202233672

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202233672 A

(43)公開日： 中華民國 111 (2022) 年 09 月 01 日

(21)申請案號：110139045 (22)申請日： 中華民國 110 (2021) 年 10 月 21 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *A61K39/00 (2006.01)*
A61K47/68 (2017.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2020/10/22 美國 63/094,933
2020/10/22 美國 63/094,934

(71)申請人：美商健生生物科技公司 (美國) JANSSEN BIOTECH, INC. (US)
美國

(72)發明人：楊 丹青 YANG, DANLIN (CA)；辛格 桑佳雅 SINGH, SANJAYA (US)；布羅德斯科特 BRODEUR, SCOTT R. (US)；卡特 吉爾 CARTON, JILL M. (US)；甘尼桑 拉傑庫馬爾 GANESAN, RAJKUMAR (US)；赫佐格 詹妮佛 HERTZOG, JENNIFER (US)；麥克德維特 泰瑞莎 MCDEVITT, THERESA (US)；皮查 克里斯汀 PICHA, KRISTEN M. (US)；史密斯 萊恩 SMITH, RYAN M. (US)；茲沃拉克 亞當 ZWOLAK, ADAM (US)；文卡塔拉瑪尼 薩迪亞德維 VENKATARAMANI, SATHYADEVI (US)；鮑爾斯 戈登 POWERS, GORDON D. (US)

(74)代理人：陳彥希；何愛文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：32 項 圖式數：13 共 487 頁

(54)名稱

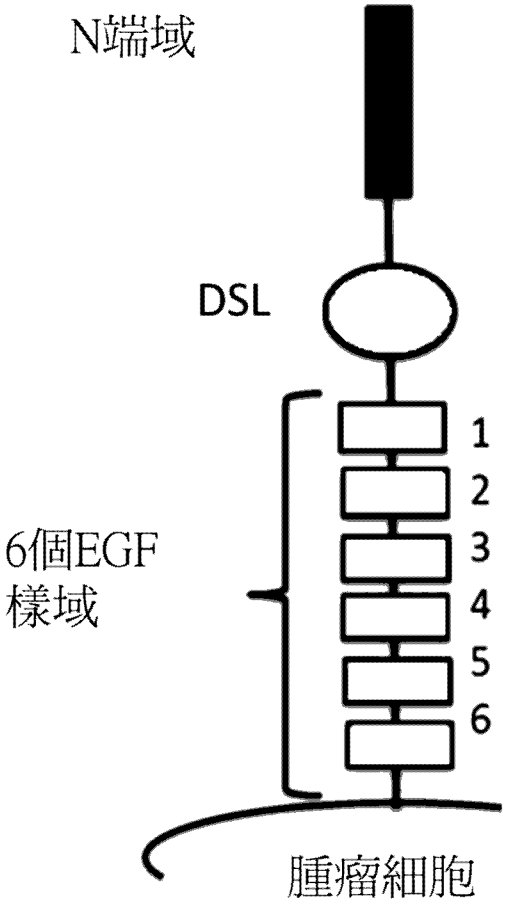
包括類δ配體３（ＤＬＬ３）抗原結合區之蛋白質及其用途

(57)摘要

描述結合類δ蛋白質 3 (DLL3)的抗體及抗原結合區。亦描述含有結合至 DLL3 之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體，諸如雙特異性抗體。本申請案亦描述使用抗 DLL3 抗體、其抗原結合片段或多特異性抗原結合構築體、及相關分子、組成物、及方法進行治療或偵測的方法。

Antibodies and antigen binding regions that bind delta-like protein 3 (DLL3) are described. Multispecific antigen-binding constructs, such as bispecific antibodies, containing the antigen binding regions that bind to DLL3 are also described. The application also describes methods of treatment or detection using the anti-DLL3 antibodies, antigen-binding fragments or multispecific antigen-binding constructs thereof, and related molecules, compositions and methods.

指定代表圖：



【圖1】

【發明摘要】

【中文發明名稱】包括類δ配體3(DLL3)抗原結合區之蛋白質及其用途

【英文發明名稱】PROTEINS COMPRISING DELTA-LIKE LIGAND 3 (DLL3) ANTIGEN BINDING REGIONS AND THEIR USES

【中文】

描述結合類δ蛋白質3 (DLL3)的抗體及抗原結合區。亦描述含有結合至DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體，諸如雙特異性抗體。本申請案亦描述使用抗DLL3抗體、其抗原結合片段或多特異性抗原結合構築體、及相關分子、組成物、及方法進行治療或偵測的方法。

【英文】

Antibodies and antigen binding regions that bind delta-like protein 3 (DLL3) are described. Multispecific antigen-binding constructs, such as bispecific antibodies, containing the antigen binding regions that bind to DLL3 are also described. The application also describes methods of treatment or detection using the anti-DLL3 antibodies, antigen-binding fragments or multispecific antigen-binding constructs thereof, and related molecules, compositions and methods.

【指定代表圖】圖1

【代表圖之符號簡單說明】無

【特徵化學式】無

【發明說明書】

【中文發明名稱】包括類δ配體3(DLL3)抗原結合區之蛋白質及其用途

【英文發明名稱】PROTEINS COMPRISING DELTA-LIKE LIGAND 3 (DLL3) ANTIGEN BINDING REGIONS AND THEIR USES

【技術領域】

【0001】 電子提交序列表之參照

【0002】 本申請案含有序列表，該序列表已以ASCII格式序列表經由EFS-Web電子提交，檔案名稱為「sequence listing JBI6411」，創建日期2021年10月7日，檔案大小275 KB。經由EFS-Web提交之序列表係本說明書之一部分，其全文以引用方式併入本文中。

【0003】 本申請案係關於一種包含結合類δ典型Notch配體3 (Delta-like canonical Notch Ligand 3, DLL3)之抗原結合區之蛋白質以及相關組成物及方法。

【先前技術】

【0004】 前列腺癌是男性第二常被診斷出的癌症及第六大癌症死亡原因，佔全世界男性新癌症病例總數的14% (903,500)及癌症死亡總數的6% (258,400)。轉移性前列腺癌係美國男性癌症死亡的第二大原因。前列腺癌從診斷到死亡的病程最能基於疾病程度、激素狀態、及可偵測的轉移存在與否分類為一系列臨床階段：局部疾病、輻射療法或手術後前列腺特異性抗原(PSA)水平上升且無可偵測的轉移、及在無去勢或去勢階段中的臨床轉移。雖然手術、

輻射或彼等之組合可以治癒患有局部性疾病的患者，這些患者中有顯著比例病情會反覆發作，如同PSA上升所證實，其可導致轉移的發展，尤其是在高危險群（轉變到該疾病致命期）中。

【0005】 雄性激素去除療法(androgen depletion therapy, ADT)是具有通常可預測結果的標準治療：PSA減少，一段腫瘤沒有擴散的穩定期，接著是PSA上升及再生長為去勢抗性疾病。歷來，ADT已是轉移性前列腺癌病患的標準照護。

【0006】 然而，最近的臨床數據表明，雄性激素去除療法可透過細胞轉分化之程序而導致雄性激素非依賴型腫瘤表型（稱為神經內分泌前列腺癌(neuroendocrine prostate cancer, NEPC)）之出現。類δ典型Notch配體3 (DLL3)已顯示在RNA及蛋白質水準下均富集於NEPC腫瘤中。因此，經設計以靶向DLL3的策略可在NEPC/小細胞癌患者群體中具有臨床效用。

【0007】 小細胞肺癌佔所有肺癌發生率之大約20%。小細胞肺癌進展迅速且難以手術移除，因為在許多情況下，在診斷時已經發生了淋巴結轉移或遠端轉移。此癌症在其早期階段展現出對抗癌劑的高反應率。因此，化療被視為治療癌症的首選。然而，癌症立即變得對化療具有抗性且復發，導致3年存活率係5%或更低。

【0008】 因此，需要治療癌症（諸如NEPC、小細胞癌或小細胞肺癌）的新療法。

【0009】 在正常細胞中，DLL3在細胞內調控notch傳訊。在癌細胞中，DLL3在細胞外表現，例如，在人體內具有618個胺基酸及8個細胞外域，包括六個EGF樣重複。人類DLL3與食蟹獼猴及小鼠/大鼠高度同源，分別共有96%

及83%胺基酸序列同一性，而其與DLL1及DLL4僅共有約<40%同一性。DLL3在正常組織中之表現很低，甚至不可偵測，但在神經內分泌腫瘤（包括小細胞肺癌、前列腺癌、大細胞癌、及膀胱癌）之細胞表面上高度表現，並已成為治療神經內分泌癌症之T細胞重導向之靶標。

【發明內容】

相關申請案之交互參照

【0010】 本申請案主張美國臨時專利申請案第63/094,933號（2020年10月22日提出申請）及美國臨時專利申請案第63/094,934號（2020年10月22日提出申請）之優先權，各專利申請案之揭露全文以引用方式併入本文中。

【0011】 在一個通常態樣中，本揭露係關於一種單離蛋白質，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中該抗原結合區結合至如SEQ ID NO:263中所示之人類DLL3之殘基429-618內的表位。

【0012】 在一些實施例中，單離蛋白質包含與參考抗體競爭結合至DLL3之抗原結合區，該參考抗體包含：a)具有胺基酸序列係SEQ ID NO:1的VH之重鏈互補決定區(heavy chain complementarity determining region, HCDR)1、HCDR2、及HCDR3的重鏈可變區(heavy chain variable region, VH)、及具有胺基酸序列係SEQ ID NO:2的VL之輕鏈互補決定區(light chain complementarity determining region, LCDR)1、LCDR2、及LCDR3的輕鏈可變區(light chain variable region, VL)；b)具有胺基酸序列係SEQ ID NO:3的VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3的VH及具有胺基酸序列係SEQ ID NO:4的VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3的VL；c)具有SEQ ID NO:5之VH之HCDR1、

HCDR2、及HCDR3的VH及SEQ ID NO:6之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；d) SEQ ID NO:7之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:8之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；e) SEQ ID NO:9之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:10之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；f) SEQ ID NO:11之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:12之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或g) SEQ ID NO:13之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:14之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。可任選地，參考抗體包含SEQ ID NO:3之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0013】 可任選地，單離蛋白質包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：a)分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；b)分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；c)分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；d)分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；e)分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；f)分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；g)分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；h)分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；i)分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；j)分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；k)分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；l)分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或m)分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。可任選地，單離蛋白質包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。可任選地，結合DLL3之抗原結合區係scFv、$(scFv)_2$、Fv、Fab、$F(ab')_2$、Fd、dAb、或VHH。可任選地，結合DLL3

之抗原結合區係Fab。可任選地，結合DLL3之抗原結合區係scFv。可任選地，scFv自N至C端包含VH、第一連接子(L1)、及VL (VH-L1-VL)或VL、L1、及VH (VL-L1-VH)。可任選地，L1包含：a)約5至50個胺基酸；b)約5至40個胺基酸；c)約10至30個胺基酸；或d)約10至20個胺基酸。可任選地，L1包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。可任選地，L1包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

【0014】 本揭露亦提供一種結合DLL3之抗原結合區，其包含SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、或13之VH及SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、或14之VL。可任選地，結合DLL3之抗原結合區包含：a) SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；b) SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；c) SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；d) SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；e) SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；f) SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；及/或g) SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。可任選地，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。可任選地，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列。

【0015】 本揭露提供一種單離蛋白質，其係單特異性蛋白質或多特異性抗原結合構築體。可任選地，單離蛋白質係多特異性抗原結合構築體。可任選地，多特異性抗原結合構築體係雙特異性蛋白質。可任選地，多特異性抗原結合構築體係三特異性蛋白質。可任選地，多特異性抗原結合構築體包含結合淋巴球上的抗原之抗原結合區。可任選地，淋巴球係T細胞。可任選地，T細胞係$CD8^+$ T細胞。可任選地，淋巴球係自然殺手(natural killer, NK)細胞。可任選地，在多特異性抗原結合構築體中，淋巴球上的抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。可任選地，淋巴球上的抗原係CD3ε。

【0016】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體包含結合CD3ε之抗原結合區，其包含a) SEQ ID NO:98之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；或b) SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。在一些實施例中，在多特異性抗原結合構築體中，結合CD3ε之抗原結合區包含SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3。在一些實施例中，在多特異性抗原結合構築體中，結合CD3ε之抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

【0017】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體包含結合CD3ε之抗原結合區，其包含a) SEQ ID NO:95之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3；或b) SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體包含結合CD3ε之抗原結合區，其包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體包含結合CD3ε之抗原結合區，其包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

【0018】 本揭露亦提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：a)分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；b)分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；c)分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；d)分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；e)分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；f)分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；g)分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；h)分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；i)分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；j)分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；k)分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；l)分別為SEQ ID NO:59、

60、29、44、45、46；m)分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49; n) SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；o) SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；p) SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；q) SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；r) SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；s) SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；或t) SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。可任選地，多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之結合域，其包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0019】　在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之重鏈可變區(VH)的重鏈互補決定區(HCDR)1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之輕鏈可變區(VL)的輕鏈互補決定區(LCDR)1、LCDR2、及LCDR3。

【0020】　本揭露亦提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之重鏈可變區(VH)及SEQ ID NO:4之輕鏈可變區(VL)。

【0021】　在一些實施例中，單離蛋白質係接合至半衰期延長部份。可任選地，半衰期延長部份係免疫球蛋白(Ig)、Ig之片段、Ig恆定區、Ig恆定區之片段、Fc區、轉鐵蛋白、白蛋白、白蛋白結合域、或聚乙二醇。可任選地，Ig恆定區之片段包含Fc區。可任選地，結合DLL3之抗原結合區係接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的N端。可任選地，結合DLL3之抗原結合區係接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的C端。可任選地，結合DLL3之抗原結合區係經由第二連接

子(L2)接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段。可任選地，L2包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。可任選地，Ig恆定區或Ig恆定區之片段係IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4同型。可任選地，Ig恆定區或Ig恆定區之片段係IgG1同型。可任選地，Ig恆定區或Ig恆定區之片段包含導致蛋白質與Fcγ受體(FcγR)之結合減少的至少一個突變。可任選地，導致蛋白質與FcγR之結合減少的至少一個突變係選自由下列所組成之群組：F234A/L235A、L234A/L235A、L234A/L235A/D265S、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、F234A/L235A、S228P/F234A/L235A、N297A、V234A/G237A、K214T/E233P/L234V/L235A/G236-缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、H268Q/V309L/A330S/P331S、S267E/L328F、L234F/L235E/D265A、L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、及S228P/F234A/L235A/G236-缺失/G237A/P238S，其中殘基編號係根據EU索引。可任選地，導致蛋白質與FcγR之結合減少的突變係L234A_L235A_D265S。

【0022】 本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。b) SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；c) SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；d) SEQ ID NO:63之scFv；及/或e) SEQ ID NO:64之scFv。可任選地，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:15、16、

17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b) SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；可任選地，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。b) SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；及/或c) SEQ ID NO:65之scFv。可任選地，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；b) SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；及/或c) SEQ ID NO:66之scFv。可任選地，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；b) SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；及/或c) SEQ ID NO:67之scFv。可任選地，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:27、28、29、44、45、46之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；b) SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；及/或c) SEQ ID NO:68之scFv。可任選地，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中抗原結合區包含a)分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；b) SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL；及/或c) SEQ ID NO:69之scFv。

【0023】　可任選地，單離蛋白質係包含結合CD3ε之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體。可任選地，多特異性抗原結合構築體包含結合CD3ε之抗原結合區，其包含a) SEQ ID NO:98之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID

NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；及/或b) SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。可任選地，多特異性抗原結合構築體包含結合CD3ε之抗原結合區，其包含a) SEQ ID NO:95之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3；及/或b) SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0024】 本揭露提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原之第二抗原結合區。可任選地，淋巴球抗原係T細胞抗原。可任選地，T細胞抗原係$CD8^+$ T細胞抗原。可任選地，淋巴球抗原係NK細胞抗原。可任選地，淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。可任選地，淋巴球抗原係CD3ε。

【0025】 可任選地，在單離抗DLL3/抗CD3蛋白質中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含scFv、$(scFv)_2$、Fv、Fab、$F(ab')_2$、Fd、dAb、或VHH。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含Fab。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含scFv。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含scFv，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含Fab。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含Fab，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含scFv。可任選地，scFv自N至C端包含VH、第一連接子(L1)、及VL (VH-L1-VL)或VL、L1、及VH (VL-L1-VH)。可任選地，L1包含：

a)約5至50個胺基酸；b)約5至40個胺基酸；c)約10至30個胺基酸；或d)約10至20個胺基酸。可任選地，L1包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。可任選地，L1包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

【0026】 可任選地，在單離抗DLL3/抗CD3蛋白質中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:15、18、21、24、27、30、50、52、53、55、57、59、或61之HCDR1、SEQ ID NO:16、19、22、25、28、31、51、54、56、58、60、或62之HCDR2、SEQ ID NO:17、20、23、26、29、32、17、20、23、26、29、或32之HCDR3、SEQ ID NO:33、36、39、41、44、或47之LCDR1、SEQ ID NO:34、37、42、45、或48之LCDR2、及SEQ ID NO:35、38、40、43、46、或49之LCDR3。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：a.分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；b.分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；c.分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；d.分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；e.分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；f.分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；g.分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；h.分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；i.分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；j.分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；k.分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；l.分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或m.分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、

17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0027】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含：a. SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；b. SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；c. SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；d. SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；e. SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；f. SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；或g. SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列。可任選地，結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。可任選地，結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95或98之HCDR1、SEQ ID NO:96或99之HCDR2、SEQ ID NO:97或100之HCDR3、SEQ ID NO:101或106之LCDR1、SEQ ID NO:102或107之LCDR2、及SEQ ID NO:104或108之LCDR3。可任選地，結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。可任選地，結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之

LCDR3。可任選地，結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。可任選地，結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。可任選地，結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。可任選地，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0028】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區係接合至第一免疫球蛋白(Ig)恆定區或第一Ig恆定區之片段，及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區係接合至第二免疫球蛋白(Ig)恆定區或第二Ig恆定區之片段。可任選地，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質進一步包含在結合DLL3之第一抗原結合區與第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段之間、及在結合淋巴球抗原之第二抗原結合區與第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段之間的第二連接子(L2)。可任選地，L2包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、或138之胺基酸序列。可任選地，Ig恆定區之片段包含Fc區。可任選地，其中第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG1、IgG2、及IgG3、或IgG4同型。可任選地，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片

段係IgG1。可任選地，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段包含導致多特異性抗原結合構築體與FcγR之結合減少的至少一個突變。可任選地，導致多特異性抗原結合構築體與FcγR之結合減少的至少一個突變係選自由下列所組成之群組：F234A/L235A、L234A/L235A、L234A/L235A/D265S、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、F234A/L235A、S228P/F234A/L235A、N297A、V234A/G237A、K214T/E233P/L234V/L235A/G236-缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、H268Q/V309L/A330S/P331S、S267E/L328F、L234F/L235E/D265A、L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、及S228P/F234A/L235A/G236-缺失/G237A/P238S，其中殘基編號係根據EU索引。可任選地，導致多特異性抗原結合構築體與FcγR之結合減少的突變係L234A_L235A_D265S。可任選地，蛋白質在Ig恆定區之CH3域中包含至少一個突變。可任選地，在Ig恆定區的CH3域中之至少一個突變係選自由下列所組成之群組：T350V、L351Y、F405A、Y407V、T366Y、T366W、F405W、T394W、T394S、Y407T、Y407A、T366S/L368A/Y407V、L351Y/F405A/Y407V、T366I/K392M/T394W、F405A/Y407V、T366L/K392M/T394W、L351Y/Y407A、T366A/K409F、L351Y/Y407A、T366V/K409F、T366A/K409F、T350V/L351Y/F405A/Y407V、及T350V/T366L/K392L/T394W，其中殘基編號係根據EU索引。

【0029】　在一個通常態樣中，本申請案係關於一種雙特異性抗原結合構築體，其包含：

(1) 結合DLL3之第一抗原結合區，其中第一抗原結合區包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之第一VH、及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之第一VL，且HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3包含下列之胺基酸序列

(a) 分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

(b) 分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

(c) 分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

(d) 分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

(e) 分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

(f) 分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

(g) 分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

(h) 分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

(i) 分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

(j) 分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

(k) 分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

(l) 分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

(m) 分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

(2) 結合CD3ε之第二抗原結合區，其中第二抗原結合區包含：

(a) 具有分別為SEQ ID NO:95、96、及97之胺基酸序列之HCDR1、HCDR2、及HCDR3的第二VH、及具有分別為SEQ ID NO:101、102、及104之胺基酸序列之LCDR1、LCDR2、及LCDR3的第二VL；或

(b) 具有分別為SEQ ID NO:98、99、及100之胺基酸序列之HCDR1、HCDR2、及HCDR3的第二VH、及具有分別為SEQ ID NO:106、107、及108之胺基酸序列之LCDR1、LCDR2、及LCDR3的第二VL。

【0030】 雙特異性抗原結合構築體在本文中稱為「抗DLL3/抗CD3構築體(anti-DLL3/anti-CD3 construct)」或「抗DLL3/抗CD3(anti-DLL3/anti-CD3)」。

【0031】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a)結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合淋巴球抗原之第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b)結合DLL3之第一抗原結合區包含含有SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL的Fab，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:105之scFv；及/或c)單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:109之HC1、SEQ ID NO:110之LC1、及SEQ ID NO:112之HC1。

【0032】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a)結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b)結合DLL3之第一抗原結合區包含含有SEQ ID

NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL的Fab，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:119之scFv；及/或c)單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:109之HC1、SEQ ID NO:110之LC1、及SEQ ID NO:113之HC1。

【0033】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:111之HC1、SEQ ID NO:116之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

【0034】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL的Fab；及/或c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:111之HC1、SEQ ID NO:114之HC2、及SEQ ID NO:115之LC2。

【0035】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:71之HC1、SEQ ID NO:118之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

【0036】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b.結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:71之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:118之HC2至少80%（例

如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的LC2。

【0037】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:229之HC1、SEQ ID NO:230之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

【0038】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或b.結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少

95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:229之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:230之HC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的LC2。

【0039】　本揭露亦提供一種免疫接合物，其包含本揭露之結合DLL3之單離抗原結合區。

【0040】　本揭露亦提供一種包含單離蛋白質之免疫接合物，該單離蛋白質包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0041】　本揭露亦提供一種包含單離多特異性抗原結合構築體之免疫接合物，該單離多特異性抗原結合構築體包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0042】　本揭露亦提供一種醫藥組成物，其包含本揭露之結合DLL3之單離抗原結合區。

【0043】　本揭露亦提供一種包含單離蛋白質之醫藥組成物，該單離蛋白質包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0044】　本揭露亦提供一種包含單離多特異性抗原結合構築體之醫藥組成物，該單離多特異性抗原結合構築體包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0045】　本揭露亦提供一種單離多核苷酸，其編碼本揭露之結合DLL3之單離抗原結合區。

【0046】　本揭露亦提供一種編碼單離蛋白質之單離多核苷酸，該單離蛋白質包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0047】　本揭露亦提供一種編碼單離多特異性抗原結合構築體之單離多核苷酸，該單離多特異性抗原結合構築體包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0048】　本揭露亦提供一種載體，其包含本揭露之多核苷酸。

【0049】　本發明亦提供一種宿主細胞，其包含本揭露之多核苷酸或載體。

【0050】　本揭露亦提供一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向有需要之對象投予治療有效量的結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物達一段足以治療DLL3表現性癌症的時間。

【0051】　本揭露亦提供一種減少對象中DLL3表現性腫瘤細胞的量之方法，其包含向對象投予結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物達一段足以減少DLL3表現性腫瘤細胞的量之時間。

【0052】　本揭露亦提供一種預防對象中DLL3表現性癌症的建立之方法，其包含向有需要之對象投予結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築

體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物，以預防DLL3表現性癌症在對象中建立。

【0053】 本揭露亦提供一種治療有發展DLL3表現性癌性病況之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向有需要之對象投予結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物，以治療非癌性病況。

【0054】 本揭露亦提供一種治療對象之前列腺癌的方法，其包含向有需要之對象投予治療有效量的結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物達一段足以治療前列腺癌的時間。

【0055】 本揭露亦提供一種治療對象之小細胞肺癌的方法，其包含向有需要之對象投予治療有效量的結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物達一段足以治療小細胞肺癌的時間。

【0056】 本揭露亦提供一種偵測對象中前列腺癌或小細胞肺癌之方法，其包含向該對象投予本揭露之免疫接合物、及偵測該免疫接合物與DLL3之結合，藉以偵測前列腺癌或小細胞肺癌。

【0057】 本揭露亦提供一種套組，其包含結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體、本揭露之免疫接合物、或本揭露之醫藥組成物。

【0058】 本揭露亦提供一種抗獨特型抗體(anti-idiotypic antibody)，其結合至本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0059】 如實例中所示，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體可尤其有效於介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。

【圖式簡單說明】

【0060】 前述內容由下列實例實施例之更具體描述將顯而易見，如附圖所示。

〔圖1〕顯示包括DSL域及6個EGF域之DLL3胞外域的示意圖。所顯示之胺基酸序列代表DSL域之殘基176-215 (SEQ ID NO:246)、EGF-1域之殘基216-249 (SEQ ID NO:247)、EGF-2域之殘基274-310 (SEQ ID NO:248)、EGF-3域之殘基312-351 (SEQ ID NO:249)、EGF-4域之殘基353-389 (SEQ ID NO:250)、EGF-5域之殘基391-427 (SEQ ID NO:251)、EGF-6域之殘基429-465 (SEQ ID NO:252)、及EGF-6域之殘基429-618 + C端域(SEQ ID NO:263)。

〔圖2A〕及〔圖2B〕顯示雙特異性抗DLL3 × CD3抗體對DLL3$^+$腫瘤細胞系的細胞結合。圖2A顯示雙特異性抗DLL3 × CD3抗體對DLL3$^+$腫瘤細胞系SHP77細胞的細胞結合。圖2B顯示雙特異性抗DLL3 × CD3抗體對DLL3$^+$腫瘤細胞系HCC1833細胞的細胞結合。

〔圖3〕顯示使用FACS之雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在人類泛T細胞上之結合。

〔圖4〕顯示具有及不具有最佳化抗DLL3序列之抗DLL3 × CD3雙特異性抗體在基於IncuCyte之細胞毒性檢定中評估的腫瘤裂解。

〔圖5A〕及〔圖5B〕顯示藉由incuCyte成像系統即時測量之雙特異性抗DLL3 × CD3抗體的體外目標細胞毒性，其係用於定量目標細胞死亡。圖5A顯示藉由incuCyte成像系統即時測量之抗DLL3 × CD3雙特異性分子的體外目標細胞毒性，其係用於定量目標細胞死亡。將單離泛T細胞與DLL3$^+$ SHP77細胞在雙特異性抗DLL3 × CD3抗體存在下共培養120小時。圖5B顯示藉由incuCyte成像系統即時測量之抗DLL3 × CD3雙特異性分子的體外目標細胞毒性，其係用於定量目標細胞死亡。將單離泛T細胞與DLL3$^-$ HEK293細胞在雙特異性抗DLL3 × CD3抗體存在下共培養120小時。

〔圖6〕顯示將單離泛T細胞與DLL3$^+$ SHP77細胞在雙特異性抗DLL3/CD3抗體存在下共培養120小時。

〔圖7〕顯示藉由雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之體外T細胞IFN-γ釋放。IFN-γ濃度係自所示時間點收集之上清液測量。

〔圖8A〕至〔圖8C〕顯示由雙特異性抗DLL3 × CD3抗體所介導之對抗PBMC中之DLL3$^+$目標細胞系之細胞毒性。圖8A顯示以10:1的E:T比，由雙特異性抗DLL3 × CD3抗體所介導之對抗PBMC中之DLL3$^+$目標細胞系之細胞毒性。圖8B顯示以5:1的E:T比，由雙特異性抗DLL3 × CD3抗體所介導之對抗PBMC中之DLL3$^+$目標細胞系之細胞毒性。圖8C顯示以1:1的E:T比，由雙特異性抗DLL3 × CD3抗體所介導之對抗PBMC中之DLL3$^+$目標細胞系之細胞毒性。

〔圖9〕顯示在全PBMC細胞毒性檢定中CD3$^+$ T細胞回應於雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之增生。

〔圖10A〕至〔圖10C〕顯示T細胞回應於雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之活化。圖10A顯示T細胞回應於雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之活化（$CD25^+$細胞%）。圖10B顯示T細胞回應於雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之活化（$CD69^+$細胞%）。圖10C顯示T細胞回應於雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之活化（$CD71^+$細胞%）。

〔圖11A〕顯示在48小時IFNγ濃度之劑量反應曲線。

〔圖11B〕顯示在120小時IFNγ濃度之劑量反應曲線。

〔圖12A〕顯示在48小時呈總CD8+ T細胞之百分比的CD8+CD25+ T細胞之劑量反應曲線。

〔圖12B〕顯示在120小時呈總CD8+ T細胞之百分比的CD8+CD25+ T細胞之劑量反應曲線。

〔圖13A〕顯示在72小時CD8+ T細胞增生之劑量反應曲線。

〔圖13B〕顯示在120小時CD8+ T細胞增生之劑量反應曲線。

【實施方式】

【0061】　各篇公開案、論文、專利、及專利申請案已於先前技術及整份說明書引用或描述；此等參考文獻之各者全文係以引用方式併入本文中。本說明書中所包括之對於文件、行動、材料、裝置、物品、或類似者的論述，其目的在於提供關於本發明的脈絡。此等論述並非承認，任一或所有此等情事形成了關於任何所揭示或請求之發明的先前技術部分。

【0062】　雖然任何類似或等效於本文中所述者之方法及材料可用於測試本申請案之實務中，本文中仍描述例示性材料及方法。

【0063】 除非另有定義，否則本文中所使用之所有技術及科學用語，均與本申請案有關技術領域中具有通常知識者所通常了解之意義相同。在其他方面，在本文中所使用的某些用語具有如本說明書所定之意義。在本文中所引用的所有專利、已公開專利申請案及公開案係以引用方式併入，猶如全文說明於本文中。必須注意的是，本文及附加之申請專利範圍中所使用之單數形式「一(a/an)」及「該(the)」皆包括複數指稱，除非上下文另有明確說明。因此，例如對於「一細胞(a cell)」之指稱包括二或更多個細胞之組合與類似者。

【0064】 當呈現清單時，除非另有陳述，否則應理解該清單之各個別元件及該清單之每種組合皆係分開的實施例。舉例而言，呈現為「A、B、或C」的實施例清單將解讀為包括實施例「A」、「B」、「C」、「A或B」、「A或C」、「B或C」、或「A、B、或C」。

【0065】 除非另有說明，在本文中描述之任何數值（諸如濃度或濃度範圍）應理解為在所有情況下皆受到用語「約(about)」之修飾。因此，數值一般包括記載值之± 10%。例如，10 mg之劑量包括9 mg至11 mg。如本文中所使用，數值範圍之使用明確包括所有可能的子範圍、在該範圍內之所有個別數值，包括在此類範圍內之整數及該等值之分數，除非上下文另有明確指示。

【0066】 如本文中所使用，多個所述元件之間的連接用語「及/或(and/or)」係理解為涵蓋個別及組合選項兩者。例如，其中兩個元件係藉由「及/或」連接時，第一選項係指第一元件在沒有第二元件的情況下之適用性。第二選項係指第二元件在沒有第一元件的情況下之適用性。第三選項係指第一元件及第二元件一起之適用性。這些選項之任一者應理解為落入該含義內，並因此

滿足如本文中所使用之用語「及/或」之要求。該等選項之多於一者的並行適用性亦應理解為落入該含義內，並因此滿足用語「及/或」之要求。

【0067】 連接詞「包含(comprising)」、「基本上由…組成(consisting essentially of)」、及「由…組成(consisting of)」意欲意味著彼等在專利語言中一般公認的意義；亦即，(i)「包含(comprising)」與「包括(including)」、「含有(containing)」、或「其特徵在於(characterized by)」同義，係包括式或開放式，且不排除額外、未列舉之元件或方法步驟；(ii)「由…所組成」排除申請專利範圍中未指明之任何元件、步驟、或成分；且(iii)「基本上由…組成」將請求項的範疇限制在所指明的材料或步驟「及不實質影響（所請發明的）（多個）基本及新穎特徵者」。以片語「包含」（或其均等詞）描述的實施例亦提供以「由…組成」及「基本上由…組成」所獨立描述之實施例。

【0068】 「約(about)」意指在特定值的可接受誤差範圍內，如所屬技術領域中具有通常知識者所判定，其將部分地取決於該值是如何測量或判定的，即測量系統的限制。除非在實例或說明書中的其他地方在一特定檢定、結果或實施例的上下文中另有明確說明，「約(about)」意指根據本領域的實務在一個標準偏差內，或者至多5%的範圍，以較大者為準。

【0069】 「活化(activation)」或「刺激(stimulation)」或「經活化(activated)」或「經刺激(stimulated)」係指誘導細胞之生物狀態的變化，從而導致活化標記之表現、細胞介素生產、目標細胞之增生或介導目標細胞之細胞毒性。細胞可藉由初級刺激信號活化。

【0070】 「替代支架(alternative scaffold)」係指一種單鏈蛋白質架構，其含有與具有高構形容許度之可變域相關聯的結構化核心。該等可變域容許變異

引入而不會減損支架完整性，因而該等可變域可經工程改造且經選擇以結合至特定抗原。

【0071】 「抗體依賴性細胞毒性(antibody-dependent cellular cytotoxicity)」、「抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)」、或「ADCC」係指誘導細胞死亡的機制，其取決於抗體包覆的目標細胞與具有裂解活性的效應細胞（諸如自然殺手細胞(NK)、單核球、巨噬細胞、及嗜中性球）之間經由表現在效應細胞上的Fcγ受體(FcγR)的交互作用。

