTFTGYYMH
SEQ ID NO:155	DLL3#10 HCCDR2	WINPNSGGTIFAQRFQG
SEQ ID NO:156	DLL3#10 HCCDR3	DFGDTVGNAFDI
SEQ ID NO:157	DLL3#11 LCCDR1	SASSSVTYIH
SEQ ID NO:158	DLL3#11 LCCDR2	RTSYLAS
SEQ ID NO:159	DLL3#11 LCCDR3	QQRSSYPRT
SEQ ID NO:160	DLL3#11 HCCDR1	GYAFSDYWIT
SEQ ID NO:161	DLL3#11 HCCDR2	DIYPGSGSTKSSEKFKN
SEQ ID NO:162	DLL3#11 HCCDR3	LYYYGSHYLDT
SEQ ID NO:163	DLL3#12 LCCDR1	SASSSVTYIH
SEQ ID NO:164	DLL3#12 LCCDR2	RTSYLAS
SEQ ID NO:165	DLL3#12 LCCDR3	QQRSSYPRT
SEQ ID NO:166	DLL3#12 HCCDR1	GYAFSDYWIT
SEQ ID NO:167	DLL3#12 HCCDR2	DIYPGSGSTKSSEKFKN
SEQ ID NO:168	DLL3#12 HCCDR3	LYYYGSYYLDT
SEQ ID	DLL3#13	RSSQSIVHSNGNTYLE

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:169	LCCDR1	
SEQ ID NO:170	DLL3#13 LCCDR2	KVSNRFS
SEQ ID NO:171	DLL3#13 LCCDR3	FQGSHVPYT
SEQ ID NO:172	DLL3#13 HCCDR1	GYTFTNYGVT
SEQ ID NO:173	DLL3#13 HCCDR2	WINTYSGAPTYADDFNG
SEQ ID NO:174	DLL3#13 HCCDR3	LDDYDLYYFDY
SEQ ID NO:175	DLL3#14 LCCDR1	KASQSVDYDGDSYMN
SEQ ID NO:176	DLL3#14 LCCDR2	AASTLES
SEQ ID NO:177	DLL3#14 LCCDR3	QQSDEDPWT
SEQ ID NO:178	DLL3#14 HCCDR1	GYTFTDYYIH
SEQ ID NO:179	DLL3#14 HCCDR2	YIYPGNSYTAYNQKFKD
SEQ ID NO:180	DLL3#14 HCCDR3	SGGSAMDY
SEQ ID NO:181	DLL3#15 LCCDR1	KASQSVDYDGDSYLN
SEQ ID NO:182	DLL3#15 LCCDR2	AASNLES
SEQ ID NO:183	DLL3#15 LCCDR3	QQSSEDPRT
SEQ ID NO:184	DLL3#15 HCCDR1	GYTFTNYGMN
SEQ ID NO:185	DLL3#15 HCCDR2	WINTYTGEPTYADDFKG
SEQ ID NO:186	DLL3#15 HCCDR3	FHFSSNGDAMDN
SEQ ID NO:187	DLL3#16 LCCDR1	RASQSVSDWLA
SEQ ID NO:188	DLL3#16 LCCDR2	RASSLES
SEQ ID NO:189	DLL3#16 LCCDR3	QLYNSYSPT
SEQ ID NO:190	DLL3#16 HCCDR1	GFTFSSYWMT
SEQ ID NO:191	DLL3#16 HCCDR2	NIKEDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO:192	DLL3#16 HCCDR3	DWGYFDY
SEQ ID	DLL3#17	RASENIYYSLA

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:193	LCCDR1	
SEQ ID NO:194	DLL3#17 LCCDR2	NTNSLED
SEQ ID NO:195	DLL3#17 LCCDR3	KQAYDFPLT
SEQ ID NO:196	DLL3#17 HCCDR1	GYTFISYYIH
SEQ ID NO:197	DLL3#17 HCCDR2	WIYPGDGSTNNNEKFKG
SEQ ID NO:198	DLL3#17 HCCDR3	GEGNAMDD
SEQ ID NO:199	DLL3#18 LCCDR1	RASENIYYSLA
SEQ ID NO:200	DLL3#18 LCCDR2	NANSLED
SEQ ID NO:201	DLL3#18 LCCDR3	KQAYDVPLT
SEQ ID NO:202	DLL3#18 HCCDR1	GYTFTAYFIH
SEQ ID NO:203	DLL3#18 HCCDR2	YIDPFNDDTNYNVKFKG
SEQ ID NO:204	DLL3#18 HCCDR3	GTSATLDY
SEQ ID NO:205	DLL3#7 VL	EIVLTQSPDTLSLSPGERATLSCRASQSVNSNFLAWYQQ KPGQTPRLLIFGTSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIR
SEQ ID NO:206	DLL3#7 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMFWV RQAPGKGLEWVAVIWLDGDDEDYVDSVKGRFTISRDD SKNTLYLQMNSLRVDDTAIYYCARVLDYWGQGTLVTV SS
SEQ ID NO:207	DLL3#8 VL	DIVMAQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDTSNNKNYL VWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHYYNSPYTFGQGTKLEIK
SEQ ID NO:208	DLL3#8 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYEQKFQGRVTMTR DTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCTRDAVVIPMDYWGQ GTLVTVSS
SEQ ID NO:209	DLL3#9 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISRSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQYGTSPITFGQGTRLEIK
SEQ ID NO:210	DLL3#9 VH	QVHLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQ TPGKGLDWIGYRYYSGNTNYNPSLKSRVTISLDMSNNQ FSLKLSSVTAADTAIYYCASIGVAGFYFDYWGQGTLVT VSS
SEQ ID NO:211	DLL3#10 VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLNSIFLAWYQQK PGQAPWLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYFCQQYGGSMNTFGQGTKLEIK
SEQ ID	DLL3#10	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:212	VH	VRLAPGQGLEWMGWINPNSGGTIFAQRFQGRVTMTRD TSISTVYMDLNRLRSDDTAVYYCARDFGDTVGNAFDI WGQGTMVTVSS
SEQ ID NO:213	DLL3#11 VL	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVTYIHWFQQNPG TSPKLWIYRTSYLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAE DAATYYCQQRSSYPRTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:214	DLL3#11 VH	QVQLQQPGAELVQPGSSVKMSCKASGYAFSDYWITWV KQRPGQGLEWIGDIYPGSGSTKSSEKFKNKATLTADTSS SKAYIQFSSLTPEDSAVYYCVSLYYYGSHYLDTWGQGT TLTVSS
SEQ ID NO:215	DLL3#12 VL	QVVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVTYIHWFQQNP GTSPKLWIYRTSYLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRME AEDAATYYCQQRSSYPRTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:216	DLL3#12 VH	QVQLQQPGAEFVQPGSSVKMSCKASGYAFSDYWITWV KQRPGQGLEWIGDIYPGSGSTKSSEKFKNRATLTADTSS STAYIQFSSLTPEDSAVYYCVSLYYYGSYYLDTWGQGT TLTVSS
SEQ ID NO:217	DLL3#13 VL	DVLMTQTPLSLPVSLGDQAAISCRSSQSIVHSNGNTYLE WYLQKPGQSPKVLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:218	DLL3#13 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGVTWVK QAPGKGLKWMGWINTYSGAPTYADDFNGRFALSLETS ASTAYLQINNLKNEDTATYFCARLDDYDLYYFDYWGQ GTALTVSS
SEQ ID NO:219	DLL3#14 VL	DIVLTQSPASLSVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMN WYQQKPGQPPKLLIYAASTLESGIPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQQSDEDPWTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:220	DLL3#14 VH	QIQLQQSGPELVKPGVKISCKASGYTFTDYYIHWMKQR PGQGLEWIGYIYPGNSYTAYNQKFKDKATLTADNPSSTA YMQLSSLTSEDSAVYFCARSGGSAMDYWGQGTSVTVS S
SEQ ID NO:221	DLL3#15 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNW YQQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNI HPVEEEDAATYYCQQSSEDPRTFGGGTKLEIK
SEQ ID NO:222	DLL3#15 VH	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWV KQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLET SASTAYLQINNLKNEDMATYFCTKFHFSSNGDAMDNW GQGTSVTVSS
SEQ ID NO:223	DLL3#16 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSVSDWLAWYQQ KPGKAPKFLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPADFATYYCQLYNSYSPTFGQGTKVEIK
SEQ ID NO:224	DLL3#16 VH	EVHLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMTWV RQAPGKGLEWVANIKEDGSEKYYVDSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCARDWGYFDYWGQGT LVTVSS
SEQ ID NO:225	DLL3#17 VL	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQ KQGKSPQLLIYNTNSLEDGVPSRFSGSGSGTQYSMKINS

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		MQPEDTATYFCKQAYDFPLTFGAGTKLELK
SEQ ID NO:226	DLL3#17 VH	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFISYYIHWVK QRPGQGLEWIGWIYPGDGSTNNNEKFKGKTTLTADKSS STAYMLLSSLTSEDSAVYFCARGEGNAMDDWGQGTSV TVSS
SEQ ID NO:227	DLL3#18 VL	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQ KQGKSPQLLIYNANSLEDGVPSRFSGSGSGTQYSMKIN NMQPEDTATYFCKQAYDVPLTFGAGTKLELK
SEQ ID NO:228	DLL3#18 VH	QVQLQQSGPDLVKPGASVKMSCEASGYTFTAYFIHWV KQKPGQGLEWIGYIDPFNDDTNYNVKFKGKATLTSDTS SSIAYMELSSLTSEDSSFYYCARGTSATLDYWGHGTTLT VSS
SEQ ID NO:229	DLL3#7 scFab	EIVLTQSPDTLSLSPGERATLSCRASQSVNSNFLAWYQQ KPGQTPRLLIFGTSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIRRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESK STEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRS LRLSCAASGFTFSSYGMFWVRQAPGKGLEWVAVIWLD GDDEDYVDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRVDDT AIYYCARVLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSC
SEQ ID NO:230	DLL3#8 scFab	DIVMAQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDTSNNKNYL VWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHYYNSPYTFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSS GSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYEQKFQGRVTMTRDTSISTAYMEL NRLRSDDTAVYYCTRDAVVIPMDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:231	DLL3#9 scFab	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISRSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQYGTSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKST EGKSSGSGSESKSTGGGGSQVHLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGGSISSYYWSWIRQTPGKGLDWIGYRYYSGNTN YNPSLKSRVTISLDMSNNQFSLKLSSVTAADTAIYYCAS IGVAGFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSC
SEQ ID NO:232	DLL3#10 scFab	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLNSIFLAWYQQK PGQAPWLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYFCQQYGGSMNTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESK STEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTGYYMHWVRLAPGQGLEWMGWIN PNSGGTIFAQRFQGRVTMTRDTSISTVYMDLNRLRSDD TAVYYCARDFGDTVGNAFDIWGQGTMVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:233	DLL3#11 scFab	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVTYIHWFQQNPG TSPKLWIYRTSYLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAE DAATYYCQQRSSYPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKST EGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQPGAELVQPGSSVK MSCKASGYAFSDYWITWVKQRPGQGLEWIGDIYPGSG STKSSEKFKNKATLTADTSSSKAYIQFSSLTPEDSAVYYC VSLYYYGSHYLDTWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:234	DLL3#12 scFab	QVVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVTYIHWFQQNP GTSPKLWIYRTSYLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRME AEDAATYYCQQRSSYPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESK STEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQPGAEFVQPGSS VKMSCKASGYAFSDYWITWVKQRPGQGLEWIGDIYPG SGSTKSSEKFKNRATLTADTSSSTAYIQFSSLTPEDSAVY YCVSLYYYGSYYLDTWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:235	DLL3#13 scFab	DVLMTQTPLSLPVSLGDQAAISCRSSQSIVHSNGNTYLE WYLQKPGQSPKVLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSS GSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLVQSGPEL KKPGETVKISCKASGYTFTNYGVTWVKQAPGKGLKW

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		MGWINTYSGAPTYADDFNGRFALSLETSASTAYLQINN LKNEDTATYFCARLDDYDLYYFDYWGQGTALTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:236	DLL3#14 scFab	DIVLTQSPASLSVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMN WYQQKPGQPPKLLIYAASTLESGIPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQQSDEDPWTFGGGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSS GSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLQQSGPEL VKPGVKISCKASGYTFTDYYIHWMKQRPGQGLEWIGY IYPGNSYTAYNQKFKDKATLTADNPSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCARSGGSAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:237	DLL3#15 scFab	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNW YQQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNI HPVEEEDAATYYCQQSSEDPRTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGS ESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLVQSGPELKKPG ETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWI NTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNED MATYFCTKFHFSSNGDAMDNWGQGTSVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:238	DLL3#16 scFab	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSVSDWLAWYQQ KPGKAPKFLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPADFATYYCQLYNSYSPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSES KSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVHLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIKE DGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TALYYCARDWGYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:239	DLL3#17 scFab	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQ KQGKSPQLLIYNTNSLEDGVPSRFSGSGSGTQYSMKINS MQPEDTATYFCKQAYDFPLTFGAGTKLELKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSE SKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLQQSGPEVVKPG ASVKISCKASGYTFISYYIHWVKQRPGQGLEWIGWIYP GDGSTNNNEKFKGKTTLTADKSSSTAYMLLSSLTSEDSA VYFCARGEGNAMDDWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:240	DLL3#18 scFab	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQ KQGKSPQLLIYNANSLEDGVPSRFSGSGSGTQYSMKIN NMQPEDTATYFCKQAYDVPLTFGAGTKLELKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGS ESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQSGPDLVKP GASVKMSCEASGYTFTAYFIHWVKQKPGQGLEWIGYI DPFNDDTNYNVKFKGKATLTSDTSSSIAYMELSSLTSED SSFYYCARGTSATLDYWGHGTTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:241	DLL3#7 鏈	EIVLTQSPDTLSLSPGERATLSCRASQSVNSNFLAWYQQ KPGQTPRLLIFGTSSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCQQYGSSPWTFGQGTKVEIRRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESK STEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVESGGGVVQPGRS LRLSCAASGFTFSSYGMFWVRQAPGKGLEWVAVIWLD GDDEDYVDSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRVDDT AIYYCARVLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTK VDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG
SEQ ID NO:242	DLL3#8 鏈	DIVMAQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLDTSNNKNYL VWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQHYYNSPYTFGQGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSS GSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAE VKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYMHWVRQAPGQGLE WMGWINPNSGGTNYEQKFQGRVTMTRDTSISTAYMEL

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		NRLRSDDTAVYYCTRDAVVIPMDYWGQGTLVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:243	DLL3#9 鏈	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISRSYLAWYQQK PGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEP EDFAVYYCQQYGTSPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKST EGKSSGSGSESKSTGGGGSQVHLQESGPGLVKPSETLSL TCTVSGGSISSYYWSWIRQTPGKGLDWIGYRYYSGNTN YNPSLKSRVTISLDMSNNQFSLKLSSVTAADTAIYYCAS IGVAGFYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS LWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPG
SEQ ID NO:244	DLL3#10 鏈	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSLNSIFLAWYQQK PGQAPWLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYFCQQYGGSMNTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESK STEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLVQSGAEVKKPGAS VKVSCKASGYTFTGYYMHWVRLAPGQGLEWMGWIN PNSGGTIFAQRFQGRVTMTRDTSISTVYMDLNRLRSDD TAVYYCARDFGDTVGNAFDIWGQGTMVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID	DLL3#11	QIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVTYIHWFQQNPG

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
NO:245	鏈	TSPKLWIYRTSYLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAE DAATYYCQQRSSYPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACE VTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESKST EGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQPGAELVQPGSSVK MSCKASGYAFSDYWITWVKQRPGQGLEWIGDIYPGSG STKSSEKFKNKATLTADTSSSKAYIQFSSLTPEDSAVYYC VSLYYYGSHYLDTWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPS SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:246	DLL3#12 鏈	QVVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVTYIHWFQQNP GTSPKLWIYRTSYLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRME AEDAATYYCQQRSSYPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSESK STEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQPGAEFVQPGSS VKMSCKASGYAFSDYWITWVKQRPGQGLEWIGDIYPG SGSTKSSEKFKNRATLTADTSSSTAYIQFSSLTPEDSAVY YCVSLYYYGSYYLDTWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:247	DLL3#13 鏈	DVLMTQTPLSLPVSLGDQAAISCRSSQSIVHSNGNTYLE WYLQKPGQSPKVLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKLEIKRTV AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSS GSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLVQSGPEL KKPGETVKISCKASGYTFTNYGVTWVKQAPGKGLKW MGWINTYSGAPTYADDFNGRFALSLETSASTAYLQINN LKNEDTATYFCARLDDYDLYYFDYWGQGTALTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEA AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:248	DLL3#14 鏈	DIVLTQSPASLSVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMN WYQQKPGQPPKLLIYAASTLESGIPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQQSDEDPWTFGGGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSS GSGSESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLQQSGPEL VKPGVKISCKASGYTFTDYYIHWMKQRPGQGLEWIGY IYPGNSYTAYNQKFKDKATLTADNPSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCARSGGSAMDYWGQGTSVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTS GVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNH KPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:249	DLL3#15 鏈	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNW YQQKPGQPPKLLIYAASNLESGIPARFSGSGSGTDFTLNI HPVEEEDAATYYCQQSSEDPRTFGGGTKLEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGS ESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLVQSGPELKKPG ETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWI NTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNED MATYFCTKFHFSSNGDAMDNWGQGTSVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICN VNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:250	DLL3#16 鏈	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSVSDWLAWYQQ KPGKAPKFLIYRASSLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSL QPADFATYYCQLYNSYSPTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSES KSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSEVHLVESGGGLVQPGG SLRLSCAASGFTFSSYWMTWVRQAPGKGLEWVANIKE DGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAED TALYYCARDWGYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:251	DLL3#17 鏈	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQ KQGKSPQLLIYNTNSLEDGVPSRFSGSGSGTQYSMKINS MQPEDTATYFCKQAYDFPLTFGAGTKLELKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKV YACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGSE SKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQIQLQQSGPEVVKPG ASVKISCKASGYTFISYYIHWVKQRPGQGLEWIGWIYP GDGSTNNNEKFKGKTTLTADKSSSTAYMLLSSLTSEDSA VYFCARGEGNAMDDWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLA PSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEM TKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:252	DLL3#18 鏈	DIQMTQSPASLAASVGETVTITCRASENIYYSLAWYQQ KQGKSPQLLIYNANSLEDGVPSRFSGSGSGTQYSMKIN NMQPEDTATYFCKQAYDVPLTFGAGTKLELKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSEGKSSGSGS ESKSTEGKSSGSGSESKSTGGGGSQVQLQQSGPDLVKP GASVKMSCEASGYTFTAYFIHWVKQKPGQGLEWIGYI DPFNDDTNYNVKFKGKATLTSDTSSSIAYMELSSLTSED SSFYYCARGTSATLDYWGHGTTLTVSSASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE

SEQ ID 編號	序列之簡單說明	序列
		YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
SEQ ID NO:253	重鏈CH1之恆定區	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
SEQ ID NO:254	小鼠IgG2a HC	AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTL TWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQ SITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNLL GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQI SWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQD WMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYV LPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKT ELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
SEQ ID NO:255	小鼠κ LC	RADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTK DEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

*帶下劃線的序列表明鉸鏈區

實例3：產生重組蛋白

- **人類DLL3-His**

【0322】使用HEK-293細胞(Thermo Fisher)、Lenti-X慢病毒系統(Clontech)，及編碼人類DLL3-His之質體(人類DLL3寄存編號Q9NYJ7 huDLL3-His: SEQ ID NO:106)生成用以產生人類DLL3-His的細胞株。為了表現，在37℃，5% CO2及140 rpm振盪下培養及擴增細胞。在表現第0天，粒化細胞且再懸浮於Expi 293培養基中。在表現第3天，藉由在4700 rpm下將細胞粒化40分鐘來收集經調節之培養上清液。在純化之前將蛋白酶抑制劑添加至生物質。藉由西方墨點法證實表現。用0.5 mM TCEP，0.02% CHAPS，10 mM咪唑調節經調節之培養上清液。在HisTrap Ni excel管柱及緩衝液A：50 mM MES，50 mM NaCl，0.5 mM TCEP，0.02% CHAPS，pH 6.5上進行純化。在補充有0.5M咪唑之緩衝液A，pH

8.5中，使用自20 mM咪唑至500 mM咪唑之溶離梯度溶離所關注蛋白質。將經彙集之溶離份在以下緩衝液中滲析：50 mM MES，50 mM NaCl，1 mM TCEP，0.02% CHAPS，0.2M精胺酸，3%甘油，pH 6.5。藉由質譜分析及分析型超速離心檢核純化材料。

- **食蟹獼猴DLL3-His**

【0323】使用HEK-293細胞(Thermo Fisher)、Lenti-X慢病毒系統(Clontech)及編碼食蟹獼猴DLL3-His之質體(食蟹獼猴DLL3寄存編號：XM_005589196.1 (RefSeq)；食蟹獼猴DLL3-His: SEQ ID NO:107)生成用以製備食蟹獼猴DLL3-His之細胞株。為了表現，在37℃，5% CO2及140 rpm振盪下培養及擴增細胞。在表現第0天，粒化細胞且再懸浮於Expi 293培養基中。在表現第3天，藉由在4700 rpm下將細胞粒化40分鐘來收集經調節之培養上清液。在純化之前將蛋白酶抑制劑添加至生物質。藉由西方墨點法證實表現。用0.5 mM TCEP，0.02% CHAPS，10 mM咪唑調節經調節之培養上清液。在HisTrap Ni excel管柱及緩衝液A：50 mM MES，50 mM NaCl，0.5 mM TCEP，0.02% CHAPS，pH 6.5上進行純化。在補充有0.5M咪唑之緩衝液A，pH 8.5中，使用自20 mM咪唑至500 mM咪唑之溶離梯度溶離所關注蛋白質。將經彙集之溶離份在以下緩衝液中滲析：50 mM MES，50 mM NaCl，1 mM TCEP，0.02% CHAPS，0.2M精胺酸，3%甘油，pH 6.5。藉由質譜分析及分析型超速離心檢核純化材料。

- **人類CD3 E+G HuFc-6xHis (E+G指示εγ子單元)**

【0324】使用HEK-293細胞(Thermo Fisher)、Lenti-X慢病毒系統(Clontech)及編碼人類CD3 E+G HuFc-6xHis之質體(人類CD3E寄存編

號：P07766；人類CD3E+G-HuFc-His: SEQ ID NO:108)生成用以製備人類CD3 E+G HuFc-6xHis之細胞株。為了表現，在37℃，潮濕的8% CO2環境及135 rpm振盪下在Freestyle 293培養基中培養及擴增細胞。在第6天藉由在9300xg下離心30分鐘收集經調節之培養上清液。藉由SDS-PAGE及西方墨點法監測表現。用0.2M蔗糖、5%甘油、0.01% CHAPS及10 mM咪唑調節經調節之培養上清液。隨後將pH值調節至7.2。在兩步法中進行純化：使用Ni/NTA樹脂親和純化(在4℃下隔夜培育，且用250mM咪唑溶離)；之後在Superdex 200管柱上在含有0.2M蔗糖、5%甘油、0.01% CHAPS、1mM TCEP，pH7.2之目標緩衝液PBS中進行尺寸排阻層析。在最終分析及儲存之前，使用10K MWCO PES膜viva細胞100離心裝置濃縮彙集之材料。藉由質譜分析及分析型超速離心檢核純化材料。

- **食蟹獼猴CD3 E+G HuFc-6xHis (E+G指示εγ子單元)**

【0325】使用HEK-293細胞(Thermo Fisher)、Lenti-X慢病毒系統(Clontech)及編碼食蟹獼猴CD3 E+G HuFc-6xHis之質體(獼猴CD3E寄存編號：Q95LI5<；食蟹獼猴CD3E+G-huFc-His: SEQ ID NO:109)生成用以製備食蟹獼猴CD3 E+G HuFc-6xHis之細胞株。為了表現，在37℃，潮濕的8% CO2環境及135 rpm振盪下在Freestyle 293培養基中培養及擴增細胞。在第6天藉由在9300xg下離心30分鐘收集經調節之培養上清液。藉由SDS-PAGE及西方墨點法監測表現。用0.2M蔗糖、5%甘油、0.01% CHAPS及10 mM咪唑調節經調節之培養上清液。隨後將pH值調節至7.2。在兩步法中進行純化：使用Ni/NTA樹脂親和純化(在4℃下隔夜培育，且用250mM咪唑溶離)；之後在Superdex 200管柱上在含有0.2M蔗糖、5%甘油、0.01% CHAPS、1mM TCEP，pH7.2之目標緩衝液PBS中進行尺寸

排阻層析。在最終分析及儲存之前，使用10K MWCO PES膜viva細胞100離心裝置濃縮彙集之材料。藉由質譜分析及分析型超速離心檢核純化材料。

實例4A：基於SPR測定與重組DLL3及CD3 εγ子單元之親和力及種間交叉反應

【0326】藉由表面電漿子共振(SPR)，使用ProteOn XPR36儀器(Bio-Rad)測定經純化之DLL3/CD3雙特異性構築體對人類及食蟹獼猴CD3εγ子單元之重組人類及食蟹獼猴DLL3-ECD及Fc融合蛋白的結合親和力。在PBS-T-EDTA中獲得操作緩衝液及所有稀釋液(除非另有說明)。GLM感測器晶片(Bio-Rad)根據製造商之建議標準化及預調節。用EDC/s-NHS之等量混合物在水平方向上以30 ul/min之流動速率活化感測器晶片300秒且用蛋白質A/G (在10 mM醋酸鹽pH 4.5中為20 ug/ml)在水平方向上以30 ul/min之流動速率固定300秒，在表面上獲得約5000 RU 蛋白質A/G。感測器晶片在水平方向用1M乙醇胺鹽酸鹽以30 µl/min之流動速率去活化300秒。感測器晶片用0.85%磷酸以100 µl/min之流動速率穩定18秒，水平方向3次及豎直方向3次。

【0327】對於對DLL3之結合動力學測定，分別在蛋白質A/G表面上以25 µl/min之流動速率豎直地捕獲250秒雙特異性分子。藉由以40 µl/min之流動速率水平地注射PBS-T-EDTA 60秒來穩定基線。以40 µl/min之流動速率將分析物(hu DLL3或cy DLL3)水平注射於捕捉之抗體上600秒且解離2700秒。分析物之濃度為20 nM、10 nM、5 nM、2.5 nM及1.25 nM。表面藉由以100 µl/min之流動速率注射0.85%磷酸18秒，水平方向一次及豎直方向一次而再生。

【0328】 對於對CD3之結合動力學測定，經由以30 μl/min之流動速率豎直地胺偶合140秒將hu CD3εγ -Fc及cy CD3εγ -Fc (溶解於pH 4.5醋酸鹽中)直接固定於感測器表面上。藉由以40 μl/min之流動速率水平地注射PBS-T-EDTA 60秒來穩定基線。以40 μl/min之流動速率將分析物(雙特異性分子)水平注射於CD3εγ-Fc構築體上600秒且解離600秒。分析物之濃度為250 nM、125 nM、62.5 nM、31.3 nM及15.6 nM或2 μM、1 μM、0.5 μM、0.25 μM及0.125 μM。表面藉由以100 μl/min之流動速率注射0.85%磷酸18秒，水平方向一次及豎直方向一次而再生。

【0329】 自原始資料減去間點(與感測器表面的相互作用)及空白(PBS-T-EDTA)。隨後相對於1:1動力學模型擬合感測器圖譜以提供對hu DLL3及cy DLL3之速率常數(ka，kd)以及親和力(KD)值，且相對於平衡全局擬合以提供對hu CD3εγ及cy CD3εγ之親和力(KD)值。

【0330】 本文所描述之DLL3/CD3結合蛋白顯示在pM範圍中對DLL3之親和力。對CD3εγ子單元之親和力處於低nM範圍。平衡人類與食蟹獼猴之間的種間間隙。三種例示性DLL3/CD3結合蛋白(分別包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:80或SEQ ID NO:105之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白)之親和力展示於表2A中。

表2A：如藉由SPR分析所測定之DLL3/CD3結合蛋白對人類及食蟹獼猴DLL3及CD3εγ子單元之親和力(KD，及種間間隙

DLL3/CD3結合蛋白	**重組人類DLL3**	**重組食蟹獼猴DLL3**	**親和力間隙KD hu/食蟹獼猴DLL3**	**重組人類CD3εγ**	**重組食蟹獼猴CD3εγ**	**親和力間隙KD hu/食蟹獼猴CD3εγ**
DLL3#3/CD3#1	< 10 pM	< 10 pM	1	7 nM	8 nM	1.1
DLL3#3/CD3#2	< 10 pM	< 10 pM	1	90 nM	100 nM	1.1
DLL3#3/CD3#3	< 10 pM	< 10 pM	1	68 nM	71 nM	1.04

實例4B：基於SPR測定對重組DLL3及CD3εγ之親和力

【0331】藉由表面電漿子共振(SPR)，使用ProteOn XPR36儀器(Bio-Rad)測定經純化之DLL3/CD3雙特異性構築體對人類CD3εγ子單元之重組人類DLL3-ECD及Fc融合蛋白的結合親和力。該方法與實例4A相似，少量差異如下文概述。

【0332】對於對DLL3之結合動力學測定，分別在蛋白質A/G表面上以30 μl/min之流動速率豎直地捕獲200秒抗-DLL3/CD3分子。藉由以30 μl/min之流動速率水平地注射PBS-T-EDTA 60秒來穩定基線。以30 μl/min之流動速率將分析物(hu DLL3)水平注射於捕捉之抗體上300秒且解離1800秒。分析物之濃度為20 nM、10 nM、5 nM、2.5 nM及1.25 nM。表面藉由以100 μl/min之流動速率注射0.85%磷酸18秒，水平方向一次及豎直方向一次而再生。

【0333】對於對CD3之結合動力學測定，經由以30 μl/min之流動速率豎直地胺偶合360秒將HuCD3E_HuCD3G-Fc(溶解於pH 4.5醋酸鹽中)直接固定於感測器表面上。藉由以30 μl/min之流動速率水平地注射PBS-T-EDTA 60秒來穩定基線。以30 μl/min之流動速率將分析物(所有抗-DLL3/CD3分子)水平注射於捕捉之抗體上600秒且解離1800秒。分析物之濃度為250 nM、83.3 nM、27.8 nM、9.3 nM及3.1 nM。表面藉由以100 μl/min之流動速率注射0.85%磷酸18秒，水平方向一次及豎直方向一次而再生。

【0334】例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID

NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈；包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白；及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:105之CD3鏈的DLL3結合蛋白)之親和力展示於2B中。

表2B：如藉由SPR分析所測定之DLL3/CD3結合蛋白對人類DLL3及CD3εγ子單元之親和力(KD)

DLL3/CD3結合蛋白	**重組人類huDLL3**	**重組人類huCD3εγ**
DLL3#1/CD3#1	52 pM	2 nM
DLL3#2/CD3#1	91 pM	3 nM
DLL3#3/CD3#1	75 pM	2 nM
DLL3#3/CD3#2	120 pM	7 nM
DLL3#3/CD3#3	116 pM	4 nM
DLL3#4/CD3#1	< 20 pM	2 nM
DLL3#5/CD3#1	< 20 pM	3 nM
DLL3#6/CD3#1	152 pM	2 nM
DLL3#7/CD3#1	637 pM	1 nM
DLL3#8/CD3#1	40 pM	2 nM
DLL3#9/CD3#1	46 pM	2 nM
DLL3#10/CD3#1	141 pM	na
DLL3#11/CD3#1	37 pM	2 nM
DLL3#12/CD3#1	< 20 pM	2 nM
DLL3#13/	23 pM	3 nM

DLL3/CD3 結合蛋白	**重組 人類huDLL3**	**重組 人類 huCD3εγ**
CD3#1		
DLL3#14/ CD3#1	60 pM	3 nM
DLL3#15/ CD3#1	na	na
DLL3#16/ CD3#1	228 pM	2 nM
DLL3#17/ CD3#1	< 20pM	2 nM
DLL3#18/ CD3#1	< 20 pM	3 nM

實例5：在細胞表面上產生表現胞外域及其子域的HEK293細胞

【0335】 為產生分別表現全長人類DLL3 (Uniprot: Q9NYJ7)、獼猴DLL3 (UPI0003AB95BD)、人類DLL1 (Q00548)及人類DLL4 (Q9NR61)的穩定HEK293細胞，將各別編碼序列選殖於pcDNA3.1 ()中且將FLAG標籤插入在信號序列與胞外域之間。藉由使用抗FLAG抗體(純系M2，Sigma)繼之以單株抗小鼠IgG1 (Acris)檢驗在細胞表面上的表現。

【0336】 DLL3之胞外域由不同子域組成：

- Hu DLL3信號肽：aa 1-26
- Hu DLL3 N端ECD域：aa 27-175
- Hu DLL3 DSL：aa 176-215
- Hu DLL3 EGF1：aa 216-249
- Hu DLL3 EGF2：aa 274-310
- Hu DLL3 EGF3：aa 312-351
- Hu DLL3 EGF4：aa 353-389
- Hu DLL3 EGF5：aa 391-427
- Hu DLL3 EGF6：aa 429-465

- 近膜肽：aa 466-492

【0337】 DLL3之以下子域表現在HEK293細胞之細胞表面上：

- Hu DLL3 EGF1+2: Uniprot：Q9NYJ7 aa 216-310
- Hu DLL3 EGF 2+3: Uniprot：Q9NYJ7 aa 274-351
- Hu DLL3 EGF3+4: Uniprot：Q9NYJ7 aa 312-389
- Hu DLL3 EGF4+5: Uniprot：Q9NYJ7 aa 353-427
- Hu DLL3 EGF5+6: Uniprot：Q9NYJ7 aa 391-465
- Hu DLL3 EGF6+近膜肽：Uniprot：Q9NYJ7 aa 429-492

【0338】 為產生表現人類DLL3之6-His-myc標記之子域的HEK293細胞，將各別編碼序列選殖於pcDNA 3.1 (Thermo Fisher Scientific)中。構築體含有N端小鼠IgG Vk前導序列，繼之以6-Histidin-myc標籤及各別人類DLL3結構域。為確保人類DLL3域之細胞表面定位，所有構築體繼之以Ser/Gly-連接子、人類EpCAM (P16422)之跨膜域(aa266-288)及胞內域(aa 289-314)。使用對各種結構域之小鼠單株IgG2a抗體檢驗子域表現，如WO 2013126746所描述。用山羊抗小鼠IgG (F(ab')2)-RPE (Jackson Immuno Research)偵測結合的單株抗體。樣本藉由流式細胞測量術量測。人類DLL1及DLL4之表現係藉由FACS分析使用抗DLL1 (R&D Systems, MAB1818)及抗DLL4 R&D系統MAB1506)抗體繼之以經PE標記之抗小鼠或抗大鼠二級抗體證實(參見圖5，右圖)。

表3：在HEK293細胞上表現之各種DLL3子域之序列

ID	構築體	序列
SEQ ID NO:110	**FLAG標記之人類DLL3全長**	MVSPRMSGLLSQTVILALIFLPQTRPDYKDDDDKAGVFEL QIHSFGPGPGPGAPRSPCSARLPCRLFFRVCLKPGLSEEAA ESPCALGAALSARGPVYTEQPGAPAPDLPLPDGLLQVPFR DAWPGTFSFIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVAGRRRLA AGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCEPPAVGTACTRLCRP RSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPLVCRAGCSPEHGFCEQP GECRCLEGWTGPLCTVPVSTSSCLSPRGPSSATTGCLVPGP

ID	構築體	序列
		GPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSGVT CADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKRV DRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDLD DCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERAD PCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVHP DGASALPAAPPGLRPGDPQRYLLPPALGLLVAAGVAGAAL LLVHVRRRGHSQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNLRT QEGSGDGPSSSVDWNRPEDVDPQGIYVISAPSIYAREVATP LFPPLHTGRAGQRQHLLFPYPSSILSVK
SEQ ID NO:111	**FLAG標記之食蟹獼猴DLL3全長**	MVSPRMSRLLSQTVILALIFIPQARPDYKDDDDKAGVFEL QIHSFGPGPGPGAPRSPCSARGPCRLFFRVCLKPGLSEEAA ESPCALGAALSARGPVYTEQPEAPAPDLPLPNGLLQVPFR DAWPGTFSLIIETWREELGDQIGGPAWSLLARVTRRRRLA AGGPWARDIQRAGAWELRFSYRARCELPAVGTACTRLCRP RSAPSRCGPGLRPCAPLEDECEAPPVCRAGCSLEHGFCEQ PGECRCLEGWTGPLCMVPVSTSSCLGLRGPSSTTTGCLVP GPGPCDGNPCANGGSCSETPGSFECTCPRGFYGLRCEVSG VTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCEKR VDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHDL DDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRNCRERA DPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFPVH PDGVSALPAAPPGLRPGDPQRYLLPPALGLLVAAGVAGAA LLLVHVRRRGHAQDAGSRLLAGTPEPSVHALPDALNNLR TQEGPGDVPSSSVDWNRPEDVDSRGIYVISAPSIYAREVAM PLFPPLHTGRAGQRQNLLFPFPSSILSVK
SEQ ID NO:112	**FLAG標記之人類DLL1全長**	MGSRCALALAVLSALLCDYKDDDDKQVWSSGVFELKLQ EFVNKKGLLGNRNCCRGGAGPPPCACRTFFRVCLKHYQA SVSPEPPCTYGSAVTPVLGVDSFSLPDGGGADSAFSNPIRFP FGFTWPGTFSLIIEALHTDSPDDLATENPERLISRLATQRHL TVGEEWSQDLHSSGRTDLKYSYRFVCDEHYYGEGCSVFC RPRDDAFGHFTCGERGEKVCNPGWKGPYCTEPICLPGCDE QHGFCDKPGECKCRVGWQGRYCDECIRYPGCLHGTCQQP WQCNCQEGWGGLFCNQDLNYCTHHKPCKNGATCTNTGQ GSYTCSCRPGYTGATCELGIDECDPSPCKNGGSCTDLENS YSCTCPPGFYGKICELSAMTCADGPCFNGGRCSDSPDGGY SCRCPVGYSGFNCEKKIDYCSSSPCSNGAKCVDLGDAYLC RCQAGFSGRHCDDNVDDCASSPCANGGTCRDGVNDFSCT CPPGYTGRNCSAPVSRCEHAPCHNGATCHERGHRYVCEC ARGYGGPNCQFLLPELPPGPAVVDLTEKLEGQGGPFPWVA VCAGVILVLMLLLGCAAVVVCVRLRLQKHRPPADPCRGE TETMNNLANCQREKDISVSIIGATQIKNTNKKADFHGDHS ADKNGFKARYPAVDYNLVQDLKGDDTAVRDAHSKRDTK CQPQGSSGEEKGTPTTLRGGEASERKRPDSGCSTSKDTKY QSVYVISEEKDECVIATEV
SEQ ID NO:113	**FLAG標記之人類DLL4全長**	MAAASRSASGWALLLLVALWQQRAAGDYKDDDDKSGVF QLQLQEFINERGVLASGRPCEPGCRTFFRVCLKHFQAVVSP GPCTFGTVSTPVLGTNSFAVRDDSSGGGRNPLQLPFNFTW PGTFSLIIEAWHAPGDDLRPEALPPDALISKIAIQGSLAVGQ NWLLDEQTSTLTRLRYSYRVICSDNYYGDNCSRLCKKRN DHFGHYVCQPDGNLSCLPGWTGEYCQQPICLSGCHEQNG