【0072】 「抗體依賴性細胞吞噬作用(antibody-dependent cellular phagocytosis)」或「ADCP」係指透過吞噬細胞（諸如巨噬細胞或樹突細胞）內化(internalization)以消滅抗體包覆的目標細胞的機制。

【0073】 抗原(antigen)」係指能夠被抗原結合區或T細胞受體結合且能夠介導免疫反應之任何分子（例如，蛋白質、肽、多醣、醣蛋白、醣脂、核酸、其部分、或其組合）。例示性免疫反應包括抗體生產及免疫細胞（諸如T細胞、B細胞、或NK細胞）之活化。抗原可由基因表現、經合成、或純化自生物樣本，生物樣本諸如組織樣本、腫瘤樣本、細胞、或具有其他生物組分、生物體、蛋白質/抗原之次單元、已殺滅或去活化之全細胞或溶解物(lysate)的流體。

【0074】 「抗原結合區(antigen binding region)」或「抗原結合片段(antigen binding fragment)」或「抗原結合域(antigen binding domain)」各係指結合抗原之全長抗體之一部分。抗原結合區可為合成的、以酶促方式可獲得或經基因工程改造之多肽。抗原結合區一般包含至少VH區之一或多個部分。抗原結合片段包括多價分子（包含抗體之一、二、三、或更多個抗原結合部分）及

單鏈構築體，其中VL區及VH區（或其所選部分）係藉由合成連接子或藉由重組方法連接，以形成功能性、抗原結合分子。抗原結合片段亦可係單域抗體(sdAb)（亦稱為奈米抗體(nanobody)），其係由單一單體可變抗體域(VHH)所組成之抗體片段。抗原結合片段之實例包括Fab、Fab'、$F(ab)_2$、$F(ab')_2$、$F(ab)_3$、Fv（一般為抗體之單臂的VL域及VH域）、單鏈Fv（scFv，請參見例如Bird et al., Science 1988; 242:423-426；及Huston等人PNAS 1988；85:5879-5883）、dsFv、Fd（一般為VH域及CH1域）、及dAb（一般為VH域）片段；VH域、VL域、VHH域、及V-NAR域；包含單一VH及單一VL鏈之單價分子；微抗體(minibody)、雙鏈抗體(diabody)、三鏈抗體(triabody)、四鏈抗體(tetrabody)、及κ抗體(kappa body)（請參見例如，Ill et al., Protein Eng 1997; 10:949-57）；駱駝IgG；IgNAR；以及一或多個單離CDR或功能性互補位，其中單離CDR或抗原結合殘基或多肽可經聯結或連接在一起以形成功能性抗體片段，最小識別單位由下列組成：模擬抗體CDR的胺基酸殘基，諸如FR3-CDR3-FR4部分、HCDR1、HCDR2、及/或HCDR3、及LCDR1、LCDR2、及/或LCDR3；結合抗原之替代支架；及包含抗原結合區之多特異性抗原結合構築體。各種類型的抗體片段已描述或綜述於例如Holliger and Hudson, Nat Biotechnol 2005; 23:1126-1136；WO2005040219、及已公開之美國專利申請案20050238646及20020161201。抗體片段可使用習知重組或蛋白質工程改造技術獲得，且該等片段可以與完整抗體相同之方式針對抗原結合或其他功能進行篩選。已針對抗體片段之生產開發出各種技術。傳統上，這些片段係經由全長抗體之蛋白水解消化得到（請參見例如Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 24:107-117 (1992)；及Brennan et al., Science, 229:81 (1985)）。然而，

這些片段現在可直接由重組宿主細胞生產。替代地，Fab'-SH片段可直接自大腸桿菌(*E. coli*)回收並經化學偶合，以形成F(ab')2片段(Carter et al., Bio/Technology, 10:163-167 (1992))。根據另一方法，F(ab')2片段可直接自重組宿主細胞培養物中單離出來。在其他實施例中，選用之抗體係單鏈Fv片段(scFv)。參見WO 1993/16185；美國專利第5,571,894號；及美國專利第5,587,458號。例如，抗體片段亦可係「線性抗體(linear antibody)」，例如美國專利第5,641,870號中所述。此類線性抗體片段可係單特異性或雙特異性的。抗原結合區（諸如VH及VL）可經由合成連接子連接在一起以形成各種類型的單鏈抗體設計，其中VH/VL域可進行分子內配對，或者在VH及VL域係由分開之單鏈表現的情況下可進行分子間配對，以形成單價抗原結合區，諸如單鏈Fv (scFv)或雙鏈抗體(diabody)。抗原結合區亦可接合至可為單特異性或多特異性的其他抗體、蛋白質、抗原結合區、或替代支架，以工程改造雙特異性及多特異性抗原結合構築體。

【0075】　「抗體(antibody/antibodies)」係以廣義的方式意指並包括免疫球蛋白分子，其包括多株抗體、單株抗體（包括鼠類、人類、人源化(humanized)、嵌合單株抗體）、抗原結合區、多特異性抗體（諸如雙特異性、三特異性、四特異性等）、二聚體、四聚體、或多聚體抗體、單鏈抗體、域抗體、及任何其他包含具有所需特異性之抗原結合部位的免疫球蛋白分子之修飾構形。「全長抗體(full length antibody)」包含藉由雙硫鍵互連之兩條重鏈(HC)及兩條輕鏈(LC)以及其多聚體（例如IgM）。各重鏈包含重鏈可變區(VH)及重鏈恆定區（包含域CH1、鉸鏈、CH2、及CH3）。每條輕鏈包含輕鏈可變區(VL)及輕鏈恆定區(CL)。VH區及VL區可進一步細分成多個高度變異區（稱為

互補決定區(CDR)），其間穿插架構區(FR)。各VH及VL係由三個CDR及四個FR區段構成，按照下列順序從胺基至羧基端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及FR4。免疫球蛋白可分派為下列五大類別：IgA、IgD、IgE、IgG及IgM，視重鏈恆定域(constant domain)胺基酸序列而定。IgA及IgG係進一步被細分為同型IgA1、IgA2、IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。任何脊椎動物物種的抗體輕鏈可被分為兩種明確不同類型（即kappa (κ)及lambda (λ)）中之一者，其視其恆定域的胺基酸序列而定。與抗體生產相關之抗體分子結構及各種技術的一般原理係提供於例如Harlow and Lane, ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., (1988)。

【0076】 本申請案之單離蛋白質或構築體亦可包含抗體衍生物。如本文中所使用，用語「抗體衍生物(antibody derivative)」係指包含全長抗體或其抗原結合片段之分子，其中一或多個胺基酸經化學修飾或取代。可用於抗體衍生物之化學修飾包括例如烷化、聚乙二醇化(PEGylation)、醯化、酯形成或醯胺形成、或類似者，例如用於將抗體連接至第二分子。例示性修飾包括聚乙二醇化（例如，半胱胺酸聚乙二醇化）、生物素化、放射性標示、及與第二劑（諸如細胞毒性劑）之偶聯。

【0077】 本文中之抗體包括抗原結合或生物活性經改變之「胺基酸序列變體」。此類胺基酸改變之實例包括對於抗原之親和力增強的抗體（例如，「親和力成熟」抗體）及Fc區（如果存在）經改變（例如，抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)經改變（增加或減少）（請參見例

如，Presta, L.之WO 00/42072及Iduosogie等人之WO 99/51642）；及/或血清半衰期經增加或減少（請參見例如，Presta, L.之WO00/42072））之抗體。

【0078】 「雙特異性抗原結合構築體(bispecific antigen-binding construct)」或「雙特異性構築體(bispecific construct)」係指特異性結合二種不同抗原或相同抗原內兩個不同表位的構築體。雙特異性抗原結合構築體可係蛋白質、蛋白質複合物、或抗體。雙特異性構築體可對於其他相關抗原具有交叉反應性，例如對於來自其他物種（諸如人類或猴）的相同抗原（同源物(homolog)）具有交叉反應性，例如食蟹獼猴(*Macaca cynomolgus*, cynomolgus, cyno)或黑猩猩(*Pan troglodytes*)，或者可以結合二或更多種不同抗原之間共有的表位。

【0079】 「雙特異性抗DLL3/抗CD3抗體(bispecific anti-DLL3/anti-CD3 antibody)」、「抗DLL3 × CD3 (anti-DLL3 × CD3)」、「DLL3/CD3抗體(DLL3/CD3 antibody)」、「DLL3×CD3抗體(DLL3×CD3 antibody)」、「抗DLL3/抗CD3蛋白質(anti-DLL3/anti-CD3 protein)」、及類似者係指結合DLL3及CD3之構築體或抗體，且包含至少一個特異性結合DLL3之結合域及至少一個特異性結合CD3之結合域。特異性結合DLL3及CD3之結構域一般係V_H/V_L對。雙特異性抗DLL3×CD3抗體就其與DLL3或CD3之結合而言可以是單價的。

【0080】 當用於本文中時，用語「高度變異區(hypervariable region)」係指抗體負責抗原結合之胺基酸殘基。高度變異區通常包含來自「互補決定區」或「CDR」之胺基酸殘基（輕鏈可變域中之殘基24-34 (L1)、50-56 (L2)、及89-97 (L3)，及重鏈可變域中之殘基31-35 (H1)、50-65 (H2)、及95-102 (H3)；（Kabat等人(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition,

U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)）及/或來自「高度變異環」之殘基（輕鏈可變域中之殘基26-32 (L1)、50-52 (L2)、及91-96 (L3)，及重鏈可變域中之殘基26-32 (H1)、53-55 (H2)、及96-101 (H3)；Chothia及Lesk, J. Mol.Biol.1987；196:901-917）。一般而言，此區中之胺基酸殘基的編號係藉由上述Kabat et al.中所述之方法執行。諸如「Kabat位置」、「如Kabat中之可變域殘基編號」、及「根據Kabat」之片語在本文中係指用於重鏈可變域或輕鏈可變域之此編號系統。使用Kabat編號系統，肽之實際線性胺基酸序列可含有較少或額外的對應於可變域之FR或CDR的縮短或插入之胺基酸。例如，重鏈可變域可包括CDR H2之殘基52後的單一胺基酸插入（根據Kabat之殘基52a）及重鏈FR殘基82後的插入殘基（例如，根據Kabat之殘基82a、82b、及82c等）。給定抗體之Kabat殘基編號可藉由比對抗體序列之同源性區與「標準」Kabat編號序列來判定。

【0081】 作為參考抗體之「結合至相同表位之抗體」係指在競爭檢定中阻斷參考抗體與其抗原之結合達50%或更多的抗體，且相反地，參考抗體在競爭檢定中阻斷抗體與其抗原之結合達50%或更多。

【0082】 與本發明之方法有關的用語「投予(administering)」，意指藉由使用本發明之偶聯物或其形式、組成物、或藥劑來治療性地或疾病預防性地預防、治療、或改善如本文所述之症候群、病症、或疾病的方法。此類方法包括在療程期間的不同時間投予有效量的該抗體、其抗原結合片段、或偶聯物、或其形式、組成物、或藥劑，或者以組合形式並行投予有效量的該抗體、其抗原結合片段、或偶聯物、或其形式、組成物、或藥劑。本發明之方法應被理解為包括所有習知的治療性治療方案。

【0083】 目標抗體「阻斷」目標分子與天然目標配體之結合的能力，意指該抗體（在使用可溶或細胞-表面相關目標及配體分子之檢定中）可以劑量依賴性方式可偵測地降低目標分子與配體之結合，其中目標分子於該抗體不存在下會可偵測地結合至配體。

【0084】 「癌症(cancer)」係指一群廣泛的各種疾病，其特徵在於身體中異常細胞的不受控制生長。未經調節之細胞分裂及生長導致侵犯鄰近組織的惡性腫瘤形成且亦可經由淋巴系統或血流轉移至身體的遠距部分。「癌症(cancer)」或「癌症組織(cancer tissue)」可包括腫瘤。

【0085】 「補體依賴性細胞毒性(complement-dependent cytotoxicity)」或「CDC」係指誘導細胞死亡的機制，其中與目標結合之蛋白質的Fc效應域結合並活化補體成分C1q，其轉而活化補體級聯反應而導致目標細胞死亡。補體之活化亦可造成補體成分沉積在該目標細胞表面上，其藉由結合白血球上的補體受體（例如，CR3）而促進CDC。

【0086】 「互補決定區(complementarity determining region)」(CDR)係結合抗原之抗體區。VH中有三個CDR（HCDR1、HCDR2、HCDR3），且VL中有三個CDR（LCDR1、LCDR2、LCDR3）。CDR可使用各種描繪來定義，諸如Kabat (Wu et al. (1970) J Exp Med 132: 211-50；Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)、Chothia (Chothia et al. (1987) J Mol Biol 196: 901-17)、IMGT (Lefranc et al. (2003) Dev Comp Immunol 27: 55-77）、及AbM（Martin及Thornton J Bmol Biol 263: 800-15, 1996）。描述各種描繪與可變區編號之間之對應（參見，例如，Lefranc等人(2003) Dev Comp Immunol 27: 55-

77；Honegger and Pluckthun (2001), J Mol Biol 309:657-70；國際免疫遺傳學(International ImMunoGeneTics, IMGT)資料庫；網路資源，http://www_imgt_org）。可用程式（諸如UCL Business PLC之abYsis）可用於描繪CDR。本文中所使用之用語「CDR」、「HCDR1」、「HCDR2」、「HCDR3」、「LCDR1」、「LCDR2」、及「LCDR3」包括由上述Kabat、Chothia、IMGT、或AbM中的任何方法定義的CDR，除非在說明書中另有明確說明。編號系統（包括例如Kabat編號及IMGT獨特編號系統）之間的對應性對於所屬技術領域中具有通常知識者係熟知的（參見例如上述Kabat；上述Chothia；上述Martin；上述Lefranc et al.）。

表1

	IMGT	**Kabat**	**AbM**	**Chothia**
V_H CDR1	27-38	31-35	26-35	26-32
V_H CDR2	56-65	50-65	50-58	53-55
V_H CDR3	105-117	95-102	95-102	96-101
V_L CDR1	27-38	24-34	24-34	26-32
V_L CDR2	56-65	50-56	50-56	50-52
V_L CDR3	105-117	89-97	89-97	91-96

【0087】 「CD3」係指一種抗原，其係表現於T細胞上作為多分子T細胞受體(TCR)複合物之一部分，且其係由自兩個或四個受體鏈締合形成之同二聚體或異二聚體組成：CD3ε、CD3δ、CD3ζ、及CD3γ。人類CD3ε包含SEQ ID NO: 253之胺基酸序列。本文中所有對蛋白質、多肽、及蛋白質片段的指稱意欲指各別蛋白質、多肽、或蛋白質片段的人類版本，除非明確指定為來自非人

類物種。因此，「CD3」意指人類CD3，除非指定為來自非人類物種，例如「小鼠CD3」、「猴CD3」等。

【0088】 在整份說明書中，「CD3特異性(CD3-specific)」或「特異性結合CD3 (specifically binds CD3)」或「抗CD3抗體(anti-CD3 antibody)」係指特異性結合至CD3-ε多肽(SEQ ID NO:253)之抗體，其包括特異性結合至CD3-ε胞外域(ECD) (SEQ ID NO:254)之抗體。CD3-ε多肽連同CD3-γ、CD3-δ、及CD3-ζ、以及T細胞受體α/β及γ/δ異二聚體一起形成T細胞受體-CD3複合物。此複合物在將抗原辨識偶合至數種細胞內信號轉導路徑上扮演了重要角色。CD3複合物介導信號轉導，導致T細胞活化及增生。CD3為免疫反應所需。

【0089】 如本文中所使用，「偶聯物(conjugate)」係指共價連接至一或多個異源分子（包括但不限於治療性肽或蛋白質、抗體、標示、或神經病症藥物）之蛋白質。當一種蛋白質接合至另一種蛋白質時，亦稱兩種蛋白質融合在一起。作為非限制性實例，本申請案之抗體或抗原結合片段可接合至另一多肽以形成融合蛋白。在某些實施例中，本申請案之抗體或抗原結合片段可透過連接子與另一多肽融合或接合。

【0090】 「減少(decrease)」、「減低(lower)」、「減輕(lessen)」、「降低(reduce)」、或「減弱(abate)」通常係指當相較於由對照組或媒劑介導之反應時，測試分子介導減少之反應（即，下游效應）的能力。例示性反應係T細胞擴增、T細胞活化、或T細胞介導之腫瘤細胞殺滅或蛋白質與其抗原或受體之結合、增強之與Fcγ之結合、或增強之Fc效應功能，諸如增強之ADCC、CDC、及/或ADCP。減少可係所測量反應在測試分子與對照組（或媒劑）之間的統計顯著差異，或者所測量反應之減少，諸如約1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、

8、9、10、15、20、30倍、或更多倍之減少，諸如500、600、700、800、900、或1000倍、或更多倍（包括其間且高於1之所有整數及小數，例如1.5、1.6、1.7、1.8等）。

【0091】 「類δ蛋白質3 (Delta-like protein 3)」或「DLL3」係指一種亦稱為類δ3 (delta-like 3)、δ3、或果蠅δ同源物3的已知蛋白質。除非有指明，否則如本文中所使用，DLL3係指人類DLL3。所有DLL3異構體及變體皆涵蓋於「DLL3」中。各種異構體之胺基酸序列可取自資料庫，諸如NCBI存取號NP_058637.1（異構體1前驅物，618個胺基酸）及NP_982353.1（異構體2前驅物，587個胺基酸）。全長人類DLL3之胺基酸序列係示於SEQ ID NO:255。DLL3之序列包括DSL域（殘基176至215）、EGF-1域（殘基216至249）、EGF-2域（殘基274至310）、EGF-3域（殘基312至351）、EGF-4域（殘基353至389）、EGF-5域（殘基391至427）、EGF-6域（殘基429至465）、及C端域（殘基466至618）（圖1）。DLL3 DSL域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:246。DLL3 EGF-1域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:247。DLL3 EGF-2域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:248。DLL3 EGF-3域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:249。DLL3 EGF-4域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:250。DLL3 EGF-5域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:251。DLL3 EGF-6域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:252。DLL3 EGF-6 + C端域之胺基酸序列係顯示於SEQ ID NO:263。

【0092】 「分化(differentiation)」係指減少細胞之潛能或增生的方法或將細胞移至發育上更受限之狀態的方法。

【0093】 「編碼(encode/encoding)」係指多核苷酸（諸如基因、cDNA、或mRNA）中核苷酸之特定序列在生物程序中作為合成其他聚合物及巨分子之模板的固有性質，該等聚合物及大分子具有所定義之核苷酸序列（例如rRNA、tRNA、及mRNA）或所定義之胺基酸序列、及自其得到之生物性質。因此，若對應於基因之mRNA的轉錄及轉譯在細胞或其他生物系統中生產蛋白質，則該基因、cDNA、或RNA編碼該蛋白質。核苷酸序列與mRNA序列同一的編碼股及用作基因或cDNA轉錄之模板的非編碼股兩者皆可稱為編碼蛋白質或該基因或cDNA之其他產物。

【0094】 「增強(enhance)」、「促進(promote)」、「增加(increase)」、「擴增(expand)」、或「提升(improve)」通常係指當相較於由對照組或媒劑介導之反應時，測試分子介導較大之反應（即，下游效應）的能力。例示性反應係T細胞擴增、T細胞活化、或T細胞介導之腫瘤細胞殺滅或蛋白質與其抗原或受體之結合、增強之與Fcγ之結合、或增強之Fc效應功能，諸如增強之ADCC、CDC、及/或ADCP。增強可係所測量反應在測試分子與對照組（或媒劑）之間的統計顯著差異，或者所測量反應之增加，諸如約1.1、1.2、1.5、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30倍、或更多倍之增加，諸如500、600、700、800、900、或1000倍、或更多倍（包括其間且高於1之所有整數及小數，例如1.5、1.6、1.7、1.8等）。

【0095】 「表位(epitope)」係指與抗體或其抗原結合部分特異性結合的抗原部分。表位一般由分子部分（諸如胺基酸或多醣側鏈）之化學活性（諸如極性、非極性或疏水性）表面分群(grouping)所組成，並且可具有特定三維結構特性以及特定電荷特性。表位可由形成構形空間單元之鄰接(contiguous)及/或

不連續胺基酸構成。關於不連續表位，來自抗原線性序列之相異部分的胺基酸會透過蛋白質分子的摺疊而在3維空間中緊密靠近。抗體「表位(epitope)」取決於用於識別該表位的方法。

【0096】 用語「擴增(expansion)」係指細胞分裂及細胞死亡之結果。

【0097】 「表現(express/expression)」係指發生在細胞中或體外之熟知的轉錄及轉譯。因此，表現產物（例如，蛋白質）係由細胞表現或在體外表現，且可係胞內、胞外、或跨膜蛋白質。

【0098】 「表現載體(expression vector)」係指可在生物系統或重構生物系統中用以指引多肽轉譯的載體，該多肽係由存在於該表現載體中之多核苷酸序列所編碼。

【0099】 「dAb」或「dAb片段(dAb fragment)」係指由VH域構成之抗體片段(Ward et al. (1989), Nature 341:544 546)。

【0100】 「Fab」或「Fab片段(Fab fragment)」係指由VH、CH1、VL、及CL域構成之抗體片段。

【0101】 「$F(ab')_2$」或「$F(ab')_2$片段($F(ab')_2$ fragment)」係指含有由鉸鏈區中之雙硫鍵連接的二個Fab片段之抗體片段。

【0102】 「Fd」或「Fd片段(Fd fragment)」係指由VH及CH1域構成之抗體片段。

【0103】 「Fv」或「Fv片段(Fv fragment)」係指由來自抗體之單臂的VH及VL域構成之抗體片段。Fv片段缺乏Fab（CH1及CL）區之恆定區。Fv片段中之VH及VL係藉由非共價交互作用而保持在一起。

【0104】 「架構區」或「FR」殘基係本文中所定義之CDR以外的VH或VL殘基。

【0105】 「全長抗體(full length antibody)」包含藉由雙硫鍵互連之兩條重鏈(HC)及兩條輕鏈(LC)以及其多聚體（例如，IgM）。各重鏈包含重鏈可變域(VH)及重鏈恆定域，重鏈恆定域包含子域CH1、鉸鏈、CH2、及CH3。各輕鏈包含輕鏈可變域(VL)及輕鏈恆定域(CL)。VH及VL可進一步細分成散佈於架構區(FR)的多個高變區，其被稱為互補決定區(CDR)。各VH及VL係由三個CDR及四個FR區段構成，按照下列順序從胺基至羧基端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及FR4。

【0106】 「基因修飾(genetic modification)」係指將「外來」（即，外在或胞外）基因、DNA、或RNA序列引入宿主細胞，使得該宿主細胞將表現所引入之基因或序列以生產所欲之物質，一般是由所引入之基因或序列編碼的蛋白質或酶。所引入之基因或序列亦可稱為「選殖(cloned)」或「外來」基因或序列，可包括可操作地連接至編碼嵌合抗原受體之多核苷酸的調控或控制序列，諸如起始、終止、啟動子、信號、分泌、或細胞遺傳機制(genetic machinery)所使用之其他序列。基因或序列可包括非功能性序列或不具有已知功能的序列。接收並表現所引入之DNA或RNA的宿主細胞已經「基因工程改造(genetically engineered)」。引入宿主細胞之DNA或RNA可來自任何來源（包括與宿主細胞同屬或同種之細胞）或來自不同屬或種。

【0107】 「異源(heterologous)」係指二或更多個多核苷酸或二或更多個多肽，其等本質上彼此找不到相同關係。

【0108】 「異源多核苷酸(heterologous polynucleotide)」係指編碼二或更多種如本文中所述之新抗原的非天然存在多核苷酸。

【0109】 「異源多肽(heterologous polypeptide)」係指包含二或更多種如本文中所述之新抗原多肽的非天然存在多肽。

【0110】 「宿主細胞(host cell)」係指含有異源核酸之任何細胞。例示性異源核酸係載體（例如，表現載體）。

【0111】 「人類抗體(human antibody)」係指經最佳化以在投予至人類對象時具有最小免疫反應之抗體。人類抗體之可變區係衍生自人類免疫球蛋白序列。若人類抗體含有恆定區或恆定區的一部分，則該恆定區亦衍生自人類免疫球蛋白序列。如果該人類抗體的可變區係得自使用人類生殖系免疫球蛋白或重排(rearranged)免疫球蛋白基因的系統，則人類抗體包含「衍生自(derived from)」人源序列的重及輕鏈可變區。此類例示性系統係經展示在噬菌體上的人類免疫球蛋白基因庫、及基因轉殖非人類動物（諸如帶有人類免疫球蛋白基因座的小鼠或大鼠）。當相較於人類中表現之免疫球蛋白時，「人類抗體」一般含有胺基酸差異，此係由於用於獲得人類抗體及人類免疫球蛋白基因座之系統之間的差異、引入體細胞突變、或向架構或CDR或兩者中刻意引入取代。一般而言，「人類抗體」在胺基酸序列上與由人類生殖系免疫球蛋白或重排免疫球蛋白基因所編碼的胺基酸序列具有至少約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%同一性。在一些情況下，「人類抗體」可能含有自人類架構序列分析導出的共有架構序列，例如Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57-86中所述，或併入經展示在噬菌體上的人類免疫球蛋白基因庫的合成HCDR3，

例如Shi et al., (2010) J Mol Biol 397:385-96及國際專利公開號WO2009/085462。至少一種CDR係衍生自非人類物種的抗體不包括在「人類抗體」的定義中。

【0112】 「人源化抗體(humanized antibody)」係指至少一個CDR係衍生自非人類物種且至少一個架構係衍生自人類免疫球蛋白序列的抗體。人源化抗體可在架構中包括取代，所以該等架構可能不是所表現人類免疫球蛋白或人類免疫球蛋白生殖系基因序列的確切複製物。

【0113】 「與...組合(in combination with)」意指將二或更多種治療劑一起以混合物形式投予至對象，其係並行以單劑投予或以任何順序以單劑依序投予。

【0114】 「經單離(isolated)」係指已自產出該分子的系統（諸如重組細胞）的其他組分實質上分離及/或純化出之均質分子族群（諸如合成多核苷酸或多肽）、以及已經受至少一次純化或單離步驟的蛋白質。「單離」係指實質上不含其他細胞材料及/或化學物之分子，且涵蓋單離成更高純度之分子，諸如80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%純度。「經單離」抗體係已與其自然環境之組分分離者。在一些實施例中，抗體經純化至大於95%或99%純度，如藉由例如電泳（例如，SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳）或層析（例如，離子交換或逆相HPLC）所判定。關於抗體純度評估方法之綜述，請參見例如Flatman et al, J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)。

【0115】 如本文中所使用，「連接子(linker)」係指共價連接兩個不同實體之化學連接子或單鏈肽連接子。連接子可用以連接本發明之抗體或其片段、融合蛋白、及接合物中的任兩者。連接子可連接例如scFv中之VH及VL、或單

株抗體或其抗原結合片段與治療性分子（諸如第二抗體）。可使用包含由肽鍵連接之1至25個胺基酸（諸如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、或25個胺基酸）的單鏈肽連接子。在某些實施例中，胺基酸係選自二十個天然存在的胺基酸。在某些其他實施例中，胺基酸之一或多者係選自甘胺酸、丙胺酸、脯胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、及離胺酸。亦可使用化學連接子，諸如烴連接子、聚乙二醇(PEG)連接子、聚丙二醇(PPG)連接子、多醣連接子、聚酯連接子、由PEG及嵌入式雜環所組成之混成連接子、及烴鏈。

【0116】 「調節(modulate)」係指當相較於由對照組或媒劑介導之反應時，測試分子介導增強或減少反應（即，下游效應）之能力增強或降低。

【0117】 「單株抗體(monoclonal antibody)」係指自實質上均一的抗體分子群體獲得之抗體，亦即，除了可能熟知之改變之外包含該群體之個別抗體係同一的，該等改變諸如從抗體重鏈移除C端離胺酸或轉譯後修飾，諸如胺基酸異構化或脫醯胺化、甲硫胺酸氧化或天冬醯胺酸或麩醯胺酸脫醯胺化。雙特異性單株抗體會結合兩種不同的抗原表位。單株抗體可在抗體群體內具有異質性醣基化。單株抗體可係單特異性或多特異性，諸如雙特異性、單價、雙價、或多價。

【0118】 「多特異性抗原結合構築體(multispecific antigen-binding construct)」或「多特異性分子(multispecific molecules)」係指特異性結合多於一種不同抗原或同一抗原內多於一個不同表位的構築體。多特異性抗原結合構築體可係蛋白質、蛋白質複合物、或抗體。其包含一種抗體或其抗原結合片段，其係聯結或連接至至少一個其他功能性分子（例如，另一個肽或蛋白質，諸如

另一個抗體或受體之配體），藉以形成結合至至少兩種不同結合部位或目標分子之分子。多特異性分子可對於其他相關抗原具有交叉反應性，例如與來自其他物種（諸如人類或猴）的相同抗原（同源物）具有交叉反應性，例如食蟹獼猴(*Macaca fascicularis*, cynomolgus, cyno)或黑猩猩，或者可以結合在二或更多種不同抗原之間共有的表位。例示性多特異性分子包括三特異性或雙特異性抗體及連接至可溶受體片段或配體之抗體。

【0119】 「自然殺手細胞(natural killer cell)」及「NK細胞(NK cell)」在本文中係可互換且同義地使用。NK細胞係指具有$CD16^+$ $CD56^+$及/或$CD57^+$ TCR^-表型之分化淋巴球。NK細胞之特徵在於其能夠結合並藉由活化特定溶細胞酶來殺滅無法表現「自體(self)」MHC/HLA抗原之細胞、能夠殺滅腫瘤細胞或其他表現NK活化受體之配體的病變細胞、及能夠釋放刺激或抑制免疫反應之蛋白質分子（稱為細胞介素）。

【0120】 「操作性連接(operatively linked)」及類似片語當用以指涉核酸或胺基酸時，分別係指彼此處於功能性關係的核酸序列或胺基酸序列之操作性鍵聯。例如，操作性連接之啟動子、強化子元件、開讀框、5'及3' UTR、及終止子序列導致精確的核酸分子（例如RNA）之生產，且在一些情況下導致多肽之生產（即，開讀框之表現）。操作性連接之肽係指其中肽之功能域彼此以適當距離放置以賦予各域之意欲功能的肽。

【0121】 用語「互補位(paratope)」係指涉及抗原之結合的抗體分子之區域或區，且包含與抗原交互作用之殘基。互補位可由形成構形空間單元之連續及/或不連續胺基酸構成。給定抗體之互補位可使用各種實驗及計算方法以不同之細節程度來定義及表徵。實驗方法包括氫/氘交換質譜法(HX-MS)。互補位取

決於所採用之定位(mapping)方法將會有不同定義。互補位可包含直接涉及表位結合之胺基酸殘基（其中數個一般位於CDR中）及其他非直接涉及結合之胺基酸殘基，諸如被特異性結合抗原有效阻斷之胺基酸殘基（換言之，該胺基酸殘基係在特異性結合抗原之「溶劑排除表面」及/或「足跡」內）。

【0122】 「醫藥組合(pharmaceutical combination)」係指一起或分開投予之二或更多種活性成分的組合。

【0123】 「醫藥組成物(pharmaceutical composition)」係指組合活性成分及醫藥上可接受載劑所產生之組成物。

【0124】 「醫藥上可接受之載劑(pharmaceutically acceptable carrier)」或「賦形劑(excipient)」係指活性成分以外之醫藥組成物中的成分，其對對象係無毒的。例示性醫藥上可接受之載劑係緩衝劑、穩定劑、或防腐劑。

【0125】 「多核苷酸(polynucleotide)」或「核酸(nucleic acid)」係指包含藉由糖-磷酸主鏈或其他等效共價化學共價連接之核苷酸鏈的合成分子。cDNA係多核苷酸的典型實例。多核苷酸可係DNA或RNA分子。

【0126】 疾病或病症之「預防(prevent/preventing/prevention/prophylaxis)」意指預防病症在對象中發生。

【0127】 「增生(proliferation)」係指細胞分裂之增加，對稱或不對稱細胞分裂皆是。

【0128】 「啟動子(promoter)」係指起始轉錄所需之最小序列。啟動子亦可包括分別強化或抑制轉錄之強化子或抑制子元件。

【0129】 「蛋白質(protein)」或「多肽(polypeptide)」在本文中可互換使用且係指包含一或多個各包含至少二個由肽鍵連接之胺基酸殘基的多肽之分

子。蛋白質可係單體，或可係二或更多個次單元之蛋白質複合物，該等次單元係相同或不同的。少於50個胺基酸的小型多肽可稱為「肽(peptide)」。蛋白質可係異源融合蛋白、醣蛋白、或藉由轉譯後修飾所修飾之蛋白質，轉譯後修飾諸如磷酸化、乙醯化、豆蔻醯化、棕櫚酸酯化、醣基化、氧化、甲醯化、醯胺化、瓜胺酸化、聚麩胺醯化、ADP核糖基化、聚乙二醇化、或生物素化。蛋白質可經重組表現。

【0130】 「重組(recombinant)」係指藉由重組方式製備、表現、建立、或單離之多核苷酸、多肽、載體、病毒、及其他巨分子。

【0131】 「調控元件(regulatory element)」係指控制核酸序列表現之某些方面的任何順式作用(cis-acting)或反式作用(trans-acting)基因元件。

【0132】 「復發(relapsed)」係指在先前用治療劑治療後的一段時間改善之後，疾病或疾病之徵象及症狀的回歸。

【0133】 「難治性(refractory)」係指對治療沒有反應的疾病。難治性疾病可在治療之前或在開始治療時對該治療具有抗性，或者難治性疾病可在治療期間變成具有抗性。

【0134】 當用於指稱胺基酸序列時，用語「序列同一性(sequence identity)」、或「)序列同一性百分比(%) (percent (%) sequence identity)」、或「同一性% (% identity)」、或「與…%同一(% identical to)」描述相較於構成胺基酸序列總長度的胺基酸殘基數目，二或更多個經比對胺基酸序列之同一胺基酸的匹配（「命中(hit)」）數目。換言之，使用比對，針對二或更多個序列，當比較該等序列並對其進行比對以獲得最大對應性（如使用所屬技術領域中已知的序列比較演算法所測得）時，或者當手動比對且目視檢查時，可判定胺基

酸殘基相同之百分比（例如，在胺基酸序列之全長上有90%、91%、92%、93%、94%、95%、97%、98%、99%、或100%同一性）。判定序列同一性所比較的序列可能因胺基酸的（多個）取代、（多個）添加、或（多個）缺失而不同。用於比對蛋白質序列之合適程式係所屬技術領域中具有通常知識者所習知。例如，蛋白質序列的序列同一性百分比可用諸如CLUSTALW、Clustal Omega、FASTA、或BLAST之程式，例如使用NCBI BLAST演算法判定(Altschul SF, et al (1997), Nucleic Acids Res. 25:3389-3402)。

【0135】 「單鏈Fv (single chain Fv)」或「scFv」係指一種融合蛋白，其包含至少一個包含輕鏈可變區(VL)之抗體片段及至少一個包含重鏈可變區(VH)之抗體片段，其中VL及VH係經由多肽連接子而鄰接地連接，且能夠被表現為單鏈多肽。除非有指明，否則如本文中所使用，scFv可具有呈任一順序之VL及VH可變區，例如就多肽之N端及C端而言，scFv可包含VL-連接子-VH或可包含VH-連接子-VL。

【0136】 「$(scFv)_2$」或「串聯scFv (tandem scFv)」或「bis-scFv」片段係指一種融合蛋白，其包含兩個輕鏈可變區(VL)及兩個重鏈可變區(VH)，其中兩個VL區及兩個VH區係經由多肽連接子而鄰接地連接，且能夠被表現為單鏈多肽。由肽連接子融合之兩個VL及兩個VH區形成二價分子VL_A-連接子-VH_A-連接子-VL_B-連接子-VH_B以形成兩個結合部位，能夠同時結合兩個不同抗原或表位。

【0137】 「特異性結合(specifically binds/secific binding/specifically binding)」或「結合(bind)」係指蛋白質分子以比對其他抗原更大之親和力結合至抗原或抗原內之表位。一般而言，蛋白質分子係以下列平衡解離常數(K_D)結

合至抗原或抗原內之表位：約1×10^{-7} M或更小，例如約5×10^{-8} M或更小、約1×10^{-8} M或更小、約1×10^{-9} M或更小、約1×10^{-10} M或更小、約1×10^{-11} M或更小、或約1×10^{-12} M或更小，一般以小於其結合至非特異性抗原（例如BSA、酪蛋白）之K_D至少一百倍的K_D結合。

【0138】 「對象(subject)」包括任何人類或非人類動物。「非人類動物(nonhuman animal)」包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類、綿羊、狗、貓、馬、牛、雞、兩棲動物、爬蟲動物等。用語「對象」與「患者(patient)」在本文中可互換使用。

【0139】 「T細胞(T cell)」及「T淋巴球(T lymphocyte)」在本文中係可互換的且同義地使用。T細胞包括胸腺細胞、初始T淋巴球、記憶T細胞、未成熟T淋巴球、成熟T淋巴球、休止T淋巴球、或活化T淋巴球。T細胞可係輔助T(Th)細胞，例如第1型輔助T (Th1)細胞或第2型輔助T (Th2)細胞。T細胞可係輔助T細胞（HTL；$CD4^+$ T細胞）$CD4^+$ T細胞、細胞毒性T細胞（CTL；$CD8^+$ T細胞）、腫瘤浸潤細胞毒性T細胞（TIL；$CD8^+$ T細胞）、$CD4^+CD8^+$ T細胞、或T細胞之任何其他子集。亦包括的是「NKT細胞」，其係指T細胞之特化族群，其表現半不變αβ T細胞受體(semi-invariant αβ T-cell receptor)，但亦表現出一般與NK細胞相關聯之各種分子標記，諸如NK1.1。NKT細胞包括$NK1.1^+$及$NK1.1^-$、以及$CD4^+$、$CD4^-$、$CD8^+$、及$CD8^-$細胞。NKT細胞上之TCR的獨特之處在於，其會辨識類MHC I分子CD Id所呈現之醣脂質(glycolipid)抗原。NKT細胞由於其能夠產生促進發炎或免疫耐受性之細胞介素而可具有保護性或有害效應。亦包括的是「伽瑪-德他T細胞（γδ T細胞）」，其係指一種特化族群，即在表面上具有不同TCR之T細胞小亞群，且不像大多數T細胞（其中TCR係由兩

條指定為α-TCR鏈及β-TCR鏈之醣蛋白鏈構成），γδ T細胞中之TCR係由γ鏈及δ鏈組成。γδ T細胞可在免疫監控及免疫調節中發揮作用，且發現其係IL-17之重要來源並誘導穩健之$CD8^+$細胞毒性T細胞反應。亦包括的是「調節性T細胞(regulatory T cell)」或「Treg」，其係指抑制異常或過度免疫反應且在免疫耐受性中發揮作用之T細胞。Treg一般係轉錄因子Foxp3陽性$CD4^+$T細胞，且亦可包括轉錄因子Foxp3陰性調節性T細胞，其係生產IL-10之$CD4^+$T細胞。

【0140】 「治療有效量(therapeutically effective amount)」或「有效量(effective amount)」在本文中可互換使用，且係指有效達到所欲治療結果所需之劑量及時間段的量。治療有效量可依不同因素而異，諸如對象之疾病狀態、年齡、性別、及體重、以及治療劑或治療劑的組合在對象中引發所欲反應的能力。有效治療劑或治療劑組合之例示指標包括例如病患幸福感的提高、腫瘤負荷的減少、腫瘤生長的停止或減緩、及/或癌細胞沒有轉移至身體的其他位置。

【0141】 「轉導(transduction)」係指使用病毒載體將外來核酸引入細胞中。

【0142】 疾病或病症（諸如癌症）之「治療(treat/treating/treatment)」係指達成下列中之一或多者：減少病症之嚴重性及/或持續時間、抑制所治療病症特有之症狀的惡化、限制或預防病症於先前已患有該病症之對象中再發、或限制或預防症狀於先前已有該病症症狀之對象中再發。

【0143】 「腫瘤細胞(tumor cell)」或「癌細胞(cancer cell)」係指在體內(*in vivo*)、離體(*ex vivo*)、或在組織培養物中具有自發或誘導的表型改變的癌性(cancerous)、癌前(pre-cancerous)或轉化細胞。這些變化不一定涉及新遺傳物質的攝取。儘管轉化可能來自轉化病毒的感染及新基因組核酸的摻入或外源核酸

的攝取，其也可以自發地發生或在暴露於致癌物後發生，從而突變內源基因。轉化/癌症的例子如下：在體外、體內、及離體的形態變化、細胞永生化、異常的生長控制、病灶形成、增生、惡性疾病、腫瘤特異性標記水平的調節、侵襲性、在合適的動物宿主（諸如裸鼠）中的腫瘤生長、及類似者。

【0144】 「變體(variant)」、「突變體(mutant)」、或「經改變(altered)」係指因一或多個修飾（例如一或多個取代、插入、或缺失）而與參考多肽或參考多核苷酸不同的多肽或多核苷酸。

【0145】 整份說明書中抗體恆定區中之胺基酸殘基編號係根據如下列中所述之EU索引：Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)，除非另有明確說明。

【0146】 「VHH」係指僅由重鏈之抗原結合區構成的單域抗體或奈米抗體(nanobody)。VHH單域抗體缺乏輕鏈及習知Fab區之重鏈的CH1域。

物質組成

結合DLL3之抗原結合區

【0147】 本揭露提供結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區之單特異性及多特異性抗原結合構築體、編碼前述之多核苷酸、載體、宿主細胞、及製造及使用前述之方法。本文中所識別的結合DLL3之抗原結合區就改善之熱穩定性方面展現出改善之性質。本文所揭示之多特異性抗原結合構築體可尤其有效於介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。

【0148】 本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區結合至如SEQ ID NO:263中所示之DLL3之EGF-6 + C端域內的表位（DLL3之殘基429至618）。如實例中所示，靶向EGF-6域內或更靠近DLL3之C端的表位的多特異性抗原結合構築體達成有效的抗腫瘤細胞毒性水準。

【0149】 鑑於本揭露，可使用所屬技術領域中已知的任何方法來識別本申請案之抗體所結合之DLL3內的區。例如，可使用ELISA檢定來識別與抗體結合之DLL3內的域。在域定位ELISA檢定中，評估抗DLL3抗體之與橫跨N端DSL融合域(DL3W44, SEQ ID NO:189)、EGF-1+2融合物(DL3W42, SEQ ID NO:187)、EGF-2 (DL3W41, SEQ ID NO:186)、EGF-3 (DL3W40, SEQ ID NO:185)、EGF-4 (DL3W39, SEQ ID NO:184)、EGF-5 (DL3W38, SEQ ID NO:183)、EGF-6 (DL3W37, SEQ ID NO:182)、及EGF-6+C端域融合物(DL3W36, SEQ ID NO:181)之重組DLL3域抗原之結合。在4℃下用20 nM抗原塗佈MesoScale Discovery高結合盤整夜。將盤用具有0.1% Tween之PBS洗滌，然後用起始封閉溶液封閉30分鐘。添加抗體，並在環境溫度下培養60分鐘，然後藉由用PBS (Gibco, #14190-136)洗滌3次來移除過量抗體。在環境溫度下，用磺基標記之抗人類抗體(Meso Scale Discovery, R32AJ)偵測抗原結合抗體，接著再用PBS洗滌。信號獲取係在1X MSD讀取緩衝液T (MSD, Cat#R92TC-1)存在下於MSD Sector 600成像器上以適當的盤設定進行。分析各域之最高結合信號之數據，指示優先域結合。

【0150】 可使用H/D交換檢定以判定抗體所結合之DLL3內的殘基。在H/D交換檢定中，將重組表現之可溶DLL3在抗體存在或不存在下於氘化水中培

養預定時間，導致在可交換的氫原子處（未受抗體保護）摻入氘，隨後以蛋白酶消化蛋白質並使用LC-MS分析肽片段。H/D交換檢定可使用已知規程執行。在一些實施例中，H/D交換混合物係藉由添加淬熄緩衝液（例如，8 M尿素、1M TCEP，pH 3.0）淬熄，之後在室溫下使其通過經平衡固定化之胃蛋白酶/FPXIII管柱（例如，600 μL/min）。然後將胃蛋白酶片段裝載至逆相捕捉管柱(trap column)（例如，在600 μL/min下）上並使其去鹽（例如，在600 μL下1分鐘）、分離（例如，在C18管柱上），並藉由質譜法（例如，使用LTQ™ Orbitrap Fusion Lumos質譜儀(Thermo Fisher Scientific)及275℃之毛細溫度，解析度150,000，及質量範圍(m/z) 300-1,800）分析。

【0151】 在一些實施例中，本申請案提供一種單離蛋白質，諸如抗體，其包含抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區與本文所揭示之參考抗體競爭結合至DLL3。在一些實施例中，參考抗體包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之VH、及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之VL，且HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3係：

a. SEQ ID NO:1之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:2之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b. SEQ ID NO:3之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

c. SEQ ID NO:5之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:6之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

d. SEQ ID NO:7之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:8之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

e. SEQ ID NO:9之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:10之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

f. SEQ ID NO:11之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:12之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或

g. SEQ ID NO:13之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:14之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0152】 在某些此類實施例中，參考抗體包含SEQ ID NO:3之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0153】 可鑑於本揭露，使用熟知方法體外檢定結合至SEQ ID NO:263之可溶性DLL3的測試抗體與本申請案之參考抗體的結合競爭。例如，於未經標示參考抗體存在下，經標示抗體與DLL3（例如，DLL3近膜區）的結合可藉由ELISA評估。可使用Bioacore分析或流動式細胞測量術來展示競爭情形。當測試抗體抑制參考抗體與可溶DLL3之結合達85%或更多（例如90%或更多、或95%或更多）時，則該測試抗體與該參考抗體競爭結合至DLL3。

【0154】 在一些實施例中，本申請案提供一種單離蛋白，諸如抗體，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之VH及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之VL，且HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3係SEQ ID NO:1之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:2之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:3之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:5之VH的HCDR1、

HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:6之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:7之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:8之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:9之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:10之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:11之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:12之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:13之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:14之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一具體實施例中，單離蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0155】 在一些實施例中，本申請案提供一種單離蛋白質，諸如抗體，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含具有下列之胺基酸序列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：

分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

【0156】 在一個實施例中，本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之胺基酸序列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0157】 在另一實施例中，本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含具有SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、或13之胺基酸序列之VH及具有SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、或14之胺基酸序列之VL。

【0158】 在一個實施例中，本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含：

SEQ ID NO:1之胺基酸序列之VH及SEQ ID NO:2之胺基酸序列之VL（亦稱為SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL）；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:12之VL；或

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0159】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL、或其衍生物。

【0160】 本揭露亦提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0161】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0162】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0163】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0164】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少99%同一的VL。

【0165】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少99%同一的VL。

【0166】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0167】 本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0168】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列。

【0169】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列。

【0170】 本揭露亦提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:63之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0171】 本揭露亦提供一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0172】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係scFv。

【0173】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係$(scFv)_2$。

【0174】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係Fv。

【0175】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係Fab。

【0176】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係$F(ab')_2$。

【0177】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係Fd。

【0178】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係dAb。

【0179】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係VHH。

【0180】 在一具體實施例中，結合DLL3之抗原結合區係scFv。

結合DLL3之scFv

【0181】 本文中所識別的任何結合DLL3之VH及VL或其組分可經工程改造為呈VH-連接子-VL或VL-連接子-VH定向之scFv格式。本文中所識別的任何VH及VL亦可用以產生$sc(Fv)_2$結構，諸如VH-連接子-VL-連接子-VL-連接子-VH、VH-連接子-VL-連接子-VH-連接子-VL、VH-連接子-VH-連接子-VL-連接子-VL、VL-連接子-VH-連接子-VH-連接子-VL、VL-連接子-VH-連接子-VL-連接子-VH、或VL-連接子-VL-連接子-VH-連接子-VH。

【0182】 可將本文中所識別的VH及VL或其組分併入scFv格式中，且可鑑於本揭露使用已知方法評估所得scFv對DLL3之結合及熱穩定性。結合可使用ProteOn XPR36、Biacore 3000、或KinExA儀器設備、ELISA、或所屬技術領域中具有通常知識者已知之競爭性結合檢定來評估。結合可使用經純化scFv或含有經表現scFv之大腸桿菌上清液或經裂解細胞來評估。如果在不同條件（例如滲透性、pH）下測量，則所測得之scFv對DLL3的親和力可能會有所變化。

因此，親和力及其他結合參數（例如，K_D、K_{on}、K_{off}）之測量一般係以標準化條件及標準化緩衝液進行。熱穩定性可藉由在升溫下加熱測試scFv來評估，諸如在50℃、55℃、或60℃下加熱一段時間，諸如5分鐘(min)、10 min、15 min、20 min、25 min、或30 min，並測量測試scFv與DLL3之結合。當相較於未經加熱之scFv樣本時，scFv保持相當之與DLL3之結合稱為熱穩定。

【0183】 在重組表現系統中，連接子係肽連接子並可包括任何天然存在的胺基酸。可被包括至連接子中之例示性胺基酸係Gly、Ser、Pro、Thr、Glu、Lys、Arg、Ile、Leu、His、及The。連接子應具有適當之長度，以將VH及VL以使彼等相對於彼此形成正確構形之方式連接，使得彼等保留所欲活性，諸如與DLL3結合。

【0184】 連接子可係約5至50個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係約10至40個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係約10至35個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係約10至30個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係約10至25個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係約10至20個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係約15至20個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係6個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係7個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係8個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係9個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係10個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係11個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係12個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係13個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係14個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係15個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係16個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係17個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係18個胺基酸長。在一些實施例中，

連接子係19個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係20個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係21個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係22個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係23個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係24個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係25個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係26個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係27個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係28個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係29個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係30個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係31個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係32個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係33個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係34個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係35個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係36個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係37個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係38個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係39個胺基酸長。在一些實施例中，連接子係40個胺基酸長。可使用之例示性連接子係富含Gly之連接子、含Gly及Ser之連接子、含Gly及Ala之連接子、含Ala及Ser之連接子、及其他可撓性連接子。

【0185】　其他連接子序列可包括免疫球蛋白鉸鏈區域、衍生自任何免疫球蛋白重鏈或輕鏈同型之CL或CH1之部分。替代地，各種非蛋白質聚合物（包括聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、聚氧化烯、或聚乙二醇及聚丙二醇之共聚物）可用來作為連接子。可使用之例示性連接子係顯示於**表2**。額外連接子係描述於例如國際專利公開案第WO2019/060695號中。

【0186】　在一些實施例中，scFv自N至C端包含VH、第一連接子(L1)、及VL (VH-L1-VL)。

【0187】 在一些實施例中，scFv自N至C端包含VL、L1、及VH (VL-L1-VH)。在一些實施例中，L1包含下列之胺基酸序列：SEQ ID NO:120、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:73、SEQ ID NO:74、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76、SEQ ID NO:79、SEQ ID NO:81、SEQ ID NO:82、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:90、SEQ ID NO:91、SEQ ID NO:92、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:122、SEQ ID NO:123、SEQ ID NO:124、SEQ ID NO:125、SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130、SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134、SEQ ID NO:135、SEQ ID NO:136、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138、或SEQ ID NO:139。

表2：連接子之胺基酸序列。

連接子名稱	胺基酸序列	SEQ ID NO:
連接子 1	GGSEGKSSGSGSESKSTGGS	120
連接子 2	GGGSGGGS	27
連接子 3	GGGSGGGSGGGS	72
連接子 4	GGGSGGGSGGGSGGGS	73
連接子 5	GGGSGGGSGGGSGGGSGGGS	74
連接子 6	GGGGSGGGGSGGGGS	75
連接子 7	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	76
連接子 8	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	79
連接子 9	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	81
連接子 10	IRPRAIGGSKPRVA	82
連接子 11	GKGGSGKGGSGKGGS	83
連接子 12	GGKGSGGKGSGGKGS	88
連接子 13	GGGKSGGGKSGGGKS	90

連接子 14	GKGKSGKGKSGKGKS	91
連接子 15	GGGKSGGKGSGKGGS	92
連接子 16	GKPGSGKPGSGKPGS	121
連接子 17	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	122
連接子 18	GKGKSGKGKSGKGKSGKGKS	123
連接子 19	STAGDTHLGGEDFD	124
連接子 20	GEGGSGEGGSGEGGS	125
連接子 21	GGEGSGGEGSGGEGS	126
連接子 22	GEGESGEGESGEGES	127
連接子 23	GGGESGGEGSGEGGS	128
連接子 24	GEGESGEGESGEGESGEGES	129
連接子 25	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	130
連接子 26	PRGASKSGSASQTGSAPGS	131
連接子 27	GTAAAGAGAAGGAAAGAAG	132
連接子 28	GTSGSSGSGSGGSGSGGGG	133
連接子 29	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	134
連接子 30	GSGS	135
連接子 31	APAPAPAPAP	136
連接子 32	APAPAPAPAPAPAPAPAPAP	137
連接子 33	AEAAAKEAAAKEAAAAKEAAAAKEAAAAKAAA	138
連接子 34	GTEGKSSGSGSESKST	139

【0188】　在一具體實施例中，L1包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列或係由該胺基酸序列所組成。

【0189】　在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之重鏈可變區(VH)之重鏈互補決定區(HCDR)1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:2之輕鏈可變區(VL)之輕鏈互補決定區(LCDR)1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:3之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:5之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:6

之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:7之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:8之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:9之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:10之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:11之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:12之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:13之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:14之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一具體實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0190】 在一些實施例中，scFv包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之VH、及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之VL，且HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3包含下列之胺基酸序列：

分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

【0191】 在一具體實施例中，scFv包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0192】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0193】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0194】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0195】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0196】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0197】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0198】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0199】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0200】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0201】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0202】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0203】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0204】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0205】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0206】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0207】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0208】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0209】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0210】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0211】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0212】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0213】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0214】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0215】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0216】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0217】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0218】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0219】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0220】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0221】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0222】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0223】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0224】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0225】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0226】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0227】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0228】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0229】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0230】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0231】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0232】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0233】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0234】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0235】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0236】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0237】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0238】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0239】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0240】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0241】 在其他實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0242】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:1之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:2之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0243】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0244】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:5之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:6之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0245】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:7之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:8之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0246】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:9之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:10之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0247】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:11之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:12之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0248】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:13之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID

NO:14之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0249】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0250】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0251】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:3之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0252】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0253】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少99%同一的VL。

【0254】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:3之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少99%同一的VL。

【0255】 在一些實施例中，scFv包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0256】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0257】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:63之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0258】 在一些實施例中，scFv包含與SEQ ID NO:64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0259】 在一具體實施例中，scFv包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列。

【0260】 在一具體實施例中，scFv包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列。

結合DLL3之其他抗原結合區

【0261】 本文中所識別的任何結合DLL3之VH及VL或其組分亦可經工程改造為Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv格式，且其等與DLL3之結合及熱穩定性可使用本文所述之檢定評估。

【0262】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之VH及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之VL，且HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3包含SEQ ID NO:1之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3、及SEQ ID NO:2之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:3之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:5之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:6之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:7之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:8之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:9之VH之HCDR1、

HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:10之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:11之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:12之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或SEQ ID NO:13之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:14之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0263】 在一具體實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH之HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

【0264】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：

分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35；

分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、及38；

分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、及40；

分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、及43；

分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、及46；

分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、及49；

分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、及35；

分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、及35；

分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、及38；

分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、及40；

分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、及43；

分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、及46；或

分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、及49。

【0265】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0266】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0267】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0268】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0269】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0270】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0271】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0272】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0273】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0274】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0275】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0276】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0277】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0278】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0279】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0280】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0281】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0282】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0283】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0284】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0285】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0286】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0287】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0288】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0289】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0290】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0291】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0292】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0293】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0294】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0295】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0296】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0297】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0298】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0299】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0300】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0301】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0302】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0303】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0304】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0305】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0306】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0307】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0308】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0309】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:6之VL。

【0310】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:8之VL。

【0311】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:10之VL。

【0312】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:12之VL。

【0313】 在一些實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0314】 在一具體實施例中，Fab、$F(ab')_2$、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0315】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:1之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:2之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0316】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:1之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:2之VL。

【0317】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:1之VH及與SEQ ID NO:2之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0318】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:1之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:2之VL至少95%同一的VL。

【0319】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:1之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:2之VL至少95%同一的VL。

【0320】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:1之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:2之VL至少99%同一的VL。

【0321】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:1之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:2之VL至少95%同一的VL。

【0322】 在一具體實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0323】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0324】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0325】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0326】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:3之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0327】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0328】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少99%同一的VL。

【0329】 在一些實施例中，Fab、F(ab')2、Fd、或Fv包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0330】 包含結合DLL3之抗原結合區的Fab之VH及VL可分別經工程改造為Fab-Fc HC（VH-CH1-鉸鏈-CH2-CH3）及Fab-Fc LC (VL-CL)格式。在某些此類實施例中，Fab-Fc HC包含與SEQ ID NO:109至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。在一具體實施例中，Fab-Fc HC包含與SEQ ID NO:109同一的胺基酸序列。

【0331】 在一些實施例中，Fab-Fc LC包含與SEQ ID NO:110至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。在一具體實施例中，Fab-Fc LC包含與SEQ ID NO:110同一的胺基酸序列。

【0332】 如實例中所示，用於併入多特異性構築體中的結合DLL3之特別合適抗原結合區包含具有SEQ ID NO:109之胺基酸序列的Fab-Fc HC、及具有SEQ ID NO:110之胺基酸序列的Fab-Fc LC。

【0333】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列。

【0334】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列。

【0335】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:65之胺基酸序列。

【0336】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:66之胺基酸序列。

【0337】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:67之胺基酸序列。

【0338】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:68之胺基酸序列。

【0339】 在一些實施例中，$F(ab')_2$包含SEQ ID NO:69之胺基酸序列。

【0340】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列。

【0341】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列。

【0342】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:65之胺基酸序列。

【0343】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:66之胺基酸序列。

【0344】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:67之胺基酸序列。

【0345】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:68之胺基酸序列。

【0346】 在一些實施例中，Fv包含SEQ ID NO:69之胺基酸序列。

同源抗原結合區及具有保守取代之抗原結合區

【0347】 結合DLL3之抗原結合區的變體係在本揭露之範圍內。例如，變體可在結合DLL3之抗原結合區中包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、或29個胺基酸取代，只要當相較於親本抗原結合區時該等變體保持或具有改善之功能性質。在一些實施例中，與本揭露之結合DLL3之抗原結合區的序列同一性可係約80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或99%。在一些實施例中，變異係在架構區中。在一些實施例中，變體係由保守性取代產生。

【0348】 在一些實施例中，包含結合DLL3之抗原結合區的單離蛋白質包含分別與本文所揭示的結合DLL3之抗原結合區的VH及VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及VL。

【0349】 亦提供結合DLL3之抗原結合區，其包含與下列至少80%同一的VH及VL：

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；或

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0350】 在一些實施例中，同一性係85%。在一些實施例中，同一性係90%。在一些實施例中，同一性係91%。在一些實施例中，同一性係91%。在一些實施例中，同一性係92%。在一些實施例中，同一性係93%。在一些實施例中，同一性係94%。在一些實施例中，同一性係94%。在一些實施例中，同一性係95%。在一些實施例中，同一性係96%。在一些實施例中，同一性係97%。在一些實施例中，同一性係98%。在一些實施例中，同一性係99%。

【0351】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:1之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:2之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0352】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0353】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:5之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:6之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0354】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:7之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:8之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0355】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:9之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:10之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0356】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:11之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:12之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0357】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:13之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）

同一的VH、及與SEQ ID NO:14之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0358】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少85%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0359】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少90%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0360】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少91%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0361】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少92%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0362】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少93%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0363】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少94%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0364】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少95%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0365】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少96%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0366】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少97%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0367】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少98%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0368】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少99%同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0369】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少85%同一的VL。

【0370】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少90%同一的VL。

【0371】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少91%同一的VL。

【0372】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少92%同一的VL。

【0373】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少93%同一的VL。

【0374】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少94%同一的VL。

【0375】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少95%同一的VL。

【0376】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少96%同一的VL。

【0377】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少97%同一的VL。

【0378】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少98%同一的VL。

【0379】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少99%同一的VL。

【0380】 兩個序列間之同一性百分比係該等序列所共有之相同位置數目的函數（即同一性% =相同位置數目/總位置數目x 100），並且將需要被引入以最佳比對這兩個序列之缺口(gap)數目及各缺口長度納入考慮。

【0381】 兩個胺基酸序列之間的同一性百分比可以使用已被併入ALIGN程式（版本2.0）中的E. Meyers及W. Miller的演算法(*Comput Appl Biosci* 4:11-17 (1988))來判定，其使用PAM120權重殘基表(weight residue table)，缺口長度罰分(gap length penalty)為12且缺口罰分(gap penalty)為4。此外，兩個胺基酸序列之間的同一性百分比可使用Needleman及Wunsch (*J Mol Biol* 48:444-453 (1970))演算法（其已被併入GCG軟體套件（可在http // www gcg com取得）中之GAP程式）判定，其使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣、及16、14、12、10、8、6、或4之缺口權重(gap weight)及1、2、3、4、5、或6之長度權重(length weight)。

【0382】 在一些實施例中，結合DLL3之變體抗原結合區在任何CDR區中包含一或二個保守性取代，同時保留結合DLL3之親本抗原結合區的所欲功能性質。

【0383】 「**保守性修飾(conservative modification)**」係指不會顯著影響或改變含有胺基酸修飾之抗體之結合特性的胺基酸修飾。保守性修飾包括胺基酸取代、添加、及缺失。保守胺基酸取代為胺基酸被具有相似側鏈之胺基酸殘基置換的取代。具有相似側鏈之胺基酸殘基的家族已有明確界定，且包括具有以下者之胺基酸：酸性側鏈（如天冬胺酸、麩胺酸）、鹼性側鏈（如離胺酸、

精胺酸、組胺酸）、非極性側鏈（如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸）、不帶電極性側鏈（如甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、色胺酸）、芳族側鏈（如苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸、酪胺酸）、脂族側鏈（如甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、絲胺酸、蘇胺酸）、醯胺（如天冬醯胺酸、麩醯胺酸）、β分支側鏈（如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸）、及含硫側鏈（半胱胺酸、甲硫胺酸）。此外，多肽中的任何天然殘基亦可經丙胺酸取代，如先前已針對丙胺酸掃描式突變誘發(alanine scanning mutagenesis)所描述者(MacLennan *et al.*, (1988) *Acta Physiol Scand Suppl* 643:55--67; Sasaki *et al.*, (1988) *Adv Biophys* 35:1-24)。本申請案之抗體的胺基酸取代可藉由已知方法進行，例如藉由PCR誘變（美國專利第4,683,195號）。替代地，可產生變體庫，例如使用隨機(NNK)或非隨機密碼子（例如DVK密碼子），其編碼11種胺基酸（Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp）。所得變體可使用本文所述之檢定來測試其特性。

產生結合DLL3之抗原結合區的方法

【0384】 可使用各種技術來產生本揭露中提供的結合DLL3之抗原結合區。例如，Kohler及Milstein之融合瘤方法可用以識別結合DLL3之VH/VL對。在融合瘤方法中，將小鼠或其他宿主動物（諸如倉鼠、大鼠、或雞）用人類及/或食蟹獼猴DLL3免疫，接著使用標準方法將來自經免疫動物之脾細胞與骨髓瘤細胞融合以形成融合瘤細胞。可對從單一永生化融合瘤細胞而來的殖株，針對生產含有結合DLL3之抗原結合區且具有所欲性質的抗體進行篩選，所欲性

質諸如結合特異性、交叉反應性或缺乏交叉反應性、抗原親和力、及任何所欲功能性。

【0385】 可將藉由將非人類動物免疫產生的結合DLL3之抗原結合區人源化。例示性人源化技術（包括人類受體架構選擇）包括CDR移植（美國專利第5,225,539號）、SDR移植（美國專利第6,818,749號）、表面重塑(Resurfacing) (Padlan, (1991) *Mol Immunol* 28:489-499)、特異性決定殘基表面重塑(Specificity Determining Residues Resurfacing)（美國專利公開號2010/0261620）、人類架構適應（美國專利第8,748,356號）、或超人源化（美國專利第7,709, 226號）。在此等方法中，親本抗體之CDR或CDR殘基子集被轉移至人類架構上，該人類架構可基於彼等與親本架構的整體同源性、基於CDR長度的相似性、或正則結構(canonical structure)同一性、或其組合來選擇。

【0386】 可將人源化抗體結合區進一步最佳化以改善其對所欲抗原的選擇性或親和力，此係由諸如在國際專利公開號WO1090/007861及WO1992/22653中所述之技術藉由併入經修改之架構支撐殘基以保存結合親和力（回復突變(backmutation)），或藉由在例如任何CDR引入變異以改善抗原結合區之親和力。

【0387】 在其基因體中帶有人體免疫球蛋白(Ig)基因位點之基因轉殖動物（諸如，小鼠、大鼠、或雞）可用於產生結合DLL3之抗原結合區，且係描述於例如美國專利第6,150,584號、國際專利公開號WO1999/45962、國際專利公開號WO2002/066630、WO2002/43478、WO2002/043478、及WO1990/04036中。可將此動物中之內源性免疫球蛋白基因座破壞或刪除，且可使用同源或非

同源重組、使用轉染色體(transchromosome)、或使用袖珍基因(minigene)將至少一個完整或部分人類免疫球蛋白基因座插入動物基因組中。可聘用諸如Regeneron (http://_www_regeneron_com)、Harbour Antibodies (http://_www_harbourantibodies_com)、Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) (http://_www_omtinc_net)、KyMab (http://_www_kymab_com)、Trianni (http://_www.trianni_com)及Ablexis (http://_www_ablexis_com)等公司來使用如上所述之技術提供針對所選抗原的人類抗體。在一些實施例中，Ablexis小鼠用可溶性全長DLL3蛋白質免疫。

【0388】 結合DLL3之抗原結合區可選自噬菌體展示庫，其中噬菌體經工程改造以表現人類免疫球蛋白或其部分，諸如Fab、單鏈抗體(scFv)、或未配對或配對抗體可變區。結合DLL3之抗原結合區可例如從噬菌體展示庫（表現抗體重鏈及輕鏈可變區）單離為具有噬菌體pIX外殼蛋白質的融合蛋白質，如描述於Shi *et al.*, (2010) *J Mol Biol* 397:385-96及國際專利公開號WO09/085462）。該等庫可篩選出結合至人類及/或食蟹獼猴DLL3之噬菌體，且所得之陽性殖株可經進一步表徵，將Fab自殖株溶解產物(lysate)單離出來並轉換為scFv或抗原結合區之其他構形。