ID	構築體	序列
		YCSKPAECLCRPGWQGRLCNECIPHNGCRHGTCSTPWQC TCDEGWGGLFCDQDLNYCTHHSPCKNGATCSNSGQRSYT CTCRPGYTGVDCELELSECDSNPCRNGGSCKDQEDGYHC LCPPGYYGLHCEHSTLSCADSPCFNGGSCRERNQGANYA CECPPNFTGSNCEKKVDRCTSNPCANGGQCLNRGPSRMC RCRPGFTGTYCELHVSDCARNPCAHGGTCHDLENGLMCT CPAGFSGRRCEVRTSIDACASSPCFNRATCYTDLSTDTFVC NCPYGFVGSRCEFPVGLPPSFPWVAVSLGVGLAVLLVLLG MVAVAVRQLRLRRPDDGSREAMNNLSDFQKDNLIPAAQL KNTNQKKELEVDCGLDKSNCGKQQNHTLDYNLAPGPLG RGTMPGKFPHSDKSLGEKAPLRLHSEKPECRISAICSPRDS MYQSVCLISEERNECVIATEV
SEQ ID NO:114	**FLAG標籤**	DYKDDDDK
SEQ ID NO:115	**Vk前導序列**	METDTLLLWVLLLWVPGSTGD
SEQ ID NO:116	**6His-myc 標籤**	HHHHHHEQKLISEEDL
SEQ ID NO:117	**Ser/Gly連接子**	SGGGGS
SEQ ID NO:118	**EpCAM跨膜域**	AGVIAVIVVVVIAVVAGIVVLVI
SEQ ID NO:119	**EpCAM胞內域**	SRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA
SEQ ID NO:120	**EGF1**	APLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCT
SEQ ID NO:121	**Hu DLL3 EGF 1+2**	APLVCRAGCSPEHGFCEQPGECRCLEGWTGPLCTVPVSTS SCLSPRGPSSATTGCLVPGPGPCDGNPCANGGSCSETPRSF ECTCPRGFYGLRCE
SEQ ID NO:122	**EGF2**	GPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCE
SEQ ID NO:123	**Hu DLL3 EGF 2+3**	GPGPCDGNPCANGGSCSETPRSFECTCPRGFYGLRCEVSG VTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCE
SEQ ID NO:124	**EGF3**	SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCE
SEQ ID NO:125	**Hu DLL3 EGF 3+4**	SGVTCADGPCFNGGLCVGGADPDSAYICHCPPGFQGSNCE KRVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE
SEQ ID NO:126	**EGF4**	RVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCE
SEQ ID NO:127	**Hu DLL3 EGF 4+5**	RVDRCSLQPCRNGGLCLDLGHALRCRCRAGFAGPRCEHD LDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR
SEQ ID NO:128	**EGF5**	DLDDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCR
SEQ ID NO:129	**Hu DLL3 EGF 5+6**	DDCAGRACANGGTCVEGGGAHRCSCALGFGGRDCRERA DPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCE
SEQ ID NO:130	**EGF6**	RADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCE

ID	構築體	序列
SEQ ID NO:131	**Hu DLL3 EGF6-近膜肽**	RADPCAARPCAHGGRCYAHFSGLVCACAPGYMGARCEFP VHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYL
SEQ ID NO:132	**近膜肽**	FPVHPDGASALPAAPPGLRPGDPQRYL

實例6：DLL3/CD3結合蛋白之抗原決定基結構域映射

【0339】 藉由DLL3/CD3結合蛋白與表現DLL3子域之重組細胞株測定抗原決定基結構域(參見圖2)。此等細胞株之產生在實例5下描述。

【0340】 藉由用攜帶鏈編碼基因之pTT5載體瞬時轉染CHO-E細胞製備DLL3/CD3結合蛋白，如實例2中所描述。

【0341】 用經兩步驟純化之DLL3/CD3結合蛋白在FACS緩衝液(PBS/0.5%BSA/0.05%疊氮化鈉)中之1.6 nM下染色表現DLL3子域之細胞。用PE結合之抗人類二次抗體(Sigma-Aldrich，#P8047)偵測結合分子。作為陰性對照，僅使細胞與二次抗體一起培育。樣本藉由流式細胞測量術量測。圖3A-C展示與DLL3之不同區結合的例示性結合子(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈，及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白)。抗原決定基結構域之序列在實例5，表3中列舉。

實例7：種間交叉反應

【0342】 種間交叉反應係藉由DLL3/CD3結合蛋白與NCI-H82

(HTB-175™)及SHP77 (ATCC®，CRL-2195™)細胞、兩種SCLC細胞株，以及與表現獼猴DLL3之重組細胞株(描述於實例5中之細胞株產生)的結合測定。

【0343】藉由用攜帶鏈編碼基因之pTT5載體瞬時轉染CHO-E細胞製備DLL3/CD3結合蛋白，如實例2中所描述。用1.6 nM經兩步驟純化之DLL3/CD3結合蛋白在FACS緩衝液(PBS/0.5%BSA/0.05%疊氮化鈉)中染色表現人類或獼猴DLL3之細胞。用PE結合之抗人類二次抗體(Sigma-Aldrich，#P8047)偵測結合分子。作為陰性對照，僅使細胞與二次抗體一起培育。樣本藉由流式細胞測量術量測。圖4展示與具有七種例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:74之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈、SEQ ID NO:76之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:77之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈或SEQ ID NO:78之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈)之人類及食蟹獼猴DLL3表現細胞的結合。

實例8：確認不存在與人類DLL1及DLL4之結合

【0344】藉由DLL3/CD3結合蛋白與表現人類DLL1或DLL4之重組細胞(描述於實例5中之細胞株產生)的結合測定不存在與人類DLL1及DLL4之交叉反應。

【0345】藉由用攜帶鏈編碼基因之pTT5載體瞬時轉染CHO-E細胞製備DLL3/CD3結合蛋白，如實例2中所描述。

【0346】用1.6 nM經兩步驟純化之DLL3/CD3結合蛋白以在FACS

緩衝液(PBS/0.5%BSA/0.05%疊氮化鈉)中增加之濃度染色表現DLL1及DLL4之細胞。用PE結合之抗人類二次抗體(Sigma-Aldrich，#P8047)偵測結合分子。作為陰性對照，僅使細胞與二次抗體一起培育。樣本藉由流式細胞測量術量測。人類DLL1及DLL4之表現係藉由FACS分析使用抗DLL1 (R&D Systems, MAB1818)及抗DLL4 R&D Systems, MAB1506)抗體繼之以經PE標記之抗小鼠或抗大鼠二級抗體證實。圖5展示七種例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:74之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈、SEQ ID NO:76之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈、SEQ ID NO:77之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈或SEQ ID NO:78之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈)與人類DLL1及DLL4表現細胞的結合。

實例9：DLL3/CD3結合蛋白與SCLC細胞株及T細胞之結合

【0347】藉由NCI-H82 (HTB-175TM)及SHP77 (ATCC®，CRL-2195TM)之流式細胞量測術測試DLL3/CD3結合蛋白與人類SCLC細胞株之結合。製備DLL3/CD3結合蛋白，如實例2中所描述。

【0348】藉由Ficoll密度梯度離心，自富集淋巴球之製劑(白血球層)(收集輸注用血液之血庫之副產物)製備人類周邊血液單核細胞(PBMC)。在根據赫爾辛基宣言獲得知情同意書之後且在奧地利的cantonal道德委員會批准下獲得所有白血球層且在收集同一天製備PBMC。因此，藉由Ficoll密度梯度離心(35 min，在1400 rpm下無減速)分離單核細胞且用PBS大量洗滌。剩餘紅血球藉由在ACK溶解緩衝液

(Thermo Fisher Scientific, A1049201)中培育3分鐘移除，之後在PBS中洗滌，然後懸浮於含有RPMI 1640 GlutaMAX (Gibco #61870-010)、5%人類AB血清AB (Gemini, GemCell cat # 100-512 LOT#H56500I)+1%MEM-NEAA (Gibco #11140-035)、10mM HEPES (Affymetrix #7365-49-9)、10 μMβ-巰基乙醇(Gibco #21985-023)及丙酮酸鈉(Gibco #11360-039)的分析培養基中。

【0349】使用盤式T細胞分離套組II (Miltenyi Biotec #130-091-156)藉由陰性選擇分離T細胞。簡言之，將細胞再懸浮於40 μl緩衝液PBS/0.5% BSA (Gibco ref#041-94553 M)/2mM EDTA (Invitrogen ref# 15575-038)/10個Mio細胞且與每10個Mio細胞10 μl生物素-抗體混合物一起在4℃下培育5 min。接著，添加30 μl緩衝液及20 μl抗生物素MicroBeds/1千萬個細胞且在4℃下培育10 min。接著，在適合MACS分離器(Miltenyi Biotec)之磁場中將混合物置放於預沖洗之25LS管柱(Miltenyi Biotec #130-042-401)中。收集流過物且在分析培養基中洗滌。

【0350】用增加濃度之經兩步驟純化之DLL3/CD3結合蛋白以在FACS緩衝液(PBS/0.5%BSA/0.05%疊氮化鈉)中增加之濃度染色細胞(T細胞或人類SCLC細胞)。用PE結合之抗人類二次抗體(Sigma-Aldrich，#P8047)偵測結合分子。相比於靶向近膜肽(DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3)之DLL3/CD3結合蛋白，靶向DSL (DLL3#6)、EGF1 (DLL3#5)或EGF4 (DLL#4)結構域之DLL3/CD3結合蛋白展示與表現DLL3之SCLC細胞株更強的結合。對不同抗原決定基結構域之例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、

SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈；包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白)與SHP77、NCI-H82細胞及T細胞的結合展示於圖6A-V中。

實例10A：重導向非受激PBMC對人類SCLC細胞株之效能

【0351】非受激PBMC對SCLC細胞株之效能係使用乳酸脫氫酶(LDH)釋放作為細胞溶解之讀數來測定。在此分析中，使DLL3陽性SCLC細胞株、SHP77及NCI-H82與作為效應細胞之人類PBMC及增加濃度之DLL3/CD3結合蛋白以10:1之效應:靶細胞比率共同培養72小時。藉由用攜帶鏈編碼基因之pTT5載體瞬時轉染CHO-E細胞來製備DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈，以及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白)，如實例2中所描述。

【0352】藉由Ficoll密度梯度離心，自富集淋巴球之製劑(白血球層)(收集輸注用血液之血庫之副產物)製備人類周邊血液單核細胞(PBMC)。在根據赫爾辛基宣言獲得知情同意書之後且在奧地利的cantonal道德委員會批准下獲得所有白血球層且在收集同一天製備PBMC。因此，藉由Ficoll密度梯度離心(35 min，在1400 rpm下無減速)分離單核細胞且用PBS大量洗滌。剩餘紅血球藉由在ACK溶解緩衝液

(Thermo Fisher Scientific, A1049201)中培育3分鐘移除，之後在PBS中洗滌，然後懸浮於含有RPMI 1640 GlutaMAX (Gibco #61870-010)、5%人類AB血清AB (Gemini, GemCell cat # 100-512 LOT#H56500I)+1%MEM-NEAA (Gibco #11140-035)、10mM HEPES (Affymetrix #7365-49-9)、10 μMβ-巰基乙醇(Gibco #21985-023)及丙酮酸鈉(Gibco #11360-039)的分析培養基中。

【0353】 接著，使靶細胞、SHP77及NCI-H82，以及PBMC以1:10之比率與DLL3/CD3結合蛋白在0.0001 nM至100 nM之濃度下一起培育72小時。

【0354】 使用細胞毒性偵測套組^{PLUS} (Roche)，根據製造商之說明書測定細胞毒活性。簡言之，此方法係基於利用自死亡或質膜損傷細胞釋放LDH。使細胞培養上清液與來自套組之反應混合物一起培育30分鐘且在分光光度計中在500 nm下量測作為細胞溶解之替代的因LDH活性而引起之甲臢形成。根據下式計算相對於最大溶解對照細胞毒性之百分比：

$$\text{細胞毒性(相對於對照)} = \frac{\text{量測值 - 背景}}{\text{最大溶解-最小溶解}}$$

背景：靶細胞+效應細胞

最大溶解：靶細胞+5% Triton X-100

最小溶解：靶細胞

【0355】 使用GraphPad Prism 5軟體，針對相應DLL3/CD3結合蛋白濃度繪製細胞毒性相對於最大溶解對照之百分比。用四參數對數公式模型分析劑量反應曲線，以評估S形劑量-反應曲線且計算EC_{90}值(EC_{90}值展示於表4A中)。

【0356】 圖7A展示與不同抗原決定基結構域結合之七種例示性

DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77或SEQ ID NO:78之DLL3鏈，及SEQ ID NO:79之CD3鏈，以及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白)之細胞溶解的效能實例。

表4A：如在非受激PBMC作為效應細胞及SCLC細胞株、NCI-H82及SHP77作為靶細胞之72小時細胞毒性分析中所量測之DLL3/CD3結合蛋白的EC_{90}值[nM].

DLL3/CD3結合蛋白	NCI-H82	SHP77
DLL3#1/CD3#1	1.7	1.4
DLL3#2/CD3#1	2.9	3.4
DLL3#3/CD3#1	0.9	1.5
DLL3#3/CD3#2	3.9	16.5
DLL3#4/CD3#1	在100 nM下無飽和	在100 nM下無飽和
DLL3#5/CD3#1	在100 nM下無飽和	在100 nM下無飽和
DLL3#6/CD3#1	在100 nM下無飽和	在100 nM下無飽和

實例10B：重導向非受激T細胞對人類SCLC細胞株之效能

【0357】如實例9中所描述分離T細胞。隨後純化之T細胞在細胞毒性分析中用作效應細胞，其中SHP77及NCI-H82細胞作為靶細胞，如實例10A中所描述。劑量反應曲線展示於圖7B-H (SHP77細胞)及圖7I-O (NCI-H82細胞)中。計算之EC90值展示於表4B中。

【0358】圖7B-O展示19種例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251、SEQ ID NO:252之DLL3

鏈)之細胞溶解效能之實例。

表4B：如在利用經純化T細胞作為效應細胞且SCLC及NCI-H82細胞株作為靶細胞之72小時細胞毒性分析中所量測之DLL3/CD3結合蛋白之EC_{90}值[nM]

DLL3/CD3結合蛋白	NCI-H82	SHP77
DLL3#1/CD3#1	0.66	0.15
DLL3#2/CD3#1	1.51	0.16
DLL3#3/CD3#1	0.27	0.02
DLL3#3/CD3#2	2.50	3.00
DLL3#4/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#5/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#6/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#7/CD3#1	21.84	8.37
DLL3#8/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#9/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#10/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#11/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#12/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#13/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#14/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#15/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#16/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#17/CD3#1	無活性	無活性
DLL3#18/CD3#1	無活性	無活性

實例11：活體外內化分析

【0359】 量測在與作為靶細胞之DLL3陽性SHP77細胞一起預培育之後DLL3/CD3結合蛋白之效能變化。若DLL3/CD3結合蛋白內化，則有效濃度應因此減少且因此表觀效能應減少。

【0360】 製備DLL3/CD3結合蛋白，如實例2中所描述。人類周邊血液單核細胞(PBMC)如實例10中所描述製備。

【0361】 接種SHP77靶細胞且使其與DLL3/CD3結合蛋白以0.0001至100 nM之濃度一起培育2及4小時，之後添加非受激PBMC持續48小時。效應細胞與靶細胞之比率為10:1。如實例10中所描述，使用細胞毒性

偵測套組^{PLUS} (Roche)測定細胞毒活性。

【0362】 圖8展示兩種例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白，及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白)之溶解細胞效能及功效無差異。相比於未預培育之樣本(0 h)已觀測到效能及功效。結果表明，用DLL3/CD3結合蛋白未出現顯著內化。

實例12：小鼠PK研究

【0363】 在單次1 mg/kg靜脈內給藥之後評估C57BL/6小鼠中DLL3/CD3結合蛋白之PK。使用DLL3捕獲/CD3偵測分析測定DLL3/CD3結合蛋白之血清濃度。

【0364】 簡言之，雄性C57BL/6小鼠接受單次1 mg/kg靜脈內(IV)給藥(n = 3/分子)。在給藥前及給藥後0.15、2、8、24、72、96、168、240及336小時收集血液樣本。利用基於MSD之配位體結合分析，使用生物素標記之DLL3作為捕捉試劑及磺酸基標記之CD3作為偵測試劑量測血清藥物含量。根據血清濃度時間-特徵曲線，使用非房室模型分析計算藥物動力學(PK)參數。評估以下PK參數：AUCtlast (自時間零至最後可定量時間點血清濃度-時間曲線下面積)、AUCinf (外推至無窮之血清濃度-時間曲線下面積)、CL (全身清除率)、Vss (穩態分佈體積)及t1/2 (終半衰期)。

【0365】 例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白，及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白)之平均(SD)血清濃度時間-特徵曲線概述於圖9中。此等例示性DLL3/CD3結合蛋白之

平均(SD) PK參數概述於表5中。

表5：在單次1 mg/kg靜脈內給藥之後在雄性C57BL/6小鼠中例示性DLL3/CD3結合蛋白之平均(SD) PK參數

DLL3/CD3結合蛋白	$AUC_{0\text{-}last}$ (μg*d/mL)	$AUC_{0\text{-}inf}$ (μg*d/mL)	CL (mL/天/kg)	V_{ss} (mL/kg)	$t_{1/2}$ (天)
DLL3#3/CD3#1	1180 (127)	1760 (179)	13.7 (1.48)	178 (57.7)	10.6 (4.67)
DLL3#3/CD3#2	1260 (170)	1440 (154)	16.8 (1.74)	109 (19.5)	4.97 (0.78)

實例13：活體內異種移植功效研究

【0366】使用用人類T細胞重組之人類異種移植小鼠模型進行功效研究。詳言之，將人類SHP77小細胞肺癌細胞(2×10^7)皮下注射(*s.c.*)於經亞致死輻射(2 Gy，第1天)之雌性NOD.Cg-*Prkdc*^{scid} *Il2rg*^{tm1Sug}/JicTac小鼠之右背側(第1天)中。同時，在活體外擴增人類CD3陽性T細胞(自健康人類血液供體分離)。

【0367】人類周邊血液單核細胞(PBMC)如實例10中所描述製備。

【0368】使用盤式T細胞分離套組II (Miltenyi Biotec #130-091-156)藉由陰性選擇分離T細胞。簡言之，將細胞再懸浮於40 μl緩衝液PBS/0.5% BSA (gibco ref#041-94553 M)/2mM EDTA (Invitrogen ref# 15575-038)/10個Mio細胞且與每10個Mio細胞10 μl生物素-抗體混合物一起在4℃下培育5 min。接著，添加30 μl緩衝液及20 μl抗生物素MicroBeds/1千萬個細胞且在4℃下培育10 min。接著，在適合MACS分離器(Miltenyi Biotec)之磁場中將混合物置放於預沖洗之25LS管柱(Miltenyi Biotec #130-042-401)中。收集流過物且在分析培養基中洗滌。

【0369】隨後，使用T細胞活化/擴增套組人類(Miltenyi Biotec Cat#130-091-441, Lot#5170720843)將T細胞擴增20天。簡言之，抗生物素MACSiBeadTM粒子經裝載有CD2生物素、CD3生物素、CD28生物素

且以每個粒子2個細胞之比率轉移至經純化之T細胞且在20個單位重組IL-2 (R&D#202-IL-050/CF)存在下以0.5-1 10^6個細胞/毫升之密度培育20天。細胞每三天補充20個單位新鮮IL-2。在注射於動物中三天之前，用裝載有CD2生物素、CD3生物素、CD28生物素之抗生物素MACSiBeadTM粒子以每4個細胞1個珠粒之比率再刺激T細胞額外三天。最後，用MACSiMAG分離器(Miltenyi Biotec)移除珠粒且在PBMC中洗滌T細胞。

【0370】 在第14天，基於腫瘤體積將動物隨機分為治療組且腹膜內(*i.p.*)注射2×10^7個人類T細胞。在第17天開始治療且在q7d給藥方案中藉由靜脈內(*i.v.*)快速注射將DLL3/CD3結合蛋白(包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白，及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3/CD3結合蛋白)或媒劑緩衝液(50 mM NaOAc，100 mM NaCl，pH 5.0)投與外側尾部靜脈中。藉由外部測徑規量測監測腫瘤生長且使用標準半橢球公式計算腫瘤體積。在研究結束時，藉由對人類CD3免疫組織化學(IHC)染色在脾中評估人類T細胞植入。僅將在研究結束時展示人類T細胞植入之彼等動物包括於統計分析中。在研究期間早期出於道德原因對達到處死準則之動物安樂死。用DLL3/CD3結合蛋白以0.25 mg/kg每週一次靜脈內治療攜帶腫瘤之小鼠誘導顯著的腫瘤消退(圖10)。

實例14：DLL3/CD3結合蛋白之單體含量百分比

【0371】 藉由分析型尺寸排阻層析(aSEC)測定例示性DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID

NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈；包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白；及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:105之CD3鏈的DLL3結合蛋白)之單體百分比(示於表6中)。在Waters (Milfrod, MA, USA) Acquity UPLC系統上使用蛋白質BEH SEC管柱200 Å，1.7 μm，4.6×150 mm (目錄號186005225)進行aSEC。操作條件如下：移動相：50 mM磷酸鈉，200 mM精胺酸及0.05%疊氮化鈉；流動速率：0.5 ml/min；運行時間：5分鐘；樣本負載量：10 μg；峰值偵測：A280nm；層析圖之自動化處理方法。

表6：第一及第二純化步驟之後的單體百分比

DLL3/CD3結合蛋白	**在第1純化步驟之後的單體百分比**	**在第2純化步驟之後的單體百分比**
DLL3#1/CD3#1	76.4	99.4
DLL3#2/CD3#1	54.4	98.0
DLL3#3/CD3#1	69.5	99.8
DLL3#3/CD3#2	77.6	99.5
DLL3#3/CD3#3	70.8	98.3
DLL3#4/CD3#1	72.2	99.1
DLL3#5/CD3#1	70.5	99.1
DLL3#6/CD3#1	55.2	99.9
DLL3#7/CD3#1	78.1	99.0
DLL3#8/CD3#1	54.8	99.5
DLL3#9/CD3#1	72.0	99.0
DLL3#10/CD3#1	70.2	98.3
DLL3#11/CD3#1	68.2	94.7
DLL3#12/CD3#1	66.2	98.7
DLL3#13/CD3#1	52.8	99.9
DLL3#14/CD3#1	52.6	87.0
DLL3#15/CD3#1	61.5	na
DLL3#16/CD3#1	71.8	99.5
DLL3#17/CD3#1	60.2	94.7
DLL3#18/CD3#1	61.5	98.2

實例15A：熱穩定性

【0372】藉由差示掃描熱量測定(DSC)測定熱穩定性且DLL3/CD3結合蛋白之第一熔化轉變(Tm1)結果展示於表7中。DSC熱熔融提供關於溶液中之蛋白質相對於緩衝液對照之熱穩定性之資訊。經由自動化毛細管DSC在60℃/小時之掃描速率下監測自20℃至110℃，1 mg/ml蛋白質於20 mM檸檬酸鹽，115 mM NaCl，pH 6之溶液之熱去摺疊及聚集。

表7A

DLL3/CD3結合蛋白	Tm1
DLL3#3/CD3#1	64
DLL3#3/CD3#2	60
DLL3#3/CD3#3	63
DLL3#4/CD3#1	63

實例15B：熱穩定性

【0373】藉由熱轉變分析(TSA)測定熱穩定性且DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈；包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白；及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:105之CD3鏈的DLL3結合蛋白)之第一熔化轉變(Tm1)之結果展示於表7B中。使用QuantStudio 6 Flex實時PCR系統(Applied Biosystems, Waltham, MA)，利用SYPRO Orange (Invitrogen, Carlsbad, CA)作為外源性螢光團採集隨溫度而變的螢光強度特徵曲線。用40 mM氯化鈉及0.02%疊氮化鈉將樣本在10 mM組胺酸，pH 6.0中稀釋

至0.4 mg/ml。以2℃/min之速率用25℃至95℃之熱斜變生成熔融曲線，經由『ROX』過濾器組(Ex：580 ±10 nm，Em：623 ±14 nm)大約每0.4℃收集資料。使用蛋白質熱轉變軟體版本1.3 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA)分析資料。

表7B

DLL3/CD3結合蛋白	Tm1 (℃)
DLL3#1/CD3#1	65.6
DLL3#2/CD3#1	65.5
DLL3#3/CD3#1	65.6
DLL3#3/CD3#2	63.0
DLL3#3/CD3#3	65.5
DLL3#4/CD3#1	65.8
DLL3#5/CD3#1	65.6
DLL3#6/CD3#1	65.8
DLL3#7/CD3#1	65.6
DLL3#8/CD3#1	65.8
DLL3#9/CD3#1	65.9
DLL3#10/CD3#1	64.6
DLL3#11/CD3#1	66.0
DLL3#12/CD3#1	65.9
DLL3#13/CD3#1	65.8
DLL3#14/CD3#1	65.9
DLL3#15/CD3#1	na
DLL3#16/CD3#1	65.8
DLL3#17/CD3#1	65.8
DLL3#18/CD3#1	65.8

實例16：藉由Epivax電子雜交預測之免疫原性評分

【0374】用數學演算法電子雜交評估序列免疫原性。具體而言，測定DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈；包含

SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白；及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:105之CD3鏈的DLL3結合蛋白)作為免疫原性評分之量測的經EpiMatrix Treg調節之評分且使其與各種Fc序列之評分比較。此等評分將T細胞抗原決定基及Treg抗原決定基納入考慮。免疫原性評分愈低，序列愈不可能具有免疫原性。一般而言，負評分視為免疫原性風險低，而高正評分視為可能的免疫原性之指示。如下表中所示，本文所描述之DLL3/CD3結合蛋白具有極低的免疫原性評分，表明此等結合蛋白具有免疫原性之風險較低。

表8：DLL3/CD3結合蛋白之經調節Epivax評分

DLL3/CD3結合蛋白	**VH**	**VL**	**完整多肽鏈(VL-CL-連接子-VH-CH1-鉸鏈-CH2-CH3)**
DLL3#1 DLL3鏈	-36.88	-59.85	-43.31
DLL3#2 DLL3鏈	-46.99	31.40	-33.53
DLL3#3 DLL3鏈	-34.44	2.84	-35.50
DLL3#4 DLL3鏈	25.97	28.92	-21.93
DLL3#5 DLL3鏈	-59.87	-46.45	-44.95
DLL3#6 DLL3鏈	29.70	-14.55	-27.26
CD3#1 CD3鏈	-9.68	-50.52	-35.25
CD3#2 CD3鏈	-15.54	-50.52	-36.23
CD3#3 CD3鏈	-13.49	-50.52	-35.88
DLL3#7 DLL3鏈	-48.55	-34.92	-41.60
DLL3#8 DLL3鏈	-54.39	-37.79	-42.89
DLL3#9 DLL3鏈	35.95	-60.37	-31.83
DLL3#10 DLL3鏈	-33.82	-34.60	-40.73
DLL3#11 DLL3鏈	-24.00	26.66	-30.50
DLL3#12 DLL3鏈	-30.43	25.68	-31.67
DLL3#13 DLL3鏈	8.64	18.63	-25.96
DLL3#14 DLL3鏈	1.58	-10.63	-31.72
DLL3#15 DLL3鏈	8.93	-8.31	-29.91
DLL3#16 DLL3鏈	-55.14	13.98	-35.59
DLL3#17 DLL3鏈	11.89	12.55	-26.52
DLL3#18 DLL3鏈	5.82	15.85	-27.01

表9：Fc域之經調節之Epivax評分

Fc蛋白質鏈	**經調節之EpiVax評分**
Fc-IgG1-WT	-25.64

Fc-IgG1-LALA	-29.83
Fc-IgG1-LALA-KNOB	-31.76
Fc-IgG1-LALA-HOLE	-18.01

實例17A：非特異性結合於表面

【0375】 使用高度帶電荷蛋白質在基於SPR之分析中進一步測試本發明之DLL3/CD3結合蛋白之特異性。使用生物感測器技術研發非特異性結合分析以測定結合蛋白是否顯著結合至不相關帶電蛋白質。在此分析中，使DLL3/CD3結合蛋白通過兩個SPR表面上方，一個塗佈有帶負電荷蛋白質(胰蛋白酶抑制劑)且一個塗佈有帶正電蛋白質(溶菌酶)。當蛋白質顯示與此等表面的顯著非特異性結合時，結合之原因可能係在候選物上存在帶正電荷或帶負電荷表面片。蛋白質之非特異性結合可轉變為不佳藥物動力學(PK)及生物分佈，且亦可在下游可製造性上有影響。

【0376】 在Biacore T200上進行實驗。在25℃下，在由10×HBS-EP製備之1×HBS-EP緩衝液中執行稀釋、表面製備及結合實驗。固定方案與結合實驗之流動速率皆為5 μL/min。

【0377】 為製備用於非特異性結合實驗之表面，使用胺偶合套組根據製造說明書將雞蛋白溶菌酶及來自大豆(glycine max/soybean)之胰蛋白酶抑制劑手動偶合至S系列CM5晶片，其中表面密度係3000-5000 RU。

【0378】 在1X HBS-EP緩衝液中以1 μM製備樣本。將樣本注射在活化表面上，進行10 min締合及10 min解離。使用2.0.1版Biacore T200控制軟體收集資料使用3.0版Biacore T200評估軟體分析。

【0379】 DLL3/CD3結合蛋白不與此等高度帶電荷表面結合。表10A展示不存在兩種例示性DLL3/CD3結合蛋白與兩種高度帶電荷蛋白質-胰蛋白酶抑制劑及溶菌酶的結合。

表10A:

DLL3/CD3結合蛋白	非特異性結合	
	溶菌酶(正)	胰蛋白酶抑制劑(負)
DLL3#3/CD3#1	無	無
DLL3#3/CD3#2	無	無

實例17B：非特異性結合於表面

【0380】在基於SPR之分析中，使用高度帶電荷之蛋白質進一步測試DLL3/CD3結合蛋白(包含以下之DLL3/CD3結合蛋白：SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:77、SEQ ID NO:78、SEQ ID NO:241、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:243、SEQ ID NO:244、SEQ ID NO:245、SEQ ID NO:246、SEQ ID NO:247、SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:249、SEQ ID NO:250、SEQ ID NO:251或SEQ ID NO:252之DLL3鏈及SEQ ID NO:79之CD3鏈；包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:80之CD3鏈的DLL3結合蛋白；及包含SEQ ID NO:75之DLL3鏈及SEQ ID NO:105之CD3鏈的DLL3結合蛋白)之特異性，如實例17a所描述，進行10 min締合及15 min解離。結果展示於表10B中。

表10B：低RU數目指示不與不相關帶電荷蛋白質顯著結合

DLL3/CD3結合蛋白	非特異性結合(RU)	
	溶菌酶(正)	胰蛋白酶抑制劑(負)
DLL3#1/CD3#1	4	1
DLL3#2/CD3#1	7	2
DLL3#3/CD3#1	54	85
DLL3#3/CD3#2	44	36
DLL3#3/CD3#3	17	28
DLL3#4/CD3#1	16	37
DLL3#5/CD3#1	4	0
DLL3#6/CD3#1	6	0
DLL3#7/CD3#1	9	3
DLL3#8/CD3#1	39	18
DLL3#9/CD3#1	15	27
DLL3#10/CD3#1	25	12
DLL3#11/CD3#1	11	13
DLL3#12/CD3#1	8	9

DLL3#13/CD3#1	11	3
DLL3#14/CD3#1	18	6
DLL3#15/CD3#1	na	na
DLL3#16/CD3#1	6	0
DLL3#17/CD3#1	15	8
DLL3#18/CD3#1	23	81

實例18：在DLL3陽性及DLL3陰性腫瘤細胞存在下誘導溶解、T細胞活化、T細胞脫粒、T細胞增殖及細胞介素分泌

【0381】 如實例9中所描述純化PBMC。為測定T細胞活化、T細胞脫粒及細胞介素分泌，如實例10B中所描述設置利用PBMC及DLL3陽性SHP77或DLL3陰性RKO-E6細胞作為靶細胞之細胞毒性分析。如實例10A中所描述測定藉由將T細胞重導向人類SHP77或RKO-E6細胞實現之細胞溶解效能。為測定T細胞活化，且對T細胞脫粒細胞離心及用對CD4 (BD #550630)、CD8 (BD #557834)、CD25 (BD#340907)之抗體染色，隨後使用固定/滲透溶液(BD #554714)透化細胞且用對穿孔素(BioLegend #308120)及顆粒酶B (BD #560221)之抗體染色且藉由流動式細胞測量術量測。藉由U-PLEX生物標記第1組(hu)分析(MSD，#K15067L-2，套組)測定上清液中之細胞介素含量。

【0382】 為測定T細胞之增殖，用5 μM細胞Trace™ CFSE (Invitrogen, C34554)標記PBMC且用抗CD3抗體(BioLegend目錄號：317336)對T細胞染色。隨後，使經標記之PBMC與SHP77或RKO-E6細胞以10:1之比率及增加濃度之DLL3/CD3結合蛋白一起培育6天。

【0383】 圖11-15展示在SHP77或RO-E6細胞及DLL3/CD3結合蛋白存在下，對T細胞重導引之SHP77或RKO-E6細胞溶解之誘導(圖11)及對劑量依賴型T細胞活化(圖12)、T細胞脫粒(圖13)、細胞介素分泌(圖14A：干擾素γ；14B：MCP-1)及T細胞增殖(圖15)之誘導。

實例19：將T細胞亞群重定向至SHP77細胞

【0384】 如實例10a中所描述分離PBMC。隨後，使用以下試劑及方案分離T細胞亞群：

表11：用於分離T細胞子組之試劑及方案

T細胞亞群	所使用試劑及方案
原始T細胞	Miltenyi Biotech；#130-097-095
$CD4^+$ T細胞	Miltenyi Biotech；#130-096-533
$CD4^+$效應記憶T細胞	Miltenyi Biotech；#130-094-125
$CD4^+$中央記憶T細胞	Miltenyi Biotech；#130-094-302
$CD8^+$ T細胞	Miltenyi Biotech；#130-096-495
$CD8^+CD45RA^+$效應T細胞	Miltenyi Biotech；#130-094-485
$CD8^+$記憶T細胞	Miltenyi Biotech；#130-094-412

【0385】 圖16-20展示DLL3/CD3結合蛋白對人類SHP77細胞重導向Pan T細胞(圖16)、原始T細胞(圖16)、$CD4^+$ T細胞(圖17，18)、$CD4^+$效應記憶T細胞(圖18)、$CD4^+$中央記憶T細胞(圖17)、$CD8^+$ T細胞(圖19，20)、$CD8^+CD45RA^+$效應T細胞(圖19)、$CD8^+$記憶T細胞(圖20)的效能。

實例20：具有例示性DLL3/CD3結合蛋白之SHP77異種移植腫瘤組織中之T細胞浸潤.

【0386】 製備在實例13中所描述之研究中來自小鼠之剩餘腫瘤組織，固定在福馬林中且包埋於石蠟中。隨後，製備組織切片且對T細胞上之CD3表現染色(2GV6 Ventana)。具有例示性DLL3/CD3結合蛋白之SHP77異種移植腫瘤組織中之T細胞浸潤顯示於圖21中。使用表12中之評分定量異種移植腫瘤組織中之CD3表現。

表12：針對浸潤性CD3陽性T細胞之定量評分

評分	描述
0	在切片平面中無CD3+細胞
1	有稀少的分散細胞或小簇，大多數在基質中
2	有稀少的分散細胞或小簇，在基質及邊緣中
3	在基質、上皮及邊緣中低細胞數目或簇
4	在基質及邊緣中中度細胞數目或簇；低數目上皮內細胞
5	在基質及邊緣中高細胞數目或簇；低數目上皮內細胞

實例21：產生抗-DLL3抗體

【0387】 為獲得抗-DLL3結合子，在活體外培養來源於經DLL3免疫接種之野生型及AlivaMab人類化小鼠(Ablexis, San Francisco, CA, USA: 具有人類免疫球蛋白基因座之AlivaMab基因轉殖小鼠平台)的雜交瘤或單B細胞。藉由AlphaLISA (PerkinElmer, Waltham, MA, USA)針對對重組人類DLL3之反應性，及藉由流式細胞量測術針對對表現人類DLL3之SHP-77細胞(ATCC®, CRL-2195TM)篩分上清液。

【0388】 隨後自鑑別之陽性純系擴增免疫球蛋白(Ig) VH及VL基因。為自雜交瘤RNA，將約2×10^6個來自單一純系之細胞粒化且用作源材料。對於單一B細胞，將自單獨分離之B細胞擴增之100至500個細胞用作源材料。使用RNeasy Plus (Qiagen, Hilden, Germany)分離RNA。隨後根據製造商之說明書使用Smarter cDNA合成套組(Clontech, Mountain View, CA)合成cDNA。為促進cDNA合成，使用oligodT引發所有信使RNA之逆轉錄，之後用Smarter IIA寡核苷酸「5'加帽」。使用靶向Smarter IIA端帽之5'引子及靶向CH1中之共有區之3'引子，使用2步驟PCR擴增進行VH及VL片段之後續擴增。簡言之，各50 µl PCR反應物由20 µM正向及反向引子混合物、25 µl PrimeStar Max DNA聚合酶預混合物(Clontech)、2 µl未純化之cDNA，及21 µl雙蒸餾H2O組成。循環程式在94℃下開始持續3 min，繼之以35個週期(94℃持續30秒，50℃持續1 min，68℃持續1 min)，且在72℃下持續7 min結束。用VL及VH第2輪引子進行第二輪PCR，該等引子含有「重疊」其各別pTT5母載體中之各別區域(VH及VL)之15bp互補延伸。用以下程式進行第二輪PCR：94℃持續3 min；35個週期(94℃持續30秒，50℃持續1 min，68℃持續1 min)，及

在72℃下持續7 min結束。

【0389】 使用In-Fusion® HD選殖套組(Clontech, U.S.A.)將VL基因定向選殖於pTT5 huIgK載體中且將VH基因定向選殖於pTT5 huIgG1KO載體中。為促進In-Fusion® HD選殖，PCR產物在In-Fusion HD選殖之前經純化且用選殖增強劑處理。根據製造商之方案(Clontech, U.S.A.)進行選殖及轉化。使少量製備之DNA進行桑格定序以證實獲得完整的V基因片段。

【0390】 使用此方法，製備Ig VH及VL基因對，其編碼對DLL3具有特異性之結合域。藉由用相應的重鏈及輕鏈編碼質體瞬時轉染CHO-E37細胞製備重組抗體。

重組抗體之證實篩選

【0391】 藉由流式細胞量測術針對與表現人類DLL3之細胞株的結合分析含有所表現重組抗體之上清液。簡言之，使細胞與重組上清液一起培育，洗滌，且用抗人類-IgG-APC偵測來自上清液之結合mAb (Jackson ImmunoResearch 109-136-098)。藉由以樣本之中值螢光強度(MFI)除以同型對照之中值螢光強度來計算信號/背景比(S/B)。

【0392】 在Biacore 400上對重組上清液進行表面電漿子共振(SPR)。簡言之，經由蛋白質A/G將HTP上清液中之非最佳化之IgG捕獲於傳感器表面上，在10 ul/min下持續60秒。監測100 nM人類DLL3與捕獲IgG之結合，在30 ul/min下締合180秒，之後在HBS-EP緩衝液中解離120秒。在每個結合循環之間用甘胺酸pH 2.1進行蛋白質A/G表面之再生。將以下材料用於此分析：蛋白質試劑：以重組方式表現之人類DLL3。系統操作緩衝液：HBS-EP (10 mM HEPES pH 7.4，150 mM NaCl，3 mM EDTA及0.005% v/v聚山梨醇酯P20)。捕獲試劑：蛋白質A/G，對所有人

類IgG同型均具有特異性。

【0393】 選擇相關純系(Kd<300pM)且如下所述在各種偵測分析中進一步評估。

實例22：抗-DLL3抗體與重組人類DLL3蛋白質之結合

【0394】 在ELISA中進行抗體結合。簡言之，在4℃下以2 μg/ml之濃度塗佈抗-DLL3抗體隔夜。在洗滌之後，在室溫下用阻斷緩衝液(Gibco, Gibco#043-90309A)阻斷培養盤一小時，之後洗滌且以增加濃度與重組DLL3蛋白質一起培育。為了偵測，使結合DLL3蛋白質與多株抗-DLL3抗體(R&D Systems, AB4315)繼之以SULFO-TAG標記之抗山羊抗體(R32AG-1)一起培育一小時。在Sector imager 6000 (MSD)中藉由使用讀取緩衝區(MSD)定量結合的抗體。圖22展示三種例示性抗-DLL3抗體與重組蛋白之結合。相比於靶向EGF4 (DLL3#4)或EGF1結構域(DLL3#5)之抗-DLL3抗體，靶向近膜肽結構域(DLL3#3)之抗-DLL3抗體展示與重組DLL3蛋白質之更強結合。