【0389】 免疫性抗原(immunogenic antigen)之製備及本揭露之抗原結合區之表現及生產可使用任何合適技術執行，諸如重組蛋白質生產。免疫性抗原可用經純化的蛋白質或包括全細胞或細胞或組織抽出物的蛋白質混合物之形式來投予給動物，或者抗原可由編碼前述抗原或其之一部分的核酸於該動物體內重新地(de novo)形成。

與半衰期延長部份之融合或接合

【0390】 本揭露之結合DLL3之抗原結合區可融合或接合至半衰期延長部份。例示性半衰期延長部份係白蛋白、白蛋白變體、結合白蛋白之蛋白質及/或域、轉鐵蛋白及其片段及類似物、免疫球蛋白(Ig)或其片段（諸如Fc區）。前述半衰期延長部份之胺基酸序列係已知的。Ig或其片段包括所有同型，即IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA、及IgE。

【0391】 可接合至本揭露之結合DLL3之抗原結合區的額外半衰期延長部份包括聚乙二醇(PEG)分子（諸如PEG5000或PEG20,000）、不同鏈長之脂肪酸及脂肪酸酯（例如月桂酸酯、肉豆蔻酸酯、硬脂酸脂、花生酸酯(arachidate)、二十二酸酯、油酸酯、花生四烯酸酯(arachidonate)、辛二酸(octanedioic acid)、十四烷二酸(tetradecanedioic acid)、十八烷二酸(octadecanedioic acid)、二十二烷二酸(docosanedioic acid)、及類似者）、聚離胺酸、辛烷、或具有所欲性質之碳水化合物（葡聚糖、纖維素、寡醣、或多醣）。此等部份可與本揭露之結合DLL3之抗原結合區直接融合，且可藉由標準選殖及表現技術產生。替代地，可使用熟知的化學偶合方法，將該等部份附接至重組產生的本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0392】 例如，聚乙二醇基(pegyl)部份可藉由下列方式接合至本揭露之結合DLL3之抗原結合區：將半胱胺酸殘基併入本揭露之結合DLL3之抗原結合區的C端，或者將半胱胺酸工程改造至背向DLL3結合部位之殘基位置中，並使用熟知方法將聚乙二醇基附接至該半胱胺酸。

【0393】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係融合或接合至半衰期延長部份。

【0394】 在一些實施例中，半衰期延長部份係免疫球蛋白(Ig)、Ig之片段、Ig恆定區、Ig恆定區之片段、Fc區、轉鐵蛋白、白蛋白、白蛋白結合域、或聚乙二醇。在一些實施例中，半衰期延長部份係Ig恆定區。

【0395】 在一些實施例中，半衰期延長部份係Ig。

【0396】 在一些實施例中，半衰期延長部份係Ig之片段。

【0397】 在一些實施例中，半衰期延長部份係Ig恆定區。

【0398】 在一些實施例中，半衰期延長部份係Ig恆定區之片段。

【0399】 在一些實施例中，半衰期延長部份係Fc區。

【0400】 在一些實施例中，半衰期延長部份係白蛋白。

【0401】 在一些實施例中，半衰期延長部份係白蛋白結合域。

【0402】 在一些實施例中，半衰期延長部份係轉鐵蛋白。

【0403】 在一些實施例中，半衰期延長部份係聚乙二醇。

【0404】 鑑於本揭露，融合或接合至半衰期延長部份的結合DLL3之抗原結合區可利用已知體內模型來評估其藥物動力學性質。

與免疫球蛋白(Ig)恆定區或Ig恆定區之片段的融合

【0405】 本揭露之結合DLL3之抗原結合區可融合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段，以賦予類抗體性質，包括Fc效應功能C1q結合、補體依賴性細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)、吞噬作用、或下調細胞表面受體（例如，B細胞受體；BCR）。Ig恆定區或Ig恆定區之片段亦作用為如本文所論述之半衰期延長部份。本揭露之結合DLL3之抗原結合區

可使用標準方法來工程改造為習知全長抗體。包含結合DLL3之抗原結合區的全長抗體可進一步經如本文所述之工程改造。

【0406】 免疫球蛋白重鏈恆定區包含子域CH1、鉸鏈、CH2、及CH3。CH1域橫跨重鏈上的殘基A118至V215，CH2域橫跨殘基A231至K340，而CH3域橫跨殘基G341至K447，殘基編號根據EU索引。在一些情況下，G341被稱為CH2域殘基。鉸鏈通常係定義為包括人類IgG1之E216且終止於P230。Ig Fc區至少包含Ig恆定區之CH2及CH3域，且因此包含至少一個Ig重鏈恆定區之約A231至K447的區。

【0407】 本申請案亦提供一種結合DLL3之抗原結合區，其接合至免疫球蛋白(Ig)恆定區或Ig恆定區之片段。

【0408】 在一些實施例中，Ig恆定區係重鏈恆定區。

【0409】 在一些實施例中，Ig恆定區係輕鏈恆定區。

【0410】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含Fc區。

【0411】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含CH2域。

【0412】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含CH3域。

【0413】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含CH2域及CH3域。

【0414】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含鉸鏈之至少一部分、CH2域、及CH3域。鉸鏈之部分係指Ig鉸鏈之一或多個胺基酸殘基。

【0415】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含鉸鏈、CH2域、及CH3域。

【0416】 在一具體實施例中，Ig恆定區之片段包含鉸鏈、CH2域、及CH3域。

【0417】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的N端。

【0418】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的C端。

【0419】 在一些實施例中，結合DLL3之抗原結合區係經由第二連接子(L2)接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段。

【0420】 在一些實施例中，L2包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

【0421】 在一具體實施例中，L2包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

【0422】 接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的本揭露之結合DLL3之抗原結合區可使用數種已知檢定評估其功能性。與DLL3之結合可使用本文所述之方法評估。由Ig恆定域或Ig恆定區之片段（諸如Fc區）賦予的經改變性質可在Fc受體結合檢定中使用受體（諸如FcγRI、FcγRII、FcγRIII、或FcRn受體）之可溶形式來檢定，或使用測量例如ADCC、CDC、或ADCP的基於細胞之檢定來檢定。

【0423】 ADCC可使用體外檢定使用表現DLL3之細胞作為目標細胞且NK細胞作為效應細胞來評估。細胞裂解可透過從裂解細胞中釋放的標記（如放射性基質、螢光染料、或天然的細胞內蛋白）來檢測。在一例示性檢定中，目標細胞係以1個目標細胞對4個效應細胞之比使用。將目標細胞用BATDA預標示，並與效應細胞及測試抗體組合。將樣本培養2小時，且藉由測量釋放至

上清液中之BATDA來測量細胞裂解。將數據相對於使用0.67% Triton X-100 (Sigma Aldrich)的最大細胞毒性及在沒有任何抗體的情況下由目標細胞自發釋放的BATDA所判定之最小對照值正規化。

【0424】 ADCP可藉由使用衍生自單核球的巨噬細胞作為效應細胞且任何表現DLL3之細胞作為目標細胞來評估，該等目標細胞經工程改造以表現GFP或其他標示分子。在一例示性檢定中，效應細胞:目標細胞比可為例如4:1。可將效應細胞與目標細胞在存在或不存在本申請案之抗體的情況下一起培養4小時。培養後，使用細胞剝離液(accutase)將細胞分離。巨噬細胞可用與螢光標示偶合的抗CD11b及抗CD14抗體鑑定，且吞噬作用百分比可根據在$CD11^+CD14^+$巨噬細胞中的GFP螢光百分比使用標準方法判定。

【0425】 細胞之CDC可藉由例如下列步驟來測量：將道迪細胞以1×10^5個細胞/孔（50 μL/孔）種於RPMI-B（補充有1% BSA之RPMI）中、在孔中添加50 μL測試蛋白質使最終濃度在0至100 μg/mL之間、將反應在室溫下培養15 min、在孔中添加11 μL的匯集人類血清、及將反應在37℃下培養45 min。裂解細胞百分比(%)可使用標準方法以FACS檢定中經碘化丙啶染色的細胞%來偵測。

【0426】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區係融合至第一免疫球蛋白(Ig)恆定區或第一Ig恆定區之片段，及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區係融合至第二免疫球蛋白(Ig)恆定區或第二Ig恆定區之片段。

【0427】 在一些實施例中，第一Ig恆定區之片段及/或第二Ig恆定區之片段包含Fc區。

【0428】 在一些實施例中，第一Ig恆定區之片段及/或第二Ig恆定區之片段包含CH2域。

【0429】 在一些實施例中，第一Ig恆定區之片段及/或第二Ig恆定區之片段包含CH3域。

【0430】 在一些實施例中，第一Ig恆定區之片段及/或第二Ig恆定區之片段包含CH2域及CH3域。

【0431】 在一些實施例中，第一Ig恆定區之片段及/或第二Ig恆定區之片段包含鉸鏈之至少一部分、CH2域、及CH3域。

【0432】 在一些實施例中，Ig恆定區之片段包含鉸鏈、CH2域、及CH3域。

【0433】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體進一步包含在結合DLL3之第一抗原結合區與第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段之間、及在結合淋巴球抗原之第二抗原結合區與第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段之間的第二連接子(L2)。

【0434】 在一些實施例中，L2包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

【0435】 在一具體實施例中，L2包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

【0436】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG1、IgG2、及IgG3、或IgG4同型。

【0437】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG1同型。

【0438】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG2同型。

【0439】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG3同型。

【0440】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG4同型。

【0441】 在一具體實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段係IgG1同型。

【0442】 第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段可進一步經如上所述之工程改造。

【0443】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段包含導致多特異性抗原結合構築體與FcγR之結合減少的至少一個突變。

【0444】 在一些實施例中，導致多特異性抗原結合構築體與FcγR之結合減少的至少一個突變係選自由下列所組成之群組：F234A/L235A、L234A/L235A、L234A/L235A/D265S、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、F234A/L235A、S228P/F234A/L235A、N297A、V234A/G237A、K214T/E233P/L234V/L235A/G236-缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、H268Q/V309L/A330S/P331S、S267E/L328F、L234F/L235E/D265A、

L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、及S228P/F234A/L235A/G236-缺失/G237A/P238S，其中殘基編號係根據EU索引。在一具體實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及/或第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段包含下列突變：L234A_L235A_D265S。

【0445】 在一些實施例中，FcγR係FcγRI、FcγRIIA、FcγRIIB、或FcγRIII、或其任何組合。

【0446】 在一些實施例中，第一Ig恆定區或第一Ig恆定區之片段及第二Ig恆定區或第二Ig恆定區之片段包含調節多特異性抗原結合構築體之半衰期的至少一個突變。

【0447】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體包含在第一Ig恆定區的CH3域中或在第一Ig恆定區之片段的CH3域中之至少一個突變、及/或在第二Ig恆定區的CH3域中或在第二Ig恆定區之片段的CH3域中之至少一個突變。

【0448】 在一些實施例中，在第一Ig恆定區的CH3域中或在第一Ig恆定區之片段的CH3域中之至少一個突變、及/或在第二Ig恆定區的CH3域中或在第二Ig恆定區之片段的CH3域中之至少一個突變係選自由下列所組成之群組：L351Y_F405A_Y407V/T394W、T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V、T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V_K409F、Y407A/T366A_K409F、或如US2012/0149876或US2013/0195849 (Zymeworks)中所述之T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W。

【0449】 在一些實施例中，在第一Ig恆定區的CH3域中或在第一Ig恆定區之片段的CH3域中之至少一個突變、及/或在第二Ig恆定區的CH3域中或在第二Ig恆定區之片段的CH3域中之至少一個突變係選自由下列所組成之群組：T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S、及如WO1996/027011中所述之T366W/T366S_L368A_Y407V。

【0450】 在一些實施例中，本申請案之蛋白質或多特異性抗原結合構築體可包含降低或消除效應功能（諸如ADCC或CDC）之一或多個胺基酸修飾，諸如降低或除去與Fcγ受體之結合的突變。此類突變可在位置L234、L235、D270、N297、E318、K320、K322、P331、及P329，諸如L234A、L235A、及P331S中之一、二、或三個突變，其中胺基酸殘基之編號係根據如Kabat中所陳述之EU索引。

包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區的蛋白質

【0451】 本揭露之結合DLL3之抗原結合區可使用標準方法來工程改造為各種設計之單特異性或多特異性抗原結合構築體。

【0452】 本揭露亦提供一種單特異性蛋白質，其包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0453】 在一些實施例中，單特異性蛋白質係抗體。

【0454】 本揭露亦提供一種多特異性抗原結合構築體，其包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0455】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體係雙特異性的。

【0456】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體係三特異性的。

【0457】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體係四特異性的。

【0458】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體針對與DLL3之結合係單價的。

【0459】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體針對與DLL3之結合係二價的。

【0460】 本揭露亦提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區。

【0461】 在一些實施例中，淋巴球抗原係T細胞抗原。

【0462】 在一些實施例中，T細胞抗原係$CD8^+$ T細胞抗原。

【0463】 在一些實施例中，淋巴球抗原係NK細胞抗原。

【0464】 在一些實施例中，淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。

【0465】 在一些實施例中，淋巴球抗原係CD3ε。

【0466】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含scFv、$(scFv)_2$、Fv、Fab、$F(ab')_2$、Fd、dAb、或VHH。

【0467】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含Fab。

【0468】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含$F(ab')_2$。

【0469】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含VHH。

【0470】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含Fv。

【0471】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含Fd。

【0472】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區及/或結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含scFv。

【0473】 在一具體實施例中，多特異性抗原結合構築體係雙特異性的，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含scFv，且結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區包含Fab。

【0474】 在一具體實施例中，多特異性抗原結合構築體係雙特異性的，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含Fab，且結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區包含scFv。

【0475】 在一些實施例中，scFv自N至C端包含VH、第一連接子(L1)、及VL (VH-L1-VL)或VL、L1、及VH (VL-L1-VH)。

【0476】 在一些實施例中，L1包含約5至50個胺基酸。

【0477】 在一些實施例中，L1包含約5至40個胺基酸。

【0478】 在一些實施例中，L1包含約10至30個胺基酸。

【0479】 在一些實施例中，L1包含約10至20個胺基酸。

【0480】 在一些實施例中，L1包含SEQ ID NO: 27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、

126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

【0481】 在一具體實施例中，L1包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

【0482】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含

【0483】 SEQ ID NO:15、18、21、24、18、30、50、52、53、55、57、59、或61之HCDR1、SEQ ID NO:16、19、22、25、28、31、51、54、56、58、60、或62之HCDR2、SEQ ID NO:17、20、23、26、29、32、17、20、23、26、29、或32之HCDR3、SEQ ID NO:33、36、39、41、44、或47之LCDR1、SEQ ID NO:34、37、42、45、或48之LCDR2、及SEQ ID NO:35、38、40、43、46、或49之LCDR3。

【0484】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。

【0485】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO: 15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，可任選地淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、

NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C，諸如CD3。

【0486】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0487】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，可任選地淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C，諸如CD3。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。

【0488】　在一些實施例中，雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0489】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及SEQ ID NO:4之VL，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，可任

選地淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C，諸如CD3。

【0490】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，可任選地淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C，諸如CD3。

【0491】 在一些實施例中，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體可尤其有效於介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。

【0492】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0493】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，可任選地淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C，諸如CD3。

【0494】 在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表

面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0495】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0496】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63之胺基酸序列。

【0497】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之胺基酸序列。

【0498】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:65之胺基酸序列。

【0499】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:66之胺基酸序列。

【0500】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:67之胺基酸序列。

【0501】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:68之胺基酸序列。

【0502】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:69之胺基酸序列。

【0503】　在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:63之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0504】 在一些實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0505】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列。

【0506】 本揭露亦提供一種結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區，其中結合淋巴球之抗原結合區包含SEQ ID NO:77之重鏈可變區(VH)及SEQ ID NO:80之輕鏈可變區(VL)或SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0507】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0508】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0509】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0510】 在一具體實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0511】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少

95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0512】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0513】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0514】 在一具體實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0515】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含：SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3；或SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0516】 在一些實施例中，結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含：SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；或SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0517】 在一具體實施例中，結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

【0518】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為EQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

【0519】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3。

【0520】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0521】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化、增生、及擴增、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0522】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL，且結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

【0523】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0524】 在一具體實施例中，結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體之產生

【0525】 可將本揭露之結合DLL3之抗原結合區工程改造為多特異性抗體，其亦涵蓋於本申請案之範圍內。

【0526】 可將結合DLL3之抗原結合區工程改造為全長多特異性抗體，其係使用Fab臂交換來產生，其中在促進體外Fab臂交換之Ig恆定區CH3域內將取代引入兩個單特異性雙價抗體中。在該等方法中，二個單特異性雙價抗體係經工程改造以在CH3域具有某些促進異二聚體穩定性之取代；該等抗體係在足以讓鉸鏈區中之半胱胺酸進行雙硫鍵異構化的還原條件下一起培養；從而藉由Fab臂交換來產生該雙特異性抗體。培養條件可最佳地被回復至非還原性(non-reducing)。可使用之例示性還原劑係2-巰基乙胺(2-MEA)、二硫蘇糖醇(dithiothreitol, DTT)、二硫赤蘚醇(dithioerythritol, DTE)、麩胱甘肽、參(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱胺酸及β-巰基乙醇，還原劑較佳係選自由下列所組成之群組：2-巰基乙胺、二硫蘇糖醇及參(2-羧乙基)膦。舉例而言，可使用在至少20℃之溫度且有至少25 mM之2-MEA存在下或於至少0.5 mM之二硫蘇糖醇存在且在5至8之pH下（例如在7.0之pH下或在7.4之pH下）培養至少90 min。

【0527】 可使用之CH3突變包括諸如下列之技術：鈕扣(Knob-in-Hole)突變(Genentech)、靜電吸引突變(Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed)、鏈交換工程改造之域體(SEEDbody) (EMD Serono)、Duobody®突變(Genmab)、及其他不對稱突變（例如，Zymeworks）。

【0528】 鈕扣結構突變係揭示於例如WO1996/027011中且包括在CH3區之界面上的突變，其中具有小側鏈之胺基酸（孔）被導入第一CH3區且具有大

側鏈之胺基酸（鈕）被導入第二CH3區，導致在第一CH3區與第二CH3區之間的優先交互作用。形成鈕及孔之例示性CH3區突變係T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394S及T366W/T366S_L368A_Y407V。

【0529】 重鏈異二聚體形成可藉由使用藉由取代在第一CH3區上的帶正電殘基及在第二CH3區上的帶負電殘基之靜電交互作用來促進，如US2010/0015133、US2009/0182127、US2010/028637或US2011/0123532中所述。

【0530】 可用來促進重鏈異二聚化之其他不對稱突變係L351Y_F405A_Y407V/T394W、T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V、T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V_K409F、Y407A/T366A_K409F、或T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W，如US2012/0149876或US2013/0195849 (Zymeworks)中所述。

【0531】 SEEDbody突變涉及用IgA殘基取代選定IgG殘基以促進重鏈異二聚化，如US20070287170中所述。

【0532】 可使用的其他例示性突變係R409D_K370E/D399K_E357K、S354C_T366W/Y349C_ T366S_L368A_Y407V、Y349C_T366W/S354C_T366S_L368A_Y407V、T366K/L351D、L351K/Y349E、L351K/Y349D、L351K/L368E、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V_K409F、K392D/D399K、K392D/ E356K、K253E_D282K_K322D/D239K_E240K_K292D、

K392D_K409D/D356K_D399K，如WO2007/147901、WO 2011/143545、WO2013157954、WO2013096291及US2018/0118849中所述。

【0533】 Duobody®突變(Genmab)係揭示於例如美國專利號9,150,663及US2014/0303356且包括下列突變：F405L/K409R、野生型/F405L_R409K、T350I_K370T_F405L/K409R、K370W/K409R、D399AFGHILMNRSTVWY/K409R、T366ADEFGHILMQVY/K409R、L368ADEGHNRSTVQ/K409AGRH、D399FHKRQ/K409AGRH、F405IKLSTVW/K409AGRH、及Y407LWQ/K409AGRH。

【0534】 額外雙特異性或多特異性結構（可將結合DLL3之抗原結合區併入其中）包括雙可變域免疫球蛋白(Dual Variable Domain Immunoglobulin, DVD)（國際專利公開案WO2009/134776；DVD為全長抗體，其包含具有結構VH1-連接子-VH2-CH之重鏈及具有結構VL1-連接子-VL2-CL之輕鏈；連接子係可選的）、包括各種二聚化結構域以連接二個具有不同特異性之抗體臂的結構，諸如白胺酸拉鍊或膠原蛋白二聚化結構域（國際專利公開案第WO2012/022811號；美國專利第5,932,448號；美國專利第6,833,441號）、二或更多個域抗體(dAb)接合在一起、雙價抗體、僅重鏈抗體諸如駱駝抗體及經工程改造駱駝抗體、雙靶向(DT)-Ig (GSK/Domantis)、二合一抗體(Genentech)、交聯Mab (Karmanos Cancer Center)、mAb2 (F-Star)及CovX-本體(CovX/Pfizer)、IgG樣雙特異性(InnClone/Eli Lilly)、Ts2Ab (MedImmune/AZ)及BsAb (Zymogenetics)、HERCULES (Biogen Idec)及TvAb (Roche)、ScFv/Fc融合(Academic Institution)、SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion、Zymogenetics/BMS)、雙親和性重靶向技術(Fc-DART) (MacroGenics)及雙

$(ScFv)_2$-Fab (National Research Center for Antibody Medicine--China)、雙作用或雙-Fab (Genentech)、Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics)、雙價雙特異性(Biotecnol)及Fab-Fv (UCB-Celltech)。基於ScFv之抗體、基於雙價抗體之抗體及域抗體包括但不限於Bispecific T Cell Engager (BiTE) (Micromet)、Tandem Diabody (Tandab) (Affimed)、Dual Affinity Retargeting Technology (DART) (MacroGenics)、Single-chain Diabody (Academic)、TCR-like Antibodies (AIT, ReceptorLogics)、Human Serum Albumin ScFv Fusion (Merrimack)及COMBODY (Epigen Biotech)、雙靶向奈米抗體(Ablynx)、僅雙靶向重鏈域抗體(dual targeting heavy chain only domain antibody)。

【0535】 亦可將本揭露之結合DLL3之抗原結合區工程改造為包含三個多肽鏈之多特異性抗原結合構築體。在此類設計中，至少一個抗原結合區係呈scFv之形式。例示性設計包括（其中「1」指示第一抗原結合區，「2」指示第二抗原結合區，且「3」指示第三抗原結合區）：

設計1：鏈A) scFv1- CH2-CH3；鏈B) VL2-CL；鏈C) VH2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3

設計2：鏈A) scFv1-鉸鏈- CH2-CH3；鏈B) VL2-CL；鏈C) VH2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3

設計3：鏈A) scFv1- CH1-鉸鏈- CH2-CH3；鏈B) VL2-CL；鏈C) VH2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3

設計4：鏈A) CH2-CH3-scFv1；鏈B) VL2-CL；鏈C) VH2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3

【0536】 可將CH3工程改造併入設計1至4中，諸如突變L351Y_F405A_Y407V/T394W、T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V、T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V、L351Y_Y407A/T366A_K409F、L351Y_Y407A/T366V_K409F、Y407A/T366A_K409F、或T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W，如US2012/0149876或US2013/0195849 (Zymeworks)中所述。

【0537】 在一具體實施例中，設計係：鏈A) scFv1-鉸鏈-CH2-CH3；鏈B) VL2-CL；鏈C) VH2-CH1-鉸鏈-CH2-CH3。

【0538】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:15、18、21、24、18、30、50、52、53、55、57、59、或61之HCDR1、SEQ ID NO:16、19、22、25、28、31、51、54、56、58、60、或62之HCDR2、SEQ ID NO:17、20、23、26、29、32、17、20、23、26、29、或32之HCDR3、SEQ ID NO:33、36、39、41、44、或47之LCDR1、SEQ ID NO:34、37、42、45、或48之LCDR2、及SEQ ID NO:35、38、40、43、46、或49之LCDR3。

【0539】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：

分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

【0540】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0541】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（諸如CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含：

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:14之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:12之VL；或

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0542】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0543】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。在一些實施例中，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體可尤其有效於介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0544】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0545】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。

【0546】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的VL。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0547】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL。

【0548】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0549】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合

區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%）同一的胺基酸序列。

【0550】 在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列。

【0551】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95或98之HCDR1、SEQ ID NO:96或99之HCDR2、SEQ ID NO:97或100之HCDR3、SEQ ID NO:101或106之LCDR1、SEQ ID NO:102或107之LCDR2、及SEQ ID NO:103、104、或108之LCDR3。

【0552】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含：

SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3；或

SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3。

【0553】　在一具體實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

【0554】　在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原（例如，CD3）之第二抗原結合區，其中結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0555】　在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，其中結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含：

SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；或SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0556】　本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a. 結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之第一抗原結合區包含含有SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL的Fab，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:105之scFv；及/或

c. 單離抗DLL/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:109之HC1、SEQ ID NO:110之LC1、及SEQ ID NO:112之HC1。

【0557】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a. 結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之第一抗原結合區包含含有SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL的Fab，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:119之scFv；及/或

c. 單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:109之HC1、SEQ ID NO:110之LC1、及SEQ ID NO:113之HC1。

【0558】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a. 結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、

106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL；及/或

c. 單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:111之HC1、SEQ ID NO:116之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

【0559】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL；可任選地，及/或

c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:111之HC1、SEQ ID NO:114之HC2、及SEQ ID NO:115之LC2。

【0560】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a. 結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或

c. 單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:71之HC1、SEQ ID NO:118之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合淋巴球抗原之第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或

c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:229之HC1、SEQ ID NO:230之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

【0561】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a. 結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b.結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或

c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:71之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:118之HC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2。

【0562】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b.結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或

c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:229之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:230之HC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2。

【0563】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a) 結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、及108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b) 結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0564】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質介導T細胞介導之細胞毒性。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0565】 本揭露亦提供一種單離抗DLL3/抗CD3蛋白質，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b.結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的

scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或

c.單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:229之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:230之HC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2。

【0566】 在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質介導T細胞介導之細胞毒性。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，單離抗DLL3/抗CD3蛋白質在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。

【0567】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a.結合DLL3之第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結

合CD3之第二域包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、及108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b.結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0568】 在一些實施例中，單離多特異性抗原結合構築體在兩個Fc域（即，HC1及HC2域）之C端包含離胺酸（例如，K477）。額外離胺酸可增強構築體之表現。

【0569】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%同一的VH及與SEQ ID NO:80之VL至少80%同一的VL。

【0570】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少85%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少85%同一的VH及與SEQ ID NO:80之VL至少85%同一的VL。

【0571】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少90%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少90%同一的VH及與SEQ ID NO:80之VL至少90%同一的VL。

【0572】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少95%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:80之VL至少95%同一的VL。

【0573】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少99%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:80之VL至少99%同一的VL。

【0574】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少95%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及與SEQ ID NO:80之VL至少95%同一的VL。

【0575】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少99%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及與SEQ ID NO:80之VL至少99%同一的VL。

【0576】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少95%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少95%同一的VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0577】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少99%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少99%同一的VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0578】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:80之VL至少95%同一的VL。

【0579】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

【0580】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%同一的VL。

【0581】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少85%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少85%同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少85%同一的VL。

【0582】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少90%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少90%同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少90%同一的VL。

【0583】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少95%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少95%同一的VL。

【0584】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少99%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少99%同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少99%同一的VL。

【0585】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少95%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及與SEQ ID NO:85之VL至少95%同一的VL。

【0586】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少99%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及與SEQ ID NO:85之VL至少99%同一的VL。

【0587】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少95%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少95%同一的VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0588】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少99%同一的scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少99%同一的VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0589】 在一些實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗

原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少95%同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少95%同一的VL。

【0590】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多特異性抗原結合構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中結合DLL3之第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

【0591】 如實例中所示，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體可尤其有效於介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。因此，在一些實施例中，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體介導T細胞介導之細胞毒性。在一些實施例中，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。在一些實施例中，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體上調CD8 T細胞表面上之CD25、CD69、及CD71表現。在一些實施例中，本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體展示增加之腫瘤殺滅。在一些實施例中，本文所揭示之雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在T細胞細胞毒性檢定中皆在5天內達成>90%（例如，95%）腫瘤裂解。特別令人驚訝的是下列實情，顯示最大腫瘤殺滅的多特異性抗原結合構築體與DLL3上最靠近細胞膜的表位結合，該位置被認為損害多特異性抗體最佳排列腫瘤細胞及細胞毒性T細胞以達成免疫突觸的能力。

同型、同種異型、及Fc工程改造

【0592】 Ig恆定區或Ig恆定區之片段（諸如存在於本揭露之蛋白質中的Fc區）可係任何同種異型(allotype)或同型(isotype)。

【0593】 在一些實施例中，Ig恆定區或Ig恆定區之片段係IgG1同型。

【0594】 在一些實施例中，Ig恆定區或Ig恆定區之片段係IgG2同型。

【0595】 在一些實施例中，Ig恆定區或Ig恆定區之片段係IgG3同型。

【0596】 在一些實施例中，Ig恆定區或Ig恆定區之片段係IgG4同型。

【0597】 Ig恆定區或Ig恆定區之片段可為任何同種異型。預期同種異型對於Ig恆定區之性質沒有影響，諸如結合或Fc介導之效應功能。治療性蛋白質（包含Ig恆定區或其片段）之免疫原性係與輸注反應之風險增加及治療反應之持續時間減少相關聯(Baert *et al.,* (2003) *N Engl J Med* 348:602-08)。治療性蛋白質（包含Ig恆定區或其片段）在宿主中誘導免疫反應的程度可部分地由該Ig恆定區之同種異型決定(Stickler *et al.,* (2011) *Genes and Immunity* 12:213-21)。Ig恆定區同種異型係與抗體恆定區序列中之特定位置處的胺基酸序列變異相關。**表3**顯示所選之IgG1、IgG2、及IgG4同種異型。

表3：所選之IgG1、IgG2、及IgG4同種異型

同種異型	多樣性位置的胺基酸殘基（殘基編號：EU 索引）							
	IgG2		IgG4		IgG1			
	189	282	309	422	214	356	358	431
G2m(n)	T	M						
G2m(n-)	P	V						
G2m(n)/(n-)	T	V						
nG4m(a)			L	R				
G1m(17)					K	E	M	A
G1m(17,1)					K	D	L	A

【0598】 在一具體實施例中，Ig恆定區同種異型係huIgG1_G1m(17)。

【0599】 C端離胺酸(CTL)可藉由血流中的內源性循環羧肽酶而自Ig恆定區移除(Cai *et al.*, (2011) *Biotechnol Bioeng* 108:404-412)。在製造期間，藉由控制胞外Zn^{2+}、EDTA或EDTA - Fe^{3+}的濃度可將CTL移除控制在小於最大水準，如美國專利公開案第US20140273092號中所述。蛋白質之CTL含量可使用已知方法測量。

【0600】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區的結合DLL3之抗原結合區具有約10%至約90%之C端離胺酸含量。在一些實施例中，C端離胺酸含量為約20%至約80%。在一些實施例中，C端離胺酸含量為約40%至約70%。在一些實施例中，C端離胺酸含量為約55%至約70%。在一些實施例中，C端離胺酸含量為約60%。

【0601】 可對接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區進行Fc區突變，以調節其效應功能（諸如ADCC、ADCP、及/或ADCP）及/或藥物動力學性質。這可藉由將（多個）突變引入Fc中來達成，該（等）突變調節突變Fc與活化性FcγR（FcγRI、FcγRIIa、FcγRIII）、抑制性FcγRIIb、及/或FcRn之結合。

【0602】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區在Ig恆定區或Ig恆定區之片段中包含至少一個突變。

【0603】 在一些實施例中，至少一個突變係在Fc區中。

【0604】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區在Fc區中包含至少一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四、或十五個突變。

【0605】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區在Fc區中包含調節抗體與FcRn之結合的至少一個突變。

【0606】 可經突變以調節半衰期之Fc位置（例如，與FcRn之結合）包括位置250、252、253、254、256、257、307、376、380、428、434、及435。可單獨或組合進行之例示性突變為突變T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435A、及H435R。可進行以增加半衰期的例示性單個或組合突變係突變M428L/N434S、M252Y/S254T/T256E、T250Q/M428L、N434A、及T307A/E380A/N434A。可進行以減少半衰期的例示性單個或組合突變係突變H435A、P257I/N434H、D376V/N434H、M252Y/S254T/T256E/H433K/N434F、T308P/N434A、及H435R。

【0607】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區包含M252Y/S254T/T256E突變。

【0608】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區在Fc區中包含至少一個突變，其減少蛋白質與活化性Fcγ受體(FcγR)之結合及/或降低Fc效應功能（諸如C1q結合、補體依賴性細胞毒性(CDC)、抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)或吞噬作用(ADCP)）。

【0609】 可經突變以減少蛋白質與活化性FcγR之結合且因而降低效應功能之Fc位置包括位置214、233、234、235、236、237、238、265、267、268、

270、295、297、309、327、328、329、330、331、及365。可單獨或組合進行之例示性突變為IgG1、IgG2、IgG3或IgG4中之突變K214T、E233P、L234V、L234A、G236缺失、V234A、F234A、L235A、G237A、P238A、P238S、D265A、S267E、H268A、H268Q、Q268A、N297A、A327Q、P329A、D270A、Q295A、V309L、A327S、L328F、A330S、及P331S。導致具有降低之ADCC之蛋白質的例示性組合突變為下列突變：IgG1上之L234A/L235A、IgG1上之L234A/L235A/D265S、IgG2上之V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、IgG4上之F234A/L235A、IgG4上之S228P/F234A/ L235A、所有Ig同型上之N297A、IgG2上之V234A/G237A、IgG1上之K214T/E233P/ L234V/L235A/G236缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、IgG2上之H268Q/V309L/A330S/P331S、IgG1上之S267E/L328F、IgG1上之L234F/L235E/D265A、IgG1上之L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、IgG4上之S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、及IgG4上之S228P/F234A/L235A/G236缺失/G237A/P238S。亦可使用混成的IgG2/4 Fc域，諸如具有來自IgG2的殘基117至260及來自IgG4的殘基261至447的Fc。

【0610】　導致具有降低之CDC之蛋白質的例示性突變為K322A突變。

【0611】　可在IgG4中進行熟知的S228P突變以增強IgG4穩定性。

【0612】　在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區包含至少一個選自由下列所組成之群組的突變：K214T、E233P、L234V、L234A、G236缺失、V234A、F234A、L235A、G237A、P238A、P238S、D265A、S267E、H268A、H268Q、Q268A、N297A、

A327Q、P329A、D270A、Q295A、V309L、A327S、L328F、K322、A330S、及P331S。

【0613】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區包含L234A/L235A/D265S突變。在一具體實施例中，接合至IgG1恆定區或IgG1恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區包含L234A_L235A_D265S突變。

【0614】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區包含L234A/L235A突變。

【0615】 在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區在Fc區中包含至少一個突變，其增強蛋白質與Fcγ受體(FcγR)之結合及/或增強Fc效應功能（諸如C1q結合、補體依賴性細胞毒性(CDC)、抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)及/或吞噬作用(ADCP)）。

【0616】 可經突變以增加蛋白質與活化性FcγR之結合及/或增強Fc效應功能之Fc位置包括位置236、239、243、256、290、292、298、300、305、312、326、330、332、333、334、345、360、339、378、396、或430（殘基編號根據EU索引）。可單獨或組合進行的例示性突變係G236A、S239D、F243L、T256A、K290A、R292P、S298A、Y300L、V305L、K326A、A330K、I332E、E333A、K334A、A339T、及P396L。導致具有增加的ADCC或ADCP之蛋白質的例示性組合突變係S239D/I332E、S298A/E333A/K334A、F243L/R292P/Y300L、F243L/R292P/Y300L/P396L、F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L、及G236A/S239D/I332E。

【0617】 可經突變以增強CDC之Fc位置包括位置267、268、324、326、333、345、及430。可單獨或組合進行的例示性突變係S267E、F1268F、S324T、K326A、K326W、E333A、E345K、E345Q、E345R、E345Y、E430S、E430F、及E430T。導致具有增加的CDC之蛋白質的例示性組合突變係K326A/E333A、K326W/E333A、H268F/S324T、S267E/H268F、S267E/S324T、及S267E/H268F/S324T。

【0618】 本文所述之特定突變係當相較於分別為SEQ ID NO:257、258、及259之IgG1、IgG2、及IgG4野生型胺基酸序列時之突變。

【0619】 抗體與FcγR或FcRn之結合可在經工程改造以表現各受體之細胞上使用流動式細胞測量術來評定。在一例示性結合檢定中，將每孔2x10^5個細胞接種於96孔盤中，且在4℃下在BSA染色緩衝液(BD Biosciences, San Jose, USA)中阻斷30 min。將細胞與測試抗體在冰上在4℃下培養1.5小時。用BSA染色緩衝液洗滌兩次之後，將細胞與經R-PE標記之抗人類IgG二級抗體(Jackson Immunoresearch Laboratories)在4℃下培養45 min。將細胞在染色緩衝液中洗滌兩次，且接著再懸浮於150 μL含有1:200稀釋之DRAQ7活/死染色劑之染色緩衝液(Cell Signaling Technology, Danvers, USA)中。經染色細胞之PE及DRAQ7信號係藉由Miltenyi MACSQuant流式細胞儀(Miltenyi Biotec, Auburn, USA)分別使用B2及B4通道來偵測。以DRAQ7排除對活細胞進行閘控(gated)，且判定收集之至少10,000個活事件之幾何平均螢光信號。將FlowJo軟體(Tree Star)用於分析。將數據繪製為抗體濃度之對數對平均螢光信號。執行非線性迴歸分析。

醣基工程改造

【0620】 接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區介導ADCC之能力可藉由工程改造Ig恆定區或Ig恆定區之片段的寡醣組分而增強。人類IgG1或IgG3係在Asn297處經N-醣基化並且大部分聚醣係呈廣為周知之雙觸角(biantennary) G0、G0F、G1、G1F、G2或G2F形式。可由未經工程改造之CHO細胞產生之含Ig恆定區的蛋白質一般具有約至少85%之聚醣岩藻糖(glycan fucose)含量。將核心岩藻糖自附接至接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區的雙觸角複合型寡醣移除，會經由改善FcγRIIIa結合而不改變抗原結合或CDC活性來增強蛋白質之ADCC。此類蛋白質可使用已報導會導致成功表現相對高量去岩藻糖基化(defucosylated)免疫球蛋白（帶有雙觸角複合型之Fc寡醣）的不同方法來達成，諸如控制培養滲透壓(Konno *et al.*, Cytotechnology 64(:249-65, 2012)、應用變體CHO系Lec13作為宿主細胞系(Shields *et al., J Biol Chem* 277:26733-26740, 2002)、應用變體CHO系EB66作為宿主細胞系(Olivier *et al., MAbs*; 2(4): 405-415, 2010; PMID:20562582)、應用大鼠融合瘤細胞系YB2/0作為宿主細胞系(Shinkawa *et al., J Biol Chem* 278:3466-3473, 2003)、引入特異性針對1,6-岩藻糖基轉移酶(*FUT8*)基因的短小干擾RNA (Mori *et al., Biotechnol Bioeng* 88:901-908, 2004)、或共表現β-1,4-*N*-乙醯葡萄糖胺基轉移酶III (β-1,4-*N*-acetylglucosaminyltransferase III)與高基氏α-甘露糖苷酶II (Golgi α-mannosidase II)或基夫鹼（kifunensine，一種強效α-甘露糖苷酶I抑制劑）（Ferrara *et al., J Biol Chem* 281:5032-5036, 2006、Ferrara *et al.,* Biotechnol Bioeng 93:851-861, 2006；Xhou *et al., Biotechnol Bioeng* 99:652-65, 2008）。

【0621】 在一些實施例中，本揭露的接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區具有雙觸角聚醣結構，其岩藻糖含量係約介於1%至

約15%之間，例如約15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、或1%。在一些實施例中，接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區具有聚醣結構，其岩藻糖含量係約50%、40%、45%、40%、35%、30%、25%、或20%。

【0622】 「岩藻糖含量(fucose content)」意指Asn297處糖鏈內岩藻糖單醣的量。岩藻糖的相對量係含岩藻糖結構相對於所有醣類結構的百分比。此等可藉由多種方法來表徵及定量，例如：1)使用經N-醣苷酶F處理過的樣本（例如，錯合、雜合及寡及高甘露糖(oligo- and high-mannose)結構）的MALDI-TOF，如國際專利公開案第WO2008/077546號中所述；2)酶促釋放Asn297聚醣、及後續的衍生化及藉由HPLC (UPLC)以螢光偵測及/或HPLC-MS (UPLC-MS)的偵測/定量；3)天然或還原mAb的完整蛋白質分析，將Asn297聚醣以Endo S或其他會在第一與第二GlcNAc單醣之間切割而留下連接至第一GlcNAc之岩藻糖的酵素處理或不經處理；4)藉由酶消化法(enzymatic digestion)（例如胰蛋白酶或內肽酶Lys-C）將mAb消化成構成分肽(constituent peptide)，且隨後藉由HPLC-MS (UPLC-MS)分離、偵測、及定量；5)藉由以PNGase F在Asn 297處進行特異性酶促去醣化(specific enzymatic deglycosylation)以將mAb寡醣自mAb蛋白分離。因此釋放之寡醣可用螢光團標示，藉由各種互補技術分離及識別，該等技術允許：藉由基質輔助雷射脫附游離(MALDI)質譜術比較實驗質量與理論質量以精細表徵聚醣結構、藉由離子交換HPLC (GlycoSep C)判定唾液酸化(sialylation)程度、藉由正相HPLC (GlycoSep N)根據親水性標準分離及定量寡醣形式、及藉由高效毛細管電泳-雷射誘導螢光(HPCE-LIF)分離及定量寡醣。

【0623】 如本文中所使用，「低岩藻糖(low fucose)」或「低岩藻糖含量(low fucose content)」係指接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區具有約介於1%至15%之間的岩藻糖含量。

【0624】 如本文中所使用，「正常岩藻糖(normal fucose)」或「正常岩藻糖含量(normal fucose content)」係指接合至Ig恆定區或Ig恆定區之片段的結合DLL3之抗原結合區具有約超過50%、一般約超過80%或超過85%的岩藻糖含量。

抗獨特型抗體

【0625】 抗獨特型抗體係特異性結合至本揭露之結合DLL3之抗原結合區的抗體。

【0626】 本申請案亦提供一種抗獨特型抗體，其特異性結合至本揭露之結合DLL3之抗原結合區。

【0627】 抗獨特型(Id)抗體係識別抗體之抗原決定位（例如互補位(paratope)或CDR）的抗體。Id抗體可為抗原阻斷或非阻斷的。抗原阻斷Id可用於偵測樣本中之游離抗原結合區（例如，本揭露之結合DLL3之抗原結合區）。非阻斷Id可用於偵測樣本中的總抗體（游離的、部分結合至抗原的、或完全結合至抗原的）。Id抗體可藉由以正在製備抗Id的抗體免疫動物來製備。

【0628】 抗Id抗體亦可用作為免疫原(immunogen)，以在又另一種動物中誘導免疫反應，產生所謂的抗-抗Id抗體(anti-anti-Id antibody)。抗-抗Id之表位可與誘導抗Id的原始抗原結合區之表位同一。因此，藉由使用抗原結合區的獨特型決定位(idiotypic determinant)之抗體，可以識別表現具有相同特異性之抗原結

合區的其他殖株。抗Id抗體可藉由任何合適的技術來變化（從而產生抗Id抗體變體）及/或衍生化，諸如本文別處所述之技術。

免疫接合物

【0629】 本揭露之結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、或包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體（在本文中統稱為DLL3結合蛋白質）可接合至異源分子。

【0630】 在一些實施例中，異源分子係可偵測標示或細胞毒性劑。

【0631】 本申請案亦提供一種結合DLL3之抗原結合區，其接合至可偵測標示。

【0632】 本申請案亦提供一種包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質，其接合至可偵測標示。

【0633】 本申請案亦提供一種包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體，其接合至可偵測標示。

【0634】 本申請案亦提供一種結合DLL3之抗原結合區，其接合至細胞毒性劑。

【0635】 本申請案亦提供一種包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質，其接合至細胞毒性劑。

【0636】 本申請案亦提供一種包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體，其接合至細胞毒性劑。

【0637】 本揭露之DLL3結合蛋白質可用以將治療劑引導至表現DLL3之細胞（諸如表現DLL3之前列腺癌細胞或小細胞肺癌細胞）。替代地，表現

DLL3之細胞可用接合至治療劑的本揭露之DLL3結合蛋白質來靶向，該治療劑意欲在內化後修飾細胞功能。

【0638】 在一些實施例中，可偵測標示亦為細胞毒性劑。

【0639】 接合至可偵測標記的本揭露之DLL3結合蛋白質可用來評估各種樣本上的DLL3表現。

【0640】 可偵測標記包括在接合至本揭露之DLL3結合蛋白質時使後者變為可偵測（經由光譜學、光化學、生物化學、免疫化學、或化學手段）的組成物。

【0641】 例示性可偵測標示包括放射性同位素、磁珠、金屬珠、膠態粒子、螢光染料、電子緻密試劑、酶（例如，如通常用於ELISA中）、生物素、長葉毛地黃配質(digoxigenin)、半抗原、發光分子、化學發光分子、螢光染劑、螢光團、螢光淬熄劑、有色分子、放射性同位素、閃爍劑(scintillate)、卵白素、鏈黴親和素、蛋白A、蛋白G、抗體或其片段、多組胺酸、Ni^{2+}、Flag標籤、myc標籤、重金屬、酶、鹼性磷酸酶、過氧化酶、螢光素酶、電子供體/受體、吖啶酯(acridinium ester)、及比色基質。

【0642】 可偵測標示可自發地發射信號，諸如在可偵測標示為放射性同位素時。在其他情況下，可偵測標示由於外部場刺激而發射信號。

【0643】 例示性放射性同位素可為γ發射性、鄂惹發射性(Auger-emitting)、β發射性、α發射性、或正電子發射性放射性同位素。例示性放射性同位素包括^{3}H、^{11}C、^{13}C、^{15}N、^{18}F、^{19}F、^{55}Co、^{57}Co、^{60}Co、^{61}Cu、^{62}Cu、^{64}Cu、^{67}Cu、^{68}Ga、^{72}As、^{75}Br、^{86}Y、^{89}Zr、^{90}Sr、^{94m}Tc、^{99m}Tc、^{115}In、^{123}I、^{124}I、^{125}I、^{131}I、^{211}At、^{212}Bi、^{213}Bi、^{223}Ra、^{226}Ra、^{225}Ac、及^{227}Ac。

【0644】 例示性金屬原子為原子序大於20之金屬，諸如鈣原子、鈧原子、鈦原子、釩原子、鉻原子、錳原子、鐵原子、鈷原子、鎳原子、銅原子、鋅原子、鎵原子、鍺原子、砷原子、硒原子、溴原子、氪原子、銣原子、鍶原子、釔原子、鋯原子、鈮原子、鉬原子、鎝原子、釕原子、銠原子、鈀原子、銀原子、鎘原子、銦原子、錫原子、銻原子、碲原子、碘原子、氙原子、銫原子、鋇原子、鑭原子、鉿原子、鉭原子、鎢原子、錸原子、鋨原子、銥原子、鉑原子、金原子、汞原子、鉈原子、鉛原子、鉍原子、釙原子、鐳原子、錒原子、鈰原子、鐠原子、釹原子、鉕原子、釤原子、銪原子、釓原子、鋱原子、鏑原子、鈥原子、鉺原子、銩原子、鐿原子、鎦原子、鉿原子、鉭原子、鎢原子、錸原子、鋨原子、銥原子、鉑原子、金原子、汞原子、鉈原子、鉛原子、鉍原子、釙原子、砈原子、氡原子、鍅原子、鐒原子、鑪原子、𨧀原子、𨨏原子、𨭆原子、𨨫原子、𨭉原子、𨨈原子、𨨜原子、鐽原子、𬬭原子、𬭳原子、𬭛原子、鈹原子、鎂原子、鈣原子、鍶原子、鋇原子、鐳原子。

【0645】 在一些實施例中，金屬原子可為原子序大於二十之鹼土金屬。

【0646】 在一些實施例中，金屬原子可為鑭系元素。

【0647】 在一些實施例中，金屬原子可為錒系元素。

【0648】 在一些實施例中，金屬原子可為過渡金屬。

【0649】 在一些實施例中，金屬原子可為貧金屬(poor metal)。

【0650】 在一些實施例中，金屬原子可為金原子、鉍原子、鉭原子、及釷原子。

【0651】 在一些實施例中，金屬原子可為原子序為53（即，碘）至83（即，鉍）之金屬。

【0652】 在一些實施例中，金屬原子可為適用於磁共振成像之原子。

【0653】 金屬原子可為呈+1、+2、或+3氧化態形式之金屬離子，諸如Ba^{2+}、Bi^{3+}、Cs^{+}、Ca^{2+}、Cr^{2+}、Cr^{3+}、Cr^{6+}、Co^{2+}、Co^{3+}、Cu^{+}、Cu^{2+}、Cu^{3+}、Ga^{3+}、Gd^{3+}、Au^{+}、Au^{3+}、Fe^{2+}、Fe^{3+}、F^{3+}、Pb^{2+}、Mn^{2+}、Mn^{3+}、Mn^{4+}、Mn^{7+}、Hg^{2+}、Ni^{2+}、Ni^{3+}、Ag^{+}、Sr^{2+}、Sn^{2+}、Sn^{4+}、及Zn^{2+}。金屬原子可包含金屬氧化物，諸如氧化鐵、氧化錳、或氧化釓。

【0654】 合適染料包括任何市售可得之染料，諸如例如5(6)-羧基螢光素、IRDye 680RD順丁烯二醯亞胺或IRDye 800CW、釕聚吡啶基染料、及類似者。

【0655】 合適螢光團為螢光異硫氰酸鹽(FITC)、螢光素胺基硫脲(fluorescein thiosemicarbazide)、玫瑰紅(rhodamine)、德克薩斯紅(Texas Red)、CyDye（例如，Cy3、Cy5、Cy5.5）、Alexa Fluor（例如，Alexa488、Alexa555、Alexa594；Alexa647）、近紅外(NIR)（700至900 nm）螢光染料、及羰花青(carbocyanine)及胺基苯乙烯基染料。

【0656】 接合至可偵測標示的結合DLL3之抗原結合區可用作為顯像劑。

【0657】 包含接合至可偵測標示的結合DLL3之抗原結合區的蛋白質可用作為顯像劑。

【0658】 包含接合至可偵測標示的結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體可用作為顯像劑。

【0659】 在一些實施例中，細胞毒性劑為化學治療劑、藥物、生長抑制劑、毒素（例如細菌、真菌、植物、或動物來源之酶促活性毒素或其片段）、或放射性同位素（即放射偶聯物）。

【0660】　在一些實施例中，細胞毒性劑為道諾黴素(daunomycin)、多柔比星(doxorubicin)、胺甲喋呤(methotrexate)、長春地辛(vindesine)、細菌毒素諸如白喉毒素、蓖麻毒素、格爾德黴素(geldanamycin)、類美登素(maytansinoid)、或卡奇黴素(calicheamicin)。細胞毒性劑可藉由包括微管蛋白結合、DNA結合、或拓撲異構酶抑制之機制來誘發其細胞毒性效應及細胞生長抑制效應。

【0661】　在一些實施例中，細胞毒性劑為酶促活性毒素，諸如白喉A鏈、白喉毒素之非結合活性片段、外毒素A鏈（來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)）、蓖麻毒素A鏈、雞母珠毒蛋白A鏈、莫迪素(modeccin) A鏈、α-帚曲霉素(alpha-sarcin)、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹(dianthin)蛋白、美洲商陸(*Phytolacca americana*)蛋白（PAPI、PAPII、及PAP-S）、苦瓜(*momordica charantia*)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒素(crotin)、肥皂草(*sapaonaria officinalis*)抑制劑、多花白樹毒蛋白(gelonin)、絲林黴素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)、及新月毒素(tricothecene)。

【0662】　在一些實施例中，細胞毒性劑為放射性核種，諸如^{212}Bi、^{131}I、^{131}In、^{90}Y、及^{186}Re。

【0663】　在一些實施例中，細胞毒性劑為尾海兔素(dolastatin)或尾海兔素肽類似物及衍生物、澳瑞他汀(auristatin)或單甲基澳瑞他汀苯丙胺酸。例示性分子係揭示於美國專利第5,635,483號及第5,780,588號中。已顯示尾海兔素及澳瑞他汀干擾微管動力學、GTP水解、以及核分裂及細胞分裂（Woyke等人(2001) Antimicrob Agents and Chemother. 45(12):3580-3584），且具有抗癌及抗

真菌活性。尾海兔素或澳瑞他汀藥物部分可透過肽藥物部份之N（胺基）端或C（羧基）端附接至本申請案之抗體(WO02/088172)，或經由任何半胱胺酸工程改造至抗體中。

【0664】　本揭露之DLL3結合蛋白質可使用已知方法接合至可偵測標示。

【0665】　在一些實施例中，可偵測標示與螯合劑錯合。

【0666】　在一些實施例中，可偵測標記係經由連接子接合至本揭露之DLL3結合蛋白質。

【0667】　可使用已知方法將可偵測標示或細胞毒性部份直接或間接地連接至本揭露之DLL3結合蛋白質。合適連接子為所屬技術領域中已知的，且包括例如輔基、非酚連接子（N-琥珀醯亞胺基苯甲酸酯；十二硼酸酯之衍生物）、大環及非環狀螯合劑兩者之螯合部分，諸如1,4,7,10-四氮雜環十二烷-1,4,7,10,四乙酸(DOTA)之衍生物、二乙烯三胺五乙酸(DTPA)之衍生物、S-2-(4-異硫氰基苄基)-1,4,7-三氮雜環壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)之衍生物、及1,4,8,11-四氮雜環十二烷-1,4,8,11-四乙酸(TETA)之衍生物、N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯(SPDP)、亞胺基硫烷鹽(IT)、亞胺酯之雙官能衍生物（諸如己二亞胺二甲酯鹽酸鹽(dimethyl adipimidate HCl)）、活性酯（諸如雙琥珀醯亞胺辛二酸酯）、醛（諸如戊二醛）、雙疊氮化合物（諸如雙(對疊氮苯甲醯基)己二胺）、雙重氮衍生物（諸如雙(對重氮苯甲醯基)乙二胺）、二異氰酸酯（諸如甲苯2,6-二異氰酸酯）、及雙活性氟化合物（諸如1,5-二氟-2,4-二硝基苯）、及其他螯合部分。合適肽連接子為熟知的。

【0668】　在一些實施例中，本揭露之DLL3結合蛋白係經由腎清除而自血液中移除。

套組

【0669】　本申請案亦提供一種套組，其包含結合DLL3之抗原結合區。

【0670】　本申請案亦提供一種包含蛋白質之套組，該蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區。

【0671】　本申請案亦提供一種包含多特異性抗原結合構築體之套組，該多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之抗原結合區。

【0672】　套組可用於治療用途及用作為診斷套組。

【0673】　套組可用以偵測樣本中DLL3之存在。

【0674】　在一些實施例中，套組包含本揭露之DLL3結合蛋白質及用於偵測DLL3結合蛋白質之試劑。套組可包括一或多個其他元件，包括：使用說明；其他試劑，例如標示、治療劑、或用於將抗體與標示或治療劑或放射防護組合物螯合（或以其他方式偶合）的試劑；用於製備投予用抗體的裝置或其他材料；醫藥上可接受之載劑；及用於投予至對象的裝置或其他材料。

【0675】　在一些實施例中，套組包含在容器中的結合DLL3之抗原結合區及套組的使用說明書。

【0676】　在一些實施例中，套組包含在容器中的蛋白質及套組的使用說明書，該蛋白質包含結合DLL3之抗原結合區。

【0677】　在一些實施例中，套組包含在容器中的多特異性抗原結合構築體及套組的使用說明書，該多特異性抗原結合構築體包含結合DLL3之抗原結合區。

【0678】　在一些實施例中，套組中結合DLL3之抗原結合區經標示。

【0679】　在一些實施例中，套組中包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質經標示。

【0680】　在一些實施例中，套組中包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體經標示。

偵測DLL3之方法

【0681】　本申請案亦提供一種偵測樣本中之DLL3的方法，其包含獲得該樣本、使該樣本與本揭露之結合DLL3之抗原結合區接觸、及偵測該樣本中之結合的DLL3。

【0682】　在一些實施例中，樣本可衍生自尿液、血液、血清、血漿、唾液、腹水、循環細胞、滑液、循環細胞、非為組織相關聯之細胞（即游離細胞）、組織（例如手術切除之組織、活體組織切片（包括細針穿刺））、組織標本(histological preparation)、及類似者。

【0683】　本揭露之結合DLL3之抗原結合區可使用已知方法偵測。例示性方法包括使用螢光或化學發光標示或放射性標示直接標示抗體，或將本申請案之抗體附接至易於偵測的部份，諸如生物素、酶、或表位標籤。例示性標示及部分係釔、^{111}In-DOTA、^{111}In-二乙烯三胺五乙酸(DTPA)、辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶及β-半乳糖苷酶、多組胺酸（HIS標籤）、吖啶染料、花青染料、

螢光酮染料、噁吩(oxazin)染料、啡啶染料、玫瑰紅染料、及Alexafluor®染料。

【0684】 可將本揭露之結合DLL3之抗原結合區用於多種檢定中以偵測樣本中之DLL3。例示性檢定係西方墨點分析、放射免疫檢定、表面電漿共振、免疫沉澱法、平衡透析、免疫擴散法、電致化學發光(ECL)免疫檢定、免疫組織化學法、螢光活化細胞分選(FACS)或ELISA檢定。

多核苷酸、宿主細胞、及載體

【0685】 本揭露亦提供一種編碼本揭露之任何DLL3結合蛋白質的單離多核苷酸，其包括結合DLL3之抗原結合區、包含結合DLL3之抗原結合區的蛋白質、包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體。

【0686】 在一些實施例中，本申請案提供一種單離多核苷酸，其編碼本文所揭示之任何DLL3結合蛋白質或其片段。

【0687】 在某些實施例中，本申請案提供一種單離多核苷酸，其編碼SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、或13之VH。在某些實施例中，本申請案提供一種單離多核苷酸，其編碼SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、或14之VL。

【0688】 在某些實施例中，本申請案提供一種單離多核苷酸，其編碼

SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；

SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；

SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；

SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；

SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；或

SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

【0689】 本申請案亦提供一種單離多核苷酸，其編碼SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、63、64、65、66、67、68、69、71、77、78、80、84、85、105、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、229、190、191、192、193、194、195、196、230、或196之多肽。

【0690】 本申請案亦提供SEQ ID NO:86、87、89、93、94、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、202、233、234、235、236、237、238、239、256、260、261、262、264、265、266、267、268、269、或270之單離多核苷酸。

【0691】 在一具體實施例中，本揭露提供單離多核苷酸序列，其編碼SEQ ID NO:71、118、及117之多肽序列。

【0692】 在一具體實施例中，本揭露提供單離多核苷酸序列，其編碼SEQ ID NO:229、230、及117之多肽序列。

【0693】 在一具體實施例中，本揭露提供單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:266之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一，與SEQ ID NO:235之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一，且與SEQ ID NO:236之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0694】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:266之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0695】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:235之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0696】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:236之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0697】 在一具體實施例中，本揭露提供單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:239之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一，與SEQ ID NO:237之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一，且與SEQ ID NO:238之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0698】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:237之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0699】 在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:238之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0700】　在一具體實施例中，本揭露提供一種單離多核苷酸序列，其與SEQ ID NO:239之多核苷酸至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一。

【0701】　在一具體實施例中，本揭露提供單離多核苷酸序列，其編碼SEQ ID NO:64、84、及85之多肽序列。本揭露之一些實施例亦提供一種單離或純化之核酸，其包含與編碼本揭露之DLL3結合蛋白質的多核苷酸互補之多核苷酸，或在嚴格條件下與編碼本揭露之DLL3結合蛋白質的多核苷酸雜交之多核苷酸。

【0702】　在嚴格條件下雜交之多核苷酸可在高嚴格度條件下雜交。所謂「高嚴格度條件(high stringency condition)」意指多核苷酸與目標序列（本文中所述之任何核酸的核苷酸序列）以可偵測地比非特異性雜交更強之量特異性雜交。高嚴格度條件包括能自恰巧具有少數小區域（例如3至12個鹼基）匹配核苷酸序列之隨機序列中區別出具有精確互補序列之多核苷酸、或僅含有少數零散不匹配之多核苷酸的條件。此類小區域互補性比14至17個或更多個鹼基之全長互補體更容易解鏈(melted)，且高嚴格度雜交使其可容易地區別出來。相對高嚴格度條件將包括例如低鹽及/或高溫條件，諸如藉由約0.02至0.1 M NaCl或等效物提供，在約50至70℃之溫度下。此類高嚴格度條件幾乎不容忍核苷酸序列與模板或目標股之間的不匹配（若有的話）。一般認為，藉由添加增加量的甲醯胺可使條件變得更嚴格。

【0703】　本揭露之多核苷酸序列可經可操作地連接至一或多個調控元件（諸如啟動子及增強子），以容許該核苷酸序列在所意欲宿主細胞中之表現。多核苷酸可為cDNA。啟動子可為強、弱、組織特異性、誘導性、或發育特異

性啟動子。可使用的例示性啟動子係次黃嘌呤磷酸核糖基轉移酶(HPRT)、腺苷去胺酶、丙酮酸激酶、β-肌動蛋白、人類肌球蛋白、人類血紅素、人類肌肉肌酸、及其他。此外，許多病毒啟動子在真核細胞中組成性地發揮作用，並且適合搭配所述實施例使用。此等病毒啟動子包括巨細胞病毒(CMV)立即早期啟動子、SV40之早期及晚期啟動子、小鼠乳房腫瘤病毒(MMTV)啟動子、莫洛尼白血病病毒(Maloney leukemia virus)之長末端重複(LTR)、人類免疫不全病毒(HIV)、艾巴二氏病毒(EBV)、勞斯肉瘤病毒(RSV)、及其他反轉錄病毒、和單純皰疹病毒(Herpes Simplex Virus)之胸苷激酶啟動子。亦可使用誘導性啟動子諸如金屬硫蛋白啟動子、四環素誘導性啟動子、多西環素誘導性啟動子、含有一或多個干擾素刺激反應元件(ISRE)（諸如蛋白激酶R、2',5'-寡腺苷酸合成酶、Mx基因、ADAR1、及類似者）之啟動子。

【0704】　本申請案亦提供一種載體，其包含本申請案之多核苷酸。本揭露亦提供一種表現載體，其包含本申請案之多核苷酸。此類載體可係質體載體、病毒載體、用於桿狀病毒表現之載體、基於轉位子(transposon)之載體、或者任何其他適用於以任何手段將本申請案之合成多核苷酸引入至一給定生物或遺傳背景中的載體。編碼本揭露之DLL3結合蛋白質的多核苷酸可與（多個）表現載體中之控制序列可操作地連接，以確保DLL3結合蛋白質的表現。此類調節元件可包括轉錄啟動子、編碼合適mRNA核糖體結合部位之序列、及控制轉錄及轉譯之終止的序列。表現載體亦可包括一或多種非轉錄元件，諸如複製起源、連接至待表現基因之合適啟動子及增強子、其他5'或3'側翼(flanking)非轉錄序列、5'或3'非轉譯序列（諸如必要的核糖體結合位）、多腺核苷酸化位

點、剪切供體及受體位點、或轉錄終止序列。亦可併入賦予在宿主中複製之能力的複製起源。

【0705】 表現載體可包含天然存在或非天然存在的核苷間鍵聯、或兩種類型的鍵聯。非天然存在或經改變之核苷酸或核苷間鍵聯不會阻礙載體之轉錄或複製。

【0706】 一旦已將載體併入適當的宿主中，即將宿主維持在適用於高度表現由所併入之多核苷酸編碼的本揭露之DLL3結合蛋白質的條件下。在用於轉化脊椎動物細胞之表現載體中的轉錄及轉譯控制序列可由病毒來源提供。例示性載體可如以下文獻所述建構：Okayama and Berg, 3 *Mol. Cell. Biol*. 280 (1983)。

【0707】 本揭露之載體亦可含有一或多個內部核糖體進入位點(IRES)。將IRES序列納入融合載體中可有利於增強一些蛋白質之表現。在一些實施例中，載體系統將包括一或多個多腺核苷酸化位點（例如SV40），其可在任何前述核酸序列之上游或下游。載體組分可相鄰地連接，或者以提供用於表現基因產物之最佳間隔的方式來排列（即藉由在ORF之間引入「間隔子(spacer)」核苷酸），或者以其他方式放置。調節元件（諸如IRES模體）亦可經排列以提供用於表現之最佳間隔。

【0708】 本揭露之載體可係環狀或線形的。可將其等製備為在原核或真核宿主細胞中含有複製系統功能。複製系統可衍生自例如ColE1、SV40、2 μ質體、λ、牛乳頭狀瘤病毒、及類似者。

【0709】　重組表現載體可經設計以用於暫時表現、或用於穩定表現、或用於兩者。同樣，重組表現載體可經製造以用於持續性表現(constitutive expression)或誘導性表現(inducible expression)。

【0710】　此外，重組表現載體可製造為包括自殺基因。如本文中所使用，用語「自殺基因(suicide gene)」係指造成表現自殺基因之細胞死亡的基因。自殺基因可係賦予表現該基因之細胞對藥劑（例如藥物）之敏感性、且當該細胞與該藥劑接觸或暴露於該藥劑時造成該細胞死亡之基因。自殺基因在所屬技術領域係已知的，並包括例如單純疱疹病毒(Herpes Simplex Virus, HSV)胸苷激酶(TK)基因、胞嘧啶去胺酶、嘌呤核苷磷酸化酶、及硝基還原酶。

【0711】　載體亦可包含選擇標記，其在所屬技術領域中係熟知的。選擇標記包括正向及負向選擇標記。標記基因包括殺生物劑抗性（例如對抗生素、重金屬等具有抗性）、在營養缺陷型宿主(auxotrophic host)有互補作用以提供原養型(prototrophy)、及類似者。例示性標記基因包括抗生素抗性基因（例如新黴素抗性基因、潮黴素抗性基因、康黴素(kanamycin)抗性基因、四環素抗性基因、青黴素抗性基因、組胺醇抗性基因、組胺醇x抗性基因）、麩醯胺酸合成酶基因、HSV-TK、用於更昔洛威(ganciclovir)選擇之HSV-TK衍生物、或用於6-甲基嘌呤選擇之細菌嘌呤核苷磷酸化酶基因(Gadi et al., 7 *Gene Ther.* 1738-1743 (2000))。編碼選擇標記或選殖位點之核酸序列可在編碼所關注多肽或選殖位點之核酸序列的上游或下游。

【0712】　可使用的例示性載體係細菌的：pBs、phagescript、PsiX174、pBluescript SK、pBs KS、pNH8a、pNH16a、pNH18a、pNH46a (Stratagene, La Jolla, Calif., USA)；pTrc99A、pKK223-3、pKK233-3、pDR540、及pRIT5