實例23：抗-DLL3抗體與SCLC細胞株之結合

【0395】 用在FACS緩衝液(PBS/0.5%BSA/0.05%疊氮化鈉)中濃度增加之增加濃度之抗-DLL3抗體染色細胞(T細胞或人類SCLC細胞)。藉由FACS分析用PE結合之抗小鼠二次抗體(Jackson Immuno Research, 115-116-072)偵測結合分子。相比於靶向C端肽(DLL3#1、DLL3#2、DLL3#3)之抗-DLL3抗體，靶向DSL (DLL3#6)、EGF1 (DLL3#5)或EGF4 (DLL3#4)結構域之抗-DLL3抗體展示與表現DLL3之SCLC細胞株的更強結合，如圖23中所示。

實例24：(IHC)

【0396】根據製造商之說明書，使用Ventana Discovery ultra (Ventana Medical Systems, Inc, Arizona)以20 μg/ml濃度對DLL3 mRNA陽性SCLC樣本測試抗-DLL3抗體。簡言之，對福馬林固定，石蠟包埋之組織及切片(4 μm)進行IHC，其中用抗-DLL3抗體染色。使用RUO Discovery Universal方案在Ventana Discovery Ultra平台上進行IHC分析。使用蛋白酶K作為抗原決定基擷取優化抗-DLL3抗體染色12分鐘。培育抗-DLL3抗體60分鐘，繼之以抗小鼠HQ偵測系統及抗HQ HRP兩種12分鐘。對與測試載片相同地處理之各組織切片進行陰性對照(IgG抗體)。

【0397】人類SCLC細胞株SHP77用作陽性對照。使用Leica SCN400組織學掃描儀(Leica Microsystems, Milton Keynes, UK)採集完整組織切片之數位影像。

【0398】具有例示性抗-DLL3抗體之人類SCLC樣本之免疫組織化學分析顯示於圖24中。

實例25：測定在SCLC細胞株上之表現量

【0399】使用QIFIKIT (K0078; Dako)定量抗-DLL3抗體之細胞表面表現。簡言之，用抗-DLL3抗體(DL309，WO 2011/093097)或不相關抗體(同型對照)以5 μg/ml標記SCLC細胞株(SHP77、NCI-H82及NCI-H2286)。在單獨小瓶中。隨後，提供於套組中之細胞及珠粒與螢光素結合之抗小鼠二級抗體平行標記。在BD CantoII Fluorocytometer中量測樣本且因此，螢光與細胞及珠粒上結合抗-DLL3抗體之數目相關。表12展示在三種SCLC細胞株之細胞表面上表現之DLL3分子。

表13：在SCLC細胞株之細胞表面上表現之DLL3分子

SCLC細胞株	**細胞表面DLL3分子/細胞**
SHP77 (**ATCC®, CRL-2195™**)	2061
NCI-H82 **(HTB-175TM)**	824
NCI-H2286	129

實例26：測定IHC方案對SCLC細胞株塊之敏感性

【0400】為評估IHC方案之敏感性，處理SCLC細胞株(SHP77、NCI-H82及NCI-H2286) (如醫院中之組織)且固定於福馬林中且隨後包埋於石蠟中。

【0401】根據ATCC說明書培養SCLC細胞株。自培養板刮擦細胞且固定於福馬林中且隨後添加至溶解之Histogel (Thermo Fisher scientific, HG-4000-012)中且在4℃下培育隔夜，繼之以在常規病變實驗室中進行之標準石蠟包埋程序。簡言之，在包埋石蠟(roti-Plast, #6642.5)中之前在乙醇及異丙醇中培育細胞塊。進行細胞小球塊之切片且用如實例24中所描述之方案染色切片。展示於圖25中之結果顯示，利用抗-DLL3抗體DLL3#5之IHC方案能夠偵測具有極低DLL3表現之細胞。

【序列表】

<110> 德商百靈佳殷格翰國際股份有限公司

<120> 針對癌症治療之多特異性結合蛋白

<130> 12-0431-FF-1

<160> 265

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3# 1LCCDR1

<400> 1
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn Phe Leu Val
1 5 10

<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 LCCDR2

<400> 2
Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser
1 5

<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 LCCDR3

<400> 3
Gln Gln Tyr Gly Asp Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 4
<211> 10

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 HCCDR1

<400> 4
Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 HCCDR2

<400> 5
Ile Ile Asp Pro Ser Val Gly Ser Lys Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu
1 5 10 15
Gly

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 HCCDR3

<400> 6
Ala Gly Lys Arg Phe Gly Glu Ser Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 7
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 LCCDR1

<400> 7
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 8
<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 LCCDR1

<400> 8
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 9
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 LCCDR1

<400> 9
Leu Gln His Asn Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 10
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 HCCDR1

<400> 10
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 11
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 HCCDR2

<400> 11
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 12
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 HCCDR3

<400> 12
Gly Glu Ala Val Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1   5   10   15

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 LCCDR1

<400> 13
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Val
1   5   10

<210> 14
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 LCCDR2

<400> 14
Ala Val Ser Ser Leu Tyr Ser
1   5

<210> 15
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 LCCDR3

<400> 15
Leu Gln His Asp Ser Tyr Pro Tyr Thr
1   5

<210> 16
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 HCCDR1

<400> 16
Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Val His
1 5 10

<210> 17
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 HCCDR2

<400> 17
Ile Ile Asn Pro Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu
1 5 10 15
Gly

<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 HCCDR3

<400> 18
Gly Glu Ala Val Thr Gly Asn Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15

<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 LCCDR1

<400> 19
Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Ser Phe Gly Tyr Ser Phe Met His
1 5 10 15

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 LCCDR2

<400> 20
Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 LCCDR3

<400> 21
Gln His Ser Arg Glu Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 HCCDR1

<400> 22
Val Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Phe Met Tyr
1 5 10

<210> 23
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 HCCDR2

<400> 23
Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly Asn Ser Asn Leu Asn Glu Arg Phe Lys
1 5 10 15
Asn

<210> 24
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 HCCDR3

<400> 24
Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Asp Tyr
1   5

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 LCCDR1

<400> 25
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1   5   10

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 LCCDR2

<400> 26
Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr
1   5

<210> 27
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 LCCDR3

<400> 27
Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Thr Trp Thr
1   5   10

<210> 28
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#5 HCCDR1

<400> 28
Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 29
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 HCCDR2

<400> 29
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 30
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 HCCDR3

<400> 30
Gly Trp Asp Tyr
1

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 LCCDR1

<400> 31
Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Phe Ala
1 5 10

<210> 32
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#6 LCCDR2

<400> 32
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 LCCDR3

<400> 33
Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 34
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 HCCDR1

<400> 34
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Phe Trp Ser
1 5 10

<210> 35
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 HCCDR2

<400> 35
Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Asn Ser
1 5 10 15

<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#6 HCCDR3

<400> 36
Arg Gly Asp Trp Gly Gly Phe Asp Ile
1 5

<210> 37
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 VL

<400> 37
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30
Phe Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asp Ser Pro
85 90 95
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Thr Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 38
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 VH

<400> 38
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Pro Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Asp Pro Ser Val Gly Ser Lys Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Leu Gly Arg Val Thr Ile Ala Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Phe
65 70 75 80
Leu Asp Leu Tyr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

```
                85                  90                  95
Ala Arg Ala Gly Lys Arg Phe Gly Glu Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 39
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 VL

<400> 39

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

<210> 40
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 VH

<400> 40

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

```
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Glu Ala Val Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 41
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 VL

<400> 41

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

<210> 42
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 VH

<400> 42

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

```
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Glu Ala Val Thr Gly Asn Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp
            100                 105                 110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 43
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 VL

<400> 43

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

<210> 44
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 VH

<400> 44

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

```
                85                  90                  95
Thr Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            100                 105                 110
Leu Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 45
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 VL

<400> 45

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

<210> 46
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 VH

<400> 46

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

```
                85                  90                  95
Ala Ala Gly Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
            100                 105                 110
Ser
```

<210> 47
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 VL

<400> 47

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

<210> 48
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 VH

<400> 48

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

```
                85                  90                  95
Arg Arg Gly Asp Trp Gly Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 49
<211> 477
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1 scFab

<400> 49

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

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

<210> 50
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2 scFab

<400> 50

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

```
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
            260                 265                 270
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn
    290                 295                 300
Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val
305                 310                 315                 320
Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser
                325                 330                 335
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu
            340                 345                 350
Ala Val Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
        355                 360                 365
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    370                 375                 380
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
385                 390                 395                 400
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                405                 410                 415
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            420                 425                 430
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        435                 440                 445
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475
```

<210> 51
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3 scFab

<400> 51
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ala Met Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Val Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asp Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
210 215 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225 230 235 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
245 250 255
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
260 265 270
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Val His Trp
275 280 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Val Ile Ile Asn
290 295 300
Pro Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu Gly Arg Val
305 310 315 320
Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr Met Glu Leu Lys
325 330 335
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu
340 345 350
Ala Val Thr Gly Asn Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

```
        355                 360                 365
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    370                 375                 380
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
385                 390                 395                 400
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                405                 410                 415
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            420                 425                 430
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        435                 440                 445
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475

<210> 52
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4 scFab

<400> 52
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1               5                   10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Ser Phe
            20                  25                  30
Gly Tyr Ser Phe Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Arg
                85                  90                  95
Glu Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
```

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

<210> 53
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5 scFab

<400> 53
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15
Asp Arg Val Thr Val Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
```

```
        35                  40                  45
Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro Thr
                85                  90                  95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
            260                 265                 270
Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile
    290                 295                 300
Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg
305                 310                 315                 320
Val Thr Met Thr Arg Asp Ser Ser Ile Asn Thr Ala Phe Met Glu Leu
                325                 330                 335
Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
            340                 345                 350
Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
        355                 360                 365
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
385                 390                 395                 400
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
                405                 410                 415
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
            420                 425                 430
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
```

```
        435                 440                 445
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
    450                 455                 460
Glu Pro Lys Ser Cys
465

<210> 54
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6 scFab

<400> 54
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Thr Ser Val Gly
1               5                   10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Tyr
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu
            260                 265                 270
Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Phe Trp Ser Trp
```

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

<210> 55
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 LCCDR1

<400> 55

```
Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1               5                   10
```

<210> 56
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 LCCDR2

<400> 56

```
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1               5
```

<210> 57
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 LCCDR3

<400> 57
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 HCCDR1

<400> 58
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 59
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 HCCDR2

<400> 59
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Asp

<210> 60
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 HCCDR3

<400> 60
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 61
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 LCCDR1

<400> 61
Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 62
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 LCCDR2

<400> 62
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 63
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 LCCDR3

<400> 63
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 64
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 HCCDR1

<400> 64
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
1 5 10

<210> 65
<211> 19

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 HCCDR2

<400> 65
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1   5   10   15
Val Lys Asp

<210> 66
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 HCCDR3

<400> 66
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1   5   10

<210> 67
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 VL

<400> 67
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1   5   10   15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20   25   30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
        35   40   45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
    50   55   60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65   70   75   80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85   90   95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 68
<211> 125

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 VH

<400> 68
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1   5   10   15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
            20   25   30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
    50   55   60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65   70   75   80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85   90   95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
            100   105   110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
        115   120   125

<210> 69
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 VL

<400> 69
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1   5   10   15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20   25   30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
        35   40   45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
    50   55   60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65   70   75   80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85   90   95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            100   105

<210> 70
<211> 125

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 VH

<400> 70
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120 125

<210> 71
<211> 481
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1 scFab

<400> 71
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro

```
    130                 135                 140
Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Asn Thr
145                 150                 155                 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205
Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
    290                 295                 300
Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305                 310                 315                 320
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
                325                 330                 335
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
            340                 345                 350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    370                 375                 380
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
385                 390                 395                 400
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                405                 410                 415
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            420                 425                 430
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        435                 440                 445
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
    450                 455                 460
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
465                 470                 475                 480
Cys
```

<210> 72
<211> 481
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2 scFab

<400> 72
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1   5   10   15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20   25   30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
        35   40   45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
    50   55   60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65   70   75   80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85   90   95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100   105   110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
        115   120   125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
    130   135   140
Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Asn Thr
145   150   155   160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165   170   175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180   185   190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195   200   205
Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210   215   220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225   230   235   240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
                245   250   255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
            260   265   270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
        275   280   285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
    290   295   300
Arg Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305   310   315   320
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
                325   330   335
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
            340   345   350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp

```
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    370                 375                 380
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
385                 390                 395                 400
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                405                 410                 415
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            420                 425                 430
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        435                 440                 445
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
    450                 455                 460
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
465                 470                 475                 480
Cys
```

<210> 73
<211> 703
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#1鏈

<400> 73

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
            20                  25                  30
Phe Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Pro Leu
        35                  40                  45
Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60
Gly Ser Gly Ser Gly Ala Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80
Pro Glu Asp Phe Ala Leu Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asp Ser Pro
                85                  90                  95
Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Thr Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
```

```
            180                 185                 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
            260                 265                 270
Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Met His
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Pro Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile
    290                 295                 300
Asp Pro Ser Val Gly Ser Lys Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu Gly Arg
305                 310                 315                 320
Val Thr Ile Ala Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Phe Leu Asp Leu
                325                 330                 335
Tyr Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ala
            340                 345                 350
Gly Lys Arg Phe Gly Glu Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
    370                 375                 380
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
385                 390                 395                 400
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
                405                 410                 415
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
            420                 425                 430
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
        435                 440                 445
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
    450                 455                 460
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
465                 470                 475                 480
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
                485                 490                 495
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
            500                 505                 510
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
        515                 520                 525
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
    530                 535                 540
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
545                 550                 555                 560
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
                565                 570                 575
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
```

```
            580                 585                 590
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
        595                 600                 605
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
    610                 615                 620
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
625                 630                 635                 640
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
                645                 650                 655
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
            660                 665                 670
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
        675                 680                 685
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695                 700
```

<210> 74
<211> 705
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#2鏈

<400> 74

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

```
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
            260                 265                 270
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Met His Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Ile Ile Asn
    290                 295                 300
Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val
305                 310                 315                 320
Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser
                325                 330                 335
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu
            340                 345                 350
Ala Val Gly Gly Asn Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
        355                 360                 365
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    370                 375                 380
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
385                 390                 395                 400
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                405                 410                 415
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            420                 425                 430
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        435                 440                 445
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
465                 470                 475                 480
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
                485                 490                 495
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
            500                 505                 510
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
        515                 520                 525
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    530                 535                 540
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
545                 550                 555                 560
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                565                 570                 575
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
            580                 585                 590
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
```

```
        595                 600                 605
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
    610                 615                 620
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
625                 630                 635                 640
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
                645                 650                 655
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
            660                 665                 670
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
        675                 680                 685
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
    690                 695                 700
Gly
705
```

<210> 75
<211> 705
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#3鏈

<400> 75

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

```
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val
            260                 265                 270
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Tyr Val His Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Val Ile Ile Asn
    290                 295                 300
Pro Gly Gly Gly Thr Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu Gly Arg Val
305                 310                 315                 320
Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Asn Thr Val Tyr Met Glu Leu Lys
                325                 330                 335
Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Glu
            340                 345                 350
Ala Val Thr Gly Asn Tyr Phe Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
        355                 360                 365
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    370                 375                 380
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
385                 390                 395                 400
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                405                 410                 415
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            420                 425                 430
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        435                 440                 445
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
465                 470                 475                 480
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
                485                 490                 495
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
            500                 505                 510
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
        515                 520                 525
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    530                 535                 540
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
545                 550                 555                 560
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                565                 570                 575
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
            580                 585                 590
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
```

```
        595                 600                 605
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
    610                 615                 620
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
625                 630                 635                 640
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
                645                 650                 655
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
            660                 665                 670
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
        675                 680                 685
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
    690                 695                 700
Gly
705
```

<210> 76
<211> 702
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#4鏈

<400> 76

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

```
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu
    210                 215                 220
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys
225                 230                 235                 240
Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser
                245                 250                 255
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Thr Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala
            260                 265                 270
Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Val Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
        275                 280                 285
Phe Met Tyr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile
    290                 295                 300
Gly Glu Ile Ser Pro Thr Asn Gly Asn Ser Asn Leu Asn Glu Arg Phe
305                 310                 315                 320
Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
                325                 330                 335
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
            340                 345                 350
Thr Arg Gly Gly Asp Gly Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
        355                 360                 365
Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
    370                 375                 380
Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
385                 390                 395                 400
Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
                405                 410                 415
Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
            420                 425                 430
Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
        435                 440                 445
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
    450                 455                 460
Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
465                 470                 475                 480
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
                485                 490                 495
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
            500                 505                 510
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
        515                 520                 525
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
    530                 535                 540
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
545                 550                 555                 560
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
                565                 570                 575
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
            580                 585                 590
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
```

```
        595                 600                 605
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
    610                 615                 620
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
625                 630                 635                 640
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
                645                 650                 655
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
            660                 665                 670
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
        675                 680                 685
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695                 700
```

<210> 77
<211> 695
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#5鏈

<400> 77

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

```
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
            260                 265                 270
Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Ile His
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile
    290                 295                 300
Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg
305                 310                 315                 320
Val Thr Met Thr Arg Asp Ser Ser Ile Asn Thr Ala Phe Met Glu Leu
                325                 330                 335
Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly
            340                 345                 350
Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
        355                 360                 365
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
385                 390                 395                 400
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
                405                 410                 415
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
            420                 425                 430
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
        435                 440                 445
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
    450                 455                 460
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
465                 470                 475                 480
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                485                 490                 495
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            500                 505                 510
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
        515                 520                 525
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    530                 535                 540
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
545                 550                 555                 560
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
                565                 570                 575
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
            580                 585                 590
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
        595                 600                 605
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
```

```
    610                 615                 620
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
625                 630                 635                 640
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
                645                 650                 655
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
            660                 665                 670
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
        675                 680                 685
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695
```

<210> 78
<211> 698
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#6鏈

<400> 78

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

```
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser Leu
            260                 265                 270
Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Phe Trp Ser Trp
        275                 280                 285
Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr
    290                 295                 300
Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Asn Ser Arg Leu Thr
305                 310                 315                 320
Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser
                325                 330                 335
Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Asp
            340                 345                 350
Trp Gly Gly Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Val Val Thr Val Ser
        355                 360                 365
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
    370                 375                 380
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
                405                 410                 415
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
            420                 425                 430
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
        435                 440                 445
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
    450                 455                 460
Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
465                 470                 475                 480
Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
                485                 490                 495
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
            500                 505                 510
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
        515                 520                 525
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
    530                 535                 540
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
545                 550                 555                 560
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
                565                 570                 575
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
            580                 585                 590
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
        595                 600                 605
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
    610                 615                 620
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
```

625 630 635 640
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
645 650 655
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
660 665 670
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
675 680 685
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
690 695

<210> 79
<211> 707
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#1鏈

<400> 79
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140
Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Asn Thr
145 150 155 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
195 200 205
Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
210 215 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225 230 235 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln

```
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
    290                 295                 300
Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305                 310                 315                 320
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
                325                 330                 335
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
            340                 345                 350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    370                 375                 380
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
385                 390                 395                 400
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                405                 410                 415
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            420                 425                 430
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        435                 440                 445
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
    450                 455                 460
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
465                 470                 475                 480
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
                485                 490                 495
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            500                 505                 510
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        515                 520                 525
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    530                 535                 540
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
545                 550                 555                 560
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                565                 570                 575
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            580                 585                 590
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        595                 600                 605
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
    610                 615                 620
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
625                 630                 635                 640
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
```

```
                645                 650                 655
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
            660                 665                 670
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        675                 680                 685
Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    690                 695                 700
Ser Pro Gly
705
```

<210> 80
<211> 707
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#2鏈

<400> 80

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

```
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
    290                 295                 300
Arg Ser Lys Tyr Ile Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305                 310                 315                 320
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
                325                 330                 335
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
            340                 345                 350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    370                 375                 380
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
385                 390                 395                 400
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                405                 410                 415
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            420                 425                 430
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        435                 440                 445
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
    450                 455                 460
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
465                 470                 475                 480
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
                485                 490                 495
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            500                 505                 510
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        515                 520                 525
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    530                 535                 540
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
545                 550                 555                 560
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                565                 570                 575
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            580                 585                 590
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        595                 600                 605
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
    610                 615                 620
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
625                 630                 635                 640
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
```

```
                645                 650                 655
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
            660                 665                 670
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        675                 680                 685
Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    690                 695                 700
Ser Pro Gly
705
```

<210> 81
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc結構域* (IgG1)

<400> 81

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

<210> 82
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc杵結構域(IgG1,LALA)

<400> 82
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220
Pro Gly
225

<210> 83
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc臼結構域(IgG1,RF/LALA)

<400> 83
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

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

<210> 84
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc結構域(IgG4Pro)

<400> 84

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

```
                85                  90                  95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
            100                 105                 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
        115                 120                 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
    130                 135                 140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145                 150                 155                 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
                165                 170                 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
            180                 185                 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
        195                 200                 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
    210                 215                 220
Leu Ser Leu Gly
225
```

<210> 85
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc杵結構域(IgG4Pro)

<400> 85

```
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
1               5                   10                  15
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
            20                  25                  30
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
        35                  40                  45
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
    50                  55                  60
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
65                  70                  75                  80
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
                85                  90                  95
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
            100                 105                 110
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
        115                 120                 125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
    130                 135                 140
Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
145                 150                 155                 160
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
```

```
                165                 170                 175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
            180                 185                 190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
        195                 200                 205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
    210                 215                 220
Leu Ser Leu Gly
225
```

<210> 86
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Fc臼結構域(IgG4Pro,RF)

<400> 86

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

<210> 87
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> κ輕鏈之恆定區

<400> 87
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 88
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> λ輕鏈之恆定區

<400> 88
Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser
1 5 10 15
Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp
20 25 30
Phe Tyr Pro Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro
35 40 45
Val Asn Thr Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn
50 55 60
Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys
65 70 75 80
Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val
85 90 95
Glu Lys Thr Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser
100 105

<210> 89
<211> 38

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 89
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser
1   5   10   15
Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser
            20   25   30
Thr Gly Gly Gly Gly Ser
        35

<210> 90
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 90
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1   5   10   15
Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            20

<210> 91
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 91
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1   5   10   15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            20   25

<210> 92
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 92
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1   5   10   15
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser
            20   25   30

<210> 93
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 93
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1   5   10   15
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
            20   25   30
Gly Ser

<210> 94
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 94
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1   5   10   15
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            20   25   30
Gly Gly Gly Gly Gly Ser
        35

<210> 95
<211> 42
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 95
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1   5   10   15
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly

```
            20                  25                  30
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        35                  40

<210> 96
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 LCCDR1

<400> 96
Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1               5                   10

<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 LCCDR2

<400> 97
Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1               5

<210> 98
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 LCCDR3

<400> 98
Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1               5

<210> 99
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 HCCDR1

<400> 99
Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
```

1 5 10

<210> 100
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 HCCDR2

<400> 100
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Ala Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
Val Lys Asp

<210> 101
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 HCCDR3

<400> 101
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 102
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 VL

<400> 102
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105

<210> 103
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 HL

<400> 103
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr
20 25 30
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Ala Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120 125

<210> 104
<211> 481
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3 scFab

<400> 104
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
35 40 45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro

```
            100                 105                 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
        115                 120                 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
    130                 135                 140
Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Asn Thr
145                 150                 155                 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205
Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
    290                 295                 300
Arg Ser Lys Tyr Ala Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305                 310                 315                 320
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
                325                 330                 335
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
            340                 345                 350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    370                 375                 380
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
385                 390                 395                 400
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                405                 410                 415
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            420                 425                 430
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        435                 440                 445
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
    450                 455                 460
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
465                 470                 475                 480
Cys
```

<210> 105
<211> 707
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3#3鏈

<400> 105
```
Glu Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
            20                  25                  30
Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Leu Pro Arg Gly
        35                  40                  45
Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Val Pro Ala Arg Phe
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65                  70                  75                  80
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
                85                  90                  95
Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
            100                 105                 110
Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
        115                 120                 125
Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
    130                 135                 140
Gly Ala Val Lys Val Ala Trp Lys Ala Asp Gly Ser Pro Val Asn Thr
145                 150                 155                 160
Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
                165                 170                 175
Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
            180                 185                 190
Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr
        195                 200                 205
Val Ala Pro Ala Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Thr Tyr Ala Met Asn
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile
    290                 295                 300
Arg Ser Lys Tyr Ala Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
305                 310                 315                 320
Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu
```

```
                325                 330                 335
Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val
            340                 345                 350
Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr Trp
        355                 360                 365
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro
    370                 375                 380
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
385                 390                 395                 400
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
                405                 410                 415
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
            420                 425                 430
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
        435                 440                 445
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
    450                 455                 460
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
465                 470                 475                 480
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala
                485                 490                 495
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
            500                 505                 510
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
        515                 520                 525
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
    530                 535                 540
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
545                 550                 555                 560
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
                565                 570                 575
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
            580                 585                 590
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
        595                 600                 605
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
    610                 615                 620
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
625                 630                 635                 640
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
                645                 650                 655
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
            660                 665                 670
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
        675                 680                 685
Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
    690                 695                 700
Ser Pro Gly
705
```

<210> 106
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HuDLL3(ECD)-His

<400> 106
Ala Gly Val Phe Glu Leu Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly Pro Gly
1 5 10 15
Pro Gly Ala Pro Arg Ser Pro Cys Ser Ala Arg Leu Pro Cys Arg Leu
20 25 30
Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala Ala Glu
35 40 45
Ser Pro Cys Ala Leu Gly Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro Val Tyr
50 55 60
Thr Glu Gln Pro Gly Ala Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro Asp Gly
65 70 75 80
Leu Leu Gln Val Pro Phe Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe Ser Phe
85 90 95
Ile Ile Glu Thr Trp Arg Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly Gly Pro
100 105 110
Ala Trp Ser Leu Leu Ala Arg Val Ala Gly Arg Arg Arg Leu Ala Ala
115 120 125
Gly Gly Pro Trp Ala Arg Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp Glu Leu
130 135 140
Arg Phe Ser Tyr Arg Ala Arg Cys Glu Pro Pro Ala Val Gly Thr Ala
145 150 155 160
Cys Thr Arg Leu Cys Arg Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro
165 170 175
Gly Leu Arg Pro Cys Ala Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala Pro Leu
180 185 190
Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Pro Glu His Gly Phe Cys Glu Gln Pro
195 200 205
Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys Thr Val
210 215 220
Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu Ser Pro Arg Gly Pro Ser Ser Ala
225 230 235 240
Thr Thr Gly Cys Leu Val Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro
245 250 255
Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe Glu Cys
260 265 270
Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val
275 280 285
Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly
290 295 300
Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln
305 310 315 320
Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys

```
                325                 330                 335
Arg Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg
            340                 345                 350
Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp
        355                 360                 365
Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys
385                 390                 395                 400
Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly
                405                 410                 415
Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly
            420                 425                 430
Tyr Met Gly Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser
        435                 440                 445
Ala Leu Pro Ala Ala Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg
    450                 455                 460
Tyr Leu Ala Gly Ser Ala His His His His His His
465                 470                 475
```

<210> 107
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 食蟹獼猴DLL3(ECD)-His

```
<400> 107
Ala Gly Val Phe Glu Leu Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly Pro Gly
1               5                   10                  15
Pro Gly Ala Pro Arg Ser Pro Cys Ser Ala Arg Gly Pro Cys Arg Leu
            20                  25                  30
Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala Ala Glu
        35                  40                  45
Ser Pro Cys Ala Leu Gly Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro Val Tyr
    50                  55                  60
Thr Glu Gln Pro Glu Ala Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro Asn Gly
65                  70                  75                  80
Leu Leu Gln Val Pro Phe Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu
                85                  90                  95
Ile Ile Glu Thr Trp Arg Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly Gly Pro
            100                 105                 110
Ala Trp Ser Leu Leu Ala Arg Val Thr Arg Arg Arg Arg Leu Ala Ala
        115                 120                 125
Gly Gly Pro Trp Ala Arg Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp Glu Leu
    130                 135                 140
Arg Phe Ser Tyr Arg Ala Arg Cys Glu Leu Pro Ala Val Gly Thr Ala
145                 150                 155                 160
Cys Thr Arg Leu Cys Arg Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro
```

```
                165                 170                 175
Gly Leu Arg Pro Cys Ala Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala Pro Pro
            180                 185                 190
Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Leu Glu His Gly Phe Cys Glu Gln Pro
        195                 200                 205
Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys Met Val
    210                 215                 220
Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu Gly Leu Arg Gly Pro Ser Ser Thr
225                 230                 235                 240
Thr Thr Gly Cys Leu Val Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro
                245                 250                 255
Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser Glu Thr Pro Gly Ser Phe Glu Cys
            260                 265                 270
Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val
        275                 280                 285
Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly
    290                 295                 300
Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln
305                 310                 315                 320
Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys
                325                 330                 335
Arg Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg
            340                 345                 350
Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp
        355                 360                 365
Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asn Cys
385                 390                 395                 400
Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly
                405                 410                 415
Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly
            420                 425                 430
Tyr Met Gly Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Val Ser
        435                 440                 445
Ala Leu Pro Ala Ala Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg
    450                 455                 460
Tyr Leu Ala Gly Ser Ala His His His His His His
465                 470                 475
```

<210> 108
<211> 487
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> HuCD3E+G-HuFc-His

<400> 108
```
Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
```

```
1               5                   10                  15
Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro
            20                  25                  30
Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
        35                  40                  45
Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys
    50                  55                  60
Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
65                  70                  75                  80
Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
                85                  90                  95
Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            100                 105                 110
Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Ser Gly Gly Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys Val Tyr Asp
    130                 135                 140
Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala Glu Ala Lys
145                 150                 155                 160
Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe Leu Thr Glu
                165                 170                 175
Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp Pro Arg Gly
            180                 185                 190
Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro Leu Gln Val
        195                 200                 205
Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala Ala Thr Ile
    210                 215                 220
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Gly Ser Gly Gly Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
                245                 250                 255
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
            260                 265                 270
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
        275                 280                 285
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
    290                 295                 300
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
305                 310                 315                 320
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
                325                 330                 335
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
            340                 345                 350
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
        355                 360                 365
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
    370                 375                 380
Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
385                 390                 395                 400
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
```

```
                405                 410                 415
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
            420                 425                 430
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
        435                 440                 445
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
    450                 455                 460
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Gly Ser
465                 470                 475                 480
Ala His His His His His His His
                485
```

<210> 109
<211> 477
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 食蟹獼猴CD3E+G-Fc-His

<400> 109

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

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

<210> 110
<211> 626
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 以FLAG標記之人DLL3全長

```
<400> 110
Met Val Ser Pro Arg Met Ser Gly Leu Leu Ser Gln Thr Val Ile Leu
1               5                   10                  15
Ala Leu Ile Phe Leu Pro Gln Thr Arg Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
            20                  25                  30
Asp Lys Ala Gly Val Phe Glu Leu Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly
        35                  40                  45
Pro Gly Pro Gly Ala Pro Arg Ser Pro Cys Ser Ala Arg Leu Pro Cys
    50                  55                  60
Arg Leu Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala
```

```
65                  70                  75                  80
Ala Glu Ser Pro Cys Ala Leu Gly Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro
                85                  90                  95
Val Tyr Thr Glu Gln Pro Gly Ala Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro
            100                 105                 110
Asp Gly Leu Leu Gln Val Pro Phe Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe
        115                 120                 125
Ser Phe Ile Ile Glu Thr Trp Arg Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly
    130                 135                 140
Gly Pro Ala Trp Ser Leu Leu Ala Arg Val Ala Gly Arg Arg Arg Leu
145                 150                 155                 160
Ala Ala Gly Gly Pro Trp Ala Arg Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp
                165                 170                 175
Glu Leu Arg Phe Ser Tyr Arg Ala Arg Cys Glu Pro Pro Ala Val Gly
            180                 185                 190
Thr Ala Cys Thr Arg Leu Cys Arg Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys
        195                 200                 205
Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys Ala Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala
    210                 215                 220
Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Pro Glu His Gly Phe Cys Glu
225                 230                 235                 240
Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys
                245                 250                 255
Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu Ser Pro Arg Gly Pro Ser
            260                 265                 270
Ser Ala Thr Thr Gly Cys Leu Val Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly
        275                 280                 285
Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe
    290                 295                 300
Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser
305                 310                 315                 320
Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val
                325                 330                 335
Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly
            340                 345                 350
Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln
        355                 360                 365
Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg
    370                 375                 380
Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu
385                 390                 395                 400
Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu
                405                 410                 415
Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg
            420                 425                 430
Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His
        435                 440                 445
Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala
    450                 455                 460
Pro Gly Tyr Met Gly Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly
```

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

<210> 111
<211> 626
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 以FLAG標記之食蟹獼猴DLL3全長

<400> 111

```
Met Val Ser Pro Arg Met Ser Arg Leu Leu Ser Gln Thr Val Ile Leu
1               5                   10                  15
Ala Leu Ile Phe Ile Pro Gln Ala Arg Pro Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
            20                  25                  30
Asp Lys Ala Gly Val Phe Glu Leu Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly
        35                  40                  45
Pro Gly Pro Gly Ala Pro Arg Ser Pro Cys Ser Ala Arg Gly Pro Cys
    50                  55                  60
Arg Leu Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala
65                  70                  75                  80
Ala Glu Ser Pro Cys Ala Leu Gly Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro
                85                  90                  95
Val Tyr Thr Glu Gln Pro Glu Ala Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro
            100                 105                 110
Asn Gly Leu Leu Gln Val Pro Phe Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe
        115                 120                 125
Ser Leu Ile Ile Glu Thr Trp Arg Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly
    130                 135                 140
Gly Pro Ala Trp Ser Leu Leu Ala Arg Val Thr Arg Arg Arg Arg Leu
```

```
145                 150                 155                 160
Ala Ala Gly Gly Pro Trp Ala Arg Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp
                165                 170                 175
Glu Leu Arg Phe Ser Tyr Arg Ala Arg Cys Glu Leu Pro Ala Val Gly
            180                 185                 190
Thr Ala Cys Thr Arg Leu Cys Arg Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys
        195                 200                 205
Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys Ala Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala
    210                 215                 220
Pro Pro Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Leu Glu His Gly Phe Cys Glu
225                 230                 235                 240
Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys
                245                 250                 255
Met Val Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu Gly Leu Arg Gly Pro Ser
            260                 265                 270
Ser Thr Thr Thr Gly Cys Leu Val Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly
        275                 280                 285
Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser Glu Thr Pro Gly Ser Phe
    290                 295                 300
Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser
305                 310                 315                 320
Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val
                325                 330                 335
Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly
            340                 345                 350
Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln
        355                 360                 365
Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg
    370                 375                 380
Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu
385                 390                 395                 400
Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu
                405                 410                 415
Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg
            420                 425                 430
Asn Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His
        435                 440                 445
Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala
    450                 455                 460
Pro Gly Tyr Met Gly Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly
465                 470                 475                 480
Val Ser Ala Leu Pro Ala Ala Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro
                485                 490                 495
Gln Arg Tyr Leu Leu Pro Pro Ala Leu Gly Leu Leu Val Ala Ala Gly
            500                 505                 510
Val Ala Gly Ala Ala Leu Leu Leu Val His Val Arg Arg Arg Gly His
        515                 520                 525
Ala Gln Asp Ala Gly Ser Arg Leu Leu Ala Gly Thr Pro Glu Pro Ser
    530                 535                 540
Val His Ala Leu Pro Asp Ala Leu Asn Asn Leu Arg Thr Gln Glu Gly
```

```
545                 550                 555                 560
Pro Gly Asp Val Pro Ser Ser Ser Val Asp Trp Asn Arg Pro Glu Asp
                565                 570                 575
Val Asp Ser Arg Gly Ile Tyr Val Ile Ser Ala Pro Ser Ile Tyr Ala
            580                 585                 590
Arg Glu Val Ala Met Pro Leu Phe Pro Pro Leu His Thr Gly Arg Ala
        595                 600                 605
Gly Gln Arg Gln Asn Leu Leu Phe Pro Phe Pro Ser Ser Ile Leu Ser
    610                 615                 620
Val Lys
625
```

<210> 112
<211> 731
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 以FLAG標記之人DLL1全長

<400> 112

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

```
225                 230                 235                 240
Gln His Gly Phe Cys Asp Lys Pro Gly Glu Cys Lys Cys Arg Val Gly
                245                 250                 255
Trp Gln Gly Arg Tyr Cys Asp Glu Cys Ile Arg Tyr Pro Gly Cys Leu
            260                 265                 270
His Gly Thr Cys Gln Gln Pro Trp Gln Cys Asn Cys Gln Glu Gly Trp
        275                 280                 285
Gly Gly Leu Phe Cys Asn Gln Asp Leu Asn Tyr Cys Thr His His Lys
    290                 295                 300
Pro Cys Lys Asn Gly Ala Thr Cys Thr Asn Thr Gly Gln Gly Ser Tyr
305                 310                 315                 320
Thr Cys Ser Cys Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Ala Thr Cys Glu Leu Gly
                325                 330                 335
Ile Asp Glu Cys Asp Pro Ser Pro Cys Lys Asn Gly Gly Ser Cys Thr
            340                 345                 350
Asp Leu Glu Asn Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Tyr Gly
        355                 360                 365
Lys Ile Cys Glu Leu Ser Ala Met Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe
    370                 375                 380
Asn Gly Gly Arg Cys Ser Asp Ser Pro Asp Gly Gly Tyr Ser Cys Arg
385                 390                 395                 400
Cys Pro Val Gly Tyr Ser Gly Phe Asn Cys Glu Lys Lys Ile Asp Tyr
                405                 410                 415
Cys Ser Ser Ser Pro Cys Ser Asn Gly Ala Lys Cys Val Asp Leu Gly
            420                 425                 430
Asp Ala Tyr Leu Cys Arg Cys Gln Ala Gly Phe Ser Gly Arg His Cys
        435                 440                 445
Asp Asp Asn Val Asp Asp Cys Ala Ser Ser Pro Cys Ala Asn Gly Gly
    450                 455                 460
Thr Cys Arg Asp Gly Val Asn Asp Phe Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly
465                 470                 475                 480
Tyr Thr Gly Arg Asn Cys Ser Ala Pro Val Ser Arg Cys Glu His Ala
                485                 490                 495
Pro Cys His Asn Gly Ala Thr Cys His Glu Arg Gly His Arg Tyr Val
            500                 505                 510
Cys Glu Cys Ala Arg Gly Tyr Gly Gly Pro Asn Cys Gln Phe Leu Leu
        515                 520                 525
Pro Glu Leu Pro Pro Gly Pro Ala Val Val Asp Leu Thr Glu Lys Leu
    530                 535                 540
Glu Gly Gln Gly Gly Pro Phe Pro Trp Val Ala Val Cys Ala Gly Val
545                 550                 555                 560
Ile Leu Val Leu Met Leu Leu Leu Gly Cys Ala Ala Val Val Val Cys
                565                 570                 575
Val Arg Leu Arg Leu Gln Lys His Arg Pro Pro Ala Asp Pro Cys Arg
            580                 585                 590
Gly Glu Thr Glu Thr Met Asn Asn Leu Ala Asn Cys Gln Arg Glu Lys
        595                 600                 605
Asp Ile Ser Val Ser Ile Ile Gly Ala Thr Gln Ile Lys Asn Thr Asn
    610                 615                 620
Lys Lys Ala Asp Phe His Gly Asp His Ser Ala Asp Lys Asn Gly Phe
```

625 630 635 640
Lys Ala Arg Tyr Pro Ala Val Asp Tyr Asn Leu Val Gln Asp Leu Lys
645 650 655
Gly Asp Asp Thr Ala Val Arg Asp Ala His Ser Lys Arg Asp Thr Lys
660 665 670
Cys Gln Pro Gln Gly Ser Ser Gly Glu Glu Lys Gly Thr Pro Thr Thr
675 680 685
Leu Arg Gly Gly Glu Ala Ser Glu Arg Lys Arg Pro Asp Ser Gly Cys
690 695 700
Ser Thr Ser Lys Asp Thr Lys Tyr Gln Ser Val Tyr Val Ile Ser Glu
705 710 715 720
Glu Lys Asp Glu Cys Val Ile Ala Thr Glu Val
725 730

<210> 113
<211> 693
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 以FLAG標記之人DLL4全長

<400> 113
Met Ala Ala Ala Ser Arg Ser Ala Ser Gly Trp Ala Leu Leu Leu Leu
1 5 10 15
Val Ala Leu Trp Gln Gln Arg Ala Ala Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp
20 25 30
Asp Lys Ser Gly Val Phe Gln Leu Gln Leu Gln Glu Phe Ile Asn Glu
35 40 45
Arg Gly Val Leu Ala Ser Gly Arg Pro Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr
50 55 60
Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys His Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly
65 70 75 80
Pro Cys Thr Phe Gly Thr Val Ser Thr Pro Val Leu Gly Thr Asn Ser
85 90 95
Phe Ala Val Arg Asp Asp Ser Ser Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln
100 105 110
Leu Pro Phe Asn Phe Thr Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu
115 120 125
Ala Trp His Ala Pro Gly Asp Asp Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro
130 135 140
Asp Ala Leu Ile Ser Lys Ile Ala Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly
145 150 155 160
Gln Asn Trp Leu Leu Asp Glu Gln Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg
165 170 175
Tyr Ser Tyr Arg Val Ile Cys Ser Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys
180 185 190
Ser Arg Leu Cys Lys Lys Arg Asn Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys
195 200 205
Gln Pro Asp Gly Asn Leu Ser Cys Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr

```
    210                 215                 220
Cys Gln Gln Pro Ile Cys Leu Ser Gly Cys His Glu Gln Asn Gly Tyr
225                 230                 235                 240
Cys Ser Lys Pro Ala Glu Cys Leu Cys Arg Pro Gly Trp Gln Gly Arg
                245                 250                 255
Leu Cys Asn Glu Cys Ile Pro His Asn Gly Cys Arg His Gly Thr Cys
            260                 265                 270
Ser Thr Pro Trp Gln Cys Thr Cys Asp Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe
        275                 280                 285
Cys Asp Gln Asp Leu Asn Tyr Cys Thr His His Ser Pro Cys Lys Asn
    290                 295                 300
Gly Ala Thr Cys Ser Asn Ser Gly Gln Arg Ser Tyr Thr Cys Thr Cys
305                 310                 315                 320
Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Val Asp Cys Glu Leu Glu Leu Ser Glu Cys
                325                 330                 335
Asp Ser Asn Pro Cys Arg Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Glu Asp
            340                 345                 350
Gly Tyr His Cys Leu Cys Pro Pro Gly Tyr Tyr Gly Leu His Cys Glu
        355                 360                 365
His Ser Thr Leu Ser Cys Ala Asp Ser Pro Cys Phe Asn Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Cys Arg Glu Arg Asn Gln Gly Ala Asn Tyr Ala Cys Glu Cys Pro Pro
385                 390                 395                 400
Asn Phe Thr Gly Ser Asn Cys Glu Lys Lys Val Asp Arg Cys Thr Ser
                405                 410                 415
Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Asn Arg Gly Pro Ser Arg
            420                 425                 430
Met Cys Arg Cys Arg Pro Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys Glu Leu His
        435                 440                 445
Val Ser Asp Cys Ala Arg Asn Pro Cys Ala His Gly Gly Thr Cys His
    450                 455                 460
Asp Leu Glu Asn Gly Leu Met Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser Gly
465                 470                 475                 480
Arg Arg Cys Glu Val Arg Thr Ser Ile Asp Ala Cys Ala Ser Ser Pro
                485                 490                 495
Cys Phe Asn Arg Ala Thr Cys Tyr Thr Asp Leu Ser Thr Asp Thr Phe
            500                 505                 510
Val Cys Asn Cys Pro Tyr Gly Phe Val Gly Ser Arg Cys Glu Phe Pro
        515                 520                 525
Val Gly Leu Pro Pro Ser Phe Pro Trp Val Ala Val Ser Leu Gly Val
    530                 535                 540
Gly Leu Ala Val Leu Leu Val Leu Leu Gly Met Val Ala Val Ala Val
545                 550                 555                 560
Arg Gln Leu Arg Leu Arg Arg Pro Asp Asp Gly Ser Arg Glu Ala Met
                565                 570                 575
Asn Asn Leu Ser Asp Phe Gln Lys Asp Asn Leu Ile Pro Ala Ala Gln
            580                 585                 590
Leu Lys Asn Thr Asn Gln Lys Lys Glu Leu Glu Val Asp Cys Gly Leu
        595                 600                 605
Asp Lys Ser Asn Cys Gly Lys Gln Gln Asn His Thr Leu Asp Tyr Asn
```

```
    610                 615                 620
Leu Ala Pro Gly Pro Leu Gly Arg Gly Thr Met Pro Gly Lys Phe Pro
625                 630                 635                 640
His Ser Asp Lys Ser Leu Gly Glu Lys Ala Pro Leu Arg Leu His Ser
                645                 650                 655
Glu Lys Pro Glu Cys Arg Ile Ser Ala Ile Cys Ser Pro Arg Asp Ser
            660                 665                 670
Met Tyr Gln Ser Val Cys Leu Ile Ser Glu Glu Arg Asn Glu Cys Val
        675                 680                 685
Ile Ala Thr Glu Val
    690
```

<210> 114
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FLAG標籤

<400> 114
Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1   5

<210> 115
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Vk前導序列

<400> 115
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro
1   5   10   15
Gly Ser Thr Gly Asp
            20

<210> 116
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 6His-myc標籤

<400> 116
His His His His His His Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu
1   5   10   15

<210> 117
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Ser/Gly連接子

<400> 117
Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 118
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EpCAM跨膜結構域

<400> 118
Ala Gly Val Ile Ala Val Ile Val Val Val Val Ile Ala Val Val Ala
1 5 10 15
Gly Ile Val Val Leu Val Ile
20

<210> 119
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EpCAM細胞內結構域

<400> 119
Ser Arg Lys Lys Arg Met Ala Lys Tyr Glu Lys Ala Glu Ile Lys Glu
1 5 10 15
Met Gly Glu Met His Arg Glu Leu Asn Ala
20 25

<210> 120
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EGF1

<400> 120
Ala Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Pro Glu His Gly Phe Cys
1 5 10 15
Glu Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu
20 25 30
Cys Thr

<210> 121
<211> 95
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu DLL3 EGF 1+2

<400> 121
Ala Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Pro Glu His Gly Phe Cys
1 5 10 15
Glu Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu
20 25 30
Cys Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser Cys Leu Ser Pro Arg Gly Pro
35 40 45
Ser Ser Ala Thr Thr Gly Cys Leu Val Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp
50 55 60
Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys Ser Glu Thr Pro Arg Ser
65 70 75 80
Phe Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr Gly Leu Arg Cys Glu
85 90 95

<210> 122
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EGF2

<400> 122
Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys
1 5 10 15
Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr
20 25 30
Gly Leu Arg Cys Glu
35

<210> 123
<211> 78
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu DLL3 EGF 2+3

<400> 123
Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser Cys
1 5 10 15
Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe Tyr
            20 25 30
Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys
        35 40 45
Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr
    50 55 60
Ile Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu
65 70 75

<210> 124
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EGF3

<400> 124
Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys
1 5 10 15
Val Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro
            20 25 30
Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu
        35 40

<210> 125
<211> 78
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu DLL3 EGF 3+4

<400> 125
Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys
1 5 10 15
Val Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro
            20 25 30
Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu
        35 40 45
Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys Leu Asp Leu Gly His Ala Leu
    50 55 60
Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala Gly Pro Arg Cys Glu

65 70 75

<210> 126
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EGF4

<400> 126
Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys
1 5 10 15
Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala
20 25 30
Gly Pro Arg Cys Glu
35

<210> 127
<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu DLL3 EGF 4+5

<400> 127
Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys
1 5 10 15
Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala
20 25 30
Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys
35 40 45
Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser
50 55 60
Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg
65 70 75

<210> 128
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EGF5

<400> 128
Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys
1 5 10 15
Val Glu Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly

```
            20                  25                  30
Gly Arg Asp Cys Arg
        35

<210> 129
<211> 73
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu DLL3 EGF 5+6

<400> 129
Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu
1               5                   10                  15
Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg
            20                  25                  30
Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His
        35                  40                  45
Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala
    50                  55                  60
Pro Gly Tyr Met Gly Ala Arg Cys Glu
65                  70

<210> 130
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> EGF6

<400> 130
Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys
1               5                   10                  15
Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met
            20                  25                  30
Gly Ala Arg Cys Glu
        35

<210> 131
<211> 64
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> Hu DLL3 EGF6-膜近端肽

<400> 131
Arg Ala Asp Pro Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys
```

```
1               5                   10                  15
Tyr Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met
            20                  25                  30
Gly Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu
        35                  40                  45
Pro Ala Ala Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu
    50                  55                  60
```

<210> 132
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 膜近端肽

<400> 132
```
Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu Pro Ala Ala Pro Pro
1               5                   10                  15
Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu
            20                  25
```

<210> 133
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 LCCDR1

<400> 133
```
Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn Phe Leu Ala
1               5                   10
```

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 LCCDR2

<400> 134
```
Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr
1               5
```

<210> 135
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 LCCDR3

<400> 135
Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr
1 5

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 HCCDR1

<400> 136
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Phe
1 5 10

<210> 137
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 HCCDR2

<400> 137
Val Ile Trp Leu Asp Gly Asp Asp Glu Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 138
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 HCCDR3

<400> 138
Val Leu Asp Tyr
1

<210> 139
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 LCCDR1

<400> 139
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Thr Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15
Val

<210> 140
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 LCCDR2

<400> 140
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 LCCDR3

<400> 141
Gln His Tyr Tyr Asn Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 HCCDR1

<400> 142
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Met His
1 5 10

<210> 143
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 HCCDR2

<400> 143
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Glu Gln Lys Phe Gln
1   5   10   15
Gly

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 HCCDR3

<400> 144
Asp Ala Val Val Ile Pro Met Asp Tyr
1   5

<210> 145
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 LCCDR1

<400> 145
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1   5   10

<210> 146
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 LCCDR2

<400> 146
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1   5

<210> 147
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 LCCDR3

<400> 147
Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 148
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 HCCDR1

<400> 148
Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 149
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 HCCDR2

<400> 149
Tyr Arg Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 150
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 HCCDR3

<400> 150
Ile Gly Val Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 151
<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 LCCDR1

<400> 151
Arg Ala Ser Gln Ser Leu Asn Ser Ile Phe Leu Ala
1   5   10

<210> 152
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 LCCDR2

<400> 152
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1   5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 LCCDR3

<400> 153
Gln Gln Tyr Gly Gly Ser Met Asn Thr
1   5

<210> 154
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 HCCDR1

<400> 154
Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
1   5   10

<210> 155
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 HCCDR2

<400> 155
Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Ile Phe Ala Gln Arg Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 156
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 HCCDR3

<400> 156
Asp Phe Gly Asp Thr Val Gly Asn Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 157
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 LCCDR1

<400> 157
Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 158
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 LCCDR2

<400> 158
Arg Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 159
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 LCCDR3

<400> 159
Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 160
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 HCCDR1

<400> 160
Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr Trp Ile Thr
1 5 10

<210> 161
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 HCCDR2

<400> 161
Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asn

<210> 162
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 HCCDR3

<400> 162
Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser His Tyr Leu Asp Thr
1 5 10

<210> 163
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 LCCDR1

<400> 163
Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 164
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 LCCDR2

<400> 164
Arg Thr Ser Tyr Leu Ala Ser
1 5

<210> 165
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 LCCDR3

<400> 165
Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
1 5

<210> 166
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 HCCDR1

<400> 166
Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr Trp Ile Thr
1 5 10

<210> 167
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#12 HCCDR2

<400> 167
Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asn

<210> 168
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 HCCDR3

<400> 168
Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Tyr Leu Asp Thr
1 5 10

<210> 169
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 LCCDR1

<400> 169
Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu
1 5 10 15

<210> 170
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 LCCDR2

<400> 170
Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
1 5

<210> 171
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 LCCDR3

<400> 171
Phe Gln Gly Ser His Val Pro Tyr Thr
1 5

<210> 172
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 HCCDR1

<400> 172
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Val Thr
1 5 10

<210> 173
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 HCCDR2

<400> 173
Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Ala Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Asn
1 5 10 15
Gly

<210> 174
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 HCCDR3

<400> 174
Leu Asp Asp Tyr Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 175
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 LCCDR1

<400> 175
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Met Asn
1 5 10 15

<210> 176
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 LCCDR2

<400> 176
Ala Ala Ser Thr Leu Glu Ser
1 5

<210> 177
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 LCCDR3

<400> 177
Gln Gln Ser Asp Glu Asp Pro Trp Thr
1 5

<210> 178
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 HCCDR1

<400> 178
Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 179
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#14 HCCDR2

<400> 179
Tyr Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Tyr Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15
Asp

<210> 180
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 HCCDR3

<400> 180
Ser Gly Gly Ser Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 181
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 LCCDR1

<400> 181
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 182
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 LCCDR2

<400> 182
Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 183
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#15 LCCDR3

<400> 183
Gln Gln Ser Ser Glu Asp Pro Arg Thr
1 5

<210> 184
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 HCCDR1

<400> 184
Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn
1 5 10

<210> 185
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 HCCDR2

<400> 185
Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 186
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 HCCDR3

<400> 186
Phe His Phe Ser Ser Asn Gly Asp Ala Met Asp Asn
1 5 10

<210> 187
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#16 LCCDR1

<400> 187
Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asp Trp Leu Ala
1 5 10

<210> 188
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 LCCDR2

<400> 188
Arg Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 189
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 LCCDR3

<400> 189
Gln Leu Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro Thr
1 5

<210> 190
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 HCCDR1

<400> 190
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Thr
1 5 10

<210> 191
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 HCCDR2

<400> 191
Asn Ile Lys Glu Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 192
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 HCCDR3

<400> 192
Asp Trp Gly Tyr Phe Asp Tyr
1 5

<210> 193
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 LCCDR1

<400> 193
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 194
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 LCCDR2

<400> 194
Asn Thr Asn Ser Leu Glu Asp
1 5

<210> 195
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 LCCDR3

<400> 195
Lys Gln Ala Tyr Asp Phe Pro Leu Thr
1 5

<210> 196
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 HCCDR1

<400> 196
Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 197
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 HCCDR2

<400> 197
Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asn Asn Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 198
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 HCCDR3

<400> 198
Gly Glu Gly Asn Ala Met Asp Asp
1 5

<210> 199
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 LCCDR1

<400> 199
Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser Leu Ala
1 5 10

<210> 200
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 LCCDR2

<400> 200
Asn Ala Asn Ser Leu Glu Asp
1 5

<210> 201
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 LCCDR3

<400> 201
Lys Gln Ala Tyr Asp Val Pro Leu Thr
1 5

<210> 202
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 HCCDR1

<400> 202
Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Phe Ile His
1 5 10

<210> 203
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 HCCDR2

<400> 203
Tyr Ile Asp Pro Phe Asn Asp Asp Thr Asn Tyr Asn Val Lys Phe Lys

1 5 10 15
Gly

<210> 204
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 HCCDR3

<400> 204
Gly Thr Ser Ala Thr Leu Asp Tyr
1 5

<210> 205
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 VL

<400> 205
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn
20 25 30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Phe Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg
100 105

<210> 206
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 VH

<400> 206
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

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

<210> 207
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 VL

<400> 207

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

<210> 208
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 VH

<400> 208
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Glu Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Asp Ala Val Val Ile Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 209
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 VL

<400> 209
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 210
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 VH

<400> 210
Gln Val His Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30
Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Arg Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60
Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Met Ser Asn Asn Gln Phe Ser Leu
65 70 75 80
Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Ser Ile Gly Val Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 211
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 VL

<400> 211
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Asn Ser Ile
20 25 30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Trp Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Gly Ser Met
85 90 95
Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 212
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 VH

<400> 212
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
20 25 30
Tyr Met His Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Ile Phe Ala Gln Arg Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Asp Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Phe Gly Asp Thr Val Gly Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 213
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 VL

<400> 213
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Asn Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45
Arg Thr Ser Tyr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 214
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 VH

<400> 214
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Gln Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Asn Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Lys Ala Tyr
65 70 75 80
Ile Gln Phe Ser Ser Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Ser Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser His Tyr Leu Asp Thr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 215
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 VL

<400> 215
Gln Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
20 25 30
His Trp Phe Gln Gln Asn Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45
Arg Thr Ser Tyr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
65 70 75 80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
85 90 95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 216
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 VH

<400> 216
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Phe Val Gln Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Trp Ile Thr Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Asp Ile Tyr Pro Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe
50 55 60
Lys Asn Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Ile Gln Phe Ser Ser Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Ser Leu Tyr Tyr Tyr Gly Ser Tyr Tyr Leu Asp Thr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 217
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 VL

<400> 217
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Asp Gln Ala Ala Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
20 25 30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Lys Val Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
85 90 95
Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 218
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#13 VH

<400> 218
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1   5   10   15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
            20   25   30
Gly Val Thr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Ala Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
    50   55   60
Asn Gly Arg Phe Ala Leu Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
                85   90   95
Ala Arg Leu Asp Asp Tyr Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
            100   105   110
Gly Thr Ala Leu Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 219
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 VL

<400> 219
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1   5   10   15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
            20   25   30
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
        35   40   45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
    50   55   60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65   70   75   80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp
                85   90   95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100   105   110

<210> 220
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#14 VH

<400> 220
Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Val
1 5 10 15
Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile
20 25 30
His Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr
35 40 45
Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Tyr Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp
50 55 60
Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Asn Pro Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
65 70 75 80
Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
85 90 95
Ser Gly Gly Ser Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
100 105 110
Val Ser Ser
115

<210> 221
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 VL

<400> 221
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser
85 90 95
Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 222
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#15 VH

<400> 222
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1   5   10   15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
            20   25   30
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
        35   40   45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
                85   90   95
Thr Lys Phe His Phe Ser Ser Asn Gly Asp Ala Met Asp Asn Trp Gly
            100   105   110
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
        115   120

<210> 223
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 VL

<400> 223
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1   5   10   15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asp Trp
            20   25   30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35   40   45
Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65   70   75   80
Ala Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Leu Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
                85   90   95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
            100   105

<210> 224
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#16 VH

<400> 224
Glu Val His Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1   5   10   15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20   25   30
Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35   40   45
Ala Asn Ile Lys Glu Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
    50   55   60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65   70   75   80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
                85   90   95
Ala Arg Asp Trp Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100   105   110
Thr Val Ser Ser
        115

<210> 225
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 VL

<400> 225
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
1   5   10   15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser
            20   25   30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
        35   40   45
Tyr Asn Thr Asn Ser Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Met Lys Ile Asn Ser Met Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Phe Pro Leu
                85   90   95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
            100   105

<210> 226
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#17 VH

<400> 226
Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala
1   5   10   15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr
            20   25   30
Tyr Ile His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
        35   40   45
Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asn Asn Asn Glu Lys Phe
    50   55   60
Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65   70   75   80
Met Leu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
                85   90   95
Ala Arg Gly Glu Gly Asn Ala Met Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Ser
            100   105   110
Val Thr Val Ser Ser
        115

<210> 227
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18 VL

<400> 227
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
1   5   10   15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser
            20   25   30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
        35   40   45
Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50   55   60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Met Lys Ile Asn Asn Met Gln Pro
65   70   75   80
Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Val Pro Leu
                85   90   95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
            100   105

<210> 228
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#18 VH

<400> 228
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr
20 25 30
Phe Ile His Trp Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asp Pro Phe Asn Asp Asp Thr Asn Tyr Asn Val Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Ser Ser Ile Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Thr Ser Ala Thr Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Thr
100 105 110
Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 229
<211> 469
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7 scFab

<400> 229
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn
20 25 30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Phe Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

```
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Phe
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
    290                 295                 300
Trp Leu Asp Gly Asp Asp Glu Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
305                 310                 315                 320
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
                325                 330                 335
Asn Ser Leu Arg Val Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Val
            340                 345                 350
Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
        355                 360                 365
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
385                 390                 395                 400
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
                405                 410                 415
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
            420                 425                 430
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
        435                 440                 445
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
    450                 455                 460
Glu Pro Lys Ser Cys
465
```

<210> 230
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8 scFab

<400> 230

```
Asp Ile Val Met Ala Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
```

```
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Thr
            20                  25                  30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
        35                  40                  45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
    50                  55                  60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65                  70                  75                  80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His
                85                  90                  95
Tyr Tyr Asn Ser Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
            100                 105                 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
        115                 120                 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
    130                 135                 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145                 150                 155                 160
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
                165                 170                 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
            180                 185                 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
        195                 200                 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly
    210                 215                 220
Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu
225                 230                 235                 240
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly
                245                 250                 255
Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
            260                 265                 270
Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
        275                 280                 285
Asp Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
    290                 295                 300
Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Glu Gln
305                 310                 315                 320
Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr
                325                 330                 335
Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350
Tyr Cys Thr Arg Asp Ala Val Val Ile Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
        355                 360                 365
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    370                 375                 380
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
385                 390                 395                 400
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
```

```
                405                 410                 415
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            420                 425                 430
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        435                 440                 445
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475
```

<210> 231
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9 scFab

<400> 231

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

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

<210> 232
<211> 477
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10 scFab

<400> 232

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

```
                85                  90                  95
Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
            260                 265                 270
Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
        275                 280                 285
Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile
    290                 295                 300
Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Ile Phe Ala Gln Arg Phe Gln Gly Arg
305                 310                 315                 320
Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu
                325                 330                 335
Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp
            340                 345                 350
Phe Gly Asp Thr Val Gly Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
    370                 375                 380
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
385                 390                 395                 400
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
                405                 410                 415
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
            420                 425                 430
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
        435                 440                 445
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
    450                 455                 460
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475
```

<210> 233
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11 scFab

<400> 233
```
Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1               5                  10                  15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
            20                  25                  30
His Trp Phe Gln Gln Asn Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
        35                  40                  45
Arg Thr Ser Tyr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
                85                  90                  95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205
Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
                245                 250                 255
Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Gln Pro Gly Ser Ser Val Lys Met Ser
            260                 265                 270
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr Trp Ile Thr Trp Val
        275                 280                 285
Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro
    290                 295                 300
Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe Lys Asn Lys Ala Thr
305                 310                 315                 320
Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Lys Ala Tyr Ile Gln Phe Ser Ser
```

```
                325                 330                 335
Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Leu Tyr Tyr
            340                 345                 350
Tyr Gly Ser His Tyr Leu Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
        355                 360                 365
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
385                 390                 395                 400
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
                405                 410                 415
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
        435                 440                 445
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
    450                 455                 460
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470
```

<210> 234
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12 scFab

<400> 234

```
Gln Val Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Thr Tyr Ile
            20                  25                  30
His Trp Phe Gln Gln Asn Pro Gly Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
        35                  40                  45
Arg Thr Ser Tyr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60
Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Met Glu Ala Glu
65                  70                  75                  80
Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Arg Thr
                85                  90                  95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
            100                 105                 110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
        115                 120                 125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
    130                 135                 140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145                 150                 155                 160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
```

```
                165                 170                 175
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
            180                 185                 190
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
        195                 200                 205
Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln
                245                 250                 255
Gln Pro Gly Ala Glu Phe Val Gln Pro Gly Ser Ser Val Lys Met Ser
            260                 265                 270
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr Trp Ile Thr Trp Val
        275                 280                 285
Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro
    290                 295                 300
Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe Lys Asn Arg Ala Thr
305                 310                 315                 320
Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Ile Gln Phe Ser Ser
                325                 330                 335
Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Leu Tyr Tyr
            340                 345                 350
Tyr Gly Ser Tyr Tyr Leu Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
        355                 360                 365
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
385                 390                 395                 400
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
                405                 410                 415
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
        435                 440                 445
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
    450                 455                 460
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470
```

<210> 235
<211> 480
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13 scFab

<400> 235

```
Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
```

```
1               5                   10                  15
Asp Gln Ala Ala Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Ser
            20                  25                  30
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
        35                  40                  45
Pro Lys Val Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
    50                  55                  60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65                  70                  75                  80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
                85                  90                  95
Ser His Val Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
            100                 105                 110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
        115                 120                 125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
    130                 135                 140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145                 150                 155                 160
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
                165                 170                 175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
            180                 185                 190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
        195                 200                 205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
    210                 215                 220
Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly
225                 230                 235                 240
Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255
Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly
            260                 265                 270
Glu Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn
        275                 280                 285
Tyr Gly Val Thr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp
    290                 295                 300
Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Ala Pro Thr Tyr Ala Asp Asp
305                 310                 315                 320
Phe Asn Gly Arg Phe Ala Leu Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala
                325                 330                 335
Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
            340                 345                 350
Cys Ala Arg Leu Asp Asp Tyr Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Ala Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
    370                 375                 380
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
385                 390                 395                 400
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
```

```
                405                 410                 415
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            420                 425                 430
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        435                 440                 445
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    450                 455                 460
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475                 480
```

<210> 236
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14 scFab

<400> 236

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

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

<210> 237
<211> 480
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15 scFab

<400> 237
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His

```
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser
                85                  90                  95
Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu
    210                 215                 220
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys
225                 230                 235                 240
Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser
                245                 250                 255
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
            260                 265                 270
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
        275                 280                 285
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
    290                 295                 300
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
305                 310                 315                 320
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
                325                 330                 335
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
            340                 345                 350
Thr Lys Phe His Phe Ser Ser Asn Gly Asp Ala Met Asp Asn Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
    370                 375                 380
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
385                 390                 395                 400
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                405                 410                 415
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            420                 425                 430
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        435                 440                 445
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    450                 455                 460
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
```

465 470 475 480

<210> 238
<211> 471
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16 scFab

<400> 238
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asp Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
35 40 45
Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Ala Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Leu Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
210 215 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225 230 235 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val His Leu
245 250 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
260 265 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Thr Trp
275 280 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Asn Ile Lys

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

<210> 239
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17 scFab

<400> 239
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asn Thr Asn Ser Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Met Lys Ile Asn Ser Met Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Phe Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
```

```
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu
                245                 250                 255
Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile
            260                 265                 270
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Tyr Ile His Trp
        275                 280                 285
Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr
    290                 295                 300
Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asn Asn Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Thr
305                 310                 315                 320
Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Leu Leu Ser
                325                 330                 335
Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Glu
            340                 345                 350
Gly Asn Ala Met Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
        355                 360                 365
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
    370                 375                 380
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
                405                 410                 415
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
            420                 425                 430
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
        435                 440                 445
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
    450                 455                 460
Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470
```

<210> 240
<211> 472
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3#18 scFab

<400> 240

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Met Lys Ile Asn Asn Met Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Val Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met
            260                 265                 270
Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Phe Ile His Trp
        275                 280                 285
Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asp
    290                 295                 300
Pro Phe Asn Asp Asp Thr Asn Tyr Asn Val Lys Phe Lys Gly Lys Ala
305                 310                 315                 320
Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Ser Ser Ile Ala Tyr Met Glu Leu Ser
                325                 330                 335
Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr
            340                 345                 350
Ser Ala Thr Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
        355                 360                 365
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
```

```
    370                 375                 380
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
                405                 410                 415
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
            420                 425                 430
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
        435                 440                 445
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
    450                 455                 460
Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470

<210> 241
<211> 695
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#7鏈

<400> 241
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asn Ser Asn
            20                  25                  30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Thr Pro Arg Leu Leu
        35                  40                  45
Ile Phe Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
    50                  55                  60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65                  70                  75                  80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
                85                  90                  95
Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Arg Arg Thr Val Ala
            100                 105                 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
        115                 120                 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
    130                 135                 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145                 150                 155                 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
                165                 170                 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
            180                 185                 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
        195                 200                 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
```

```
    210                 215                 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
                245                 250                 255
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg
            260                 265                 270
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met Phe
        275                 280                 285
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Val Ile
    290                 295                 300
Trp Leu Asp Gly Asp Asp Glu Asp Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
305                 310                 315                 320
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met
                325                 330                 335
Asn Ser Leu Arg Val Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Val
            340                 345                 350
Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
        355                 360                 365
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
    370                 375                 380
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
385                 390                 395                 400
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
                405                 410                 415
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
            420                 425                 430
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
        435                 440                 445
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
    450                 455                 460
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
465                 470                 475                 480
Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
                485                 490                 495
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
            500                 505                 510
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
        515                 520                 525
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
    530                 535                 540
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
545                 550                 555                 560
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
                565                 570                 575
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
            580                 585                 590
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
        595                 600                 605
Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
```

```
    610                 615                 620
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
625                 630                 635                 640
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
                645                 650                 655
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
            660                 665                 670
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
        675                 680                 685
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695
```

<210> 242
<211> 705
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#8鏈

<400> 242

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

```
225                 230                 235                 240
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly
                245                 250                 255
Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro
            260                 265                 270
Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr
        275                 280                 285
Asp Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu
    290                 295                 300
Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Glu Gln
305                 310                 315                 320
Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr
                325                 330                 335
Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350
Tyr Cys Thr Arg Asp Ala Val Val Ile Pro Met Asp Tyr Trp Gly Gln
        355                 360                 365
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
    370                 375                 380
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
385                 390                 395                 400
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
                405                 410                 415
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
            420                 425                 430
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
        435                 440                 445
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
    450                 455                 460
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
465                 470                 475                 480
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
                485                 490                 495
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
            500                 505                 510
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
        515                 520                 525
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
    530                 535                 540
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
545                 550                 555                 560
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
                565                 570                 575
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
            580                 585                 590
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
        595                 600                 605
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
    610                 615                 620
Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
```

625 630 635 640
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
645 650 655
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
660 665 670
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
675 680 685
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
690 695 700
Gly
705

<210> 243
<211> 700
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#9鏈

<400> 243
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Ser
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro
85 90 95
Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
210 215 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly

```
225                 230                 235                 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val His
                245                 250                 255
Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu Thr Leu Ser
            260                 265                 270
Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser
        275                 280                 285
Trp Ile Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gly Leu Asp Trp Ile Gly Tyr Arg
    290                 295                 300
Tyr Tyr Ser Gly Asn Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val
305                 310                 315                 320
Thr Ile Ser Leu Asp Met Ser Asn Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser
                325                 330                 335
Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ser Ile Gly
            340                 345                 350
Val Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
        355                 360                 365
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
385                 390                 395                 400
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
                405                 410                 415
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
        435                 440                 445
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
    450                 455                 460
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
465                 470                 475                 480
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
                485                 490                 495
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
            500                 505                 510
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
        515                 520                 525
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
    530                 535                 540
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
545                 550                 555                 560
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
                565                 570                 575
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
            580                 585                 590
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
        595                 600                 605
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
    610                 615                 620
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
```

625 630 635 640
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
645 650 655
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
660 665 670
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
675 680 685
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
690 695 700

<210> 244
<211> 703
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#10鏈

<400> 244
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Asn Ser Ile
20 25 30
Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Trp Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Gly Ser Met
85 90 95
Asn Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160
Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175
Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190
Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205
Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
210 215 220
Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly
225 230 235 240
Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln

```
                245                 250                 255
Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
            260                 265                 270
Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His
        275                 280                 285
Trp Val Arg Leu Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile
    290                 295                 300
Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Ile Phe Ala Gln Arg Phe Gln Gly Arg
305                 310                 315                 320
Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Val Tyr Met Asp Leu
                325                 330                 335
Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp
            340                 345                 350
Phe Gly Asp Thr Val Gly Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
    370                 375                 380
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
385                 390                 395                 400
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
                405                 410                 415
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
            420                 425                 430
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
        435                 440                 445
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
    450                 455                 460
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
465                 470                 475                 480
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser
                485                 490                 495
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
            500                 505                 510
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
        515                 520                 525
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
    530                 535                 540
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
545                 550                 555                 560
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
                565                 570                 575
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
            580                 585                 590
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
        595                 600                 605
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
    610                 615                 620
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
625                 630                 635                 640
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
```

```
                645                 650                 655
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
            660                 665                 670
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
        675                 680                 685
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695                 700
```

<210> 245
<211> 700
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#11鏈

<400> 245

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

```
            260                 265                 270
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Asp Tyr Trp Ile Thr Trp Val
        275                 280                 285
Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro
    290                 295                 300
Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe Lys Asn Lys Ala Thr
305                 310                 315                 320
Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Lys Ala Tyr Ile Gln Phe Ser Ser
                325                 330                 335
Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Leu Tyr Tyr
            340                 345                 350
Tyr Gly Ser His Tyr Leu Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
        355                 360                 365
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
385                 390                 395                 400
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
                405                 410                 415
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
        435                 440                 445
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
    450                 455                 460
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
465                 470                 475                 480
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
                485                 490                 495
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
            500                 505                 510
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
        515                 520                 525
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
    530                 535                 540
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
545                 550                 555                 560
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
                565                 570                 575
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
            580                 585                 590
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
        595                 600                 605
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
    610                 615                 620
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
625                 630                 635                 640
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
                645                 650                 655
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
```

```
            660                 665                 670
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
        675                 680                 685
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695                 700
```

<210> 246
<211> 700
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#12鏈

<400> 246

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

```
        275                 280                 285
Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Asp Ile Tyr Pro
    290                 295                 300
Gly Ser Gly Ser Thr Lys Ser Ser Glu Lys Phe Lys Asn Arg Ala Thr
305                 310                 315                 320
Leu Thr Ala Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Ile Gln Phe Ser Ser
                325                 330                 335
Leu Thr Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Val Ser Leu Tyr Tyr
            340                 345                 350
Tyr Gly Ser Tyr Tyr Leu Asp Thr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr
        355                 360                 365
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
385                 390                 395                 400
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
                405                 410                 415
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
        435                 440                 445
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
    450                 455                 460
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
465                 470                 475                 480
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
                485                 490                 495
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
            500                 505                 510
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
        515                 520                 525
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
    530                 535                 540
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
545                 550                 555                 560
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
                565                 570                 575
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
            580                 585                 590
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
        595                 600                 605
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
    610                 615                 620
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
625                 630                 635                 640
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
                645                 650                 655
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
            660                 665                 670
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
```

```
        675                 680                 685
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695                 700
```

<210> 247
<211> 706
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#13鏈

<400> 247

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

```
    290                 295                 300
Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Ser Gly Ala Pro Thr Tyr Ala Asp Asp
305                 310                 315                 320
Phe Asn Gly Arg Phe Ala Leu Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala
                325                 330                 335
Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe
            340                 345                 350
Cys Ala Arg Leu Asp Asp Tyr Asp Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Ala Leu Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
    370                 375                 380
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
385                 390                 395                 400
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                405                 410                 415
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            420                 425                 430
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        435                 440                 445
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    450                 455                 460
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475                 480
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
                485                 490                 495
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            500                 505                 510
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        515                 520                 525
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    530                 535                 540
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
545                 550                 555                 560
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                565                 570                 575
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            580                 585                 590
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        595                 600                 605
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    610                 615                 620
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
625                 630                 635                 640
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                645                 650                 655
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            660                 665                 670
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        675                 680                 685
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
```

690 695 700
Pro Gly
705

<210> 248
<211> 700
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#14鏈

<400> 248
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
Gly Asp Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp
85 90 95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu
210 215 220
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys
225 230 235 240
Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255
Gln Ile Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Lys Pro Gly Val
260 265 270
Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr Ile
275 280 285
His Trp Met Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr

```
    290                 295                 300
Ile Tyr Pro Gly Asn Ser Tyr Thr Ala Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp
305                 310                 315                 320
Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Asn Pro Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
                325                 330                 335
Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
            340                 345                 350
Ser Gly Gly Ser Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
        355                 360                 365
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
    370                 375                 380
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
385                 390                 395                 400
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
                405                 410                 415
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
            420                 425                 430
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
        435                 440                 445
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
    450                 455                 460
Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
465                 470                 475                 480
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
                485                 490                 495
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
            500                 505                 510
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
        515                 520                 525
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
    530                 535                 540
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
545                 550                 555                 560
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
                565                 570                 575
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
            580                 585                 590
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
        595                 600                 605
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
    610                 615                 620
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
625                 630                 635                 640
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
                645                 650                 655
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
            660                 665                 670
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
        675                 680                 685
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
```

690 695 700

<210> 249
<211> 706
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#15鏈

<400> 249
Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ile Pro Ala
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser
85 90 95
Glu Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
130 135 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145 150 155 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
180 185 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
195 200 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu
210 215 220
Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys
225 230 235 240
Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser
245 250 255
Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
260 265 270
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
275 280 285
Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
290 295 300
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

```
305                 310                 315                 320
Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
                325                 330                 335
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys
            340                 345                 350
Thr Lys Phe His Phe Ser Ser Asn Gly Asp Ala Met Asp Asn Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
    370                 375                 380
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
385                 390                 395                 400
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
                405                 410                 415
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
            420                 425                 430
Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
        435                 440                 445
Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
    450                 455                 460
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
465                 470                 475                 480
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
                485                 490                 495
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            500                 505                 510
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        515                 520                 525
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    530                 535                 540
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
545                 550                 555                 560
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                565                 570                 575
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            580                 585                 590
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        595                 600                 605
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
    610                 615                 620
Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
625                 630                 635                 640
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                645                 650                 655
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            660                 665                 670
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
        675                 680                 685
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
    690                 695                 700
Pro Gly
```

705

<210> 250
<211> 697
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#16鏈

<400> 250
```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asp Trp
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Phe Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Arg Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80
Ala Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Leu Tyr Asn Ser Tyr Ser Pro
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val His Leu
                245                 250                 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
            260                 265                 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Trp Met Thr Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Asn Ile Lys
    290                 295                 300
Glu Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
```

```
305                 310                 315                 320
Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn
                325                 330                 335
Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Trp
            340                 345                 350
Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        355                 360                 365
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
    370                 375                 380
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
385                 390                 395                 400
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
                405                 410                 415
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
            420                 425                 430
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
        435                 440                 445
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
    450                 455                 460
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
465                 470                 475                 480
Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
                485                 490                 495
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
            500                 505                 510
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
        515                 520                 525
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
    530                 535                 540
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
545                 550                 555                 560
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
                565                 570                 575
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
            580                 585                 590
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
        595                 600                 605
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
    610                 615                 620
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
625                 630                 635                 640
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                645                 650                 655
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
            660                 665                 670
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
        675                 680                 685
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695
```

<210> 251
<211> 698
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#17鏈

<400> 251
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asn Thr Asn Ser Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Met Lys Ile Asn Ser Met Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
210 215 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225 230 235 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Ile Gln Leu
245 250 255
Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Ile
260 265 270
Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Tyr Ile His Trp
275 280 285
Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr
290 295 300
Pro Gly Asp Gly Ser Thr Asn Asn Asn Glu Lys Phe Lys Gly Lys Thr
305 310 315 320
Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Leu Leu Ser

```
                325                 330                 335
Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Glu
            340                 345                 350
Gly Asn Ala Met Asp Asp Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser
        355                 360                 365
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
    370                 375                 380
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
                405                 410                 415
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
            420                 425                 430
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
        435                 440                 445
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
    450                 455                 460
Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
465                 470                 475                 480
Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
                485                 490                 495
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
            500                 505                 510
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
        515                 520                 525
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
    530                 535                 540
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
545                 550                 555                 560
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
                565                 570                 575
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
            580                 585                 590
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
        595                 600                 605
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
    610                 615                 620
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
625                 630                 635                 640
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
                645                 650                 655
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
            660                 665                 670
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
        675                 680                 685
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695
```

<210> 252
<211> 698

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3#18鏈

<400> 252
```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Ala Ser Val Gly
1               5                  10                  15
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Tyr Ser
            20                  25                  30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Ile
        35                  40                  45
Tyr Asn Ala Asn Ser Leu Glu Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60
Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Met Lys Ile Asn Asn Met Gln Pro
65                  70                  75                  80
Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Lys Gln Ala Tyr Asp Val Pro Leu
                85                  90                  95
Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
            100                 105                 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
        115                 120                 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
    130                 135                 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145                 150                 155                 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
                165                 170                 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
            180                 185                 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
        195                 200                 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
    210                 215                 220
Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
225                 230                 235                 240
Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu
                245                 250                 255
Gln Gln Ser Gly Pro Asp Leu Val Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Met
            260                 265                 270
Ser Cys Glu Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ala Tyr Phe Ile His Trp
        275                 280                 285
Val Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Tyr Ile Asp
    290                 295                 300
Pro Phe Asn Asp Asp Thr Asn Tyr Asn Val Lys Phe Lys Gly Lys Ala
305                 310                 315                 320
Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Ser Ser Ile Ala Tyr Met Glu Leu Ser
                325                 330                 335
Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Thr
```

```
            340                 345                 350
Ser Ala Thr Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser
        355                 360                 365
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
    370                 375                 380
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
385                 390                 395                 400
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
                405                 410                 415
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
            420                 425                 430
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
        435                 440                 445
Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
    450                 455                 460
Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
465                 470                 475                 480
Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
                485                 490                 495
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
            500                 505                 510
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
        515                 520                 525
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
    530                 535                 540
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
545                 550                 555                 560
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
                565                 570                 575
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
            580                 585                 590
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
        595                 600                 605
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
    610                 615                 620
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
625                 630                 635                 640
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
                645                 650                 655
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
            660                 665                 670
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
        675                 680                 685
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    690                 695
```

<210> 253
<211> 61
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重鏈之區域

<400> 253
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
1   5   10   15
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            20   25   30
Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        35   40   45
Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
    50   55   60

<210> 254
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 小鼠

<400> 254
Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
1   5   10   15
Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
            20   25   30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
        35   40   45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
    50   55   60
Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
65   70   75   80
Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys
                85   90   95
Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
            100   105   110
Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro
        115   120   125
Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
    130   135   140
Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
145   150   155   160
Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
                165   170   175
Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
            180   185   190
His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn
        195   200   205
Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly

```
    210                 215                 220
Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu
225                 230                 235                 240
Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met
                245                 250                 255
Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu
            260                 265                 270
Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe
        275                 280                 285
Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn
    290                 295                 300
Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
305                 310                 315                 320
Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
                325                 330
```

<210> 255
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 小鼠

<400> 255

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

<210> 256
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-1 HC

<400> 256

```
Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
```

```
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Ser
            20                  25                  30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg His Ser Asn Val Asn Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
    210                 215                 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
```

```
                405                 410                 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

<210> 257
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-1 LC

<400> 257
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Thr Ser
            20                  25                  30
Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
                85                  90                  95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215

<210> 258
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
```

<223> PD1-2 HC

<400> 258

```
Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ala Ser
            20                  25                  30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg His Ser Asn Pro Asn Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
    210                 215                 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
```

```
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445
```

<210> 259
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-2 LC

<400> 259

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

<210> 260
<211> 446

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-3 HC

<400> 260
```
Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Ser
            20                  25                  30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg His Ser Asn Val Asn Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
    210                 215                 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
```

```
            340                 345                 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445

<210> 261
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-3 LC

<400> 261
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Val Ser
            20                  25                  30
Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
                85                  90                  95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
```

210 215

<210> 262
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-4 HC

<400> 262
Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Ser
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Ser Asn Val Asn Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

```
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445
```

<210> 263
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-4 LC

<400> 263

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Val Ser
            20                  25                  30
Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
                85                  90                  95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
```

```
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215

<210> 264
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-5 HC

<400> 264
Glu Val Met Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Ser
            20                  25                  30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Gly Asp Thr Tyr Tyr Ser Ser Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg His Ser Asn Val Asn Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
        115                 120                 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
    130                 135                 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145                 150                 155                 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
                165                 170                 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
            180                 185                 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
        195                 200                 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
    210                 215                 220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225                 230                 235                 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
                245                 250                 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
```

```
        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
            340                 345                 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385                 390                 395                 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
                405                 410                 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
            420                 425                 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
        435                 440                 445
```