(Pharmacia, Uppsala, Sweden)。真核的：pWLneo、pSV2cat、pOG44、PXR1、pSG (Stratagene) pSVK3、pBPV、pMSG及pSVL (Pharmacia)、pEE6.4 (Lonza)及pEE12.4 (Lonza)。額外載體包括pUC系列(Fermentas Life Sciences, Glen Burnie, Md.)、pBluescript系列(Stratagene, LaJolla, Calif.)、pET系列(Novagen, Madison, Wis.)、pGEX系列(Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)、及pEX系列(Clontech, Palo Alto, Calif.)。可使用噬菌體載體，諸如λGT10、λGT11、λEMBL4、及λNM1149、λZapII (Stratagene)。例示性植物表現載體包括pBI01、pBI01.2、pBI121、pBI101.3、及pBIN19 (Clontech)。例示性動物表現載體包括pEUK-Cl、pMAM、及pMAMneo (Clontech)。表現載體可係病毒載體，例如反轉錄病毒載體，例如γ反轉錄病毒載體。

【0713】　在一些實施例中，載體包含多核苷酸，其編碼SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、或13之VH。在某些實施例中，載體包含多核苷酸，其編碼SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、或14之VL。

【0714】　在一些實施例中，載體包含多核苷酸，其編碼SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之多肽。

【0715】　本申請案亦提供一種宿主細胞，其包含本申請案之一或多個載體。「宿主細胞(host cell)」係指經引入載體的細胞。應瞭解到，用語宿主細胞不只意欲指特定對象細胞，亦意欲指此細胞之後裔，並且亦意欲指從該特定對象細胞產生之穩定細胞株。由於某些修飾可能會因為突變或環境影響而發生於後代中，使得後裔可能與親本細胞不同，但仍包括於如本文中所使用之用語「宿主細胞」的範疇內。此類宿主細胞可為真核細胞、原核細胞、植物細胞或古菌(archeal)細胞。大腸桿菌(*Escherichia coli*)、桿菌（諸如枯草桿菌(*Bacillus*

subtilis)、及其他腸桿菌(enterobacteriaceae)（諸如沙門桿菌(Salmonella)、鋸桿菌(Serratia)））、及各式假單胞菌(Pseudomonas)菌種皆為原核宿主細胞之實例。其他微生物（諸如酵母菌）對於表現亦為有用者。釀母菌屬(Saccharomyces)（例如釀酒酵母菌(S. cerevisiae)）及畢赤酵母菌屬(Pichia)皆為合適酵母菌宿主細胞之實例。例示性真核細胞可係哺乳動物、昆蟲、鳥類、或其他動物來源。哺乳動物真核細胞包括永生化細胞系(immortalized cell line)如融合瘤或骨髓瘤細胞系，諸如SP2/0 (American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, CRL-1581)、NS0 (European Collection of Cell Cultures (ECACC), Salisbury, Wiltshire, UK, ECACC No. 85110503)、FO (ATCC CRL-1646)及Ag653 (ATCC CRL-1580)鼠類細胞系。例示性人類骨髓瘤細胞系為U266 (ATTC CRL-TIB-196)。其他有用之細胞系包括衍生自中國倉鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO)細胞者，諸如CHO-K1SV (Lonza Biologics, Walkersville, MD)、CHO-K1 (ATCC CRL-61)或DG44。

【0716】　在另一態樣中，本申請案關於一種宿主細胞，其經本文所揭示之載體轉化。在一實施例中，宿主細胞係原核細胞，例如大腸桿菌。在另一實施例中，宿主細胞係真核細胞，例如原生生物細胞、動物細胞、植物細胞、或真菌細胞。在一實施例中，宿主細胞係哺乳動物細胞，包括但不限於CHO、COS、NS0、SP2、PER.C6、或真菌細胞（諸如釀酒酵母菌）、或昆蟲細胞（諸如Sf9）。

【0717】　本申請案之蛋白質、抗體或其抗原結合片段、接合物、多特異性抗體/構築體、或融合構築體可鑑於本揭露而藉由任何所屬技術領域中已知之數種技術生產。例如，其可表現自重組宿主細胞，其中藉由標準技術將編碼融

合構築體或多特異性抗體/構築體之重鏈及輕鏈的（多個）表現載體轉染至宿主細胞中。宿主細胞可係原核或真核宿主細胞。

【0718】 在一例示性系統中，藉由轉染或電穿孔將編碼本申請案之融合構築體的異二聚體兩個重鏈及輕鏈之一或多個重組表現載體引入宿主細胞中。培養所選之轉化體(transformant)宿主細胞，以允許重鏈及輕鏈在足以生產融合構築體之條件下表現，並自培養基中回收融合構築體。使用標準分子生物學技術製備重組表現載體，轉染宿主細胞，選擇轉化體，培養宿主細胞，並自培養基中回收蛋白質構築體。

【0719】 本揭露亦提供一種生產本揭露之DLL3結合蛋白質的方法，其包含在使DLL3結合蛋白質表現之條件下培養本揭露之宿主細胞、及回收由宿主細胞生產之DLL3結合蛋白質。製造蛋白質及純化其之方法為已知的。一旦（以化學或重組方式）經合成，DLL3結合蛋白質可根據標準程序來純化，包括硫酸銨沉澱、親和管柱、管柱層析、高效液相層析(HPLC)純化、凝膠電泳、及類似者（大致上請參見Scopes, Protein Purification (Springer- Verlag, N.Y., (1982)）。主題蛋白質可為實質上純，例如至少約80%至85%純、至少約85%至90%純、至少約90%至95%純、或至少約98%至99%純、或更純，例如除主題蛋白質外不含汙染物（諸如細胞碎屑、巨分子等）。

【0720】 可使用標準分子生物方法將編碼本揭露之DLL3結合蛋白質的多核苷酸併入到載體中。宿主細胞轉化、培養、抗體表現、及純化係使用熟知方法進行。

【0721】 經修飾核苷酸可用來產生本揭露之多核苷酸。例示性經修飾核苷酸係5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黃嘌呤、黃嘌

吟、4-乙醯基胞嘧啶、5-(羧基羥基甲基)尿嘧啶、羧基甲基胺基甲基-2-硫尿苷、5-羧基甲基胺基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、N^6-取代腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲基胺基甲基尿嘧啶、5-甲氧基胺基甲基-2-硫尿嘧碇、β-D-甘露糖基Q核苷、5〃-甲氧基羧基甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲基硫-N^6-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氧化乙酸(v)、懷丁氧苷(wybutoxosine)、偽尿嘧啶、Q核苷、β-D-半乳糖基Q核苷、肌苷(inosine)、N^6-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、2-硫胞嘧啶、5-甲基-2-硫尿嘧啶、2-硫尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氧化乙酸甲基酯、3-(3-胺基-3-N-2-羧基丙基)尿嘧啶、及2,6-二胺基嘌呤。

醫藥組成物/投予

【0722】　本揭露亦提供一種醫藥組成物，其包含本揭露之DLL3結合蛋白質及醫藥上可接受之載劑。

【0723】　本揭露亦提供一種醫藥組成物，其包含本揭露之結合DLL3之抗原結合區及醫藥上可接受之載劑。

【0724】　本揭露亦提供一種醫藥組成物，其包含含有本揭露之結合DLL3之抗原結合區的蛋白質及醫藥上可接受之載劑。

【0725】　本揭露亦提供一種醫藥組成物，其包含含有本揭露之結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體及醫藥上可接受之載劑。

【0726】　關於治療用途，可將本揭露之DLL3結合蛋白質製備為醫藥組成物，其在醫藥上可接受的載劑中含有有效量的抗體作為活性成分。「載劑

(carrier)」係指與本申請案之抗體一起投予的稀釋劑、佐劑、賦形劑、或媒劑。此等媒劑可為液體如水及油，包括來自石油、動物、蔬菜或合成來源者，諸如花生油、大豆油、礦物油、芝麻油及類似者。舉例而言，可使用0.4%鹽水及0.3%甘胺酸。這些溶液係無菌且通常不含顆粒物質。彼等可藉由習用、習知的滅菌技術（如過濾）來滅菌。該等組成物可含有如用以接近生理條件所需之醫藥上可接受的輔助物質，諸如pH調整及緩衝劑、穩定、增稠、潤滑、及著色劑等。在此類醫藥配方中本申請案之抗體之濃度可能會有所不同，從小於約0.5重量%、常達至少約1重量%至多達15重量%或20重量%，且可主要基於所需劑量、流體體積、黏度等，根據所選擇之投予模式來選擇。合適的媒劑及配方（包含其他的人類蛋白質，例如人類血清白蛋白）例如係描述於例如

Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21st Edition, Troy, D.B. ed., Lipincott Williams and Wilkins, Philadelphia, PA 2006, Part 5, Pharmaceutical Manufacturing pp 691-1092中，請特別參見pp. 958-989。

【0727】　醫藥上可接受之載劑可包括緩衝劑、賦形劑、穩定劑、或防腐劑。醫藥上可接受之載劑的實例係生理上相容的溶劑、分散介質、覆膜(coating)、抗細菌劑及抗真菌劑、等滲劑及吸收延遲劑、及類似者，諸如鹽、緩衝劑、抗氧化劑、醣、水性或非水性載劑、防腐劑、潤濕劑、界面活性劑、或乳化劑、或其組合。醫藥組成物中醫藥上可接受之載劑的量可基於載劑之活性及配方之所欲特性（諸如穩定性及/或最小氧化）來實驗判定。

【0728】　醫藥組成物可包含緩衝劑，諸如乙酸、檸檬酸、甲酸、琥珀酸、磷酸、碳酸、蘋果酸、天冬胺酸、組胺酸、硼酸、Tris緩衝劑、HEPPSO、HEPES、中性緩衝鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、及類似者；碳水化合

物，諸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖、或葡聚糖、甘露醇；蛋白質；多肽或胺基酸，諸如甘胺酸；抗氧化劑；螯合劑，諸如EDTA或麩胱甘肽；佐劑（例如，氫氧化鋁）；抗細菌劑及抗真菌劑；及防腐劑。

【0729】　本揭露之醫藥組成物可經調配以用於經腸或非腸外投予之各種手段。在一個實施例中，組成物可經調配以用於輸注或靜脈內投予。本文中所揭示之醫藥組成物可例如以無菌液體製劑提供，例如等滲水溶液、乳化液、懸浮液、分散夜、黏性組成物，其可經緩衝至所欲的pH。適合用於口服投予之配方可包括液體溶液、膠囊、囊劑(sachet)、錠劑、口含錠(lozenge)、及口含錠(troche)、於適當液體中之粉末液體懸浮液、及乳化液。

【0730】　如本文中關於醫藥組成物所使用，用語「醫藥上可接受(pharmaceutically acceptable)」意指經美國聯邦或州政府的管理機關批准，或列在美國藥典(U.S. Pharmacopeia)或其他公認的藥典中以用於動物及/或人類。

治療方法及用途

【0731】　本揭露亦提供一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向有需要之對象投予治療有效量的本揭露之結合DLL3之抗原結合區達一段足以治療DLL3表現性癌症的時間。

【0732】　本揭露亦提供一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的蛋白質達一段足以治療DLL3表現性癌症的時間。

【0733】　本揭露亦提供一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的多特異性抗原結合構築體達一段足以治療DLL3表現性癌症的時間。

【0734】　本揭露亦提供一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的免疫接合物達一段足以治療DLL3表現性癌症的時間。

【0735】　本揭露亦提供一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的醫藥組成物達一段足以治療DLL3表現性癌症的時間。

【0736】　在一個態樣中，本揭露大致上係關於治療有發展癌症之風險的對象。本申請案亦包括治療化學療法及/或免疫療法導致對象之顯著免疫抑制從而增加對象發展癌症之風險的惡性疾病或自體免疫疾病。

【0737】　本揭露亦提供一種治療有發展癌性病況之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向對象投予本揭露的結合DLL3之抗原結合區，以治療非癌性病況。

【0738】　本揭露亦提供一種治療有發展癌性病況之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向對象投予包含本揭露的結合DLL3之抗原結合區的蛋白質，以治療非癌性病況。

【0739】　本揭露亦提供一種治療有發展癌性病況之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向對象投予包含本揭露的結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體，以治療非癌性病況。

【0740】 本揭露亦提供一種治療有發展癌性病況之風險的對象中之非癌性病況的方法，其包含向對象投予本揭露之免疫接合物，以治療非癌性病況。

【0741】 本揭露亦提供一種治療有發展癌性病況之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向對象投予本揭露之醫藥組成物，以治療非癌性病況。

【0742】 在一些實施例中，有發展癌性病況之風險的對象患有前列腺肥大。

【0743】 在一些實施例中，有發展癌性病況之風險的對象患有良性前列腺增生(BPH)。

【0744】 在一些實施例中，有發展癌性病況之風險的對象未診斷出前列腺癌下具有高PSA水準。

【0745】 本揭露亦提供一種預防對象中DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的本揭露之結合DLL3之抗原結合域達一段足以預防DLL3表現性癌症的時間。

【0746】 本揭露亦提供一種預防對象中DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的蛋白質達一段足以預防DLL3表現性癌症的時間。

【0747】 本揭露亦提供一種預防對象中DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的多特異性抗原結合構築體達一段足以預防DLL3表現性癌症的時間。

【0748】 本揭露亦提供一種預防對象中DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的免疫接合物達一段足以預防DLL3表現性癌症的時間。

【0749】　本揭露亦提供一種預防對象中DLL3表現性癌症的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的醫藥組成物達一段足以預防DLL3表現性癌症的時間。

【0750】　本揭露亦提供一種減少對象中DLL3表現性腫瘤細胞的量之方法，其包含向對象投予本揭露之結合DLL3之抗原結合域達一段足以減少DLL3表現性腫瘤細胞的量之時間。

【0751】　本揭露亦提供一種減少對象中DLL3表現性腫瘤細胞的量之方法，其包含向對象投予包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的蛋白質達一段足以減少DLL3表現性腫瘤細胞的量之時間。

【0752】　本揭露亦提供一種減少對象中DLL3表現性腫瘤細胞的量之方法，其包含向對象投予包含本揭露之結合DLL3之抗原結合域的多特異性抗原結合構築體達一段足以減少DLL3表現性腫瘤細胞的量之時間。

【0753】　本揭露亦提供一種減少對象中DLL3表現性腫瘤細胞的量之方法，其包含向對象投予本揭露之免疫接合物達一段足以減少DLL3表現性腫瘤細胞的量之時間。

【0754】　本揭露亦提供一種減少對象中DLL3表現性腫瘤細胞的量之方法，其包含向對象投予本揭露之醫藥組成物達一段足以減少DLL3表現性腫瘤細胞的量之時間。

【0755】　在一些實施例中，DLL3表現性癌症係前列腺癌。

【0756】　在一些實施例中，DLL3表現性癌症係神經內分泌前列腺癌。

【0757】　在一些實施例中，DLL3表現性癌症係前列腺衍生癌症。

【0758】　在一些實施例中，DLL3表現性癌症已轉移至骨頭。

【0759】　在一些實施例中，DLL3表現性癌症係肺癌。

【0760】　在一些實施例中，DLL3表現性癌症係小細胞肺癌。

【0761】　在一些實施例中，前列腺癌係復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌、或其任何組合。

【0762】　在一些實施例中，肺癌係復發性、難治性、或惡性肺癌、或其任何組合。

【0763】　在一些實施例中，神經內分泌前列腺癌係復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌、或其任何組合。

【0764】　在一些實施例中，小細胞肺癌係復發性、難治性、或惡性肺癌、或其任何組合。

【0765】　本揭露亦提供一種治療對象之前列腺癌的方法，其包含向對象投予治療有效量的根據本申請案之實施例之包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體達一段足以治療前列腺癌的時間。

【0766】　本揭露亦提供根據本申請案之實施例之多特異性抗體在製造用於治療對象之前列腺癌之藥劑中的用途。

【0767】　本揭露亦提供一種治療對象之前列腺癌的方法，其包含向對象投予治療有效量的根據本申請案之實施例之多特異性抗原結合構築體達一段足以治療前列腺癌的時間。在一些實施例中，治療對象之前列腺癌的方法包含投予治療有效量的包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體，該抗原結合區包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0768】　本揭露亦提供根據本申請案之實施例之多特異性抗體在製造用於治療對象之前列腺癌之藥劑中的用途。在一些實施例中，使用包含結合

DLL3之抗原結合區的多特異性抗體，其包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0769】　本揭露亦提供一種治療對象之小細胞肺癌的方法，其包含向對象投予治療有效量的根據本申請案之實施例之多特異性抗原結合構築體達一段足以治療小細胞肺癌的時間。

【0770】　本揭露亦提供根據本申請案之實施例之多特異性抗體在製造用於治療對象之小細胞肺癌之藥劑中的用途。

【0771】　本揭露亦提供一種治療對象之小細胞肺癌的方法，其包含向對象投予治療有效量的包含結合DLL3之抗原結合區的多特異性抗原結合構築體達一段足以治療小細胞肺癌之時間，其中結合DLL3之抗原結合區包含SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列。

【0772】　本揭露亦提供根據本申請案之實施例之多特異性抗體在製造用於治療對象之小細胞肺癌之藥劑中的用途。在一些實施例中，多特異性抗原結合構築體包含具有SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、或69之胺基酸序列的結合DLL3之抗原結合區。

組合療法

【0773】　本揭露之DLL3結合蛋白質可與至少一種額外治療劑組合投予。

【0774】　在一些實施例中，至少一種額外治療劑係手術、化療、雄性激素剝奪療法、或輻射、或其任何組合。

【0775】 在一些實施例中，一種療法之遞送在第二療法之遞送開始時仍存在，使得就投予而言存在重疊。在本文中此有時被稱為「同時(simultaneous)」或「並行遞送(concurrent delivery)」。在其他實施例中，一種療法之遞送在另一種療法之遞送開始之前結束。在任一情況之一些實施例中，療法因組合投予而更有效。舉例而言，第二療法更有效，例如用較少的第二療法見到等效效應，或第二療法減少症狀的程度大於若在不存在第一療法下投予第二療法所見到的程度，或用第一療法見到類似情況。在一些實施例中，遞送使得症狀或與病症相關之其他參數的減少大於在不存在另一療法下用一種療法遞送時所觀測到的減少。兩種療法之效應可係部分相加的、完全相加、的或大於相加的。遞送可使得當遞送第二療法時，仍可偵測到所遞送之第一療法之效應。

【0776】 提供下列實例以進一步描述一些本文所揭示之實施例。實例意欲說明而非限制所揭示之實施例。

經編號實施例

【0777】 本揭露亦提供下列經編號實施例：

1. 一種單離蛋白質，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中該抗原結合區結合至如SEQ ID NO:263中所示之人類DLL3之殘基429-618內的表位。
2. 如實施例1所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區與參考抗體競爭結合至DLL3，該參考抗體包含含有重鏈互補決定區(HCDR) HCDR1、HCDR2、及HCDR3之重鏈可變區(VH)以及含有輕鏈互補決定區(LCDR)

LCDR1、LCDR2、及LCDR3之輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3具有下列之胺基酸序列：

a. SEQ ID NO:1之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:2之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b. SEQ ID NO:3之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:4之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

c. SEQ ID NO:5之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:6之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

d. SEQ ID NO:7之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:8之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

e. SEQ ID NO:9之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:10之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

f. SEQ ID NO:11之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:12之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3；或

g. SEQ ID NO:13之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3及SEQ ID NO:14之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

3. 如實施例2所述之單離蛋白質，其中該參考抗體包含SEQ ID NO:3之VH的HCDR1、HCDR2、及HCDR3、及SEQ ID NO:4之VL的LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

4. 如實施例1至3中任一項所述之單離蛋白質，其包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：

a. 分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

b. 分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

c. 分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

d. 分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

e. 分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

f. 分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

g. 分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

h. 分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

i. 分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

j. 分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

k. 分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

l. 分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

m. 分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

5. 如實施例4所述之單離蛋白質，其包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

6. 如實施例1至5中任一項所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區係scFv、$(scFv)_2$、Fv、Fab、$F(ab')_2$、Fd、dAb、或VHH。

7. 如實施例6所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區係該Fab。

8. 如實施例6所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區係該VHH。

9. 如實施例6所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區係該scFv。

10. 如實施例9所述之單離蛋白質，其中該scFv自N至C端包含VH、第一連接子(L1)、及VL (VH-L1-VL)或該VL、該L1、及該VH (VL-L1-VH)。

11. 如實施例10所述之單離蛋白質，其中該L1包含：

    a. 約5至50個胺基酸；

    b. 約5至40個胺基酸；

    c. 約10至30個胺基酸；或

    d. 約10至20個胺基酸。

12. 如實施例11所述之單離蛋白質，其中該L1包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

13. 如實施例12所述之單離蛋白質，其中該L1包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

14. 如實施例1至13中任一項所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、或13之VH及SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、或14之VL。

15. 如實施例14所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含：

    a. SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；

    b. SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

    c. SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；

    d. SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；

    e. SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；

f. SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；或

g. SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

16. 如實施例14所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

17. 如實施例1至16中任一項所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含與SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列。

18. 如實施例1至17中任一項所述之單離蛋白質，其中該單離蛋白質係單特異性蛋白質。

19. 一種多特異性抗原結合構築體，其包含如實施例1至17中任一項所述之蛋白質。

20. 如實施例19所述之多特異性抗原結合構築體，其係雙特異性抗原結合構築體。

21. 如實施例19所述之多特異性抗原結合構築體，其係三特異性抗原結合構築體。

22. 如實施例20或21所述之多特異性抗原結合構築體，其進一步包含結合淋巴球上的抗原之第二抗原結合區。

23. 如實施例22所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球係T細胞。

24. 如實施例23所述之多特異性抗原結合構築體，其中該T細胞係$CD8^+$ T細胞。

25. 如實施例22所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球係自然殺手(NK)細胞。

26. 如實施例22所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球上的該抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。

27. 如實施例26所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區結合CD3ε。

28. 如實施例27所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含：

    a) SEQ ID NO:98之重鏈互補決定區HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之輕鏈互補決定區LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；或

    b) SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

29. 如實施例28所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3。

30. 如實施例28或29所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:85之VL至少

80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

31. 如實施例27所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區包含：

a) SEQ ID NO:95之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3；或

b) SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

32. 如實施例31所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

33. 如實施例31或32所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

34. 如實施例33所述之多特異性抗原結合構築體，其包含：結合DLL3之抗原結合域，該抗原結合域具有分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及結合CD3ε之第二抗原結合區，該第二抗原結合區具有分別為SEQ ID

NO:98、SEQ ID NO:99、SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107、及SEQ ID NO:108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

35. 如實施例34所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合DLL3之該抗原結合域包含SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL，且結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

36. 一種融合物或接合物，其包含融合或共價連接至如實施例1至8中任一項所述之單離蛋白質或如實施例19至35中任一項所述之多特異性抗原結合構築體的半衰期延長部份。

37. 如實施例36所述之融合物或接合物，其中該半衰期延長部份係免疫球蛋白(Ig)、該Ig之片段、Ig恆定區、該Ig恆定區之片段、Fc區、轉鐵蛋白、白蛋白、白蛋白結合域、或聚乙二醇。

38. 如實施例37所述之融合物或接合物，其中該Ig恆定區之該片段包含Fc區。

39. 如實施例36至38中任一項所述之融合物或接合物，其中結合DLL3之該抗原結合區係融合至該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段的N端。

40. 如實施例36至38中任一項所述之融合物或接合物，其中結合DLL3之該抗原結合區係融合至該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段的C端。

41. 如實施例36至38中任一項所述之融合物或接合物，其中結合DLL3之該抗原結合區係經由第二連接子(L2)融合至該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段。

42. 如實施例41所述之融合物或接合物，其中該L2包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

43. 如實施例37至42中任一項所述之融合物或接合物，其中該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段係IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4同型。

44. 如實施例43所述之融合物或接合物，其中該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段係IgG1同型。

45. 如實施例37至44中任一項所述之融合物或接合物，其中該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段包含導致該蛋白質與Fcγ受體(FcγR)之結合減少的至少一個突變。

46. 如實施例45所述之融合物或接合物，其中導致該蛋白質與該FcγR之結合減少的該至少一個突變係選自由下列所組成之群組：F234A/L235A、L234A/L235A、L234A/L235A/D265S、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、F234A/L235A、S228P/F234A/L235A、N297A、V234A/G237A、K214T/E233P/L234V/L235A/G236-缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、H268Q/V309L/A330S/P331S、S267E/L328F、L234F/L235E/D265A、L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、及S228P/F234A/L235A/G236-缺失/G237A/P238S，其中殘基編號係根據EU索引。

47. 如實施例46所述之融合物或接合物，其中導致該蛋白質與該FcγR之結合減少的該等突變係L234A_L235A_D265S。

48. 如實施例37至44中任一項所述之融合物或接合物，其在該Ig恆定區之CH3域中包含至少一個突變。

49. 如實施例48所述之融合物或接合物，其中在該Ig恆定區之該CH3域中的該至少一個突變係選自由下列所組成之群組：T350V、L351Y、F405A、Y407V、T366Y、T366W、F405W、T394W、T394S、Y407T、Y407A、T366S/L368A/Y407V、L351Y/F405A/Y407V、T366I/K392M/T394W、F405A/Y407V、T366L/K392M/T394W、L351Y/Y407A、T366A/K409F、L351Y/Y407A、T366V/K409F、T366A/K409F、T350V/L351Y/F405A/Y407V、及T350V/T366L/K392L/T394W，其中殘基編號係根據EU索引。

50. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

    a. 分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

    b. SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；

    c. SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

    d. SEQ ID NO:63之scFv；及/或

    e. SEQ ID NO:64之scFv。

51. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

a. 分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL。

52. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

a. 分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b. SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；及/或

c. SEQ ID NO:65之scFv。

53. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

a. 分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b. SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；及/或

c. SEQ ID NO:66之scFv。

54. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

a. 分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b. SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；及/或

c. SEQ ID NO:67之scFv。

55. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

    a. 分別為SEQ ID NO:27、28、29、44、45、46之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

    b. SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；及/或

    c. SEQ ID NO:68之scFv。

56. 一種單離蛋白質，其包含結合DLL3之抗原結合區，其中該抗原結合區包含：

    a. 分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

    b. SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL；及/或

    c. SEQ ID NO:69之scFv。

57. 一種多特異性抗原結合構築體，其包含如實施例50至56中任一項所述之單離蛋白質及結合CD3ε之第二抗原結合區。

58. 如實施例57所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含：

    a. SEQ ID NO:98之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；及/或

    b. SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

59. 如實施例57所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含：

    a. SEQ ID NO:95之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3；及/或

    b. SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

60. 一種單離雙特異性構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原之第二抗原結合區。

61. 如實施例60所述之單離雙特異性構築體，其中該淋巴球抗原係T細胞抗原。

62. 如實施例61所述之單離雙特異性構築體，其中該T細胞抗原係$CD8^+$ T細胞抗原。

63. 如實施例62所述之單離雙特異性構築體，其中該淋巴球抗原係NK細胞抗原。

64. 如實施例60至63中任一項所述之單離雙特異性構築體，其中該淋巴球抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。

65. 如實施例64所述之單離雙特異性構築體，其中該淋巴球抗原係CD3ε。

66. 如實施例60至65中任一項所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區及/或結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含scFv、$(scFv)_2$、Fv、Fab、$F(ab')_2$、Fd、dAb、或VHH。

67. 如實施例66所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區及/或結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含該Fab。

68. 如實施例66所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區及/或結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含該scFv。

69. 如實施例66所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區及/或結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含該VHH。

70. 如實施例64所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區及/或結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含該scFv。

71. 如實施例66所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含該scFv，且結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含該Fab。

72. 如實施例66所述之單離雙特異性構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含該Fab，且結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含該scFv。

73. 如實施例66至72中任一項所述之單離雙特異性構築體，其中該scFv自N至C端包含VH、第一連接子(L1)、及VL (VH-L1-VL)或該VL、該L1、及該VH (VL-L1-VH)。

74. 如實施例73所述之單離雙特異性構築體，其中該L1包含

    a. 約5至50個胺基酸；

    b. 約5至40個胺基酸；

    c. 約10至30個胺基酸；或

    d. 約10至20個胺基酸。

75. 如實施例74所述之單離雙特異性構築體，其中該L1包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

76. 如實施例75所述之單離雙特異性構築體，其中該L1包含SEQ ID NO:120之胺基酸序列。

77. 如實施例60至76中任一項所述之單離雙特異性構築體，其係單離抗DLL3/抗CD構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含SEQ ID NO:15、18、21、24、27、30、50、52、53、55、57、59、或61之HCDR1、SEQ ID NO:16、19、22、25、28、31、51、54、56、58、60、或62之HCDR2、SEQ ID NO:17、20、23、26、29、32、17、20、23、26、29、或32之HCDR3、SEQ ID NO:33、36、39、41、44、或47之LCDR1、SEQ ID NO:34、37、42、45、或48之LCDR2、及SEQ ID NO:35、38、40、43、46、或49之LCDR3。

78. 如77所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含下列之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3：

    a. 分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

    b. 分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

    c. 分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

    d. 分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

    e. 分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

f. 分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

g. 分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

h. 分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

i. 分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

j. 分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

k. 分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

l. 分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

m. 分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

79. 如78所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID No:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。

80. 如實施例77所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含

a. SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL；

b. SEQ ID NO:3之VH及SEQ ID NO:4之VL；

c. SEQ ID NO:5之VH及SEQ ID NO:6之VL；

d. SEQ ID NO:7之VH及SEQ ID NO:8之VL；

e. SEQ ID NO:9之VH及SEQ ID NO:10之VL；

f. SEQ ID NO:11之VH及SEQ ID NO:12之VL；或

g. SEQ ID NO:13之VH及SEQ ID NO:14之VL。

81. 如實施例80所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含具有SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列的scFv。

82. 如實施例80所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列。

83. 如實施例77至79中任一項所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

84. 如實施例60至83中任一項所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95或98之HCDR1、SEQ ID NO:96或99之HCDR2、SEQ ID NO:97或100之HCDR3、SEQ ID NO:101或106之LCDR1、SEQ ID NO:102或107之LCDR2、及SEQ ID NO:104或108之LCDR3。

85. 如實施例84所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

86. 如實施例84所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3。

87. 如實施例85所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

88. 如實施例87所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

89. 如實施例86所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH、及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

90. 如實施例89所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

91. 如實施例59至90中任一項所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中結合DLL3之該第一抗原結合區係接合至第一免疫球蛋白(Ig)恆定區或該第一Ig恆定區之片段，及/或結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區係接合至第二免疫球蛋白(Ig)恆定區或該第二Ig恆定區之片段。

92. 如實施例91所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其進一步包含在結合DLL3之該第一抗原結合區與該第一Ig恆定區或該第一Ig恆定區之該片段之間、及在結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區與該第二Ig恆定區或該第二Ig恆定區之該片段之間的第二連接子(L2)。

93. 如實施例92所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中該L2包含SEQ ID NO:27、72、73、74、75、76、79、81、82、83、88、90、91、92、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、或139之胺基酸序列。

94. 如實施例91至93中任一項所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中該Ig恆定區之該片段包含Fc區。

95. 如實施例94所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中該第一Ig恆定區或該第一Ig恆定區之該片段及該第二Ig恆定區或該第二Ig恆定區之該片段係IgG1、IgG2、及IgG3、或IgG4同型。

96. 如實施例95所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中該第一Ig恆定區或該第一Ig恆定區之該片段及該第二Ig恆定區或該第二Ig恆定區之該片段係IgG1。

97. 如實施例96所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中該第一Ig恆定區或該第一Ig恆定區之該片段及該第二Ig恆定區或該第二Ig恆定區之該片段包含導致該構築體與FcγR之結合減少的至少一個突變。

98. 如實施例97所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中導致該構築體與該FcγR之結合減少的該至少一個突變係選自由下列所組成之群組：F234A/L235A、L234A/L235A、L234A/L235A/D265S、V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、F234A/L235A、S228P/F234A/L235A、N297A、V234A/G237A、K214T/E233P/L234V/L235A/G236-缺失/A327G/P331A/D365E/L358M、H268Q/V309L/A330S/P331S、S267E/L328F、L234F/L235E/D265A、

L234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、S228P/F234A/L235A/G237A/P238S、及S228P/F234A/L235A/G236-缺失/G237A/P238S，其中殘基編號係根據EU索引。

99. 如實施例98所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中導致該構築體與該FcγR之結合減少的突變係L234A_L235A_D265S。

100. 如實施例91至96中任一項所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中該構築體在該Ig恆定區之CH3域中包含至少一個突變。

101. 如實施例100所述之單離抗DLL3/抗CD3構築體，其中在該Ig恆定區之該CH3域中的該至少一個突變係選自由下列所組成之群組：T350V、L351Y、F405A、Y407V、T366Y、T366W、F405W、T394W、T394S、Y407T、Y407A、T366S/L368A/Y407V、L351Y/F405A/Y407V、T366I/K392M/T394W、F405A/Y407V、T366L/K392M/T394W、L351Y/Y407A、T366A/K409F、L351Y/Y407A、T366V/K409F、T366A/K409F、T350V/L351Y/F405A/Y407V、及T350V/T366L/K392L/T394W，其中殘基編號係根據EU索引。

102. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二域包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含含有SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL的Fab，且結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:105之scFv；及/或

c. 該單離抗DLL3/抗CD3構築體包含SEQ ID NO:109之第一重鏈(HC1)、SEQ ID NO:110之輕鏈(LC1)、及SEQ ID NO:112之第二重鏈(HC2)。

103. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含含有SEQ ID NO:1之VH及SEQ ID NO:2之VL的Fab，且結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:119之scFv；及/或

c. 該單離抗DLL3/抗CD3構築體包含SEQ ID NO:109之HC1、SEQ ID NO:110之LC1、及SEQ ID NO:113之HC2。

104. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含SEQ ID NO:63之scFv，且結合CD3之該第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或

c. 該單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:111之HC1、SEQ ID NO:116之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

105. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合淋巴球抗原之第二抗原結合區，其中：

a. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:95、96、97、101、102、104之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之該第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL的Fab；及/或

c. 該單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:111之HC1、SEQ ID NO:114之HC2、及SEQ ID NO:115之LC2。

106. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a.結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b.結合DLL3之該第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合該淋巴球抗原之該第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或

c.該單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:71之HC1、SEQ ID NO:118之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

107. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a.結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之

HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b.結合DLL3之該第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv，且結合CD3之該第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或

c.該單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:71之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:118之HC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2。

108. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a.結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之

HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b.結合DLL3之該第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之該第二抗原結合區包含含有SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL的Fab；及/或

c.該單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含SEQ ID NO:229之HC1、SEQ ID NO:230之HC2、及SEQ ID NO:117之LC2。

109. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中：

a.結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；

b.結合DLL3之該第一抗原結合區包含與SEQ ID NO:64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv，且結合CD3之該第二抗原結合區包含含有與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH及與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL的Fab；及/或

c.該單離抗DLL3/抗CD3蛋白質包含與SEQ ID NO:229之HC1至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC1、與SEQ ID NO:230之HC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2、及與SEQ ID NO:117之LC2至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的HC2。

110. 一種單離抗DLL3/抗CD3構築體，其包含結合DLL3之第一抗原結合區及結合CD3之第二抗原結合區，其中

a. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3，且結合CD3之該第二抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:98、99、100、106、107、及108之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3；及/或

b. 結合DLL3之該第一抗原結合區包含SEQ ID NO:64之scFv，且結合CD3之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

111. 一種免疫接合物，其包含接合至治療劑或顯像劑的如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質。

112. 一種醫藥組成物，其包含如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質及醫藥上可接受之載劑。

113. 一種多核苷酸，其編碼如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體。

114. 一種多核苷酸

a. 其編碼如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體；及/或

b. 其包含SEQ ID NO:86、87、89、90、93、94、112、113、114、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、202、233、234、235、236、237、238、239、255、256、260、261、262、263、264、265、266、267、268、269、或270之多核苷酸序列。

115. 一種多核苷酸

a. 其編碼與如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的單離蛋白質；

b. 其編碼SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、63、64、65、66、67、68、69、71、77、78、80、84、85、105、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、229、190、191、192、193、194、195、196、230、或196之多肽；及/或

c. 其包含與SEQ ID NO:86、87、89、93、94、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、202、233、234、235、236、237、238、

239、256、260、261、262、264、265、266、267、268、269、或270之多核苷酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的多核苷酸序列。

116. 一種載體，其包含如實施例113至115中任一項所述之多核苷酸。

117. 一種宿主細胞，其包含如實施例116所述之載體。

118. 一種生產如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體的方法，其包含在使該蛋白質或該多特異性抗原結合構築體表現之條件下培養如實施例117所述之宿主細胞、及回收由該宿主細胞所生產之該蛋白質或該多特異性抗原結合構築體。

119. 一種免疫接合物，其包含接合至治療劑或顯像劑的如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體。

120. 一種醫藥組成物，其包含如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體或如實施例120所述之免疫接合物及醫藥上可接受之載劑。

121. 一種多核苷酸

a. 其編碼如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體；或

b. 其包含SEQ ID NO:86、87、89、93、94、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、202、233、234、235、236、237、238、239、256、260、261、262、264、265、266、267、268、269、或270之多核苷酸序列。

122. 一種多核苷酸

a.其編碼與如實施例項60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的單離雙特異性構築體；或

b.其包含與SEQ ID NO:86、87、89、93、94、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、202、233、234、235、236、237、238、239、256、260、261、262、264、265、266、267、268、269、或270之多核苷酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的多核苷酸序列。

123. 一種載體，其包含如實施例121或122所述之多核苷酸。

124. 一種宿主細胞，其包含如實施例123所述之載體。

125. 一種生產如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體的方法，其包含在使該雙特異性構築體表現之條件下培養如實施例124所述之宿主細胞、及回收由該宿主細胞所生產之該雙特異性構築體。

126. 一種治療對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向該對象投予治療有效量的如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體、如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性蛋白質、如實施例111或119所述之免疫接合物、或如實施例112或120所述之醫藥組成物達一段足以治療該DLL3表現性癌症的時間。

127. 一種減少對象之DLL3表現性腫瘤細胞之量的方法，其包含向該對象投予治療有效量的如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體、如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體、如實施例111或119所述之免疫接合物、或如實施例112或120所述之醫藥組成物達一段足以治療該DLL3表現性癌症的時間。

128. 一種預防對象之DLL3表現性癌症之建立的方法，其包含向該對象投予如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體、如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性蛋白質、如實施例111或119所述之免疫接合物、或如實施例112或120所述之醫藥組成物，以預防該對象之該DLL3表現性癌症之建立。

129. 一種治療有發展DLL3表現性癌症之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向該對象投予治療有效量的如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體、如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性蛋白質、如實施例111或119所述之免疫接合物、或如實施例111或119所述之醫藥組成物，以治療該非癌性病況。

130. 如實施例126至129中任一項所述之方法，其中該DLL3表現性癌症係選自由下列所組成之群組：肺癌、前列腺癌、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌。

131. 如實施例130所述之方法，其中該DLL3表現性癌症係小細胞肺癌。

132. 如實施例130所述之方法，其中該DLL3表現性癌症係神經內分泌前列腺癌。

133. 如實施例130所述之方法，其中該DLL3表現性癌症係復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌、或其任何組合。

134. 如實施例129所述之方法，其中該非癌性病況係前列腺肥大、良性前列腺增生(BPH)、或未診斷出前列腺癌下具有高前列腺特異性抗原(PSA)水準的病況。

135. 如實施例126至134中任一項所述之方法，其中該單離蛋白質或該單離多特異性抗原結合構築體係與第二治療劑組合投予。

136. 如實施例135所述之方法，其中該第二治療劑係手術、化療、雄性激素剝奪療法、或輻射、或其任何組合。

137. 一種偵測對象之神經內分泌前列腺癌或小細胞肺癌之存在的方法，其包含向懷疑患有前列腺癌或小細胞肺癌之對象投予如實施例111或119所述之免疫接合物、及視覺化該免疫接合物所結合之生物結構，藉以偵測前列腺癌或小細胞肺癌之存在。

138. 一種套組，其包含如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體、如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體、如實施例112或120所述之免疫接合物、或如實施例113或121所述之醫藥組成物。

139. 一種抗獨特型抗體，其結合至如實施例1至59中任一項所述之單離蛋白質或多特異性抗原結合構築體。

140. 如實施例60至110中任一項所述之單離雙特異性構築體，其係具有至少75%、至少80%、至少85%、及至少90%之細胞殺滅效應的抗DLL3/抗CD3構築體。

【0778】 本揭露進一步提供下列具體的經編號實施例：

1. 一種單離蛋白質，其包含結合類δ配體3 (DLL3)之抗原結合區，其中該抗原結合區包含分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3。
2. 如實施例1所述之單離蛋白質，其中結合DLL3之該抗原結合區包含與SEQ ID NO:3之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%、或100%）同一的VH。
3. 如實施例2所述之單離蛋白質，其中結合DLL3之該抗原結合區包含SEQ ID NO:3之VH。
4. 如實施例1至3中任一項所述之單離蛋白質，其中結合DLL3之該抗原結合區包含與SEQ ID NO:4之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。
5. 如實施例4所述之單離蛋白質，其中結合DLL3之該抗原結合區包含SEQ ID NO:4之VL。
6. 如實施例1至5中任一項所述之單離蛋白質，其中結合DLL3之該抗原結合區係scFv。
7. 如實施例1至6中任一項所述之單離蛋白質，其中結合DLL3之該抗原結合區包含與SEQ ID NO:63或64之scFv至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的scFv。
8. 如實施例1至7中任一項所述之單離蛋白質，其中該蛋白質係接合至半衰期延長部份，其中該半衰期延長部份係免疫球蛋白(Ig)、該Ig之片段、Ig恆定區、或該Ig恆定區之片段。

9. 如實施例8之單離蛋白質，其中該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段包含導致該蛋白質與Fcγ受體(FcγR)之結合減少的至少一個突變，可任選地其中導致該蛋白質與該FcγR之結合減少的該等突變係L234A_L235A_D265S。

10. 如實施例1至9中任一項所述之單離蛋白質，其中該單離蛋白質包含與SEQ ID NO:229至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列。

11. 如實施例10所述之單離蛋白質，其中該單離蛋白質包含SEQ ID NO:229之胺基酸序列。

12. 如實施例1至9中任一項所述之單離蛋白質，其中該單離蛋白質包含與SEQ ID NO:71至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列。

13. 如實施例12所述之單離蛋白質，其中該單離蛋白質包含SEQ ID NO:71之胺基酸序列。

14. 一種多特異性抗原結合構築體，其包含如實施例1至13中任一項所述之蛋白質。

15. 如實施例14所述之多特異性抗原結合構築體，其係雙特異性構築體。

16. 如實施例14或15所述之多特異性抗原結合構築體，其進一步包含結合淋巴球上的抗原之第二抗原結合區。

17. 如實施例16所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球係T細胞。

18. 如實施例17所述之多特異性抗原結合構築體，其中該T細胞係$CD8^+$ T細胞。

19. 如實施例16所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球係自然殺手(NK)細胞。

20. 如實施例16至19中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球上的該抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。

21. 如實施例20所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球上之該抗原係CD3ε。

22. 如實施例21所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含

    a. SEQ ID NO:95之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之輕鏈互補決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3，及/或

    b. SEQ ID NO:77之VH及SEQ ID NO:80之VL。

23. 如實施例21所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含

    b. SEQ ID NO:98之重鏈互補決定區(HCDR)1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之輕鏈互補

決定區(LCDR)1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3；及/或

c. SEQ ID NO:84之VH及SEQ ID NO:85之VL。

24. 如實施例14至23中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:95之HCDR1、SEQ ID NO:96之HCDR2、SEQ ID NO:97之HCDR3、SEQ ID NO:101之LCDR1、SEQ ID NO:102之LCDR2、及SEQ ID NO:104之LCDR3。

25. 如實施例14至23中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:98之HCDR1、SEQ ID NO:99之HCDR2、SEQ ID NO:100之HCDR3、SEQ ID NO:106之LCDR1、SEQ ID NO:107之LCDR2、及SEQ ID NO:108之LCDR3。

26. 如實施例24所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:77之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH。

27. 如實施例24或26所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:77之VH。

28. 如實施例24、26、及27中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:80之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

29. 如實施例28所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:80之VL。

30. 如實施例25所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:84之VH至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VH。

31. 如實施例30所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:84之VH。

32. 如實施例25、30、及31中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:85之VL至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的VL。

33. 如實施例28所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含SEQ ID NO:85之VL。

34. 如實施例26至33中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區係Fab。

35. 如實施例14至34中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:230至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一之HC。

36. 如實施例35所述之多特異性抗原結合構築體，其中HC包含SEQ ID NO:230之胺基酸序列。

37. 如實施例14至36中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:117至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一之LC。

38. 如實施例37所述之多特異性抗原結合構築體，其中該LC包含SEQ ID NO:117之胺基酸序列。

39. 如實施例14至38中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合DLL3之該抗原結合區包含具有與SEQ ID NO:229至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列的scFv。

40. 如實施例39所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合DLL3之該抗原結合區包含具有SEQ ID NO:229之胺基酸序列的scFv。

41. 如實施例14至34中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:118至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一之HC。

42. 如實施例41所述之多特異性抗原結合構築體，其中該HC包含SEQ ID NO:118之胺基酸序列。

43. 如實施例14至34、41、及42中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合CD3ε之該第二抗原結合區包含與SEQ ID NO:117至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一之LC。

44. 如實施例43所述之多特異性抗原結合構築體，其中該LC包含SEQ ID NO:117之胺基酸序列。

45. 如實施例41至44中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合DLL3之該抗原結合區包含具有與SEQ ID NO:71至少80%（例如，至

少85%、至少90%、至少95%、至少99%、或100%）同一的胺基酸序列的scFv。

46. 如實施例45所述之多特異性抗原結合構築體，其中該scFv包含SEQ ID NO:71之胺基酸序列。

47. 如實施例14至46中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合淋巴球上的抗原之該抗原結合區係接合至半衰期延長部份，其中該半衰期延長部份係免疫球蛋白(Ig)、該Ig之片段、Ig恆定區、或該Ig恆定區之片段。

48. 如實施例47之多特異性抗原結合構築體，其中該Ig恆定區或該Ig恆定區之該片段包含導致該蛋白質與Fcγ受體(FcγR)之結合減少的至少一個突變，可任選地其中導致該蛋白質與該FcγR之結合減少的該等突變係L234A_L235A_D265S。

49. 一種雙特異性抗原結合構築體，其包含：

(1) 結合DLL3之第一抗原結合區，其中該第一抗原結合區包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之第一VH、及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之第一VL，且該HCDR1、該HCDR2、該HCDR3、該LCDR1、該LCDR2、及該LCDR3包含下列之胺基酸序列

(a) 分別為SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

(b) 分別為SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

(c) 分別為SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

(d) 分別為SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

(e) 分別為SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

(f) 分別為SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

(g) 分別為SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

(h) 分別為SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

(i) 分別為SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

(j) 分別為SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

(k) 分別為SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

(l) 分別為SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

(m) 分別為SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

(2) 結合CD3ε之第二抗原結合區，其中該第二抗原結合區包含：

(a) 具有分別為SEQ ID NO:95、96、及97之胺基酸序列之HCDR1、HCDR2、及HCDR3的第二VH、及具有分別為SEQ ID NO:101、102、及104之胺基酸序列之LCDR1、LCDR2、及LCDR3的第二VL；或

(b) 具有分別為SEQ ID NO:98、99、及100之胺基酸序列之HCDR1、HCDR2、及HCDR3的第二VH、及具有分別為SEQ ID NO:106、107、及108之胺基酸序列之LCDR1、LCDR2、及LCDR3的第二VL。

50. 如實施例49所述之雙特異性抗原結合構築體，其中

a. 該第一VH及該第一VL具有與下列至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列：

i. 分別為SEQ ID NO:1之該VH及SEQ ID NO:2之該VL；

ii. 分別為SEQ ID NO:3之該VH及SEQ ID NO:4之該VL；

iii. 分別為SEQ ID NO:5之該VH及SEQ ID NO:6之該VL；

iv. 分別為SEQ ID NO:7之該VH及SEQ ID NO:8之該VL；

v. 分別為SEQ ID NO:9之該VH及SEQ ID NO:10之該VL；

vi. 分別為SEQ ID NO:11之該VH及SEQ ID NO:12之該VL；或

vii. 分別為SEQ ID NO:13之該VH及SEQ ID NO:14之該VL；

b. 該第二VH及該第二VL具有與下列至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列：

i. SEQ ID NO:77之該VH及SEQ ID NO:80之該VL；或

ii. SEQ ID NO:84之該VH及SEQ ID NO:85之該VL。

51. 如實施例49或50所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含分別具有SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之該胺基酸序

列的該HCDR1、該HCDR2、該HCDR3、該LCDR1、該LCDR2、及該LCDR3。

52. 如實施例51所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一VH包含與SEQ ID NO:3至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列，且該第一VL包含與SEQ ID NO:4至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列。

53. 如實施例49至52中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含含有該第一VH及該第一VL之第一scFv或第一Fab，且該第二抗原結合區包含含有該第二VH及該第二VL之第二Fab或第二scFv。

54a. 如實施例53所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含該第一scFv，且該第二抗原結合區包含該第二Fab。

54b. 如實施例53所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含該第一Fab，且該第二抗原結合區包含該第二scFv。

55. 如實施例49至54b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體，其係包含第一重鏈及第二重鏈之雙特異性抗體，其中該第一重鏈包含該第一VH，可任選地進一步包含該第一VL，且該第二重鏈包含該第二VH，可任選地進一步包含該第二VL，其中該第一重鏈及該第二重鏈中之各者進一步包含含有一或多個異二聚體突變的免疫球蛋白(Ig)恆定區。

56. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含：

(1) 具有與選自由SEQ ID NO:109、109、111、111、71、及229所組成之群組的胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈；

(2) 具有與分別選自由SEQ ID NO:110、110、117、115、117、及117所組成之群組的胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的輕鏈；及

(3) 具有與分別選自由SEQ ID NO:112、113、116、114、118、及230所組成之群組的胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第二重鏈。

57. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含具有分別與SEQ ID NO:111、117、及116之胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈、輕鏈、及第二重鏈。

58. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含具有分別與SEQ ID NO:111、115、及114之胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈、輕鏈、及第二重鏈。

59. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含具有分別與SEQ ID NO:71、117、及118之胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈、輕鏈、及第二重鏈。

60. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含具有分別與SEQ ID NO:229、117、及230之胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈、輕鏈、及第二重鏈。

60a. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含具有分別與SEQ ID NO:109、110、及113之胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈、輕鏈、及第二重鏈。

60b. 如實施例55所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含具有分別與SEQ ID NO:109、110、及112之胺基酸序列至少80%，諸如至少85%、90%、95%、或100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈、輕鏈、及第二重鏈。

61. 一種單離核酸，其編碼如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體。

62. 一種載體，其包含如實施例61所述之核酸。

63. 一種宿主細胞，其包含如實施例61所述之核酸或如實施例62所述之載體。

64. 一種生產如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體的方法，其包含在生產該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、該融合物或接合物、或該雙特異性抗原

結合構築體之條件下培養如實施例26所述之宿主細胞，及自該細胞或細胞培養物回收該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、該融合物或接合物、或該雙特異性抗原結合構築體。

65. 一種醫藥組成物，其包含如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體、如實施例61所述之核酸、如實施例62所述之載體、或如實施例63所述之宿主細胞、及醫藥上可接受之載劑。

66. 一種治療有需要之對象之DLL3表現性癌症的方法，其包含向該對象投予治療有效量的如實施例65所述之醫藥組成物較佳地達一段足以治療該DLL3表現性癌症的時間。

67. 如實施例66所述之方法，其中該癌症係選自由下列所組成之群組：肺癌、前列腺癌、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌。

68. 一種減少對象之DLL3表現性腫瘤細胞之量的方法，其包含向該對象投予治療有效量的如實施例65所述之醫藥組成物達一段足以治療該DLL3表現性癌症的時間。

69. 如實施例68所述之方法，其中該癌症係選自由下列所組成之群組：肺癌（諸如小細胞肺癌）、前列腺癌（諸如神經內分泌前列腺癌、或復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌）、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌、或其任何組合。

70. 一種治療有發展DLL3表現性癌症之風險的對象之非癌性病況的方法，其包含向該對象投予治療有效量的如實施例65所述之醫藥組成物，以治療該非癌性病況。

71. 如實施例70所述之方法，其中該非癌性病況係前列腺肥大、良性前列腺增生(BPH)、或未診斷出前列腺癌下具有高前列腺特異性抗原(PSA)水準的病況。

72. 一種偵測對象之神經內分泌前列腺癌或小細胞肺癌之存在的方法，其包含向懷疑患有前列腺癌或小細胞肺癌之對象投予包含接合至如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體的治療劑或顯像劑的免疫接合物，及視覺化該免疫接合物所結合之生物結構，藉以偵測前列腺癌或小細胞肺癌之存在。

73. 一種套組，其包含如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體、或包含接合至該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、或該雙特異性抗原結合構築體的治療劑或顯像劑、如實施例61所述之核酸、如實施例62所述之載體、或如實施例63所述之宿主細胞。

74. 如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體、或包含接合至該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、或該雙特異性抗原結合構築體之治療劑的免疫接合物、

如實施例61所述之核酸、如實施例62所述之載體、或如實施例63所述之宿主細胞，其用於治療癌症，較佳地該癌症係選自由下列所組成之群組：肺癌（諸如小細胞肺癌）、前列腺癌（諸如神經內分泌前列腺癌、或復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌）、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌、或其任何組合。

75. 一種治療癌症的方法，其包含向有需要之對象投予治療有效量的如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體、或包含接合至該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、或該雙特異性抗原結合構築體之治療劑的免疫接合物、如實施例61所述之核酸、如實施例62所述之載體、或如實施例63所述之宿主細胞，較佳地該癌症係選自由下列所組成之群組：肺癌（諸如小細胞肺癌）、前列腺癌（諸如神經內分泌前列腺癌、或復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌）、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌、或其任何組合。

76. 如實施例1至13中任一項所述之蛋白質、或如實施例8至48中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、或如實施例49至60b中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體、或包含接合至該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、或該雙特異性抗原結合構築體之治療劑的免疫接合物、如實施例61所述之核酸、如實施例62所述之載體、或如實施例63所述

之宿主細胞在製造用於治療癌症之藥劑中的用途，較佳地該癌症係選自由下列所組成之群組：肺癌（諸如小細胞肺癌）、前列腺癌（諸如神經內分泌前列腺癌、或復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌）、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌、或其任何組合。

【0779】　本發明的下列實例是要進一步說明本發明的本質。應了解的是，下列實例不會對本發明造成限制，且本發明之範圍係由隨附之申請專利範圍決定。

實例

實例1.抗原產生

【0780】　用於免疫的DLL3構築體包含連接至C端6X His標籤的人類DLL3之胞外域(ECD)及連接子（構築體DL3W35；SEQ ID NO:180）。將編碼人類DLL3 ECD之子域的表現構築體設計為使用人類血清白蛋白之C34S變體的融合蛋白質(HSA, (DL3W36 – DL3W44, SEQ ID NOs:181 – 189)。特別是，構築體包括下列之構築體：人類DLL3 EGF6域+ C端ECD序列、HSA融合物及C端6 His標籤(DL3W36, SEQ ID NO:181)、人類DLL3 EGF6域、HSA融合物及C端6His標籤(DL3W37, SEQ ID NO:182)、人類DLL3 EGF5域、HSA融合物及C端6His標籤(DL3W38, SEQ ID NO:183)、人類DLL3 EGF4域、HSA融合物及C端6His標籤(DL3W39, SEQ ID NO:184)、人類DLL3 EGF3域；HSA融合物及C端6His標籤(DL3W40, SEQ ID NO:185)、人類DLL EGF2域、HSA融合物及C端6His標籤(DL3W41, SEQ ID NO:186)、人類DLL3 EGF1+2域、HSA融合物及C

端6His標籤(DL3W42, SEQ ID NO:187)、人類DLL3 EGF-1域、HSA融合物及C端6His標籤(DL3W43, SEQ ID NO:188)、人類DLL3 N端+ DSL域HSA融合物及C端6His標籤(DL3W44, SEQ ID NO:189)。HSA係融合至人類DLL3 ECD子域之C端。亦將6X His標籤添加至C端。構築體係基於Uniprot登錄號Q9NYJ7及其在其中的域注解。將九個構築體製成涵蓋N端及DSL域、EGF1域、EGF1及EGF2域、EGF2域、EGF3域、EGF4域、EGF5域、EGF6域、及EGF6及C端域。將編碼子域之構築體用於域定位。

【0781】 根據製造商規程，使用Expifectamine，使構築體暫時轉染至HEK293衍生細胞中，即Expi293 (Gibco/Thermo Fisher Scientific)。在收穫前，將細胞在迴轉式振盪器上用8% CO_2於37℃下培養5天。藉由離心移除表現細胞，並自培養基純化具有His標籤的DLL3蛋白質，其係藉由使用固定化金屬親和層析（使用Ni Sepharose 6快速流動樹脂(GE Healthcare)），接著以pH 7.2的達爾伯克磷酸鹽鹽水緩衝液(1x DPBS)進行Superdex 200製備粒徑篩析層析(SEC) (GE Healthcare)。

實例2.抗DLL3抗體的產生

使用基因轉殖小鼠(Ablexis®)的抗體產生

【0782】 抗DLL3抗體係在Ablexis小鼠中產生。Ablexis®小鼠產生具有連接至人類CH1及CL域之人類可變域、嵌合人類/小鼠鉸鏈區、及小鼠Fc區的人類/小鼠嵌合抗體。由Ablexis κ小鼠產生之抗體缺乏衍生自小鼠V_H、D_H、及J_H外顯子及小鼠Vκ、Jκ、及Cκ外顯子之序列。內源性小鼠Igλ在κ小鼠中係有活性的。在此品系中，人類Igκ鏈佔天然貯庫之大約90至95%且小鼠Igλ鏈佔天然貯

庫之大約5至10%。由Ablexis λ小鼠產生之抗體缺乏衍生自小鼠V_H、D_H、及J_H外顯子及小鼠Vλ、Jλ、及Cλ外顯子之序列。內源性小鼠Igκ在λ小鼠中係有活性的。人類Igλ鏈佔天然貯庫之大約40%且小鼠Igκ鏈佔天然貯庫之大約60%。Ablexis®之製備及用途、及此類小鼠所攜帶之基因組修飾係描述於WO11/123708中。

【0783】 Ablexis小鼠係以重組人類DLL3 ECD蛋白質(DL3W35, SEQ ID NO:180)免疫。自次級淋巴器官萃取淋巴球，且與FO小鼠骨髓瘤細胞系融合以產生融合瘤或經由螢光活化細胞分選(FACS)進行單細胞分選。藉由Meso Scale Discovery (MSD)電化學發光，針對與過度表現人類DLL3 ECD之HEK細胞之結合，篩選融合瘤上清液。經由螢光活化細胞分選(FACS)，針對與過度表現人類DLL3 ECD之HEK細胞（正信號）及親本DLL3陰性HEK細胞（負信號）之結合，對所識別的樣本進行進一步檢定。此外，藉由MSD電化學發光，針對與重組人類DLL3蛋白質之結合來篩選單細胞分選上清液。識別出大約>300個樣本為DLL3結合劑。藉由單循環動力學方法，藉由Biacore 8K SPR，針對與人類DLL3蛋白質之結合，進一步評估300個抗hDLL3上清液樣本之結合。

【0784】 選擇六個DLL3陽性結合劑並向前移動用於V區選殖。

V區選殖

【0785】 將來自融合瘤上清液（含有對人類DLL3之陽性結合劑）的重鏈及輕鏈之V區選殖並定序。自融合瘤樣本單離mRNA。藉由Qiagen套組(RNeasy Plus Mini Kit)純化之RNA及B細胞裂解物兩者皆用於使用Smarter cDNA合成套組(Clontech, Mount View, CA)之cDNA合成。為了促進cDNA合

成，使用寡dT以起始所有信使RNA之反轉錄，隨後用Smarter IIA寡核苷酸進行「5'加蓋」。VH及VL片段的後續擴增使用2步驟PCR擴增並使用靶向Smarter IIA蓋之5'引子及靶向CH1中之共有區域之3'引子執行。簡言之，各50 µl PCR反應由下列所組成：20 µM的前置及反置引子混合物、25 µl的PrimeStar Max DNA聚合酶預混物(Clontech)、2 µl的未經純化cDNA、及21 µl的雙重蒸餾H_2O。循環程式始於94℃歷時3 min，隨後進行35個循環（94℃歷時30 sec、55℃歷時1 min、68℃歷時1 min）、且終於72℃歷時7 min。第二輪PCR係以VL及VH第二輪引子執行，該等引子含有在彼等各別之Lonza母載體中「重疊」各別區域（VH及VL）之15 bp互補延伸。用下列程式執行第二輪PCR：94℃歷時3 min；35個循環（94℃歷時30 Sec，55℃歷時1 min，68℃歷時1 min），且終於72℃歷時7 min。使用In-Fusion® HD選殖套組(Clonetech)，將VL基因方向性選殖至Lonza huIgK或λ載體，並將VH基因方向性選殖至Lonza huIgG1載體。為了促進In-Fusion® HD選殖，PCR產物在In-Fusion HD選殖之前用選殖增強子處理。根據製造商規程(Clonetech)執行選殖及轉化。使Mini-prep DNA進行Sanger定序以證實獲得完整V-基因片段。

Fab、mAb、scFv、及scFv-Fc格式化

【0786】　所回收之v區之胺基酸序列經密碼子最佳化並選殖至攜帶IgG1恆定區之表現載體中。

【0787】　抗體係以Fab格式、單株Ab格式、呈VH-連接子-VL定向之scFv格式、或呈VL-連接子-VH定向之scFv格式表現。使用SEQ ID NO:120之連接子序列(GGSEGKSSGSGSESKSTGGS)接合VH/VL區。

抗DLL3抗體之ExpiCHO-S™轉染及純化

蛋白質表現及細胞培養

【0788】 對自免疫活動識別之抗體以2 ml規模進行選殖且表現為IgG1-AAS (L234A/L235A/D265S)並純化。依照製造商的建議，在ExpiCHO-S™細胞(ThermoFisher Scientific)中藉由用純化質體DNA的暫時轉染來表現抗體，該純化質體DNA編碼該等蛋白質。簡言之，將ExpiCHO-S™細胞懸浮維持於設定為37℃、8% CO_2、及125 RPM之迴轉震盪培養箱中之ExpiCHO™表現培養基(ThermoFisher Scientific)中。將細胞繼代並在轉染前稀釋至每ml 6.0×10^6個細胞，維持99.0%或更佳之細胞存活性。使用ExpiFectamine™ CHO轉染套組(ThermoFisher Scientific, Cat # A29131)進行暫時轉染。針對每ml之待轉染的經稀釋細胞，使用0.5微克的編碼scFv-Fc融合分子之DNA及0.5微克的pAdVAntage DNA（Promega，目錄號E1711），並將其稀釋於OptiPRO™ SFM複合培養基中。ExpiFectamine™ CHO試劑係以1:4比（v/v，DNA:試劑）使用，並稀釋於OptiPRO™中。將稀釋的DNA及轉染試劑合併一分鐘，允許DNA/脂質錯合物形成，接著添加至細胞。在整夜培養後，依照製造商標準規程，將ExpiCHO™ feed及ExpiFectamine™ CHO增強劑添加至細胞。使細胞在37℃下伴隨迴轉震盪(125 rpm)培養七天，之後採集培養液。來自暫時轉染ExpiCHO-S™細胞之培養上清液係藉由離心(30 min, 3000rcf)澄清，隨後過濾（0.2 μm PES膜，Corning；Corning, NY）。

蛋白質純化

【0789】 使用AKTAXpress層析系統，將過濾的細胞培養上清液裝載至預平衡(1xDPBS, pH 7.2)的MabSelect Sure蛋白質A管柱(GE Healthcare)上。在裝載後，將管柱用10倍管柱體積的1xDPBS (pH7.2)洗滌。將蛋白質用10倍管柱體積的0.1 M乙酸鈉(Na) (pH 3.5)洗提。將蛋白質流份藉由添加2.5 M Tris HCl (pH 7.5)至20% (v/v)的洗提流份體積來立即中和。將峰流份匯集並過濾(0.2 μm)。藉由分析型粒徑篩析HPLC（Agilent HPLC系統）評估純化蛋白質的品質。藉由使用Superdex200樹脂(GE Healthcare)及1xDPBS pH7.2作為流動相的製備型粒徑篩析層析，將蛋白質進一步純化。將僅含有單體蛋白質之峰流份匯集並過濾(0.2 μm)。

實例3.抗DLL3抗體之生物物理表徵

【0790】 使用SEQ ID NO: 120之連接子，以VH-連接子-VL定向，將DLL3抗體之可變區格式化為scFv-Fc，且針對與重組DLL3之結合及熱穩定性進行評估。將具有SEQ ID NO: 120之野生型IgG1 Fc域融合至抗DLL3 scFv，以產生scFv-Fc分子。使用這些構築體來評估抗體之熱穩定性

抗DLH抗體之結合親和力。

【0791】 使用ProteOn儀器，藉由表面電漿共振(SPR)判定抗DLL3抗體對重組人類DLL3之結合親和力。SPR係一種無標示技術，其藉由測量在複合物形成及解離時之質量變化來研究兩個結合夥伴之間的交互作用強度。抗體被捕捉在塗佈有抗Fc抗體之感測器晶片上，且用濃度橫跨100 nM至6.25 nM或6.25 nM至0.39 nM之DLL3抗原(DL3W35, SEQ ID NO:180)之2倍連續稀釋液滴定。

【0792】 亦以100 nM及1000 nM之濃度測試抗體與下文所述之DLL1（DL3W33，重組人類DLL1 ECD (Ser22-Gly540)，-DI- C-6xHis，TPP000049465，(R&D Systems Cat# 1818-DL)，SEQ ID NO:178）及DLL4（DL3W34，人類DLL4 ECD (Ser27-Pro524)，C-10xHis，TPP000049466|，SEQ ID NO:179）之結合。

【0793】 使用50 μL/min之流速，監測締合及解離分別達5分鐘及30分鐘。藉由將感測圖(sensorgram)擬合至1:1 Langmuir結合模型來擷取動力學資訊（結合速率及解離速率常數）。結合親和力(K_D)係報導為速率常數之比率(koff/kon)。所選抗DLL3 scFv之K_D值係列於**表4**。如**表4**所示，抗體以範圍約70pm至約2.4 nM之高親和力結合人類DLL3，而觀察到與同源蛋白質DLL1及DLL4無結合。

表4：如藉由SPR所獲得之抗DLL3抗體與人類DLL3 (DL3W35)、DLL1 (DL3W33)、及DLL4 (DL3W34)之結合親和力(K_D)。N.B.指示在高達1000 nM之DLL1或DLL4之濃度下觀察到無結合。

名稱	描述	與 hu DLL3 之結合	與 huDLL1 之結合	與 huDLL4 之結合
		K_D (M)		
DL3B569	DL3B279 scFv-Fc	1.47E-10	N.B.	N.B.
DL3B570	DL3B332 scFv-Fc	6.68E-11	N.B.	N.B.
DL3B571	DL3B358 scFv-Fc	7.34E-11	N.B.	N.B.
DL3B572	DL3B409 scFv-Fc	2.32E-09	N.B.	N.B.
DL3B574	DL3B450 scFv-Fc	2.37E-09	N.B.	N.B.
DL3B575	DL3B461 scFv-Fc	3.10E-10	N.B.	N.B.