<210> 265
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> PD1-5 LC

<400> 265

```
Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1               5                   10                  15
Glu Arg Ala Thr Met Ser Cys Arg Ala Ser Glu Asn Ile Asp Val Ser
            20                  25                  30
Gly Ile Ser Phe Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Val Ala Ser Asn Gln Gly Ser Gly Ile Pro Ala
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65                  70                  75                  80
Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Lys
                85                  90                  95
Glu Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
            100                 105                 110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
        115                 120                 125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
    130                 135                 140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
```

```
145                 150                 155                 160
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
                165                 170                 175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
            180                 185                 190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
        195                 200                 205
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種蛋白質，其包含與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元及與CD3特異性結合之第二抗原結合單元，其中該與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元係選自由i)至iii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；及

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；

及其中該與CD3特異性結合之第二抗原結合單元包含：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)

及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64 (CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【第2項】

如請求項1之蛋白質，其中該與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元包含第一輕鏈可變域及第一重鏈可變域且選自由i)至iii)組成之群：

i)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之重鏈可變域；

ii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之重鏈可變域；及

iii)包含以下之抗原結合單元：包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之重鏈可變域。

【第3項】

如請求項1或2之蛋白質，其中該與CD3特異性結合之第二抗原結合單元包含：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68之重鏈可變域；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 70之重鏈可變域。

【第4項】

如請求項1或2之蛋白質，其中

i)該與DLL3特異性結合之第一抗原結合單元自其N端至C端，包含第一輕鏈可變域、第一輕鏈恆定域、第一肽連接子、第一重鏈可變域及第一重鏈恆定CH1域；且

ii)該與CD3特異性結合之第二抗原結合單元自其N端至C端，包含第二輕鏈可變域、第二輕鏈恆定域、第二肽連接子、第二重鏈可變域及第二重鏈恆定CH1域。

【第5項】

如請求項4之蛋白質，其中該第一及/或第二肽連接子包含26至42個胺基酸、30至40個胺基酸、34至40個胺基酸、或36至39個胺基酸。

【第6項】

如請求項4之蛋白質，其中該第一肽連接子及/或第二肽連接子係Gly-Ser連接子，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 89。

【第7項】

如請求項4之蛋白質，其進一步包含第一及第二Fc域，該第一Fc域共價連接至該第一抗原結合單元，且該第二Fc域共價連接至該第二抗原結合單元。

【第8項】

如請求項7之蛋白質，其中

i)該第一Fc域包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，且該第二Fc域包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]，或

ii)該第一Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第二Fc域包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]，或

iii)該第二Fc域包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，且該第一Fc域包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]，或

iv)該第二Fc域包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第一

Fc域包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]，

其中該Fc域之胺基酸之編號係根據EU編號體系。

【第9項】

如請求項8之蛋白質，其中該第一及/或該第二Fc域進一步包含在位置234處之丙胺酸[L234A]及在位置235處之丙胺酸[L235A]，其中該Fc域之胺基酸之編號係根據EU編號體系。

【第10項】

如請求項4之蛋白質，其中該第一輕鏈恆定域及該第二輕鏈恆定域包含人類κ或λ域。

【第11項】

一種蛋白質，其包含：

(i) 與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，該第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73，及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，該第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 79；或

(ii) 與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，該第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 74，及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，該第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 79；或

(iii) 與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，該第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 75，及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，該第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 79；或

(iv) 與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，該第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 73，及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，該第

二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 80；或

(v) 與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，該第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 74，及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，該第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 80；或

(vi) 與DLL3特異性結合之第一多肽鏈，該第一多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 75，及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，該第二多肽鏈包含胺基酸序列SEQ ID NO: 80。

【第12項】

一種宿主細胞，其經兩個表現載體轉染，該表現載體編碼SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74或SEQ ID NO: 75之第一多肽鏈，及另一個表現載體編碼SEQ ID NO: 79或SEQ ID NO: 80之第二多肽鏈。

【第13項】

一種製造如請求項11之蛋白質之方法，其包含

i)在允許表現如請求項11之蛋白質之條件下培育如請求項12之宿主細胞；及，

ii)回收該蛋白質。

【第14項】

如請求項13之方法，進一步包含純化及/或修飾及/或調配該蛋白質。

【第15項】

一種蛋白質，其包含與DLL3特異性結合之第一多肽鏈及與CD3特異性結合之第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含第一輕鏈、第一肽連接子及第一重鏈，且該第二多肽鏈包含第二輕鏈、第二肽連接子及第二重鏈，其中該第一輕鏈之C端經由該第一肽連接子共價連接至該第一重鏈之N端，

且其中該第二輕鏈之C端經由該第二肽連接子共價連接至該第二重鏈之N端；及

其中該與DLL3特異性結合之第一多肽鏈包含輕鏈可變域及重鏈可變域，其等包含選自由i)至iii)組成之群的CDR序列：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:1 (CDR1)、SEQ ID NO:2 (CDR2)及SEQ ID NO:3 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:4 (CDR1)、SEQ ID NO:5 (CDR2)及SEQ ID NO:6 (CDR3)之重鏈CDR；

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:7 (CDR1)、SEQ ID NO:8 (CDR2)及SEQ ID NO:9 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:10 (CDR1)、SEQ ID NO:11 (CDR2)及SEQ ID NO:12 (CDR3)之重鏈CDR；及

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:13 (CDR1)、SEQ ID NO:14 (CDR2)及SEQ ID NO:15 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:16 (CDR1)、SEQ ID NO:17 (CDR2)及SEQ ID NO:18 (CDR3)之重鏈CDR；

及其中該與CD3特異性結合之第二多肽鏈包含輕鏈可變域及重鏈可變域，其等包含：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO:55 (CDR1)、SEQ ID NO:56 (CDR2)及SEQ ID NO:57 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:58 (CDR1)、SEQ ID NO:59 (CDR2)及SEQ ID NO:60 (CDR3)之重鏈CDR；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO:61 (CDR1)、SEQ ID NO:62 (CDR2)及SEQ ID NO:63 (CDR3)之輕鏈CDR；及包含胺基酸序列SEQ ID NO:64

(CDR1)、SEQ ID NO:65 (CDR2)及SEQ ID NO:66 (CDR3)之重鏈CDR。

【第16項】

如請求項15之蛋白質，其中該與DLL3特異性結合之第一多肽鏈包含輕鏈可變域及重鏈可變域，其等選自由i)至iii)組成之群：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 37之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 38之重鏈可變域；

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 39之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 40之重鏈可變域；及

iii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 41之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 42之重鏈可變域。

【第17項】

如請求項15或16之蛋白質，其中該與CD3特異性結合之第二多肽鏈包含：

i)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 67之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 68之重鏈可變域；或

ii)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 69之輕鏈可變域及包含胺基酸序列SEQ ID NO: 70之重鏈可變域。

【第18項】

如請求項15或16之蛋白質，其中該第一及/或第二肽連接子包含26至42個胺基酸、30至40個胺基酸、34至40個胺基酸、或36至39個胺基酸。

【第19項】

如請求項18之蛋白質，其中該第一肽連接子及/或第二肽連接子係Gly-Ser連接子，其包含胺基酸序列SEQ ID NO: 89。

【第20項】

如請求項15或16之蛋白質，其中

i)該第一重鏈包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，且該第二重鏈包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]，或

ii)該第一重鏈包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第二重鏈包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]，或

iii)該第二重鏈包含在位置366處之酪胺酸(Y) [T366Y]，且該第一重鏈包含在位置407處之蘇胺酸(T) [Y407T]，或

iv)該第二重鏈包含在位置366處之色胺酸(W) [T366W]，且該第一重鏈包含在位置366處之絲胺酸(S) [T366S]、在位置368處之丙胺酸(A) [L368A]及在位置407處之纈胺酸(V) [Y407V]，

其中該Fc域之胺基酸之編號係根據EU編號體系。

【第21項】

如請求項20之蛋白質，其中該第一及/或該第二重鏈進一步包含在位置234處之丙胺酸[L234A]及在位置235處之丙胺酸[L235A]，其中該Fc域之胺基酸之編號係根據EU編號體系。

【第22項】

如請求項15或16之蛋白質，其中該第一輕鏈及該第二輕鏈包含人類κ或λ域。

【第23項】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至11及15至22中任一項之蛋白質及醫藥學上可接受之載劑。

【第24項】

一種如請求項1至11及15至21中任一項之蛋白質之用途，其用於製備用於治療癌症之醫藥組合物。

【第25項】

如請求項24之用途，其中該癌症係表現DLL3之腫瘤。

【第26項】

如請求項25之用途，其中該癌症係SCLC、神經膠母細胞瘤或表現DLL3之神經內分泌腫瘤。

【第27項】

如請求項24至26中任一項之用途，其中該蛋白質與以下組合使用：化學治療劑、抑制血管生成之治療活性化合物、信號轉導路徑抑制劑、EGFR抑制劑、免疫調節物、免疫檢查點抑制劑或激素療法藥劑。

【第28項】

如請求項27之用途，其中該蛋白質與抗PD-1抗體或抗PD-L1抗體組合。

【第29項】

如請求項28之用途，其中該抗PD-1抗體選自由以下所組成之群：

(i) 一種抗體，其包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 256之重鏈及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 257之輕鏈；

(ii) 一種抗體，其包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 258之重鏈及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 259之輕鏈；

(iii) 一種抗體，其包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 260之重鏈及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 261之輕鏈；

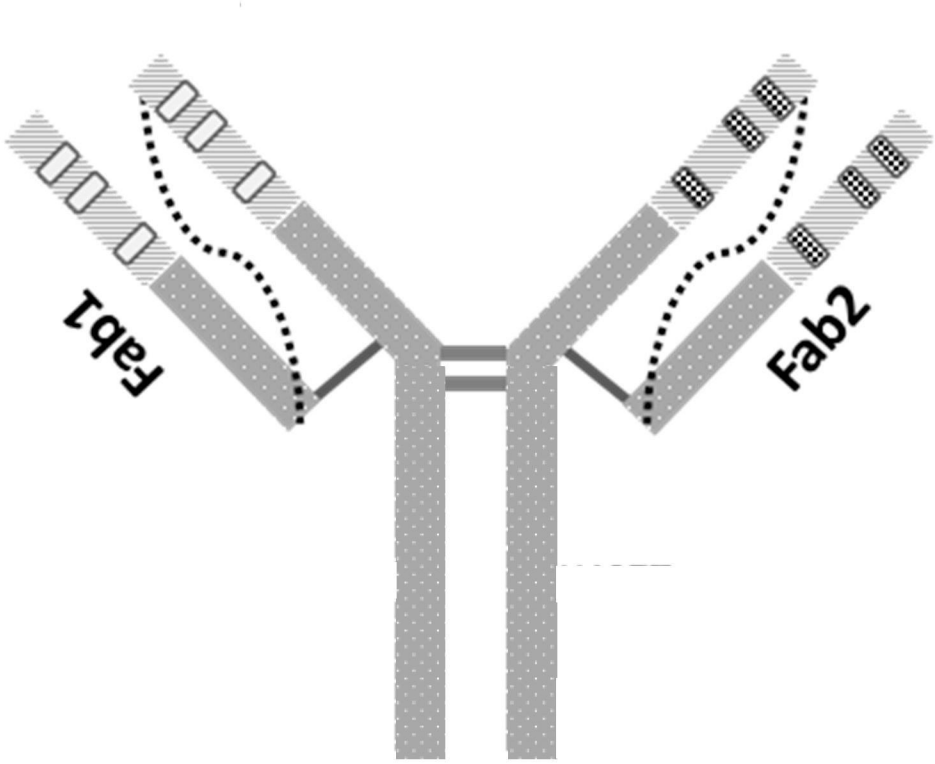
(iv) 一種抗體，其包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 262之重鏈及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 263之輕鏈；及

(v) 一種抗體，其包含含有胺基酸序列SEQ ID NO: 264之重鏈及含有胺基酸序列SEQ ID NO: 265之輕鏈。

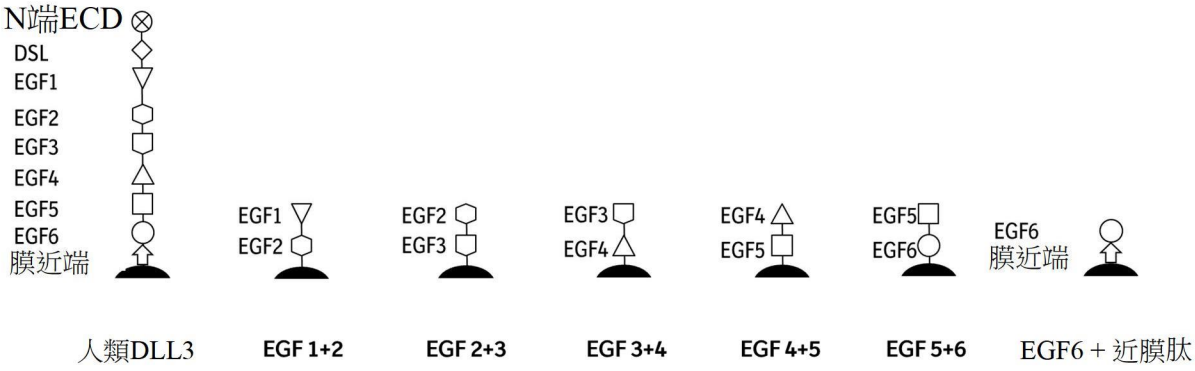
【發明圖式】

抗DLL3

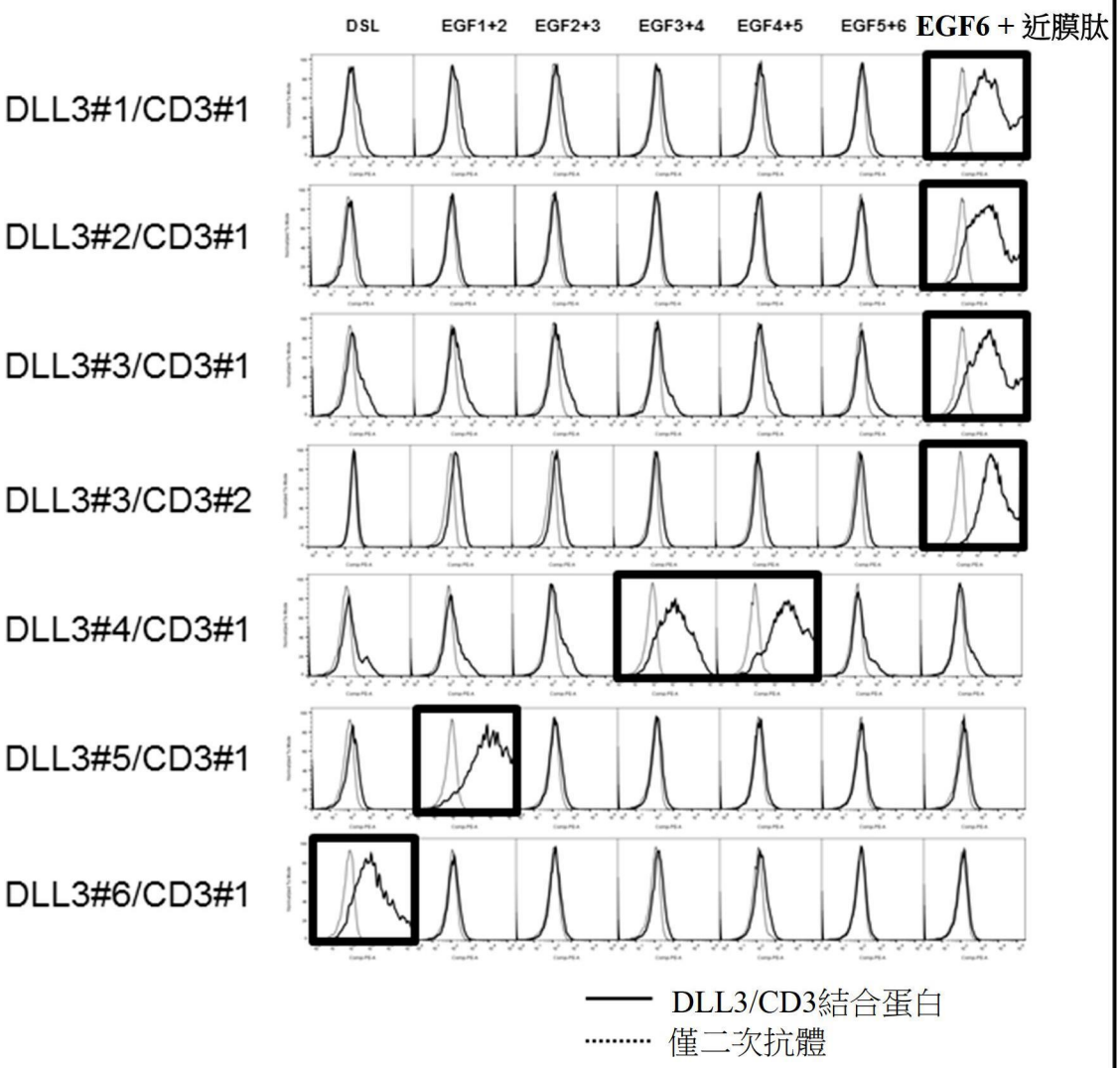
抗CD3



【圖1】

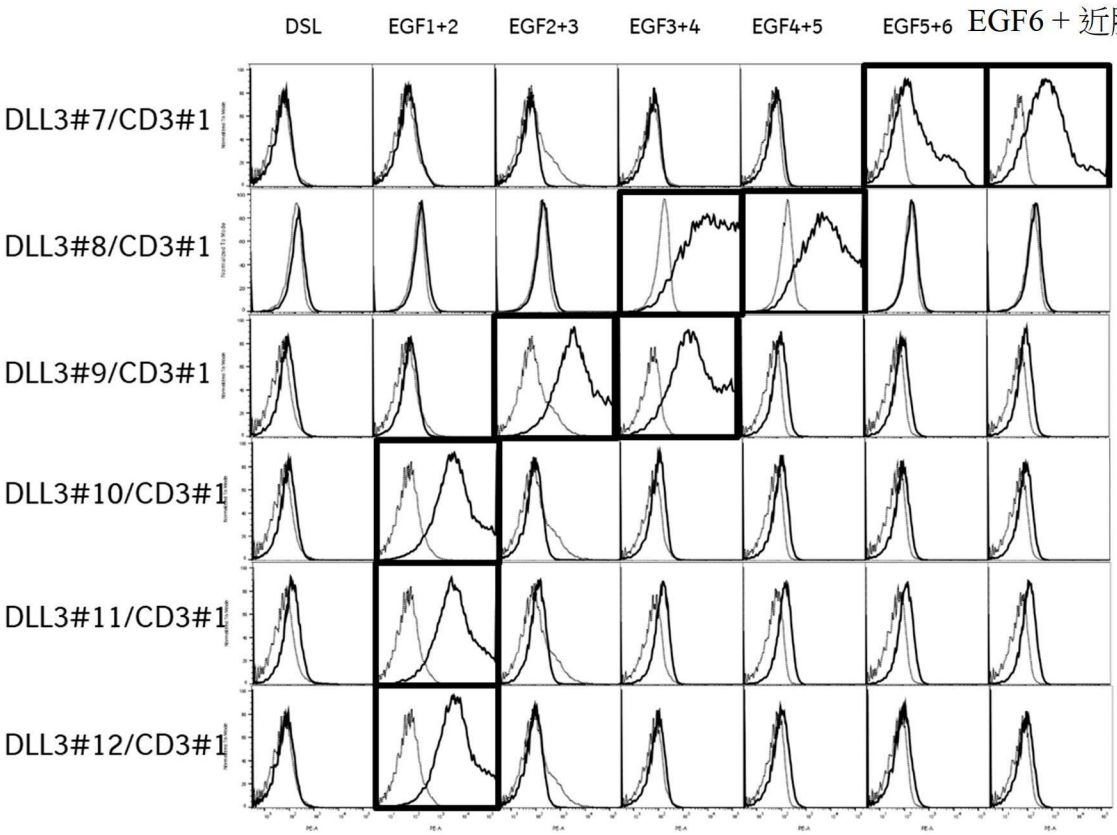

N端ECD
DSL
EGF1
EGF2
EGF3
EGF4
EGF5
EGF6
膜近端
EGF1
EGF2
EGF2
EGF3
EGF3
EGF4
EGF4
EGF5
EGF5
EGF6
EGF6
膜近端
人類DLL3
EGF 1+2
EGF 2+3
EGF 3+4
EGF 4+5
EGF 5+6
EGF6 + 近膜肽

【圖2】



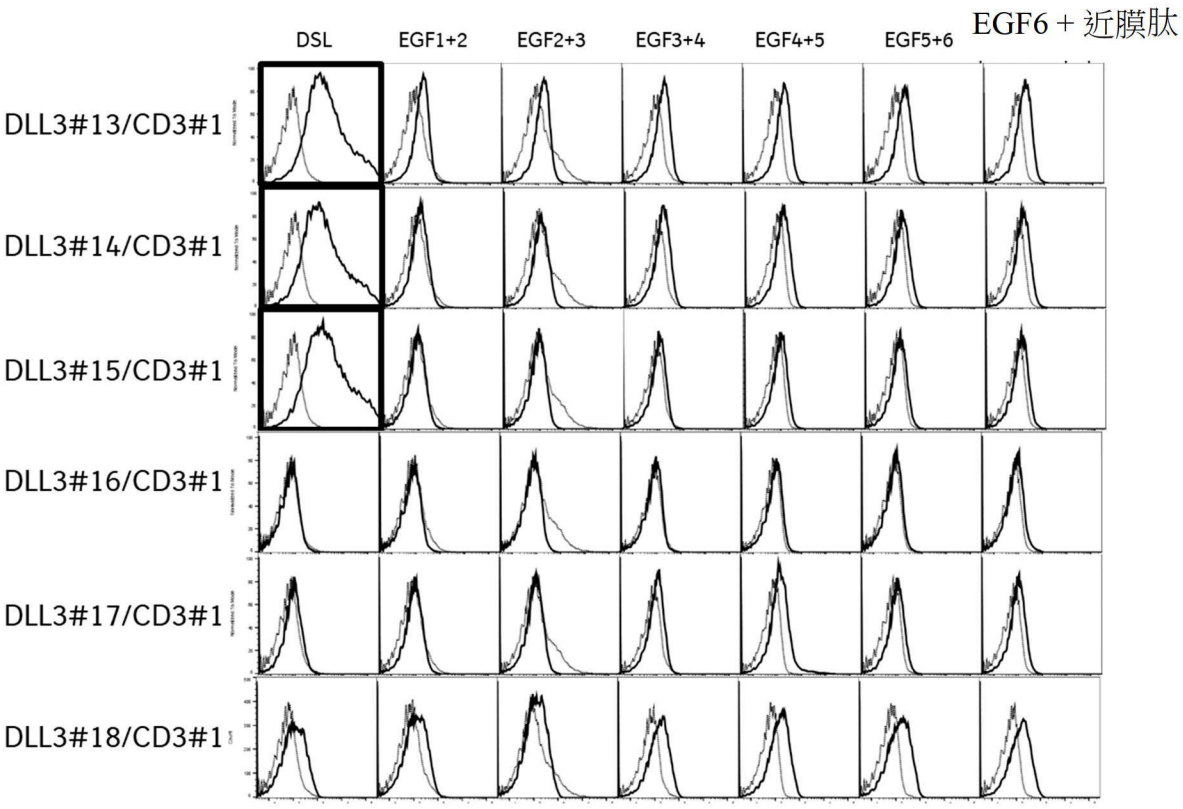
DLL3/CD3 結合蛋白	抗原決定基結構域
DLL3#1/CD3#1	近膜肽
DLL3#2/CD3#1	近膜肽
DLL3#3/CD3#1	近膜肽
DLL3#3/CD3#2	近膜肽
DLL3#4/CD3#1	EGF4
DLL3#5/CD3#1	EGF1
DLL3#6/CD3#1	DSL

【圖3A】



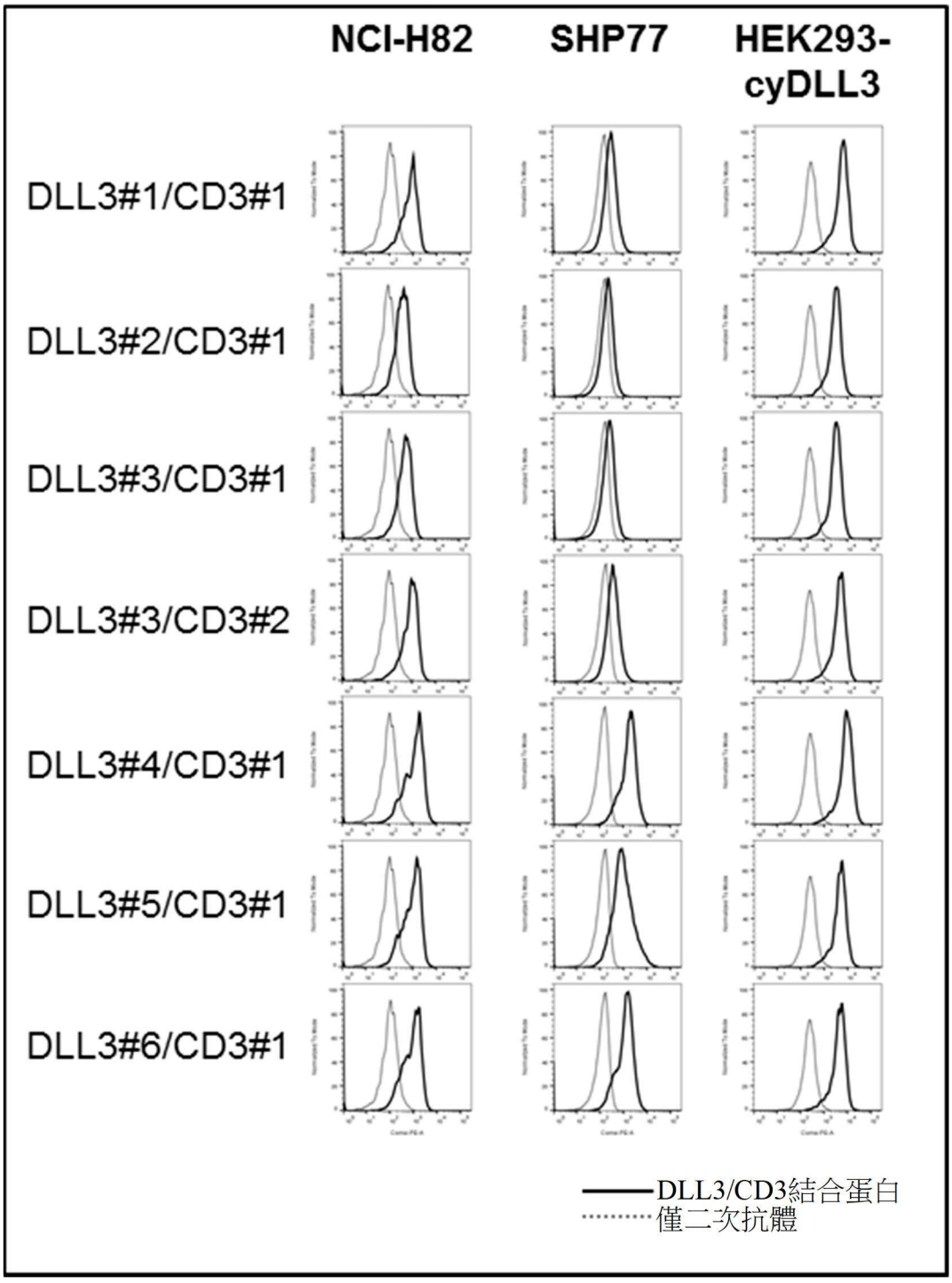
DLL3/CD3結合蛋白	抗原決定基結構域
DLL3#7/CD3#1	EGF6
DLL3#8/CD3#1	EGF4
DLL3#9/CD3#1	EGF3
DLL3#10/CD3#1	EGF1
DLL3#11/CD3#1	EGF1
DLL3#12/CD3#1	EGF1

【圖3B】

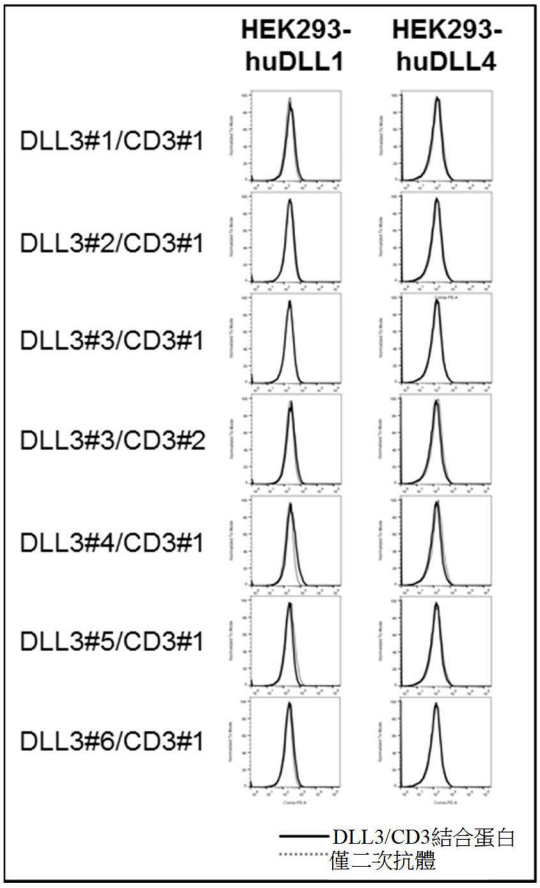


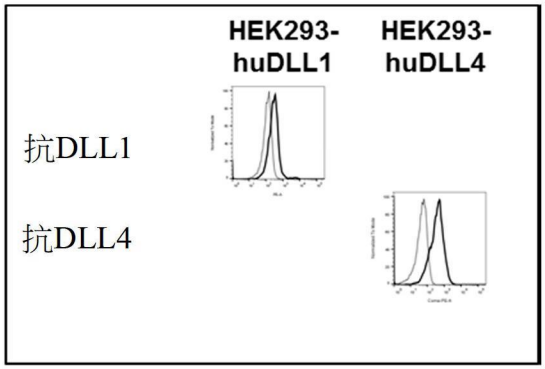
DLL3/CD3結合蛋白	抗原決定基結構域
DLL3#6/CD3#1	DSL
DLL3#13/CD3#1	DSL
DLL3#14/CD3#1	DSL
DLL3#15/CD3#1	DSL
DLL3#16/CD3#1	非DSL-非EGF1-6-非近膜肽
DLL3#17/CD3#1	非DSL-非EGF1-6-非近膜肽
DLL3#18/CD3#1	非DSL-非EGF1-6-非近膜肽

【圖3C】

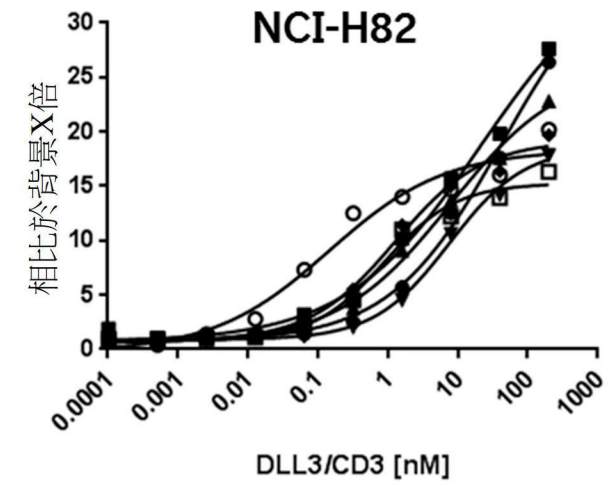

NCI-H82
SHP77
HEK293-cyDLL3
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2
DLL3#4/CD3#1
DLL3#5/CD3#1
DLL3#6/CD3#1
DLL3/CD3結合蛋白
僅二次抗體

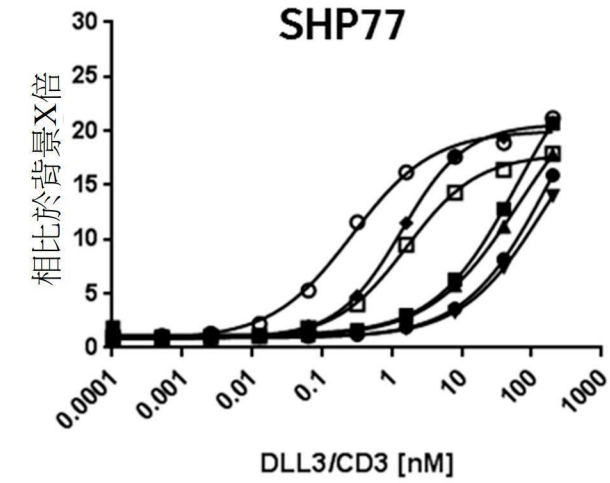
【圖4】

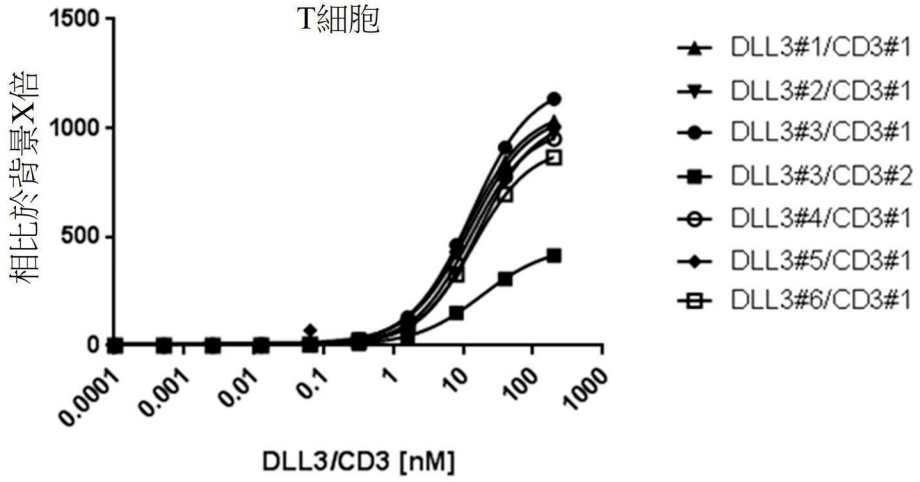

HEK293-huDLL1
HEK293-huDLL4
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2
DLL3#4/CD3#1
DLL3#5/CD3#1
DLL3#6/CD3#1
DLL3/CD3結合蛋白
僅二次抗體


HEK293-huDLL1
HEK293-huDLL4
抗DLL1
抗DLL4

【圖5】

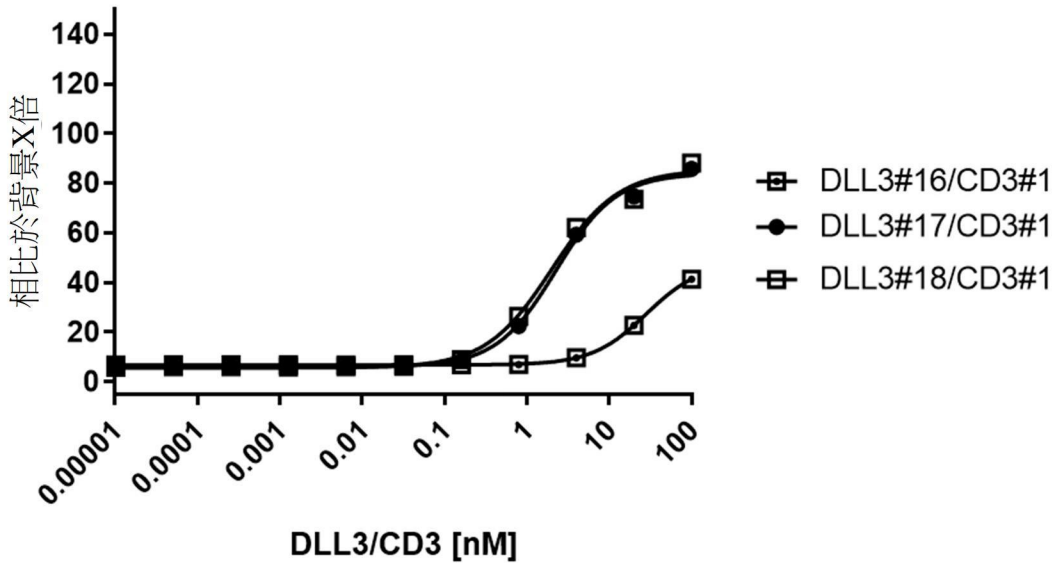

NCI-H82
相比於背景X倍
30
25
20
15
10
5
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]


SHP77
相比於背景X倍
30
25
20
15
10
5
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]

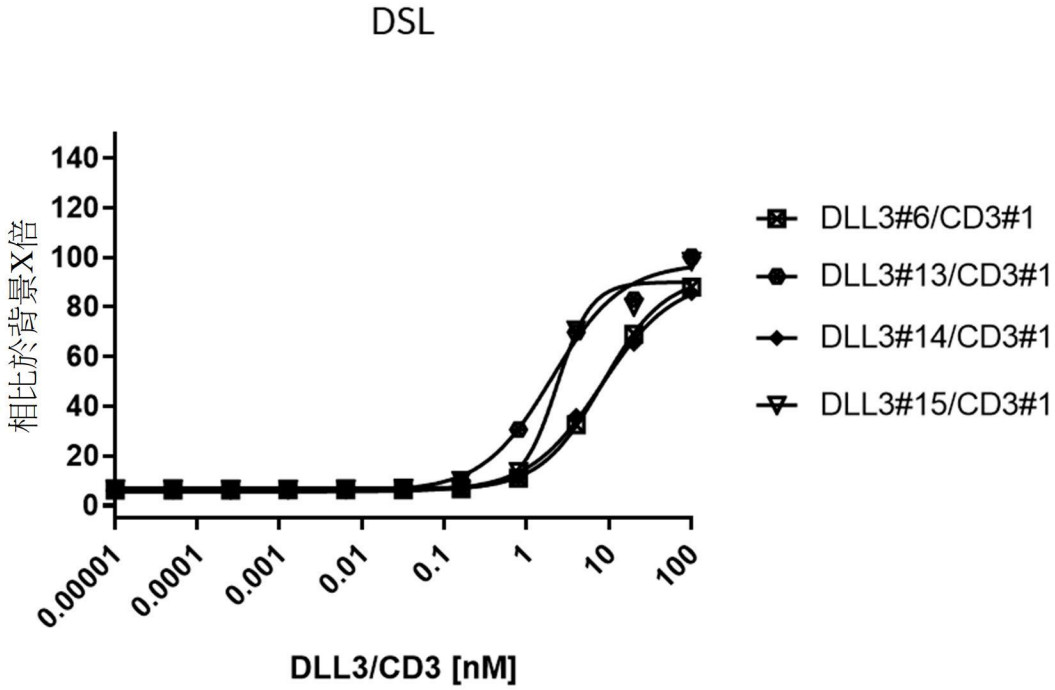

T細胞
相比於背景X倍
1500
1000
500
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2
DLL3#4/CD3#1
DLL3#5/CD3#1
DLL3#6/CD3#1

【圖6A】

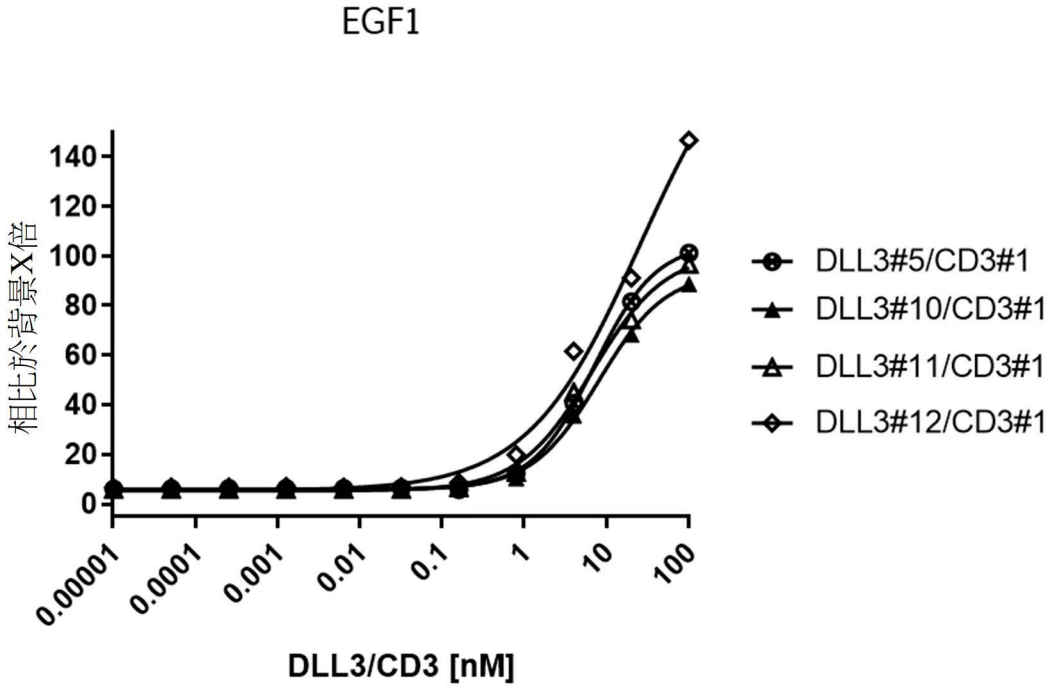
非DSL-非EGF1-6-非近膜肽



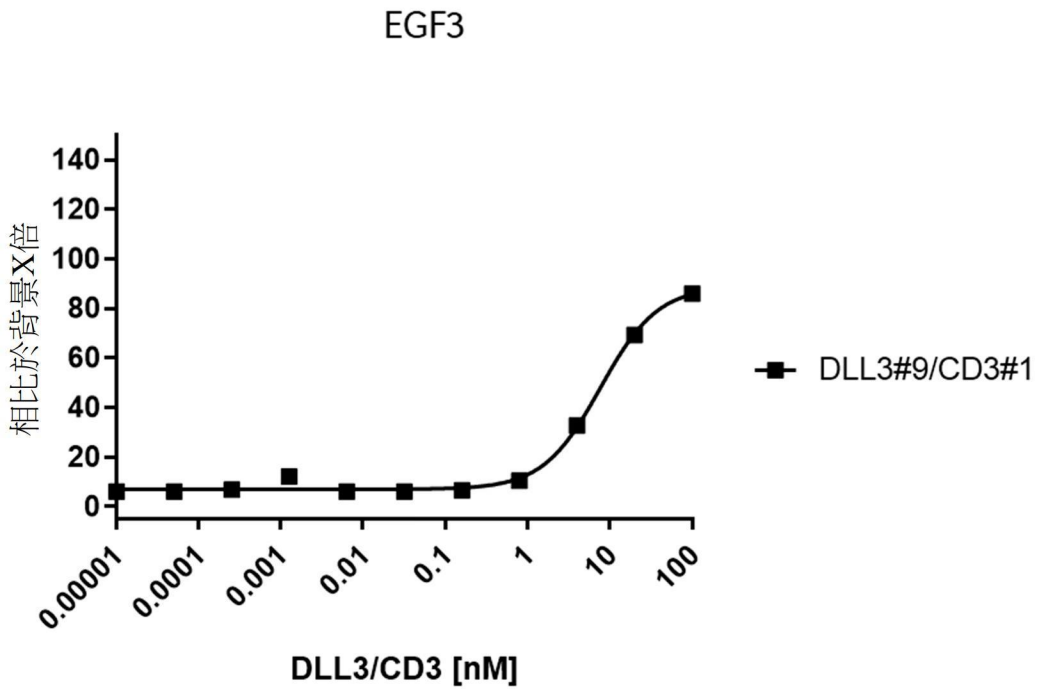
【圖6B】


DSL
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#6/CD3#1
DLL3#13/CD3#1
DLL3#14/CD3#1
DLL3#15/CD3#1

【圖6C】

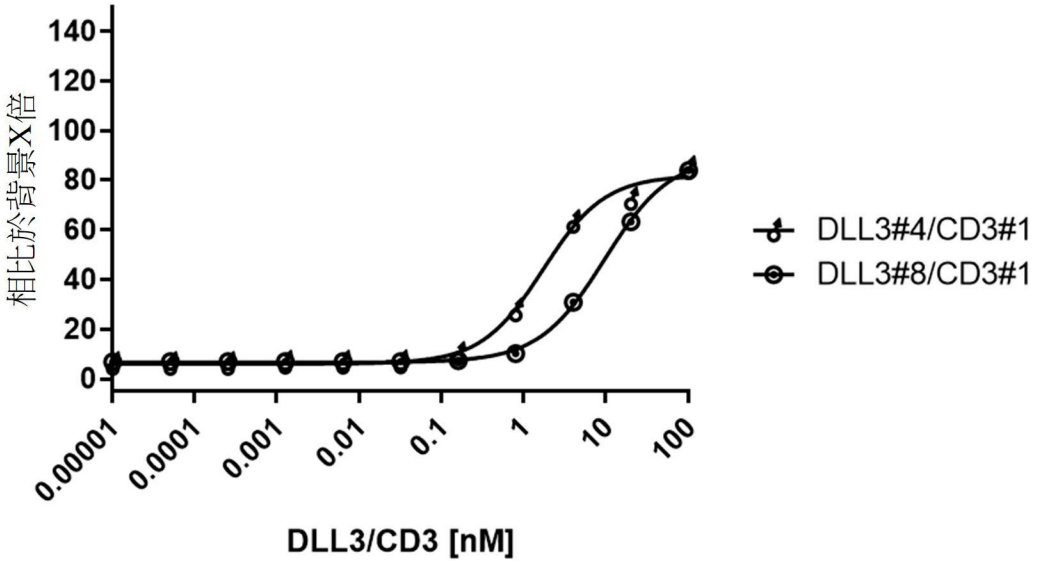

EGF1
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#5/CD3#1
DLL3#10/CD3#1
DLL3#11/CD3#1
DLL3#12/CD3#1

【圖6D】


EGF3
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#9/CD3#1

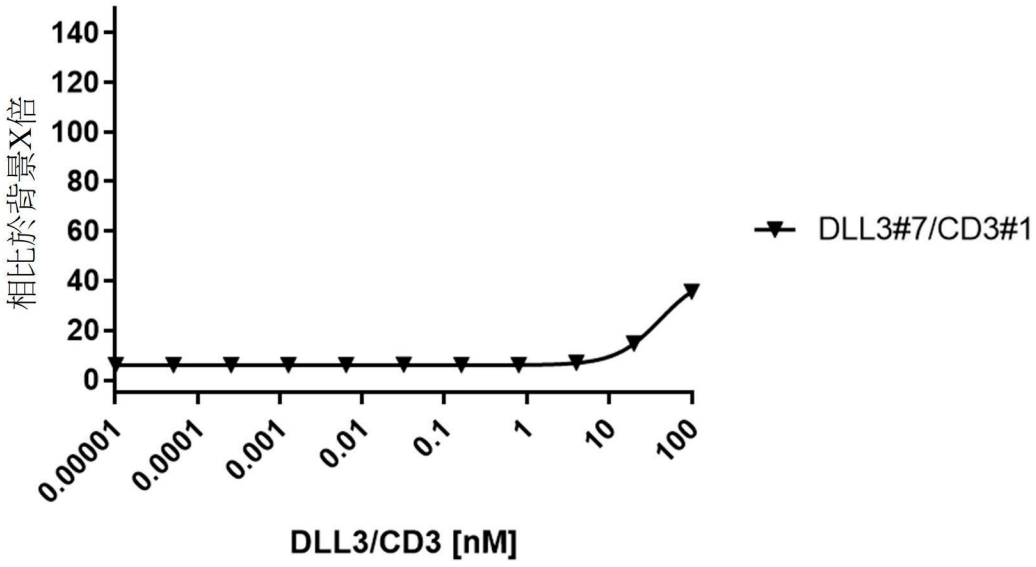
【圖6E】

EGF4


140
120
100
80
60
40
20
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#4/CD3#1
DLL3#8/CD3#1

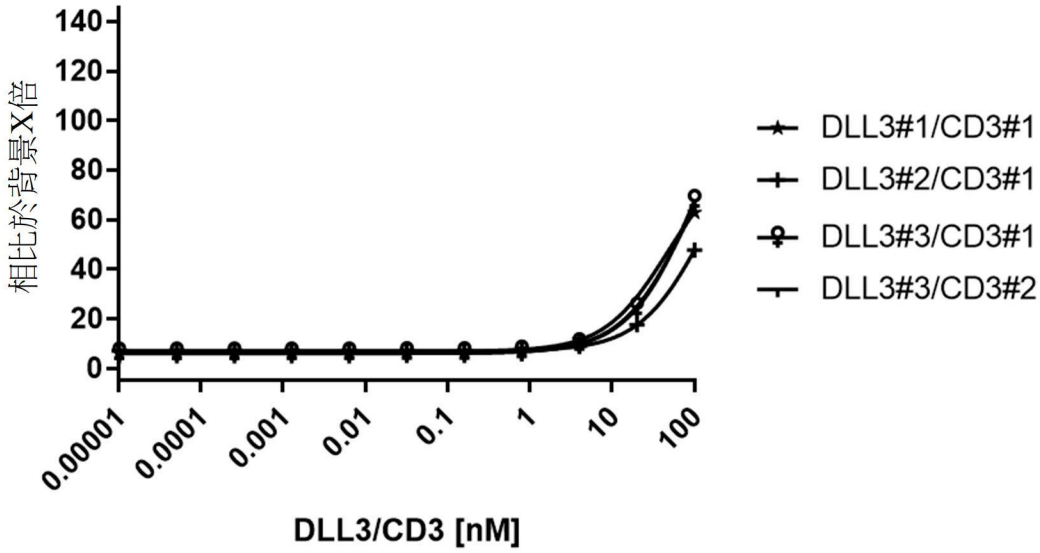
【圖6F】

EGF6


140
120
100
80
60
40
20
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#7/CD3#1

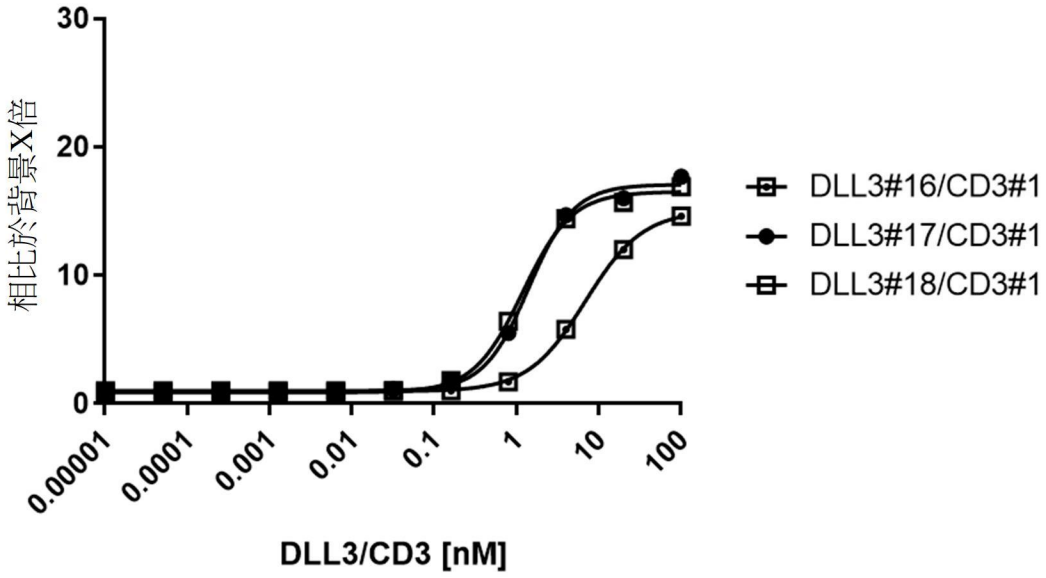
【圖6G】

近膜肽

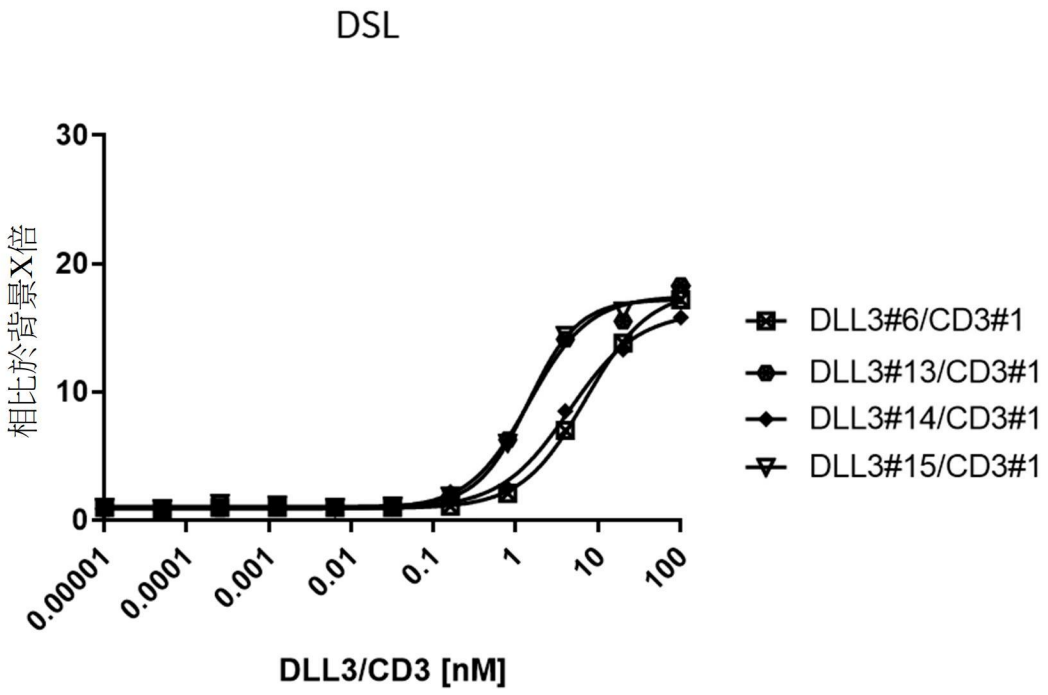

140
120
100
80
60
40
20
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

【圖6H】

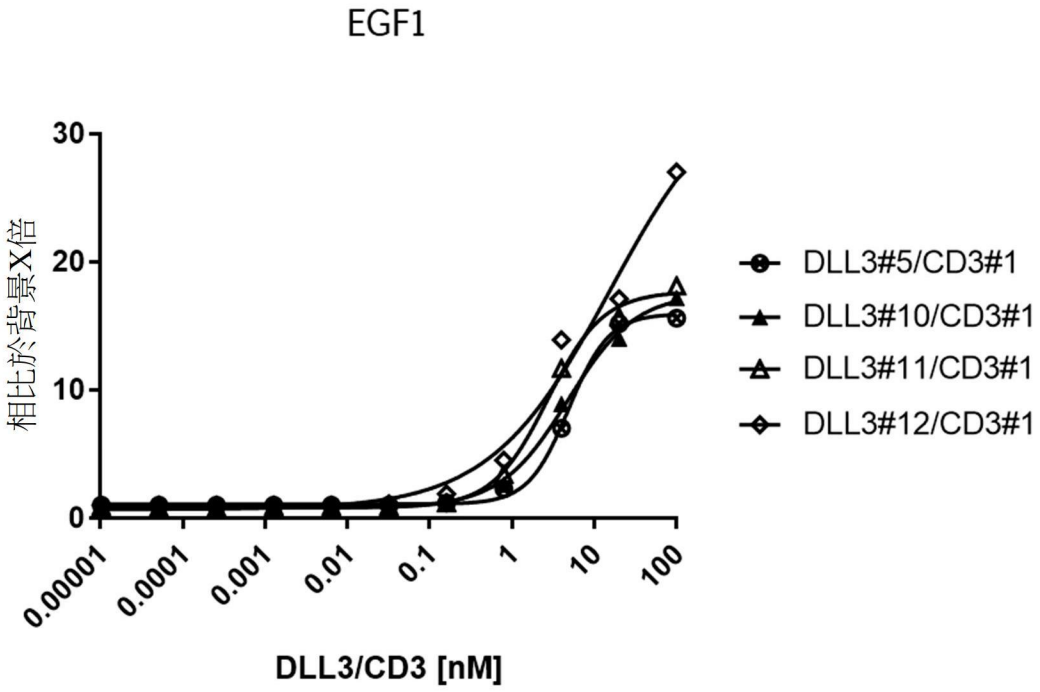
非DSL-非EGF1-6-非近膜肽



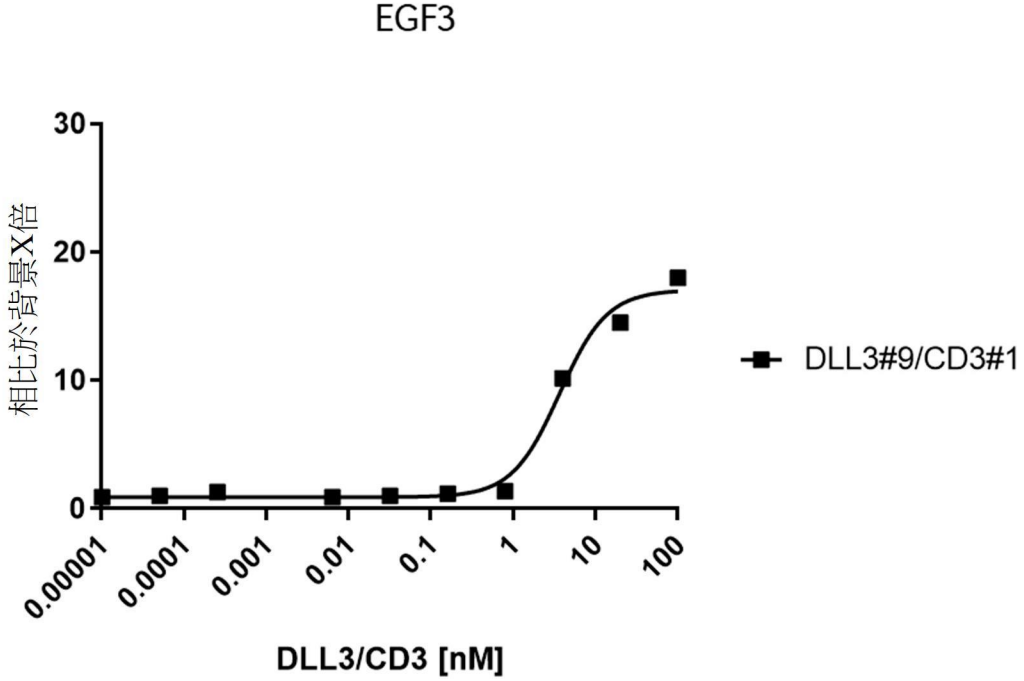
【圖6I】


DSL
30
20
10
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#6/CD3#1
DLL3#13/CD3#1
DLL3#14/CD3#1
DLL3#15/CD3#1

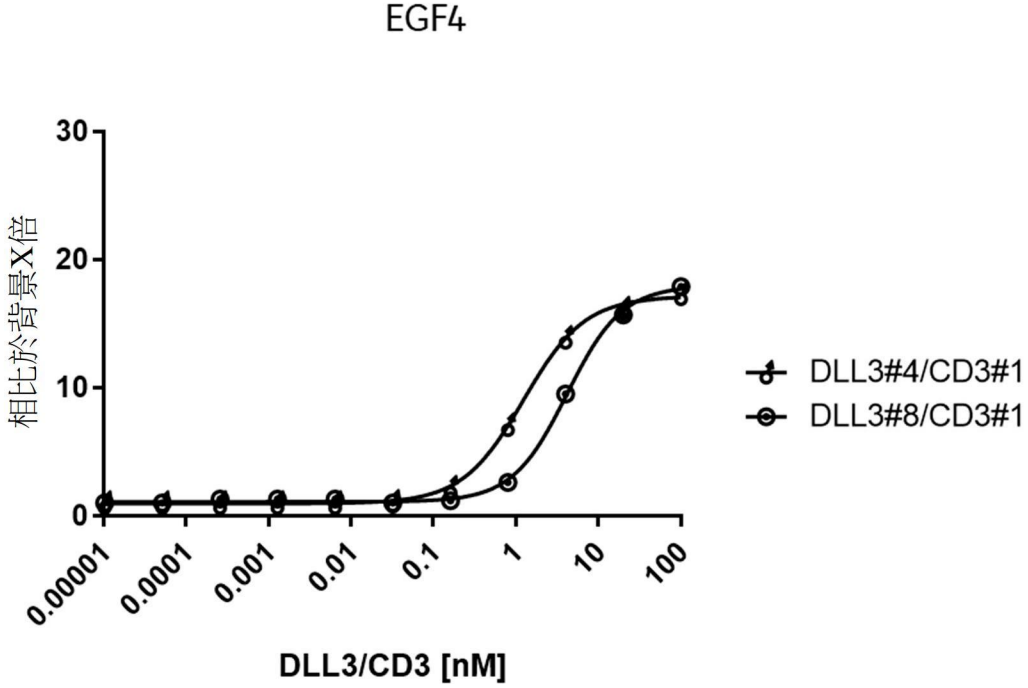
【圖6J】


EGF1
30
20
10
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#5/CD3#1
DLL3#10/CD3#1
DLL3#11/CD3#1
DLL3#12/CD3#1

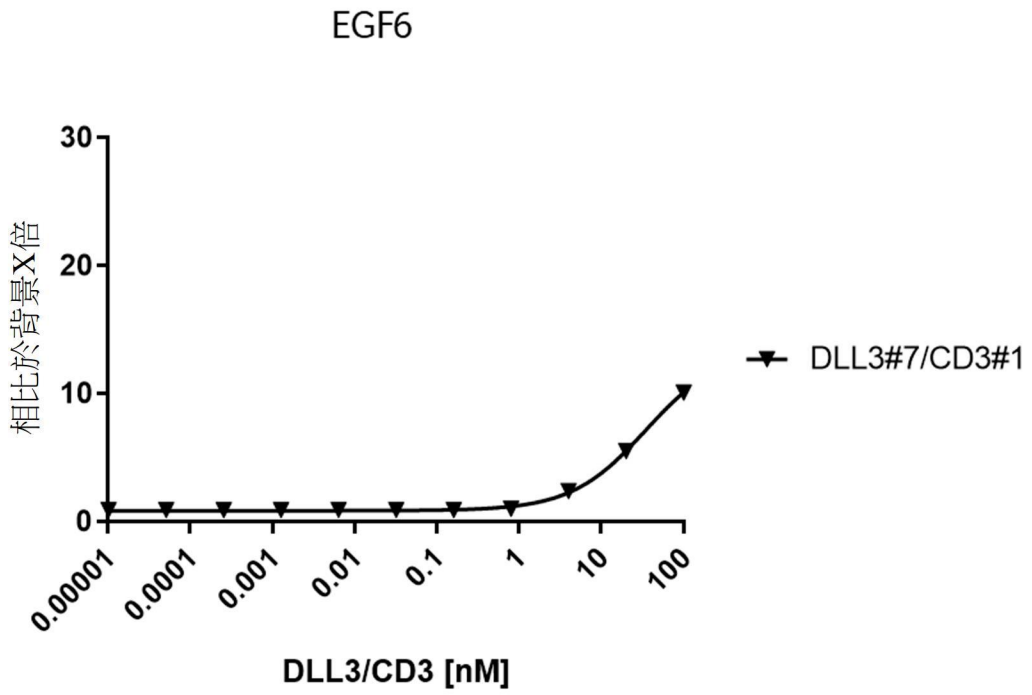
【圖6K】


EGF3
30
20
10
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#9/CD3#1

【圖6L】

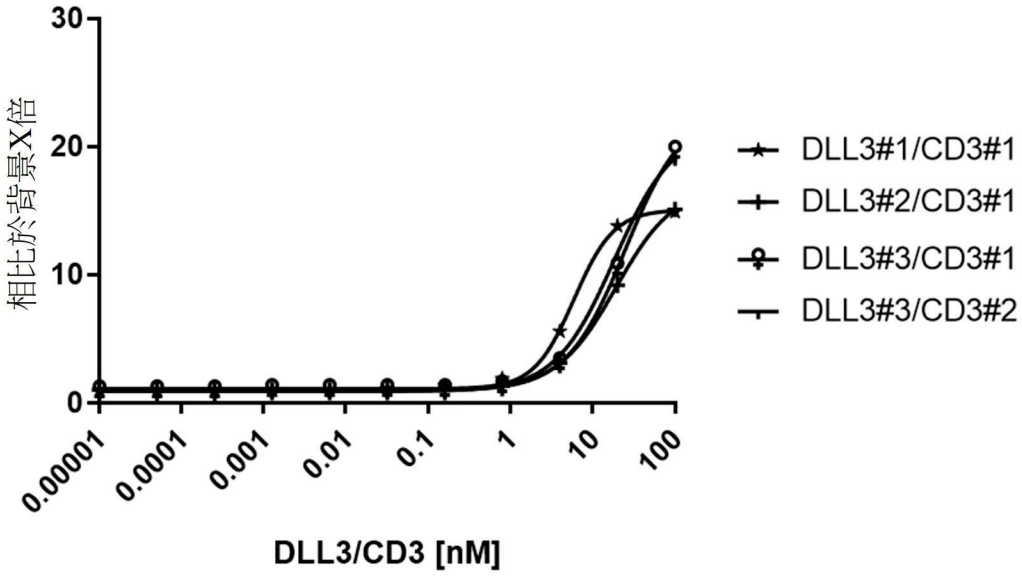

EGF4
30
20
10
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#4/CD3#1
DLL3#8/CD3#1

【圖6M】


EGF6
30
20
10
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#7/CD3#1

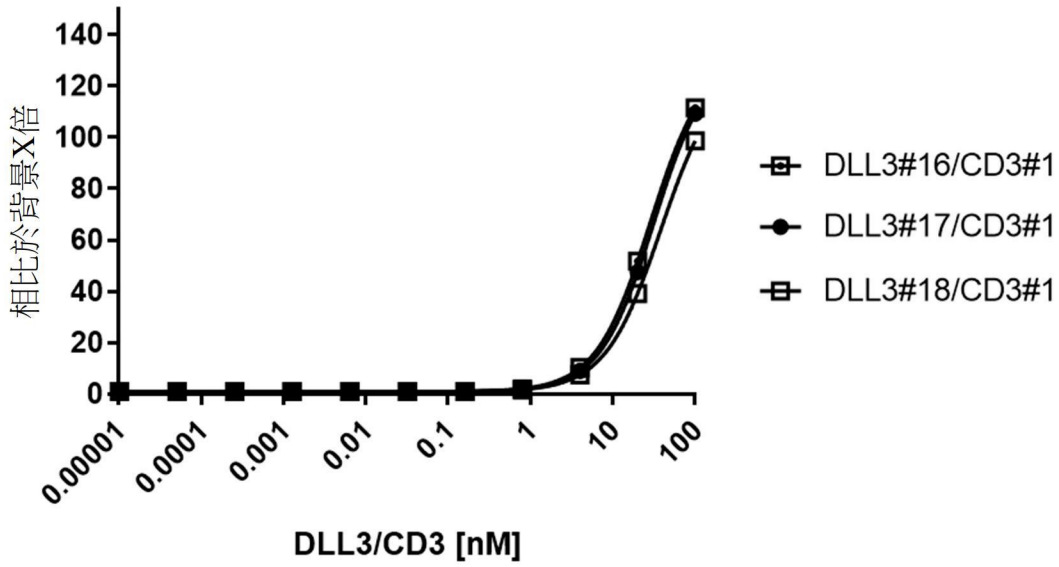
【圖6N】

近膜肽

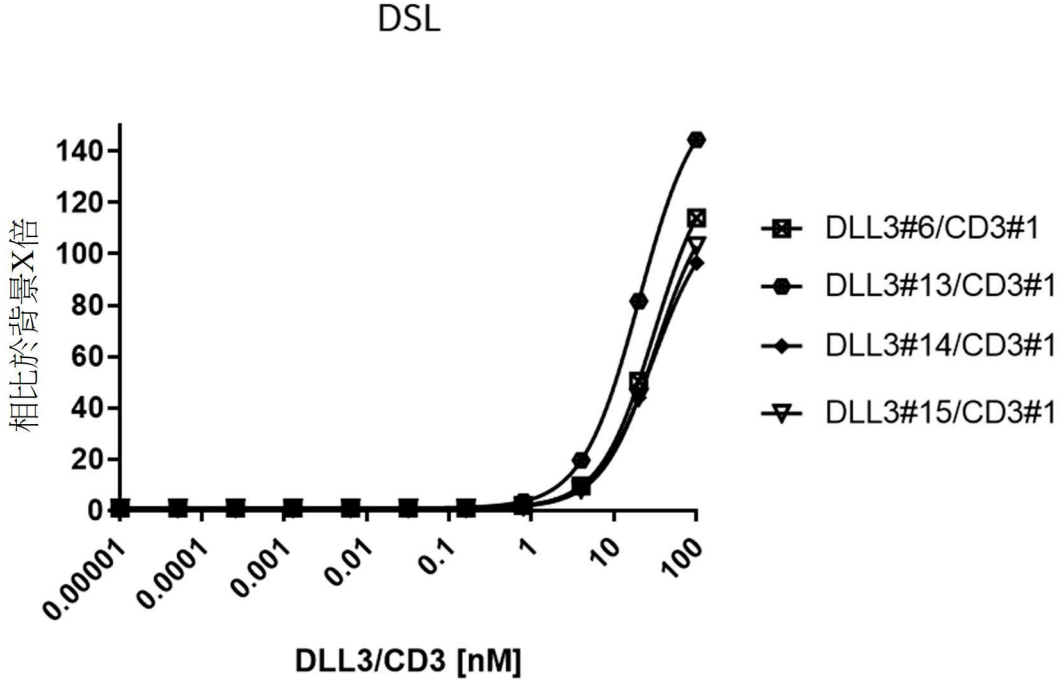

30
20
10
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

【圖6O】

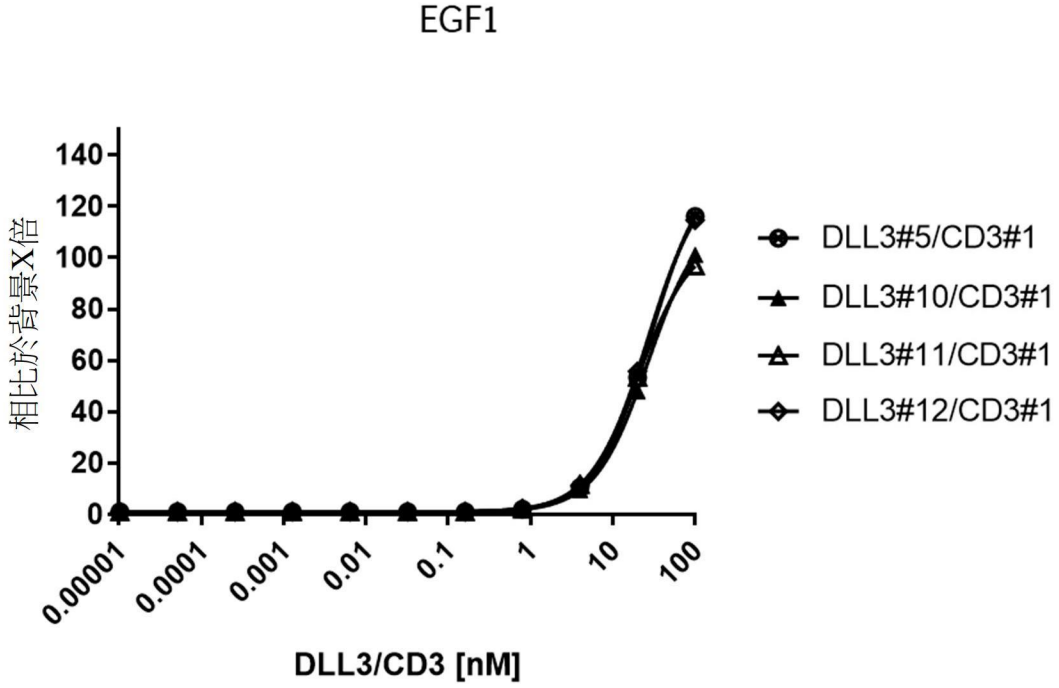
非DSL-非EGF1-6-非近膜肽



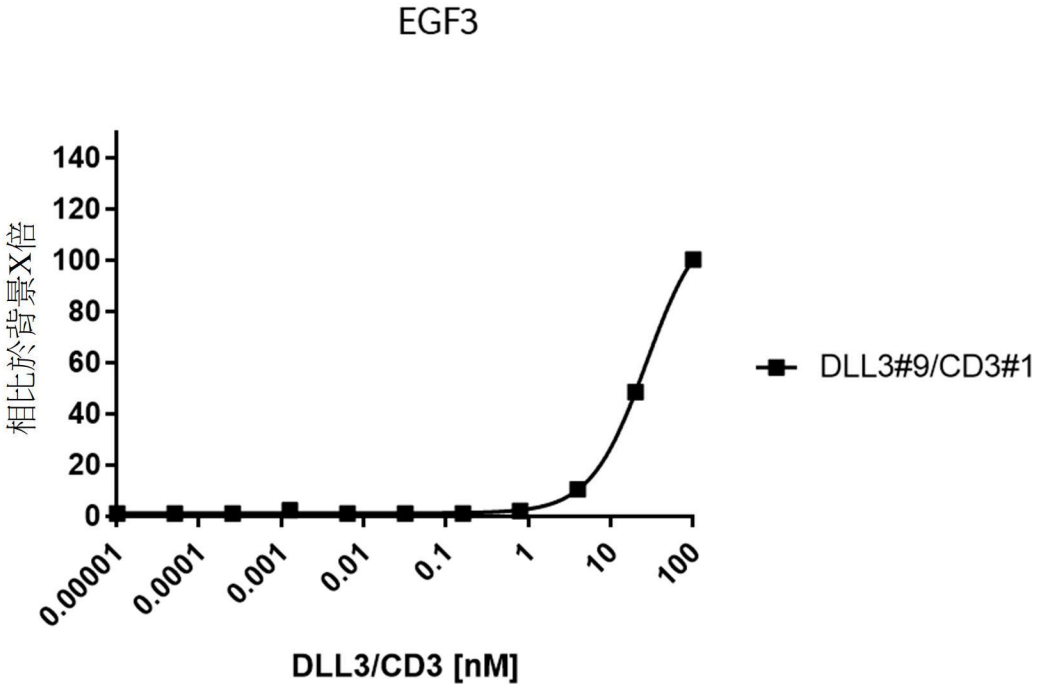
【圖6P】


DSL
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#6/CD3#1
DLL3#13/CD3#1
DLL3#14/CD3#1
DLL3#15/CD3#1

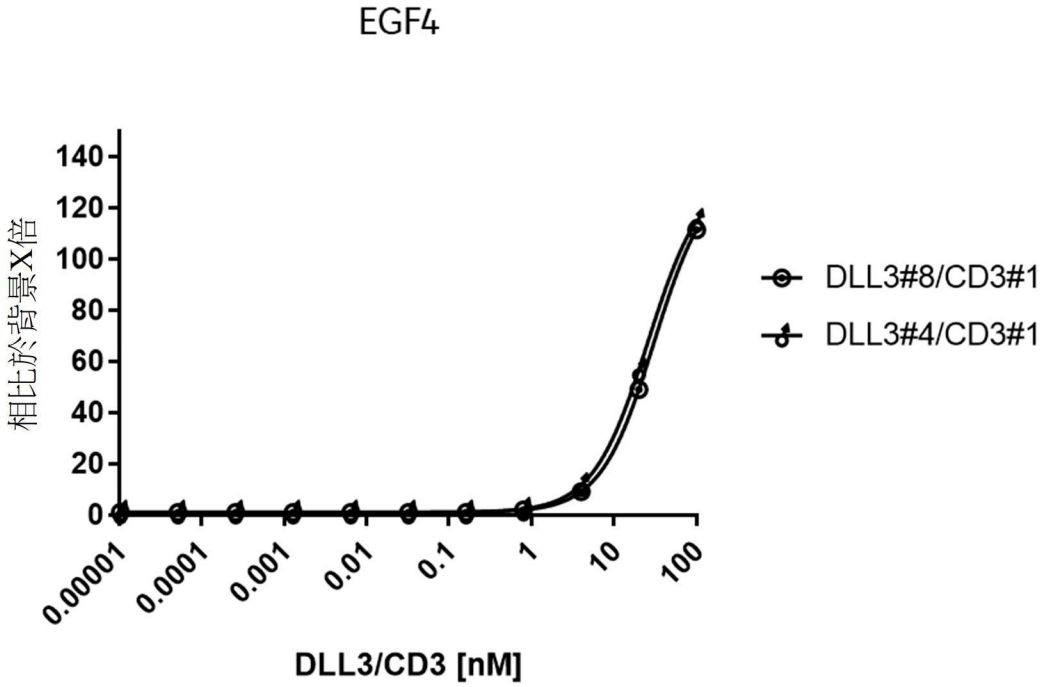
【圖6Q】


EGF1
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#5/CD3#1
DLL3#10/CD3#1
DLL3#11/CD3#1
DLL3#12/CD3#1

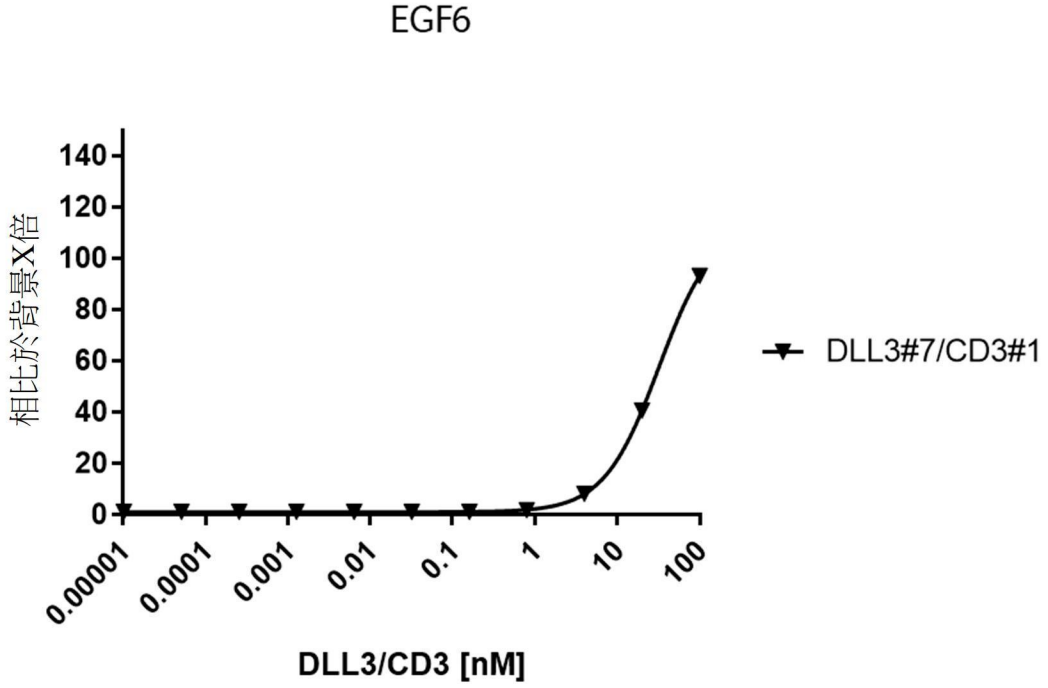
【圖6R】


EGF3
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#9/CD3#1

【圖6S】

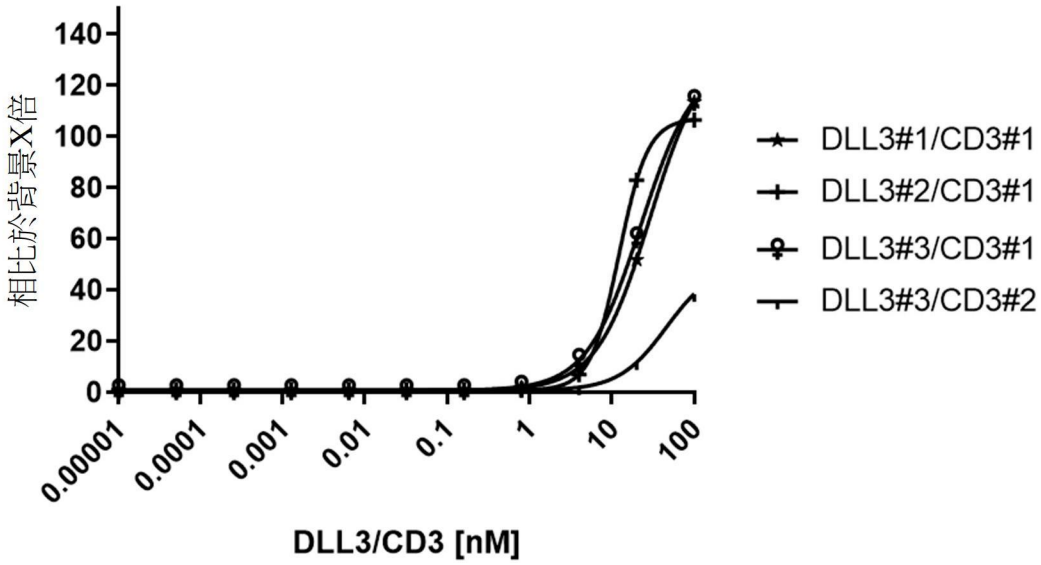

EGF4
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#8/CD3#1
DLL3#4/CD3#1

【圖6T】

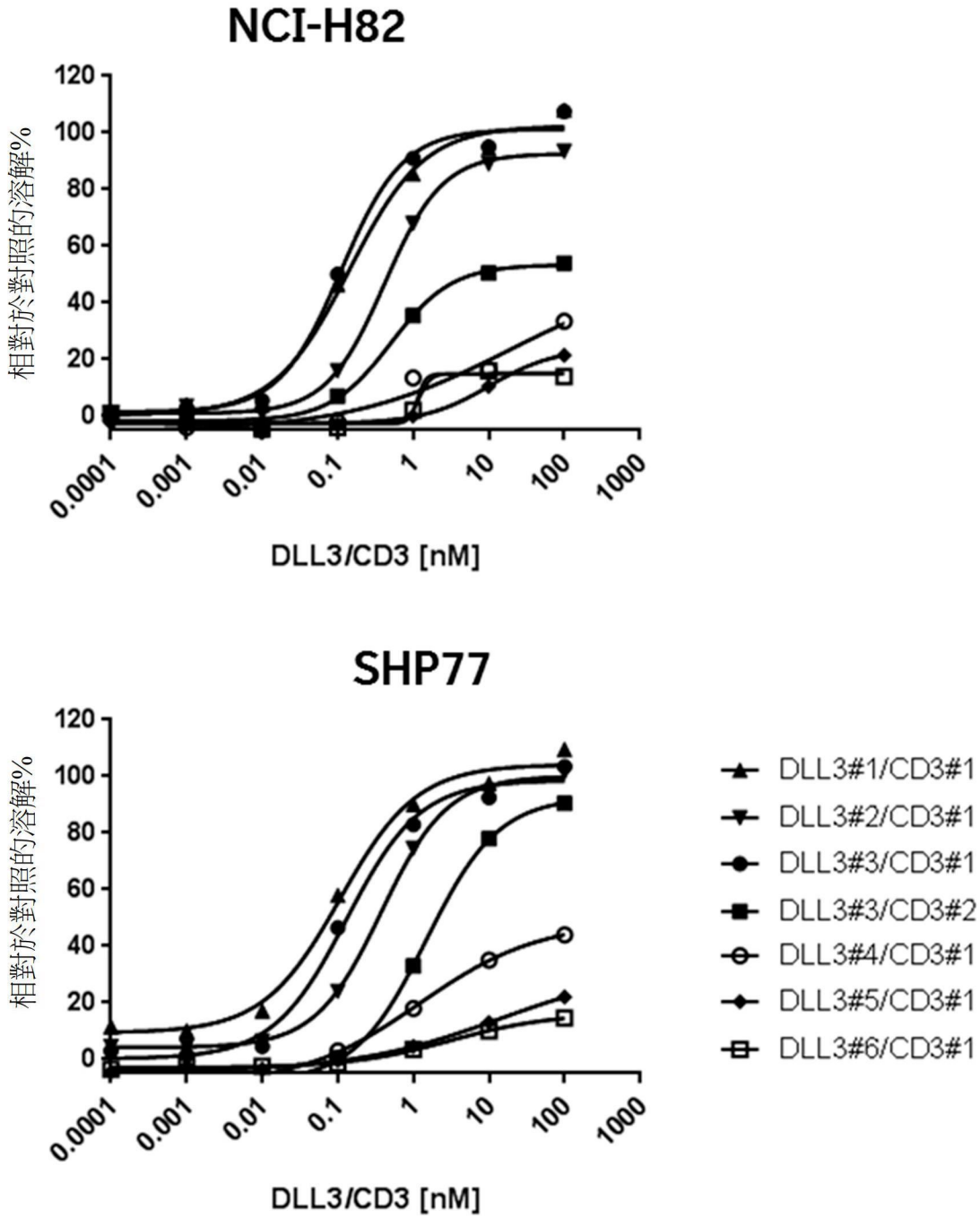

EGF6
相比於背景X倍
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#7/CD3#1

【圖6U】

近膜肽

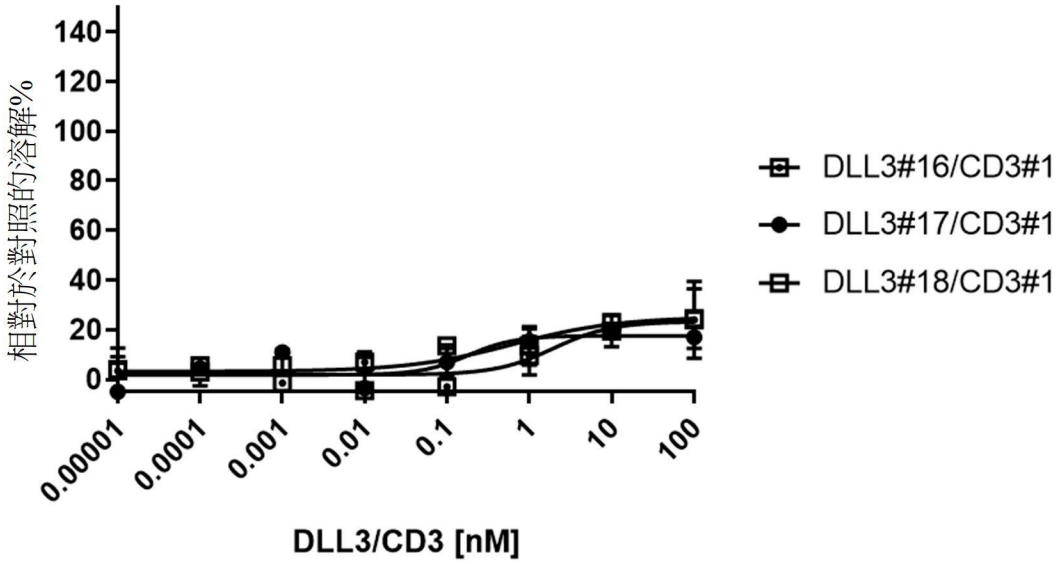

140
120
100
80
60
40
20
0
相比於背景X倍
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

【圖6V】

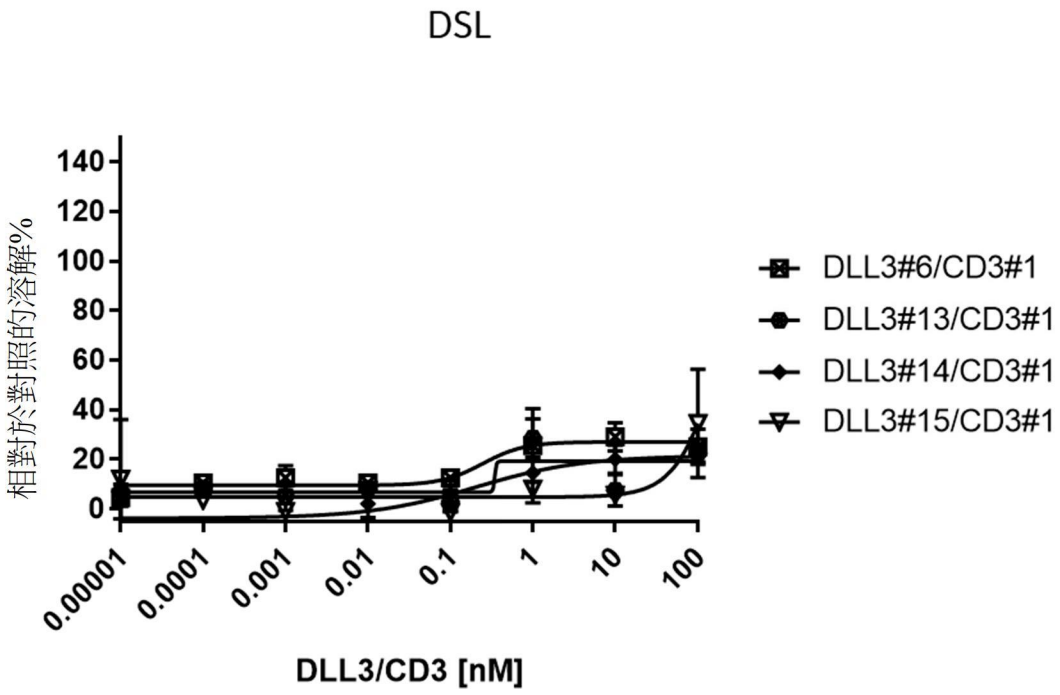

NCI-H82
相對於對照的溶解%
120
100
80
60
40
20
0
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
SHP77
相對於對照的溶解%
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2
DLL3#4/CD3#1
DLL3#5/CD3#1
DLL3#6/CD3#1

【圖7A】

非DSL-非EGF1-6-非近膜肽

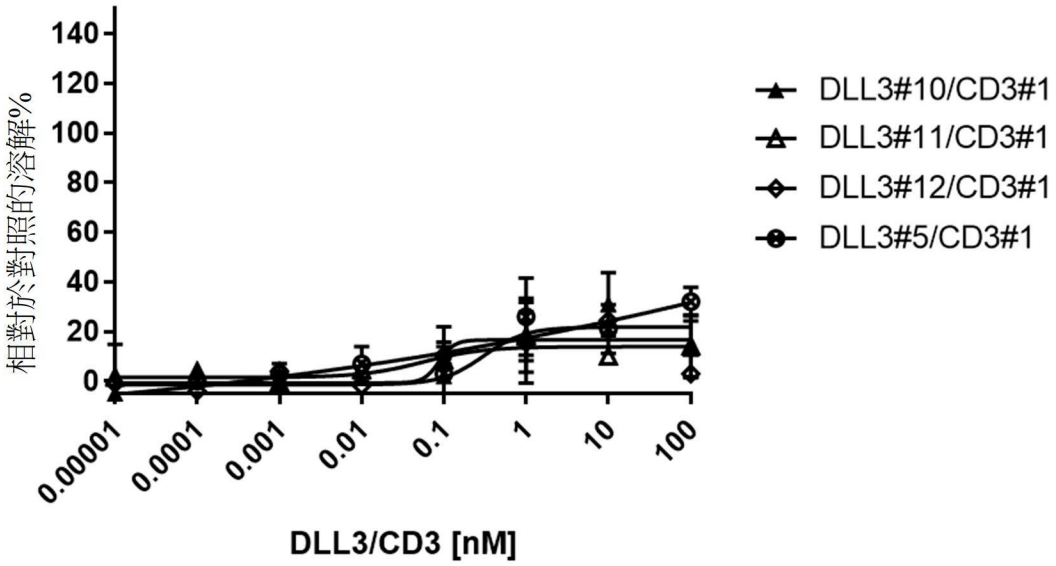


【圖7B】

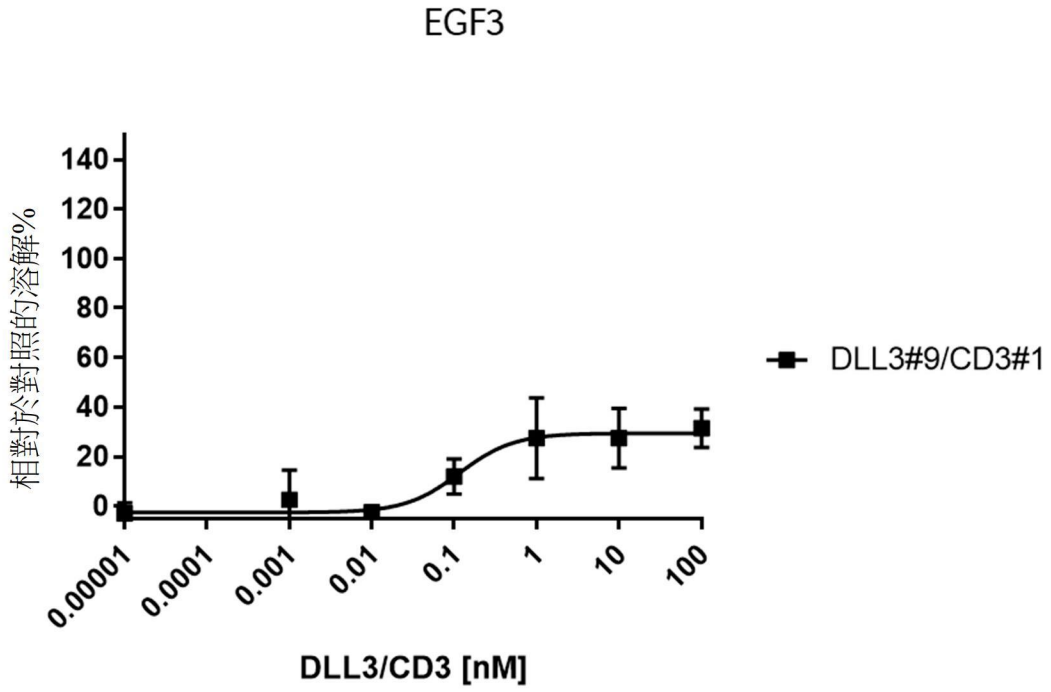

DSL
相對於對照的溶解%
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#6/CD3#1
DLL3#13/CD3#1
DLL3#14/CD3#1
DLL3#15/CD3#1

【圖7C】

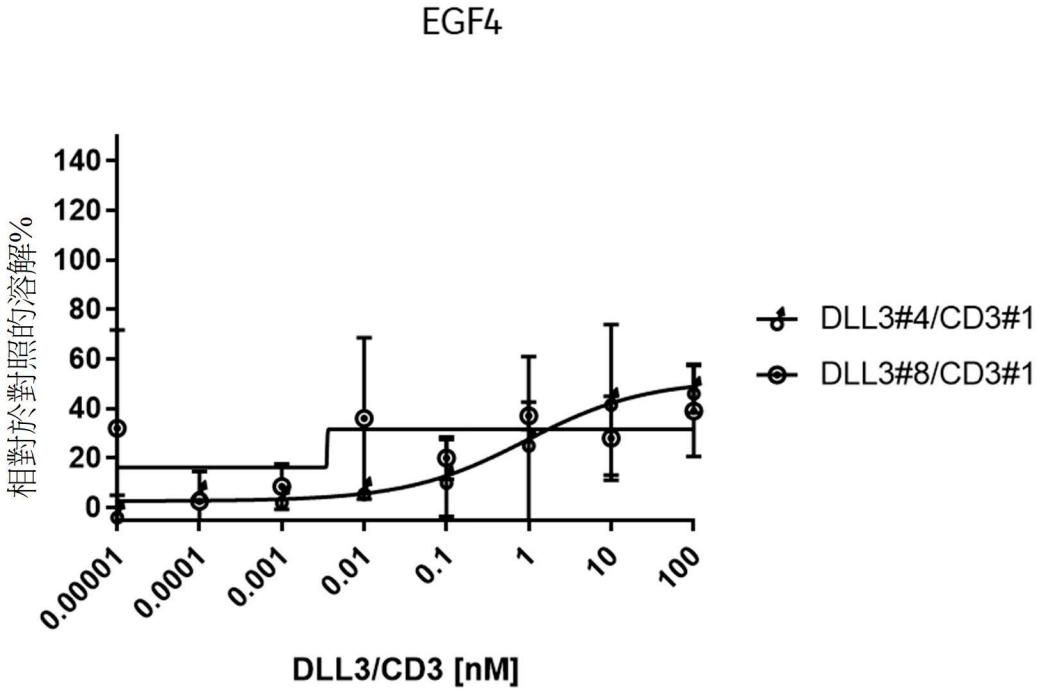
EGF1


140
120
100
80
60
40
20
0
相對於對照的溶解%
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#10/CD3#1
DLL3#11/CD3#1
DLL3#12/CD3#1
DLL3#5/CD3#1

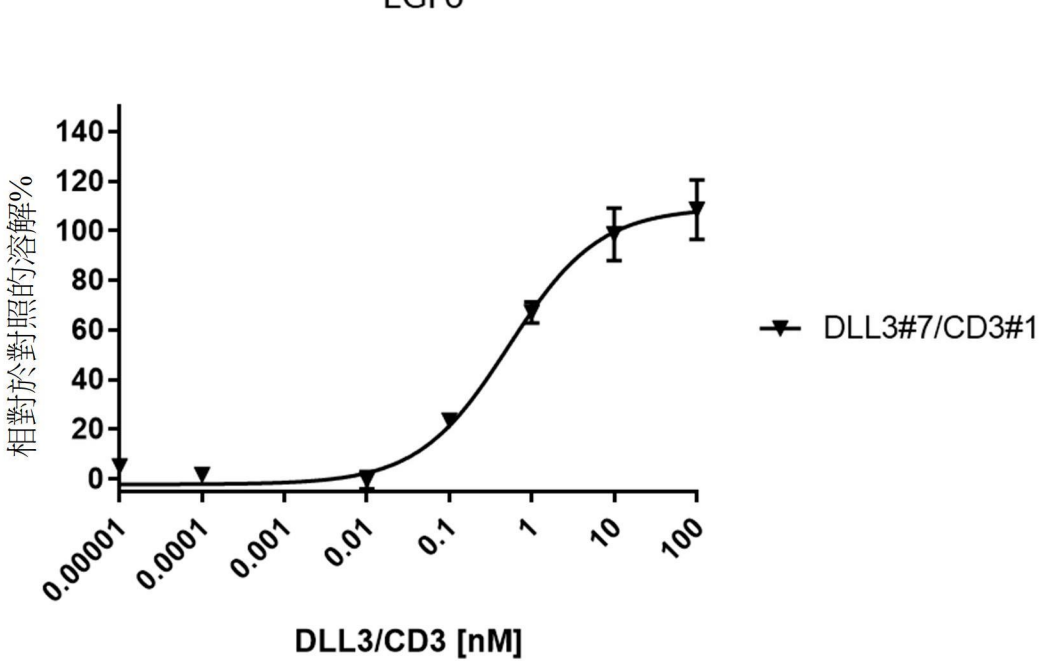
【圖7D】


EGF3
相對於對照的溶解%
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#9/CD3#1

【圖7E】

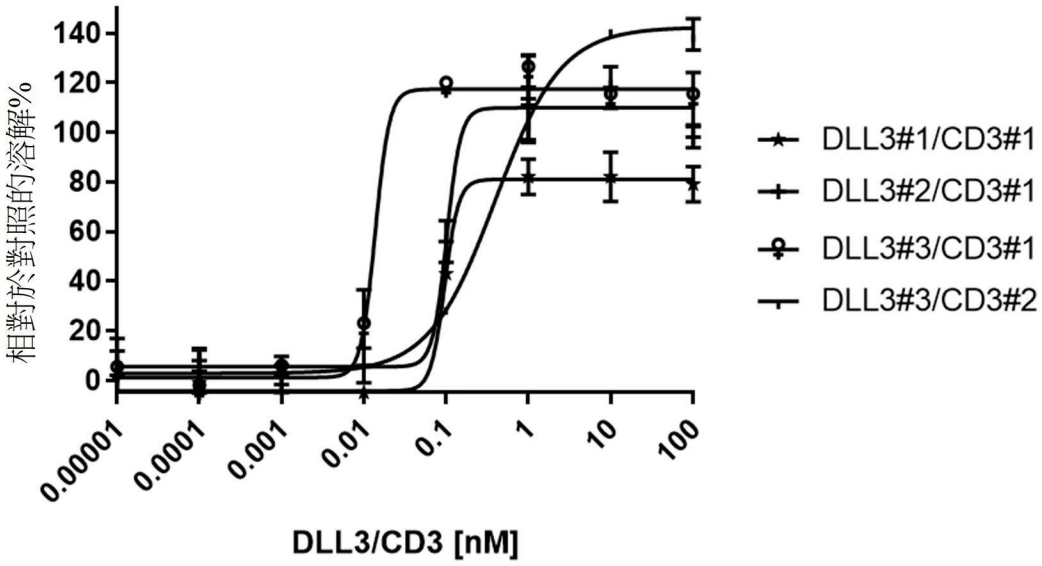

EGF4
相對於對照的溶解%
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#4/CD3#1
DLL3#8/CD3#1

【圖7F】


EGF6
相對於對照的溶解%
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#7/CD3#1

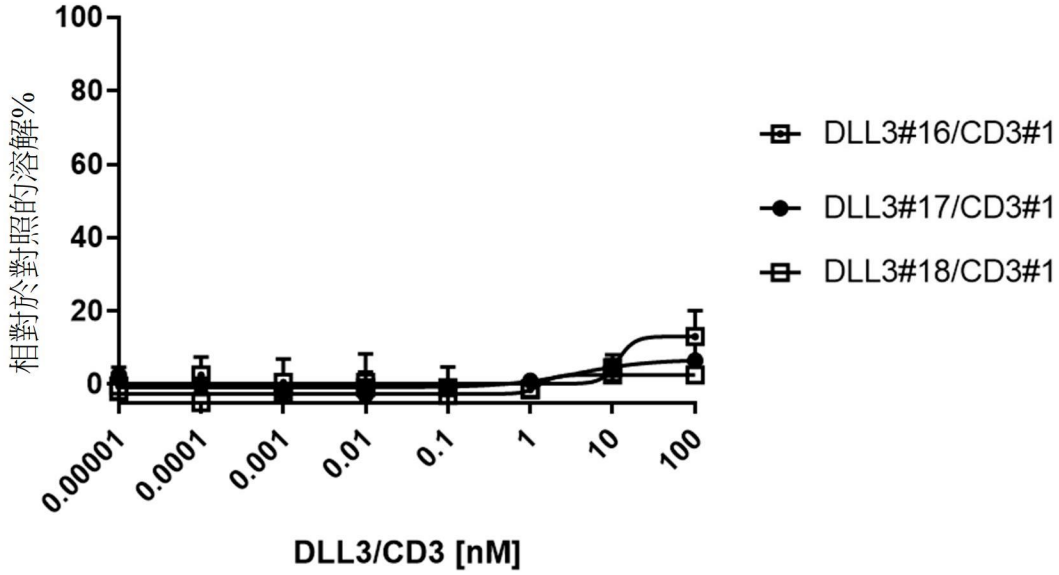
【圖7G】

近膜肽

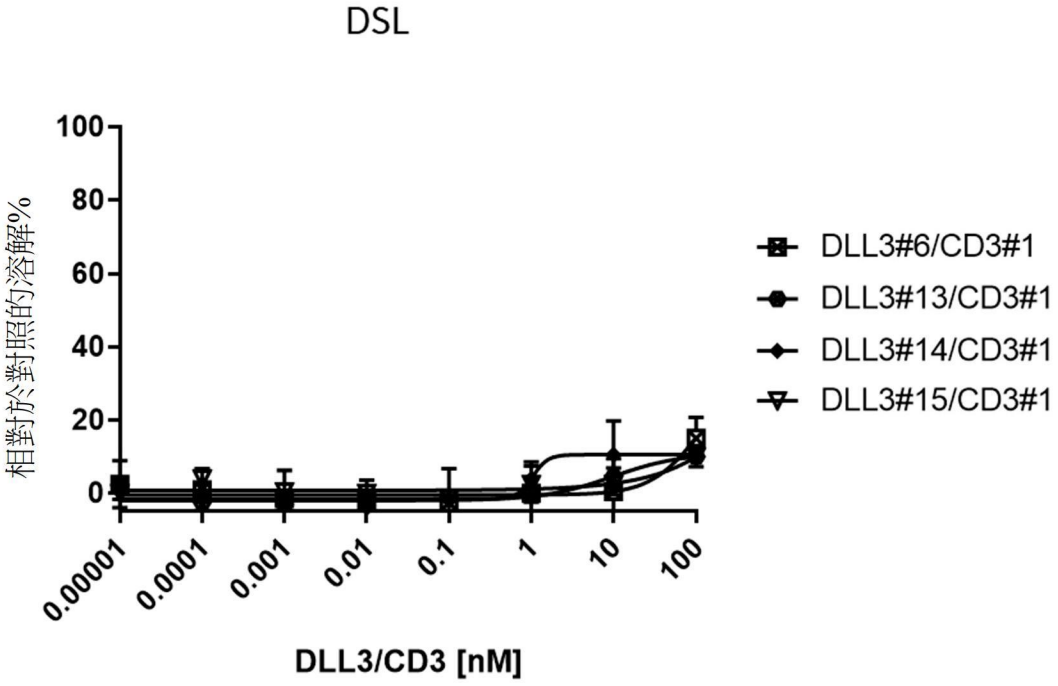

相對於對照的溶解%
140
120
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

【圖7H】

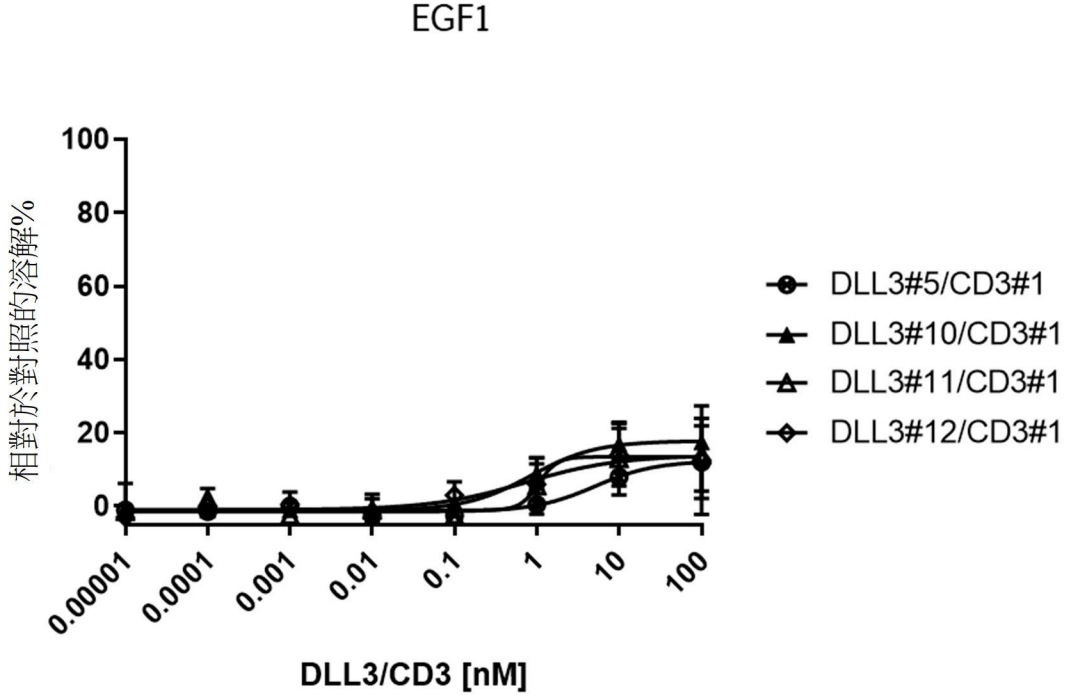
非DSL-非EGF1-6-非近膜肽



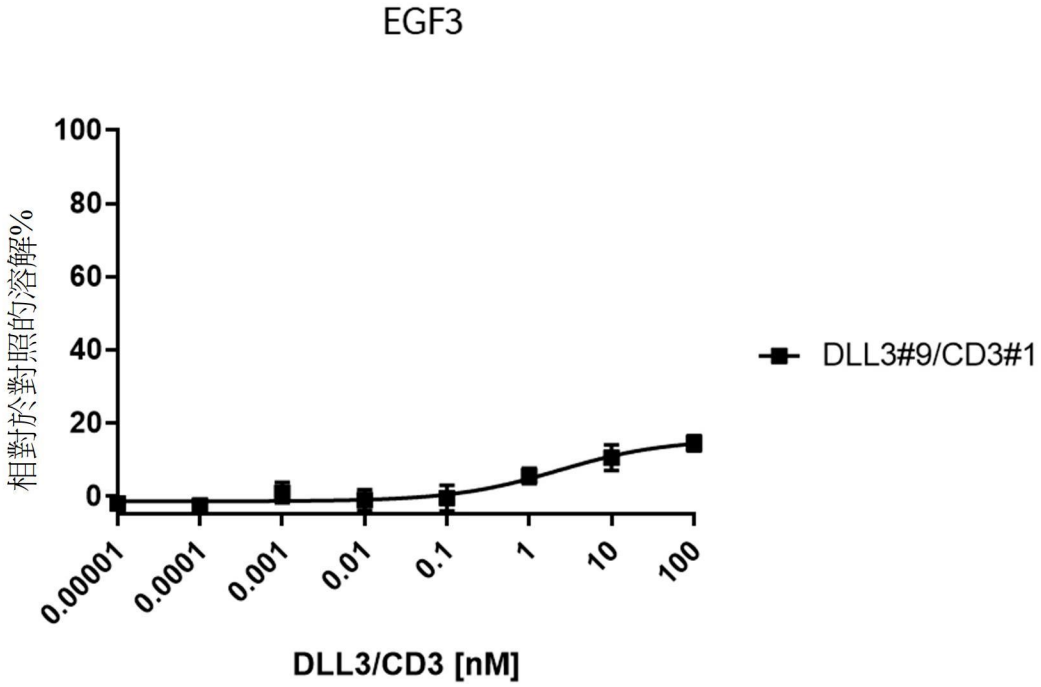
【圖7I】


DSL
相對於對照的溶解%
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#6/CD3#1
DLL3#13/CD3#1
DLL3#14/CD3#1
DLL3#15/CD3#1

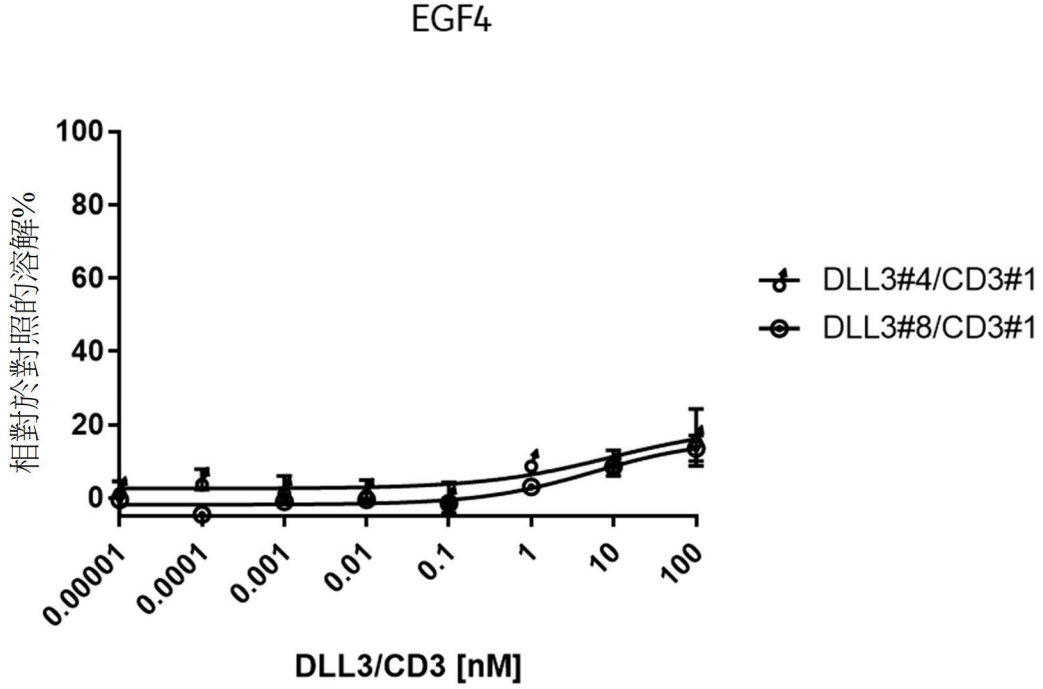
【圖7J】


EGF1
100
80
60
40
20
0
相對於對照的溶解%
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#5/CD3#1
DLL3#10/CD3#1
DLL3#11/CD3#1
DLL3#12/CD3#1

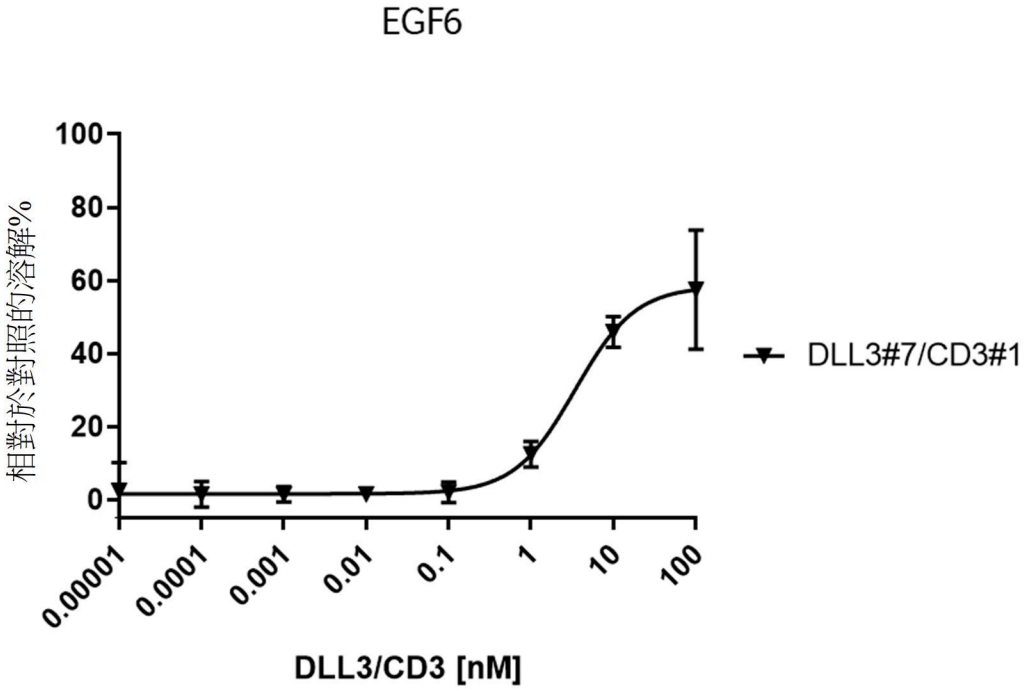
【圖7K】


EGF3
100
80
60
40
20
0
相對於對照的溶解%
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#9/CD3#1

【圖7L】

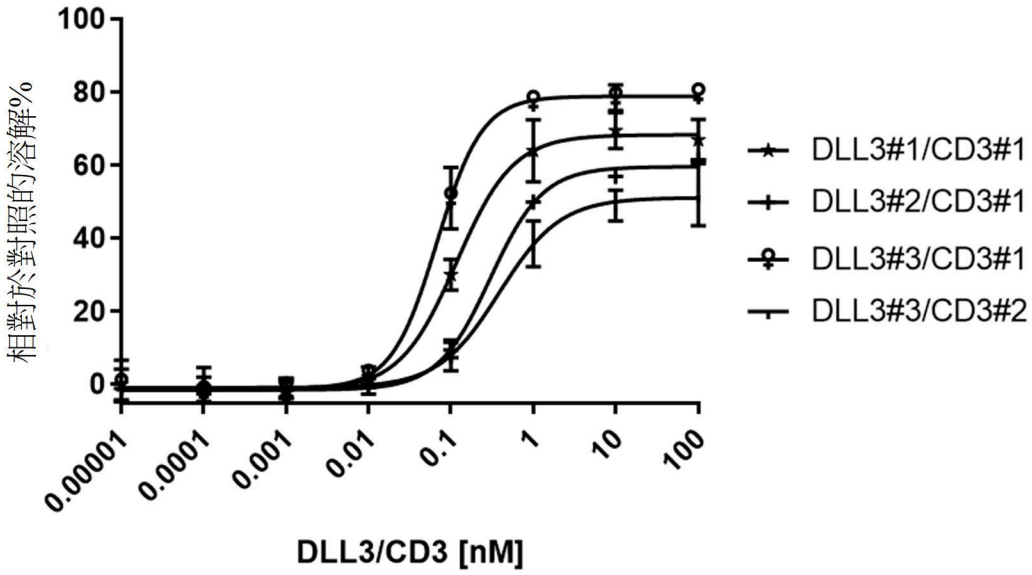

EGF4
100
80
60
40
20
0
相對於對照的溶解%
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#4/CD3#1
DLL3#8/CD3#1

【圖7M】

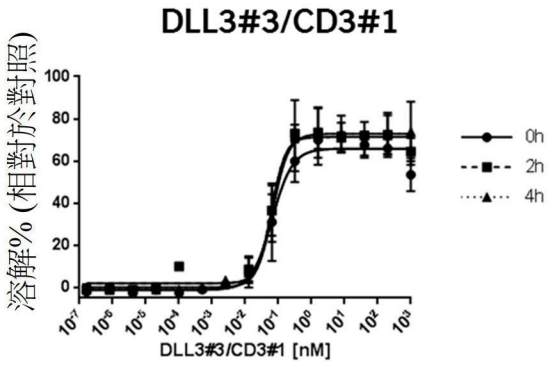

EGF6
相對於對照的溶解%
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#7/CD3#1

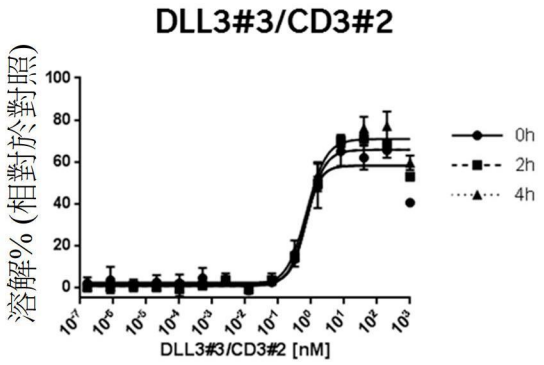
【圖7N】

近膜肽


100
80
60
40
20
0
相對於對照的溶解%
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
DLL3#1/CD3#1
DLL3#2/CD3#1
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

【圖7O】

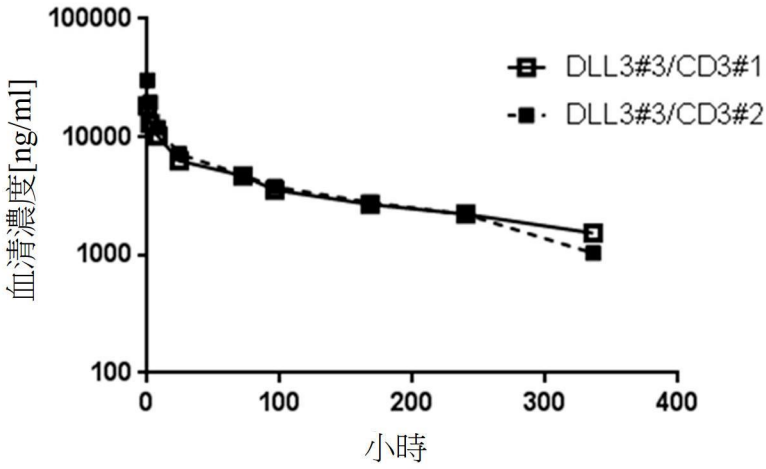




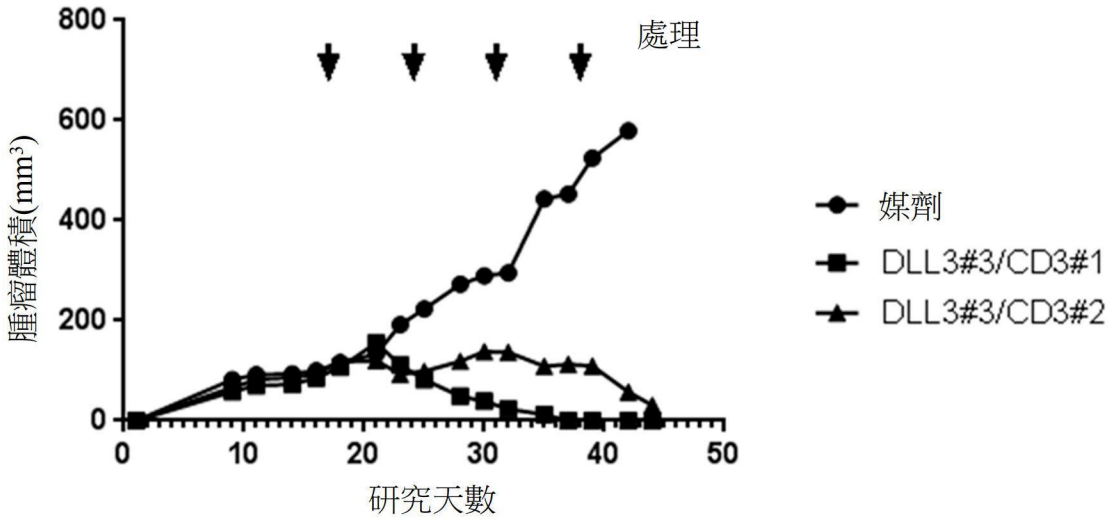
培育前	EC_{90} [nM]
0 h	0.3
2h	0.2
4h	0.2

培育前	EC_{90} [nM]
0 h	2
2h	2.9
4h	3.4

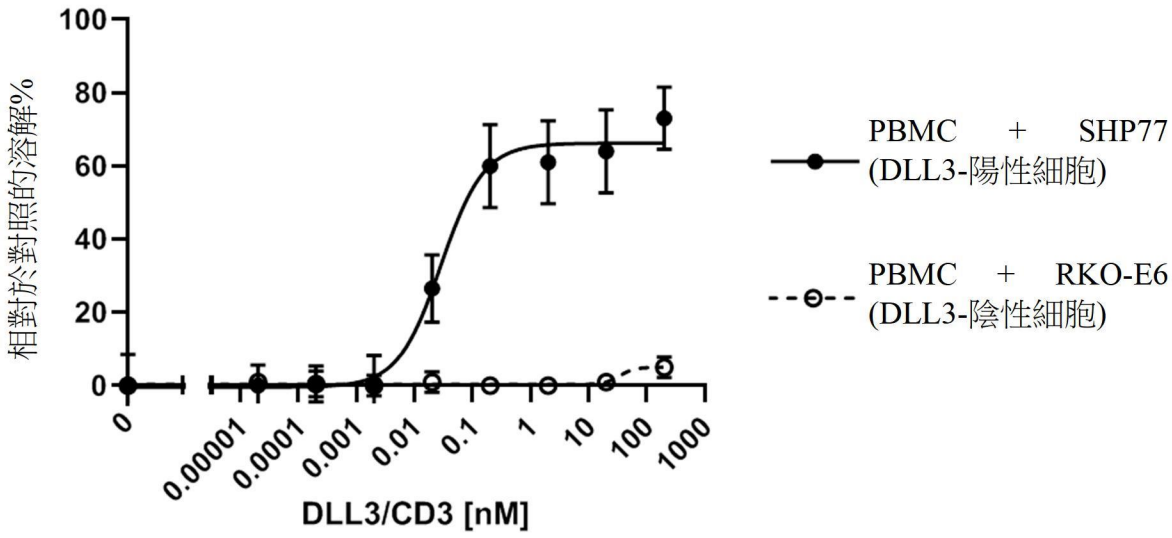
【圖8】


100000
10000
1000
100
血清濃度[ng/ml]
0
100
200
300
400
小時
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

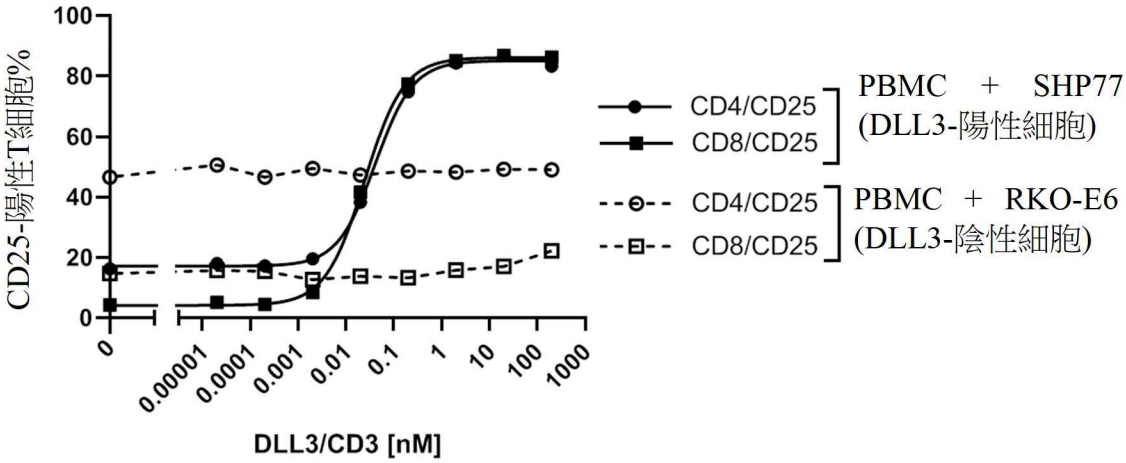
【圖9】


處理
800
600
400
200
0
腫瘤體積(mm³)
0
10
20
30
40
50
研究天數
媒劑
DLL3#3/CD3#1
DLL3#3/CD3#2

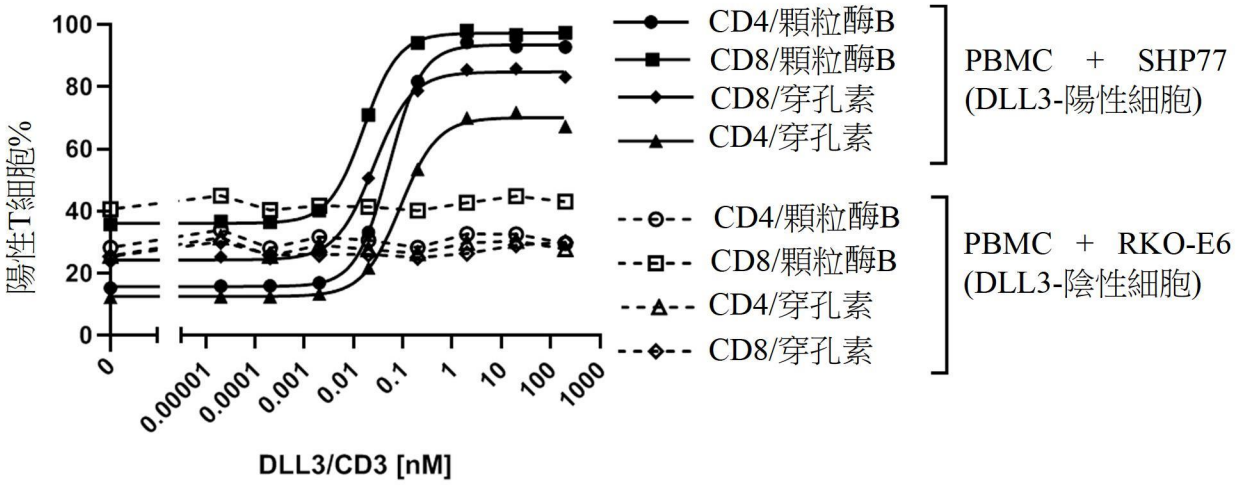
【圖10】


100
80
60
40
20
0
相對於對照的溶解%
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
PBMC + SHP77
(DLL3-陽性細胞)
PBMC + RKO-E6
(DLL3-陰性細胞)

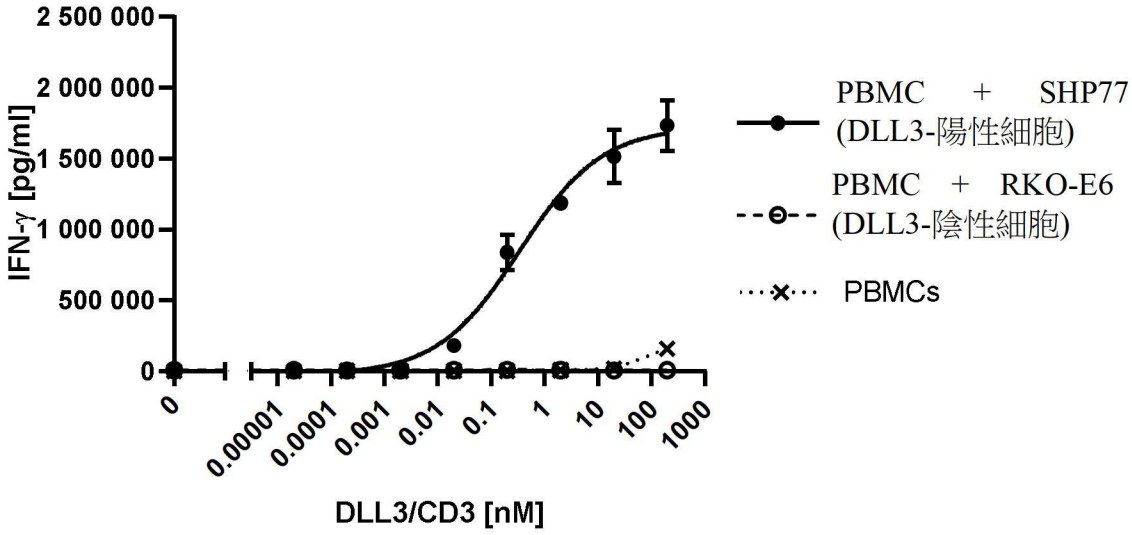
【圖11】


CD25-陽性T細胞%
100
80
60
40
20
0
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
CD4/CD25
CD8/CD25
PBMC + SHP77
(DLL3-陽性細胞)
CD4/CD25
CD8/CD25
PBMC + RKO-E6
(DLL3-陰性細胞)

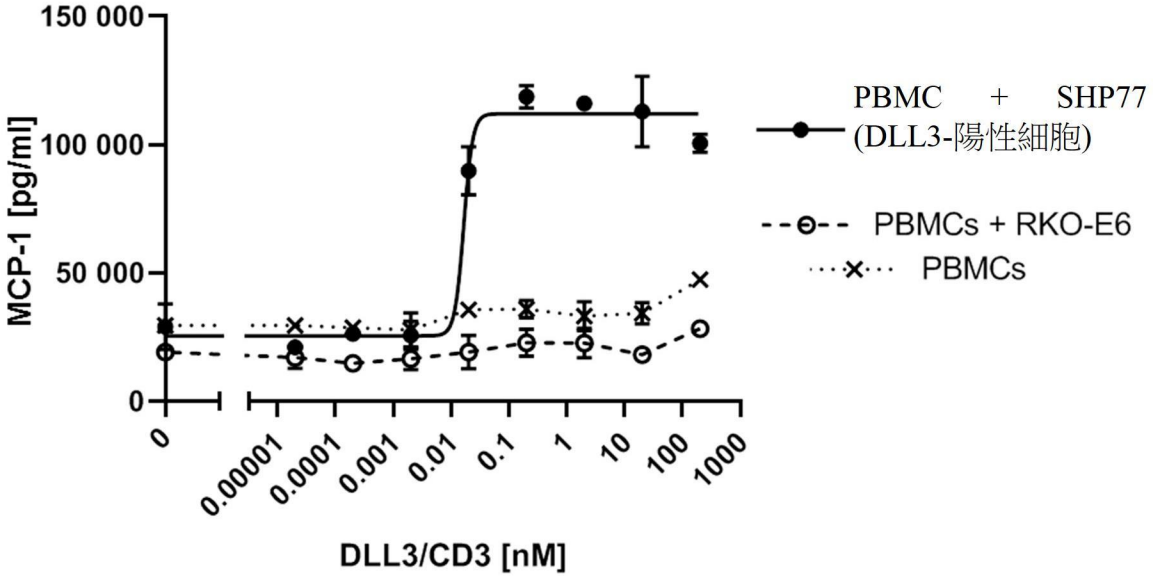
【圖12】


陽性T細胞%
100
80
60
40
20
0
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
CD4/顆粒酶B
CD8/顆粒酶B
CD8/穿孔素
CD4/穿孔素
PBMC + SHP77
(DLL3-陽性細胞)
CD4/顆粒酶B
CD8/顆粒酶B
CD4/穿孔素
CD8/穿孔素
PBMC + RKO-E6
(DLL3-陰性細胞)

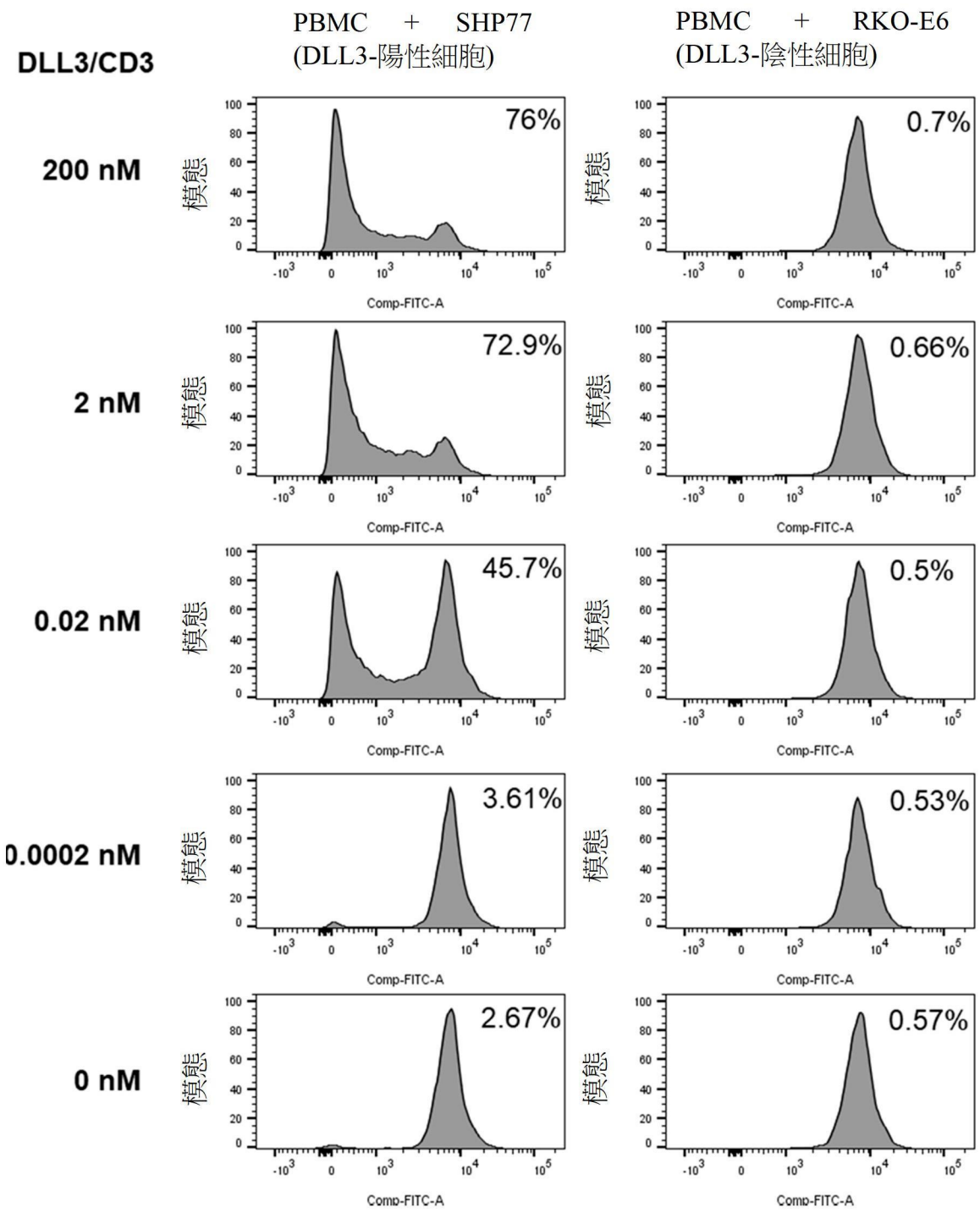
【圖13】


2 500 000
2 000 000
1 500 000
1 000 000
500 000
0
IFN-γ [pg/ml]
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
PBMC + SHP77
(DLL3-陽性細胞)
PBMC + RKO-E6
(DLL3-陰性細胞)
PBMCs

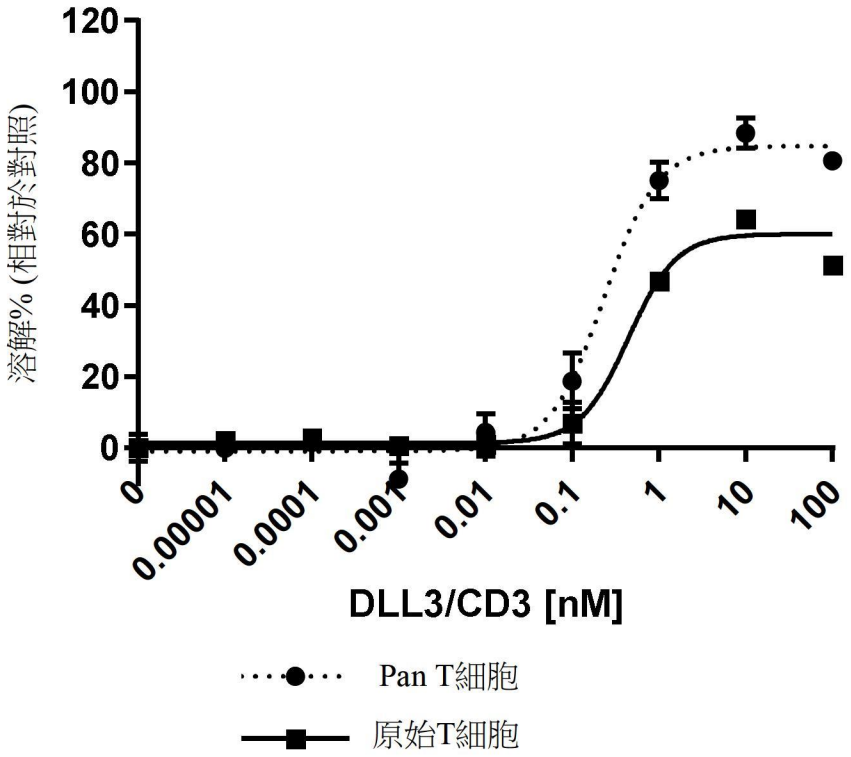
【圖14A】


150 000
100 000
50 000
0
MCP-1 [pg/ml]
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3/CD3 [nM]
PBMC + SHP77
(DLL3-陽性細胞)
PBMCs + RKO-E6
PBMCs

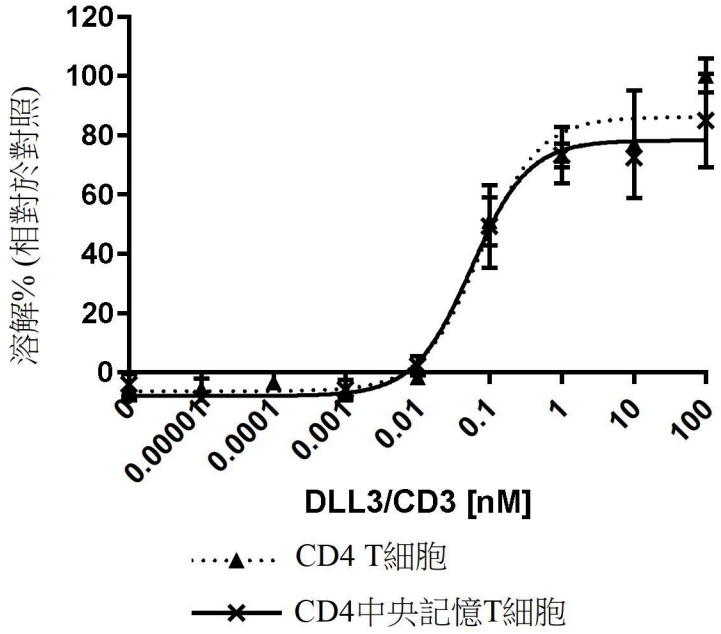
【圖14B】


DLL3/CD3
PBMC + SHP77
(DLL3-陽性細胞)
PBMC + RKO-E6
(DLL3-陰性細胞)
200 nM
2 nM
0.02 nM
0.0002 nM
0 nM
模態
Comp-FITC-A
76%
0.7%
72.9%
0.66%
45.7%
0.5%
3.61%
0.53%
2.67%
0.57%

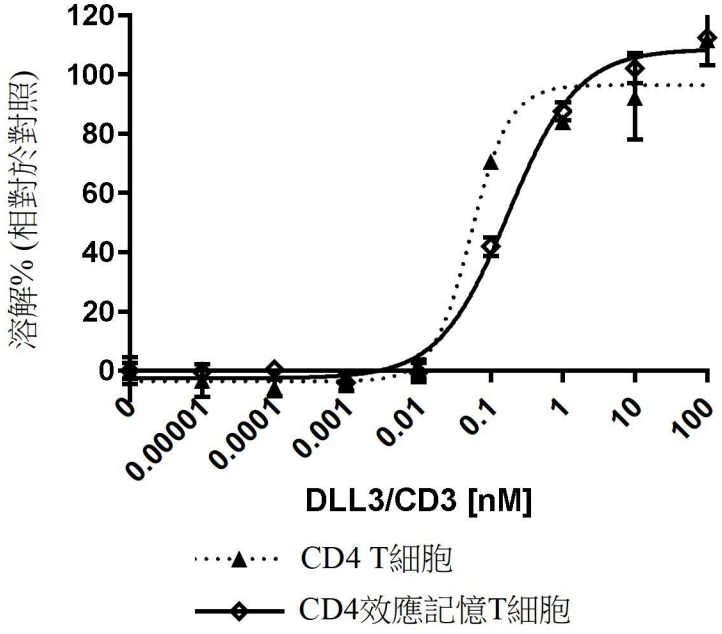
【圖15】


120
100
80
60
40
20
0
溶解% (相對於對照)
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
Pan T細胞
原始T細胞

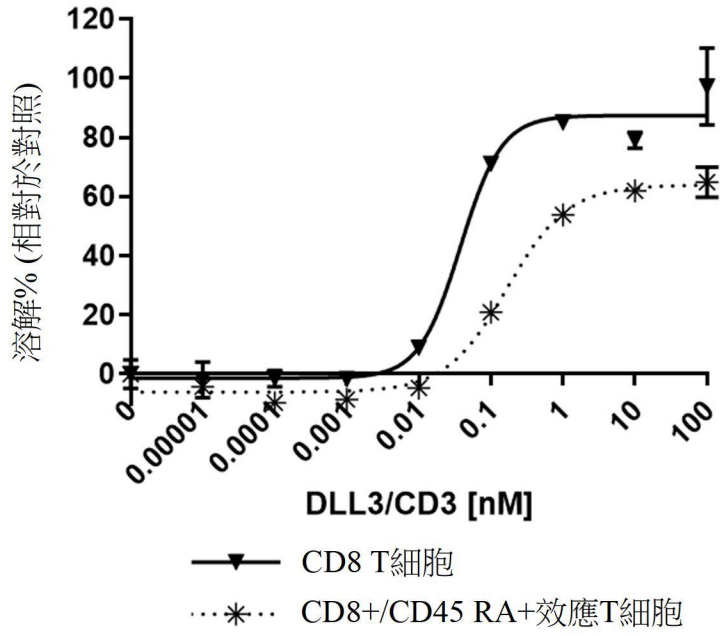
【圖16】


120
100
80
60
40
20
0
溶解% (相對於對照)
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
CD4 T細胞
CD4中央記憶T細胞

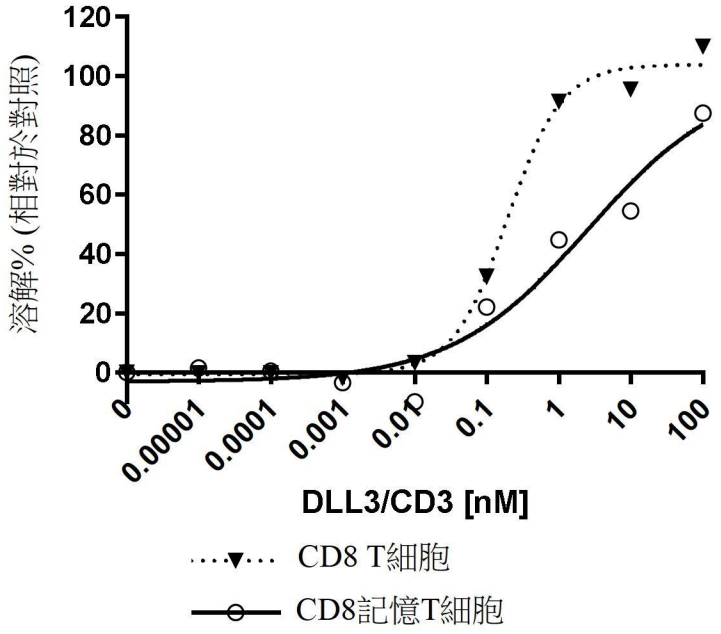
【圖17】


120
100
80
60
40
20
0
溶解% (相對於對照)
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
CD4 T細胞
CD4效應記憶T細胞

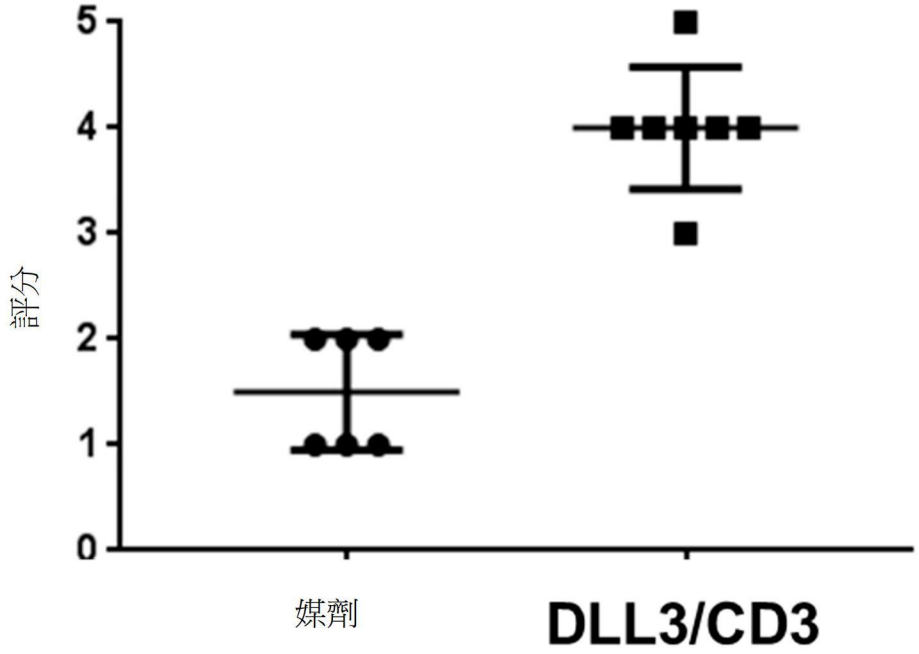
【圖18】


溶解% (相對於對照)
120
100
80
60
40
20
0
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
CD8 T細胞
CD8+/CD45 RA+效應T細胞

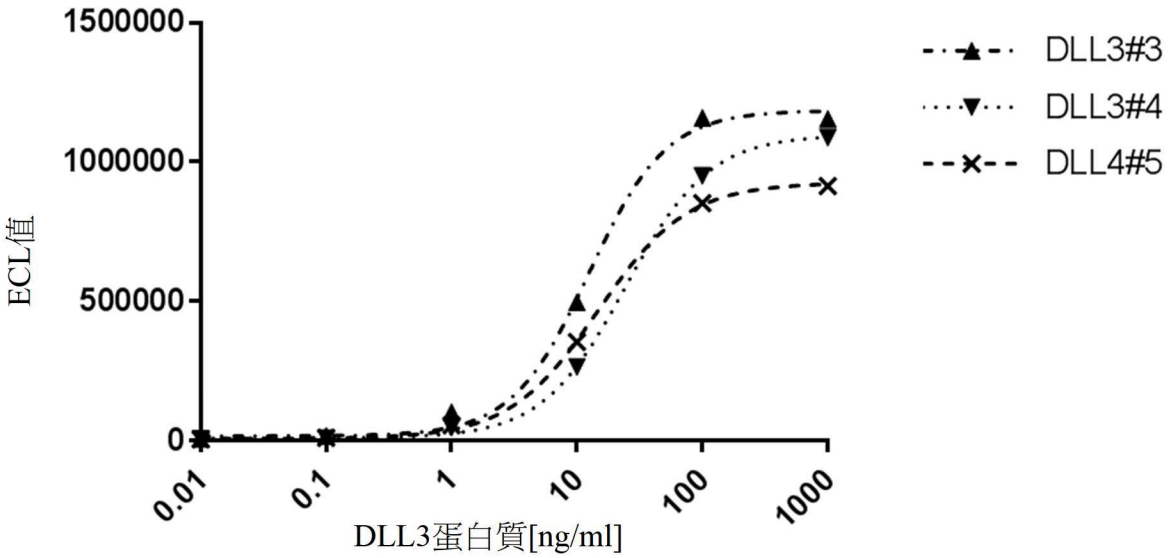
【圖19】


120
100
80
60
40
20
0
溶解% (相對於對照)
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
DLL3/CD3 [nM]
CD8 T細胞
CD8記憶T細胞

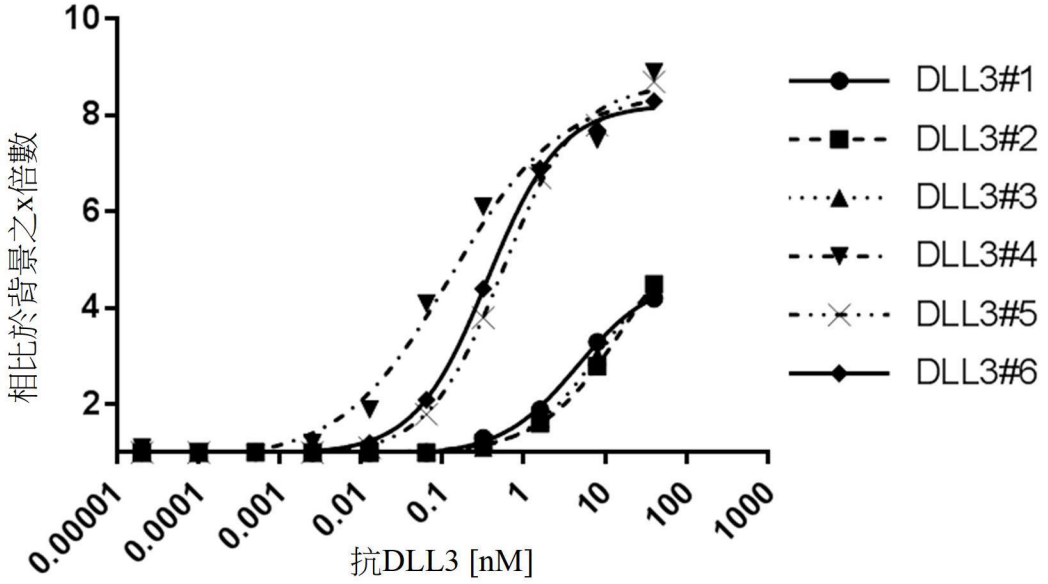
【圖20】



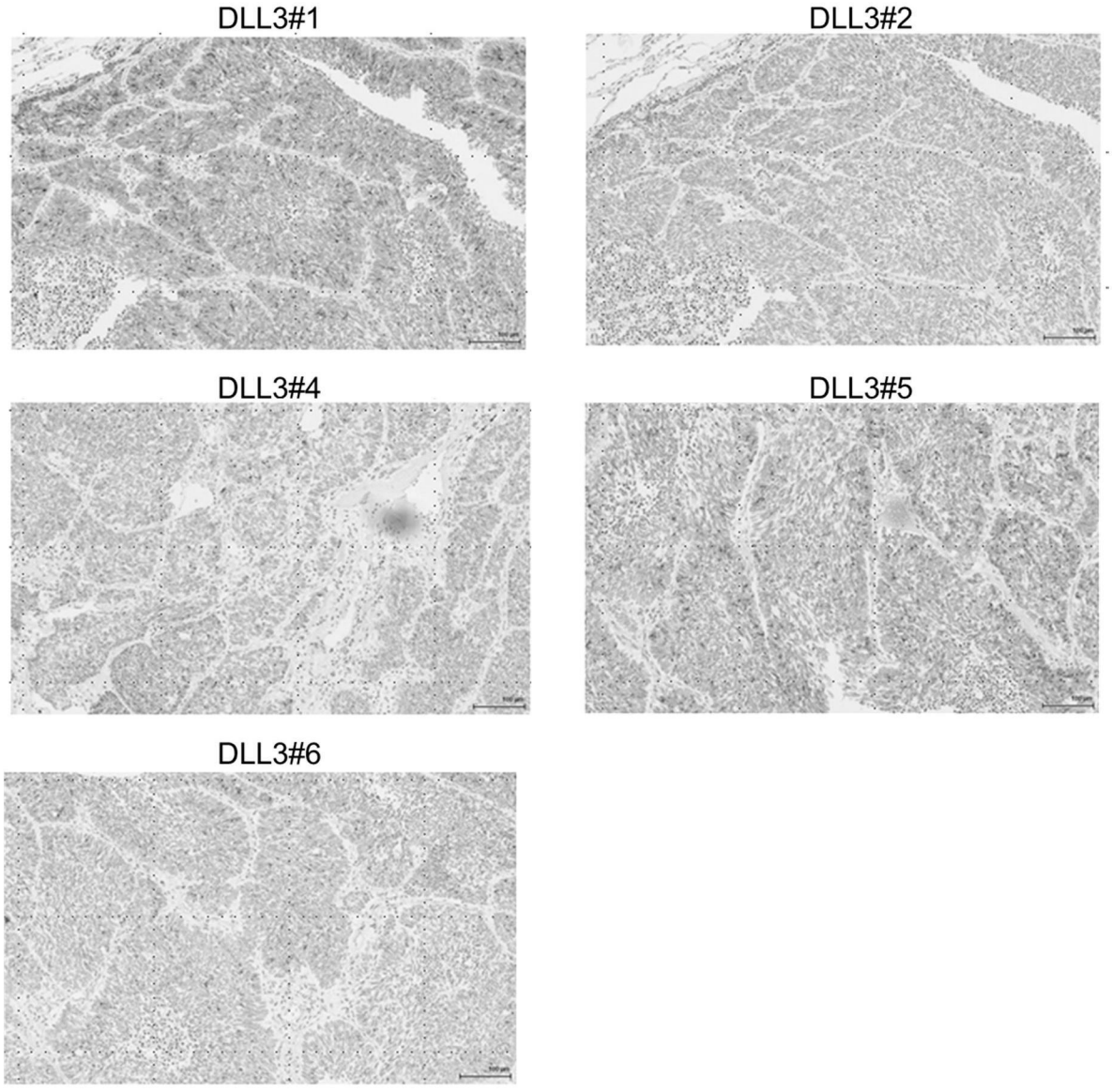
【圖21】


1500000
1000000
500000
0
ECL值
0.01
0.1
1
10
100
1000
DLL3蛋白質[ng/ml]
DLL3#3
DLL3#4
DLL4#5

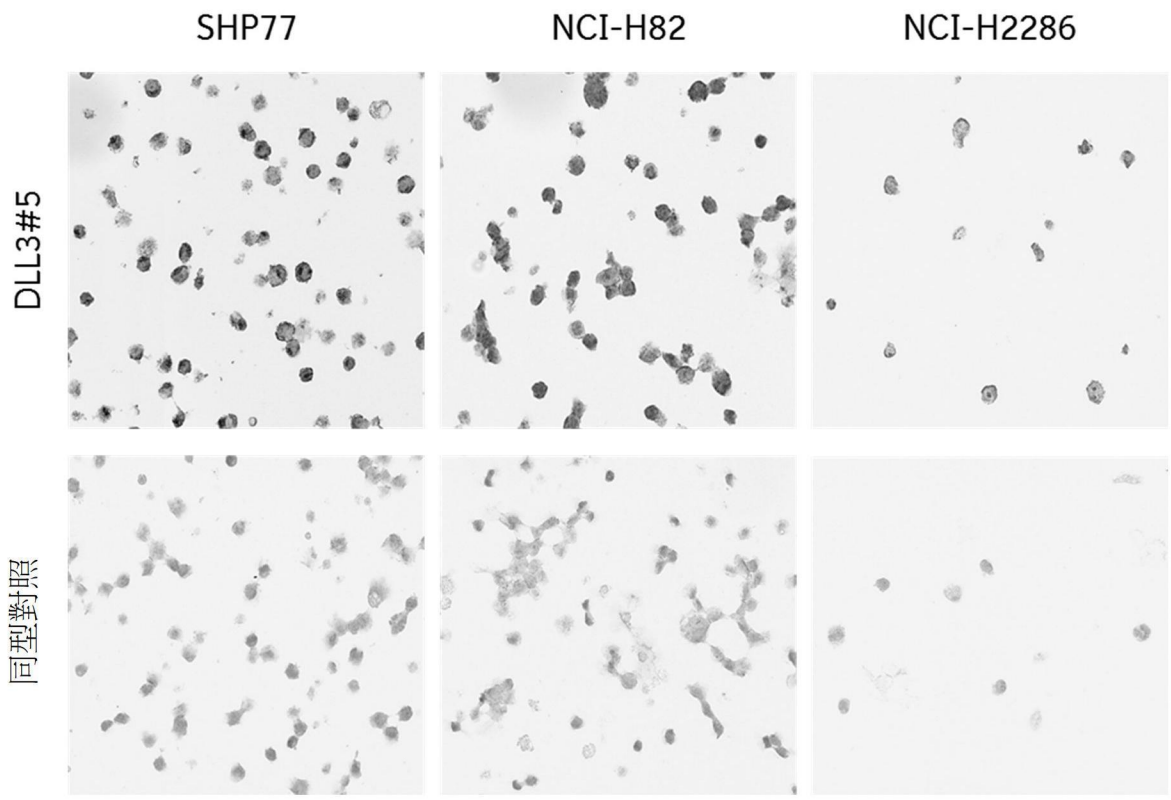
【圖22】


10
8
6
4
2
相比於背景之x倍數
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
抗DLL3 [nM]
DLL3#1
DLL3#2
DLL3#3
DLL3#4
DLL3#5
DLL3#6

【圖23】



【圖24】



【圖25】