抗DLL3抗體之熱穩定性

【0794】 藉由微差掃描螢光法(NanoDSF)，使用自動化Prometheus儀器，確定抗DLL3 scFv-Fc融合抗體之熱穩定性。涵蓋各種域之蛋白質（諸如抗體）通常展現出對應於這些域之不同轉變。使用第一轉變或解鏈溫度(T_{m1})指示所測試之蛋白質在生理條件下及儲存後的穩定性。蛋白質之螢光變化亦反映在遞增溫度之情況下的聚集起始溫度(T_{agg})。NanoDSF係用於測量在磷酸鹽緩衝鹽水(pH 7.4)中濃度0.5 mg/ml之分子的T_m。將樣本自384孔樣本盤裝載至24孔毛細管中，以進行測量。針對各樣本執行二重複運行。熱掃描以1.0℃/分鐘的速率自20℃跨至95℃。監測在發射波長330 nm及350 nm下內在色胺酸及酪胺酸之螢光，並將F350/F330 nm比率對溫度作圖以產製去折疊曲線。所測得之T_m及T_{agg}值係列於**表5**中。

【0795】 如**表5**中所示，所有抗DLL3分子均具有高於56.5℃之第一轉變(T_{m1})。除DL3B570之外，所有所測試之scFv-Fc融合抗體均具有低聚集趨勢，其中T_{agg}值高於70℃且比其T_{m1}值高5℃或更高。

表5.如使用NanoDSF儀器所獲得之抗DLL3 scFv-Fc融合抗體之熱穩定性。

名稱	描述	T_{agg}	T_{m1}
DL3B569	DL3B279 scFv-Fc	70.5	59.1
DL3B570	DL3B332 scFv-Fc	62.1	61.9
DL3B571	DL3B358 scFv-Fc	75.2	65.4
DL3B572	DL3B409 scFv-Fc	75.4	68.8
DL3B574	DL3B450 scFv-Fc	72.5	68.8
DL3B575	DL3B461 scFv-Fc	78.6	56.5

實例4.抗DLL3抗體之域定位及互補位定位

抗DLL3抗體之域定位

【0796】 評估所選抗DLL3抗體與各重組DLL3域之結合；N端及DSL融合域(DL3W44, SEQ ID NO:189)、EGF-1+2融合域(DL3W42, SEQ ID NO:187)、EGF-2 (DL3W41, SEQ ID NO:186)、EGF-3 (DL3W40, SEQ ID NO:185)、EGF-4 (DL3W39, SEQ ID NO:184)、EGF-5 (DL3W38, SEQ ID NO:183)、EGF-6 (DL3W37, SEQ ID NO:182)、及EGF-6與C端融合域(DL3W36, SEQ ID NO:181)。這些構築體之表現及純化係描述於實例1中

【0797】 在4℃下用20 nM抗原塗佈MesoScale Discovery高結合盤整夜。將盤用具有0.1% Tween之PBS洗滌，然後用起始封閉溶液封閉30分鐘。添加DLL3抗體，並在環境溫度下培養60分鐘，然後藉由用PBS (Gibco, #14190-136)洗滌3次來移除過量抗體。在環境溫度下，用磺基標記之抗人類抗體(Meso Scale Discovery, R32AJ)偵測抗原結合抗體，接著再用PBS洗滌。信號獲取係在1X MSD讀取緩衝液T (MSD, Cat#R92TC-1)存在下於MSD Sector 600成像器上以適當的盤設定進行。分析各域之最高結合信號之數據，指示優先域結合。各抗體之結合域係列於**表6**中。

表6. hu DLL3上抗DLL3抗體之結合域。

名稱	描述	DLL3 結合域
DL3B569	DL3B279 scFv-Fc	EGF6
DL3B570	DL3B332 scFv-Fc	EGF6
DL3B571	DL3B358 scFv-Fc	EGF6
DL3B572	DL3B409 scFv-Fc	EGF6+C 端
DL3B574	DL3B450 scFv-Fc	EGF6+C 端
DL3B575	DL3B461 scFv-Fc	EGF6+C 端

【0798】 發現DL3B569、DL3B570、及DL3B571結合EGF6域，而發現DL3B672、DL3B574、及DL3B575結合EGF6及C端域。

抗DLL3抗體之互補位定位

【0799】 藉由氫氘交換質譜法(HDX-MS)判定所選抗DLL3抗體上之互補位。簡而言之，以9:10莫耳比比較未結合狀態（單獨抗體）及結合狀態（與huDLL3一起培養之抗體(DL3W35)）之抗體樣本之略過量的結合蛋白質。將這些樣本儲存在0℃下。將樣本用D_2O標示30、100、1000、及10000秒。進行二重複100秒標示。對於各標示時間及樣本，將5uL的樣本與50 uL的D_2O緩衝液（10 mM磷酸鈉pH 7.4）混合。在0℃下，將50 uL的此混合物轉移至60 uL的經預冷卻之淬滅緩衝液(4 M尿素0.4 M TCEP HCl)。將混合物在0℃下保持2分鐘。在0℃下將100 uL的混合物注入LEAP冷凍閥箱中。使用Flex LC等度流推動樣本通過線內胃蛋白酶13組合管柱（在室溫下冷凍箱之外），且透過線內捕捉管柱將樣本脫鹽3分鐘。然後，將樣本洗提出捕捉管柱並使用Horizon泵梯度在分析管柱上分離。樣本亦使用H_2O來代替D_2O以及CID、HCD、及EThcD MS/MS碎斷以識別肽及滯留時間。互補位係基於自HDExaminer殘差圖之氘攝取之顯著差異來識別。

【0800】 抗DLL3抗體DL3B569、DL3B570、DL3B571、DL3B574、及DL3B575與可溶DLL3之培養會導致不同之氫交換及抗體上整體保護模式。在DLL3存在下抗體上之保護鏈段顯示於**表7**中。

表7.抗DLL3抗體之結合互補位。

名稱	描述	結合互補位殘基編號	結合互補位胺基酸序列
DL3B569	DL3B279 scFv-Fc	49-52, 158-169, 205-214	49-52: YAAS (SEQ ID NO:63) 178-189: INPSGGSTSYAQ (SEQ ID NO:63) 225-234: RQGPFIGDAF (SEQ ID NO:63)
DL3B570	DL3B332 scFv-Fc	88-105, 203-211	88-105: YCQQYGTSPITFGQGTRL (SEQ ID NO:65) 223-231: CARIGPAGF (SEQ ID NO:65)
DL3B571	DL3B358 scFv-Fc	137-142, 156-173, 203-217	157-162: ISYYIH (SEQ ID NO:66) 176-193: GIIDPSGGSKSYAQKFQG (SEQ ID NO:66) 223-237: CARQGMIVGTTGDAF (SEQ ID NO:66)
DL3B574	DL3B450 scFv-Fc	216-225	236-245: YDWSYYYYGM (SEQ ID NO:68)
DL3B575	DL3B461 scFv-Fc	206-216	226-236: YYCARDPFSDL (SEQ ID NO:69)

實例5.抗DLL3抗體之結構表徵

【0801】 本文提供在體外檢定中顯示最高性能之DLL3抗體可變域及scFv抗體片段之序列。可變域係使用如實例2中所述之SEQ ID N:120之連接子表現為Fab格式、呈VH-連接子-VL定向之scFv格式、或呈VL-連接子-VH定向之scFv格式。

【0802】 抗體之轉譯後修飾(post-translational modification, PTM)具有影響抗體之親和力、穩定性、效力及均質性的潛能。此外，自基因轉殖動物獲得之抗體序列可能在架構及CDR區中含有體細胞超突變。體細胞超突變可導致人類架構區中之異常或低頻殘基，並影響生物治療劑之穩定性及免疫原性。DL3B279 mAb中之親本抗DLL3可變區含有由生殖系突變導致的序列不利條件。具體而言，可變重域在27位含有天冬醯胺酸，酪胺酸殘基通常存在於

IGHV1-46*03生殖系中之該位置。由於此殘基靠近CDR，因此它經突變為麩醯胺酸殘基(N27Q)，以保留在此位置處極性不帶電荷的胺基酸之存在。此外，接合區中之Met105突變為Thr (M105T)以避免氧化。自DL3B279之輕鏈v區亦以在A99處之突變回Gly (A99G)的生殖系突變為特點。總之，可變重域中之N27Q及M105T之突變以及可變輕域中之A99G突變產生了經最佳化之可變區，稱為DL3B279變體。將經最佳化之DL3B279變體格式化為呈上文所述之VL-連接子-VH定向之單鏈可變片段(single-chain fragment variable, scFv)。

可變域VH、VL及CDR

【0803】 **表8**顯示所選抗DLL3抗體之VH及VL胺基酸序列。**表9**顯示所選抗DLL3抗體之Kabat HCDR1、HCDR2、及HCDR3。**表10**顯示所選抗DLL3抗體之Kabat LCDR1、LCDR2、及LCDR3。**表11**顯示所選抗DLL3抗體之AbM HCDR1、HCDR2、及HCDR3。**表12**顯示所選抗DLL3抗體之AbM LCDR1、LCDR2、及LCDR3。**表13**顯示所選抗DLL3抗體之Chotia HCDR1、HCDR2、及HCDR3。**表14**顯示所選抗DLL3抗體之Chotia LCDR1、LCDR2、及LCDR3。**表15**顯示所選抗DLL3抗體之IMTG HCDR1、HCDR2、及HCDR3。**表16**顯示所選抗DLL3抗體之IMTG LCDR1、LCDR2、及LCDR3。**表17**彙總所選DLL3抗體之可變域序列及SEQ ID NO。**表18**顯示VH及VL區之蛋白質及DNA SEQ ID NO。

表8.所選抗DLL3抗體之VH及VL胺基酸序列。

mAb 名稱	**VH SEQ ID NO:**	**VL SEQ ID NO:**
DL3B279	1	2
DL3B279 變體(DL3B279-VL-A99G-	3	4

VH-N27Q_M105T-)		
DL3B332	5	6
DL3B358	7	8
DL3B409	9	10
DL3B450	11	12
DL3B461	13	14

表9.使用Kabat描繪之所選抗DLL3抗體之HCDR1、HCDR2、及HCDR3胺基酸序列。

	Kabat HCDR1		Kabat HCDR2		Kabat HCDR3	
mAb 名稱	序列	**SEQ ID NO:**	序列	**SEQ ID NO:**	序列	**SEQ ID NO:**
DL3B279	NYYIH	15	IINPSGGSTSYAQKLQG	16	QGPFIGDAFDI	17
DL3B279 變體	NYYIH	15	IINPSGGSTSYAQKLQG	16	QGPFIGDAFDI	17
DL3B332	SYYWS	18	YIYYSGTTNYKSSLKS	19	IGPAGFYFDY	20
DL3B358	SYYIH	21	IIDPSGGSKSYAQKFQG	22	QGMIVGTTGDAFDI	23
DL3B409	TYYIH	24	IIDPSGGRTSYAQKFLG	25	GGDGTWYYGMDV	26
DL3B450	SYYWS	18	RIYTSGSTNYNPSLKS	28	DQAYSGYDWSYYYYGMDV	29
DL3B461	SYVIS	30	GIIPIFGTANYAQKFQD	31	DPFSDL	32

表10.使用Kabat描繪之所選抗DLL3抗體之LCDR1、LCDR2、及LCDR3胺基酸序列。

	Kabat LCDR1		Kabat LCDR2		Kabat LCDR3	
mAb 名稱	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**
DL3B279	RASQGISNYLA	33	AASSLQS	34	QQYNSYPYT	35
DL3B279 變體	RASQGISNYLA	33	AASSLQS	34	QQYNSYPYT	35
DL3B332	RASQSVSRSYLA	36	GASSRAT	37	QQYGTSPIT	38
DL3B358	RASQSASSYLA	39	GASSRAT	37	QQYNSSPYT	40

DL3B409	RASQGISNYLA	41	AASTLQS	42	QQLNSYPLT	43
DL3B450	RSSQSLLHSNGYNYLD	44	LGSNRAS	45	MQALQTPLT	46
DL3B461	RSSQSLVHSDGNTYLN	47	QISNPFS	48	MQATQFPHT	49

表11.使用AbM描繪之所選抗DLL3抗體之HCDR1、HCDR2、及HCDR3胺基酸序列。

	AbM HCDR1		AbM HCDR2		AbM HCDR3	
mAb 名稱	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**
DL3B279	GNTFTNYYIH	50	IINPSGGSTS	51	QGPFIGDAFDI	17
DL3B279 變體	GQTFTNYYIH	52	IINPSGGSTS	51	QGPFIGDAFDI	17
DL3B332	GDSIRSYYWS	53	YIYYSGTTN	54	IGPAGFYFDY	20
DL3B358	GHIFISYYIH	55	IIDPSGGSKS	56	QGMIVGTTGDAFDI	23
DL3B409	GYTFTTYYIH	57	IIDPSGGRTS	58	GGDGTWYYGMDV	26
DL3B450	GGSISSYYWS	59	RIYTSGSTN	60	DQAYSGYDWSYYYY GMDV	29
DL3B461	GGTLSSYVIS	61	GIIPIFGTAN	62	DPFSDL	32

表12.使用AbM描繪之所選抗DLL3抗體之LCDR1、LCDR2、及LCDR3胺基酸序列。

	AbM LCDR1		AbM LCDR2		AbM LCDR3	
mAb 名稱	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**
DL3B279	RASQGISNYLA	33	AASSLQS	34	QQYNSYPYT	35
DL3B279 變體	RASQGISNYLA	33	AASSLQS	34	QQYNSYPYT	35
DL3B332	RASQSVSRSYLA	36	GASSRAT	37	QQYGTSPIT	38
DL3B358	RASQSASSYLA	39	GASSRAT	37	QQYNSSPYT	40
DL3B409	RASQGISNYLA	41	AASTLQS	42	QQLNSYPLT	43
DL3B450	RSSQSLLHSNGYNYLD	44	LGSNRAS	45	MQALQTPLT	46
DL3B461	RSSQSLVHSDGNTYLN	47	QISNPFS	48	MQATQFPHT	49

表13.使用Chotia描繪之所選抗DLL3抗體之HCDR1、HCDR2、及HCDR3胺基酸序列。

	Chotia HCDR1		Chotia HCDR2		Chotia HCDR3	
mAb 名稱	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**	序列	**SEQ ID NO**
DL3B279	GNTFTNY	140	NPSGGS	141	QGPFIGDAFD	142
DL3B279 變體	GQTFTNY	143	NPSGGS	141	QGPFIGDAFD	142
DL3B332	GDSIRSY	244	YYSGT	144	IGPAGFYFD	145
DL3B358	GHIFISY	146	DPSGGS	147	QGMIVGTTGDAFD	148
DL3B409	GYTFTTY	149	DPSGGR	150	GGDGTWYYGMD	151
DL3B450	GGSISSY	152	YTSGS	153	DQAYSGYDWSYYYYGMD	154
DL3B461	GGTLSSY	155	IPIFGT	156	DPFSD	157

表14.使用Chotia描繪之所選抗DLL3抗體之LCDR1、LCDR2、及LCDR3胺基酸序列。

	Chotia LCDR1		Chotia LCDR2		Chotia LCDR3	
mAb 名稱	序列	SEQ ID NO	序列	SEQ ID NO	序列	SEQ ID NO
DL3B279	SQGISNY	158	AAS	159	YNSYPY	160
DL3B279 變體	SQGISNY	158	AAS	159	YNSYPY	160
DL3B332	SQSVSRSY	161	GAS	162	YGTSPI	201
DL3B358	SQSASSY	202	GAS	162	YNSSPY	245
DL3B409	SQGISNY	158	AAS	159	LNSYPL	203
DL3B450	SQSLLHSNGYNY	204	LGS	205	ALQTPL	207
DL3B461	SQSLVHSDGNTY	208	QIS	209	ATQFPH	210

表15.使用IMTG描繪之所選抗DLL3抗體之HCDR1、HCDR2、及HCDR3胺基酸序列。

	IMTG HCDR1	**IMTG HCDR2**	**IMTG HCDR3**

mAb 名稱	序列	SEQ ID NO	序列	SEQ ID NO	序列	SEQ ID NO
DL3B279	GNTFTNYY	211	INPSGGST	212	ARQGPFIGDAFDI	213
DL3B279 變體	GQTFTNYY	214	INPSGGST	212	ARQGPFIGDAFDI	213
DL3B332	GDSIRSYY	215	IYYSGTT	216	ARIGPAGFYFDY	217
DL3B358	GHIFISYY	218	IDPSGGSK	219	ARQGMIVGTTGDAFDI	220
DL3B409	GYTFTTYY	221	IDPSGGRT	222	ARGGDGTWYYGMDV	223
DL3B450	GGSISSYY	224	IYTSGST	225	ARDQAYSGYDWSYYYYGMDV	226
DL3B461	GGTLSSYV	227	IIPIFGTA	228	ARDPFSDL	231

表16.使用IMTG描繪之所選抗DLL3抗體之LCDR1、LCDR2、及LCDR3胺基酸序列。

	IMTG LCDR1		IMTG LCDR2		IMTG LCDR3	
mAb 名稱	序列	SEQ ID NO	序列	SEQ ID NO	序列	SEQ ID NO
DL3B279	QGISNY	232	AAS	159	QQYNSYPYT	35
DL3B279 變體	QGISNY	232	AAS	159	QQYNSYPYT	35
DL3B332	QSVSRSY	240	GAS	162	QQYGTSPIT	38
DL3B358	QSASSY	241	GAS	162	QQYNSSPYT	40
DL3B409	QGISNY	232	AAS	159	QQLNSYPLT	43
DL3B450	QSLLHSNGYNY	242	LGS	205	MQALQTPLT	46
DL3B461	QSLVHSDGNTY	243	QIS	209	MQATQFPHT	49

表17.使用Kabat描繪之所選抗DLL3抗體之可變域的胺基酸序列及SEQ ID NO彙總。

抗體	區域	胺基酸序列	SEQ ID NO:
DL3B279	HCDR1	NYYIH	15
	HCDR2	IINPSGGSTSYAQKLQG	16
	HCDR3	QGPFIGDAFDI	17
	LCDR1	RASQGISNYLA	33
	LCDR2	AASSLQS	34

抗體	區域	胺基酸序列	SEQ ID NO:
	LCDR3	QQYNSYPYT	35
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGNTFTNYYI HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKLQGRM TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYFCARQGPFIG DAFDIWGQGTMVTVSS	1
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWF QQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFAQGTKLEIK	2
DL3B279	HCDR1	NYYIH	15
	HCDR2	IINPSGGSTSYAQKLQG	16
	HCDR3	QGPFIGDAFDI	17
	LCDR1	RASQGISNYLA	33
	LCDR2	AASSLQS	34
	LCDR3	QQYNSYPYT	35
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGQTFTNYYI HWVRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKLQGRM TMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYFCARQGPFIG DAFDIWGQGTTVTVSS	3
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWF QQKPGKAPKSLIYAASSLQSGVPSKFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK	4
DL3B332	HCDR1	SYYWS	18
	HCDR2	YIYYSGTTNYKSSLKS	19
	HCDR3	IGPAGFYFDY	20
	LCDR1	RASQSVSRSYLA	36
	LCDR2	GASSRAT	37
	LCDR3	QQYGTSPIT	38
	VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLSCTVSGDSIRSYYWS WIRQPPGKGLEWIGYIYYSGTTNYKSSLKSRVTISL DTSKKQFSLNLDSVTAADTAVYYCARIGPAGFYFD YWGQGTLVTVSS	5
	VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSRSYLAW YQQKPGQAPRFLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDF TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGTSPITFGQGTRLEIK	6
DL3B358	HCDR1	SYYIH	21
	HCDR2	IIDPSGGSKSYAQKFQG	22
	HCDR3	QGMIVGTTGDAFDI	23
	LCDR1	RASQSASSYLA	39
	LCDR2	GASSRAT	37

抗體	區域	胺基酸序列	SEQ ID NO:
	LCDR3	QQYNSSPYT	40
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGHIFISYYIH WVRQAPGQGLEWMGIIDPSGGSKSYAQKFQGRVT MTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARQGMIV GTTGDAFDIWGQGTMVTVSS	7
	VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSASSYLAWY QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFT LTISRLEPEDFAVYYCQQYNSSPYTFGQGTKLEIK	8
DL3B409	HCDR1	TYYIH	24
	HCDR2	IIDPSGGRTSYAQKFLG	25
	HCDR3	GGDGTWYYGMDV	26
	LCDR1	RASQGISNYLA	41
	LCDR2	AASTLQS	42
	LCDR3	QQLNSYPLT	43
	VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTYYIH WVRQAPGQGLEWMGIIDPSGGRTSYAQKFLGRVT MTRDTSTSTVYMELRSLRSEDTAVYYCARGGDGT WYYGMDVWGQGTTVTVSS	9
	VL	DIVMTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWY QQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFT LTISSLQPEDFATYYCQQLNSYPLTFGGGTKVEIK	10
DL3B450	HCDR1	SYYWS	27
	HCDR2	RIYTSGSTNYNPSLKS	28
	HCDR3	DQAYSGYDWSYYYYGMDV	29
	LCDR1	RSSQSLLHSNGYNYLD	44
	LCDR2	LGSNRAS	45
	LCDR3	MQALQTPLT	46
	VH	QVQLQQSGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWS WIRQPAGKGLEWIGRIYTSGSTNYNPSLKSRVTMS VDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDQAYSGY DWSYYYYGMDVWGQGTMVTVSS	11
	VL	ETTLTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNY LDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGS GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPLTFGGGT KVEIK	12
DL3B461	HCDR1	SYVIS	30
	HCDR2	GIIPIFGTANYAQKFQD	31
	HCDR3	DPFSDL	32
	LCDR1	RSSQSLVHSDGNTYLN	47

抗體	區域	胺基酸序列	SEQ ID NO:
	LCDR2	QISNPFS	48
	LCDR3	MQATQFPHT	49
	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTLSSYVIS WVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQDRVTI TADKSTNTAYMELTSLTSEDTAVYYCARDPFSDL WGRGTMVTVSS	13
	VL	DIVMTQSPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNT YLNWLQQRPGQPPRLLIYQISNPFSGVPDRFSGSGA GTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFPHTFGPGT KVEIK	14

表18.所選抗DLL3抗體之VH及VL域的蛋白質及DNA序列之SEQ ID NO。

抗體	VH 蛋白質 SEQ ID NO:	VL 蛋白質 SEQ ID NO	VH cDNA SEQ ID NO:	VL cDNA SEQ ID NO:
DL3B279	1	2	163	164
DL3B279 變體	3	4	165	166
DL3B332	5	6	167	168
DL3B358	7	8	169	170
DL3B409	9	10	171	172
DL3B450	11	12	173	174
DL3B461	13	14	175	176

Fab-Fc及scFv

【0804】 DLL3特異性VH/VL區經工程改造為呈VH-CH1-鉸鏈CH2-CH3及VL-CL格式的Fab-Fc且表現為IgG1、IgG2、或IgG4。DLL3特異性VH/VL亦使用實例2及表2中所述之SEQ ID NO:120之連接子（連接子1）經工程改造為呈VH-連接子-VL (scFv-LH)或VL-連接子-VH定向(scFv-LH)（**表19**）的scFv。使用這些scFv來產生雙特異性抗體。

表19.所選呈VL-連接子-VH (LH)格式之抗DLL3 scFv抗體之可變域之胺基酸序列。

頭字語	SEQ ID NO:
DL3B279 scFv_LH	63
DL3B279 scFv_LH 變體	64
DL3B332 scFv _LH	65
DL3B358 scFv_LH	66
DL3B409 scFv_LH	67
DL3B450 scFv_LH	68
DL3B461 scFv_LH	69
DL3B279 scFv_HL	190
DL3B279 scFv 變體_HL	191
DL3B332 scFv _HL	192
DL3B358 scFv_HL	193
DL3B409 scFv_HL	194
DL3B450 scFv_HL	195
DL3B461 scFv_HL	196

【0805】 呈VL-連接子-VH (LH)格式之所選抗DLL3 scFv抗體之可變域之DNA序列係：DL3B279-scFv-LH DNA (SEQ ID NO:260)；DL3B279-scFv-LH變體DNA (SEQ ID NO:261)；DL3B332-scFv-LH DNA (SEQ ID NO:262)；DL3B358-scFv-LH DNA (SEQ ID NO:233)；DL3B409-scFv-LH DNA (SEQ ID NO:234)；DL3B450-scFv-LH DNA (SEQ ID NO:235)；DL3B461-scFv-LH DNA (SEQ ID NO:236)。

實例6：抗CD3抗體之產生

免疫

【0806】 抗CD3抗體CD3B376之產生描述於US20200048349，其以引用方式全文併入本文中。使用Kabat描繪，CD3B376 Fab包含胺基酸序列NNNAAWS (SEQ ID NO:98)之HCDR1、胺基酸序列RTYYRSKWLYDYAYSYKS (SEQ ID NO:99)之HCDR2、及胺基酸序列GYSSSFDY (SEQ ID NO:100)之HCDR3、及胺基酸序列TGTSSNIGTYKFVS (SEQ ID NO:106)之LCDR1、胺基酸序列EVSKRPS (SEQ ID NO:107)之LCDR2、及胺基酸序列VSYAGSGTLL (SEQ ID NO:108)之LCDR3。CD3B376之VH及VL序列係：SEQ ID NO:84，CD3B376 Fab之VH胺基酸序列；SEQ ID NO:85，CD3B376 Fab之VL胺基酸序列；SEQ ID NO:93，CD3B376 Fab之VH核酸序列；及SEQ ID NO:94，CD3B376 Fab之VL核酸序列。

【0807】 替代地，使用Ablexis基因轉殖小鼠平台來產生抗CD3抗體。將Ablexis小鼠用TRCW5 (SEQ ID NO:197)免疫，包括13隻κ小鼠及12隻λ小鼠。TRCW5包含用26個胺基酸連接子融合至CD3ε之胞外區的CD3δ之胞外區。將具有C端Avi標籤之人類IgG1 Fc域添加至C端以進行位點特異性生物素化。

【0808】 每週對小鼠進行免疫兩次持續7週。在第42天，藉由分散在8個部位（包括6個皮下及2個皮內注射）投予50 μg TRCW5及50 μg CD40 mAb來加強小鼠，以進行融合瘤融合。以最終加強而言，小鼠接受20 μL Jurkat細胞（4.74x107個細胞/mL）注射，這是一種內源性表現T細胞受體複合物（包括CD3ε）的T細胞系(Schneider et al (1977) Int. J. Cancer, 19 (5): 621-6)。

【0809】 自小鼠萃取淋巴結及脾臟並依世代進行融合。將淋巴結細胞計數並與FO骨髓瘤細胞(ATCC (CRL-1646))以1:1的比組合，並在抗體篩選之前在37℃下培養10天。接著，根據製造商說明，藉由ELISA使用非特異性固定在盤

上之TRCW5 (ELISA, Thermo cat.# 34022)或藉由與生物素化TRCW5之鏈黴親和素接合(SPARCL ELISA, Lumigen)進行固定來檢定來自融合瘤融合細胞之上清液與TRCW5的結合。藉由在4℃下用0.5 ug/mL TRCW5及0.5 ug/mL HVEM-Fc (R&D cat.塗佈盤隔夜來進行ELISA檢定。藉由在4℃下於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中添加0.4% (w/v)牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)隔夜來將盤封閉。將盤用補充有0.02% (v/v) Tween 20之1 X PBS洗滌。在各孔中施用50 uL的融合瘤上清液並在室溫下培養1 hr。藉由添加1:10,000稀釋於封閉緩衝液中之接合至辣根過氧化酶之山羊抗小鼠IgG Fc (Jackson cat.# 115-036-071)，接著在室溫下培養30 min來偵測結合抗體。以25 uL/孔添加3, 3', 5, 5'-四甲基聯苯胺(TMB)基底緩衝液(Thermo cat.# 34022)且在黑暗中培養10 min。藉由添加25 uL/孔的4 M H_2SO_4來停止反應。使用BioTek® Epoch2微量盤讀取儀在450 nm下讀取發光。選擇比起背景具有至少高出3倍信號的命中。

【0810】　兩種檢定格式導致426個命中（264個命中來自ELISA，194個來自SPARCL ELISA，70個命中在兩種檢定中皆識別）。在這426個初始命中當中，證實49個ELISA及32個SPARCL ELISA命中。再餵養(refed)對應於陽性結合劑之雜交瘤融合並使用流動式細胞測量術測試其結合內源性表現CD3之Jurkat細胞的能力。三種抗體（包括殖株003_F12、殖株036_E10、及殖株065_D03）顯示基於平均螢光指數(mean fluorescence index, MFI)（**表20**）之顯著的與內源性表現CD3之Jurkat細胞的結合。雖然殖株003_F12及036_E10（來自人類κ小鼠）藉由ELISA證實為人類κ輕鏈陽性，但殖株065_D03（來自人類λ小鼠）為人類λ陰性。將這三個殖株的可變基因定序。

表20：所選殖株與Jurkat細胞之結合的平均螢光指數(MFI)。

殖株 ID	MFI（任意單位）
003_F12	176,147
036_E10	43,133
065_D03	136,269
無 Ab	2,075.61
10 nM UCHT1	89,214.29

【0811】 接下來，篩選這三個殖株結合初代人類及食蟹獼猴T細胞的能力。簡言之，將初代人類及食蟹獼猴泛T細胞以1 X 10^6個細胞/mL重懸於流式染色緩衝劑，並將細胞以50,000個細胞/孔接種。在各孔中添加50 µL的融合瘤上清液，並將混合物在冰上培養30 min。在培養之後，添加200 µL的染色緩衝劑，並將細胞以300 X G離心5 min而沉澱。將接合至Alexa-647之抗小鼠IgG以2 µg/mL添加於50 µL總體積染色緩衝劑中，並在冰上培養30 min。添加150 µL的染色緩衝劑，並將細胞以300 X G離心5 min而沉澱。將細胞重懸於含有經1:1,000稀釋的Sytox綠色死亡細胞染料之30 µL的運行緩衝劑中，並在iQue篩選器上運行。在FCS vs SCS上閘控細胞以消除碎屑。在SCS-A vs SCS-H上閘控單態細胞(singlet)，且使用BL1通道自單態細胞群體選擇Sytox綠色呈低陰性之活細胞。CD3結合係藉由比較測試物品與陰性對照組的RL1 (Alexa-647)幾何平均值來評估。在此檢定中，殖株065_D03顯示最高細胞結合信號。

【0812】 然後，將殖株065_D03之可變區選殖至IgG1主鏈中，產生稱為CD3B815之抗體（序列係顯示於**表21**）。再次篩選CD3B815與Jurkat細胞的結合且顯示與Jurkat細胞的陽性結合。

表21. CD3B815胺基酸序列。

蛋白質	SEQ ID NO:
CD3B815（重鏈）	198
CD3B815（輕鏈）	199

CD3結合域的人源化及scFv格式化

【0813】 CD3B815之v區的輕鏈(LC)係以scFv格式人源化。簡言之，將來自CD3B815之LC植入人類IGKV1-39*01-IGKJ2*01生殖系上，並識別位置Y49K以進行人類至小鼠回復突變。來自CD3B815之LC亦在92至93位處含有NS (Asn-Ser)模體，其存在在此位點處脫醯胺化之風險。將CD3B815 CDR植入至IGKV1D-39*01中，並引入LC突變Y49K及N92G，導致具有如下文所述之VH及VL序列之CD3W245抗體。

【0814】 **表22**顯示所選抗CD3抗體之VH及VL胺基酸序列。**表23**顯示所選抗CD3抗體之VH及VL DNA序列。

【0815】 **表24**顯示CD3 scFv胺基酸序列。**表25**顯示以Kabat描繪之所選抗CD3抗體之Kabat HCDR1、HCDR2、及HCDR3胺基酸序列。**表26**顯示以Kabat描繪之所選抗CD3抗體之Kabat LCDR1、LCDR2、及LCDR3胺基酸序列。**表27**彙總所選CD3抗體之CDR、VH、及VL序列。

表22.所選抗CD3變體之VH及VL胺基酸序列。

mAb	VH SEQ ID NO	VL SEQ ID NO
CD3B815	77	78
CD3W245	77	80

表23.人源化變體之VH及VL核酸序列。

mAb	VH SEQ ID NO:	VL SEQ ID NO:
CD3B815	86	87
CD3W245	86	89

表24.使用Kabat描繪之所選抗CD3抗體之HCDR1、HCDR2、及HCDR3胺基酸序列。

mAb	HCDR1	SEQ ID NO:	HCDR2	SEQ ID NO:	HCDR3	SEQ ID NO:
CD3B815	RYNMN	95	SISTSSNYIYYADSVKG	96	GWGPFDY	97
CD3W245	RYNMN	95	SISTSSNYIYYADSVKG	96	GWGPFDY	97

表25.使用Kabat描繪之所選抗CD3抗體之LCDR1、LCDR2、及LCDR3胺基酸序列。

mAb	LCDR1	SEQ ID NO:	LCDR2	SEQ ID NO:	LCDR3	SEQ ID NO:
CD3B815	RARQSIGTAIH	101	YASESIS	102	QQSNSWPYT	103
CD3W245	RARQSIGTAIH	101	YASESIS	102	QQSGSWPYT	104

表26.抗CD3抗體之HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3、VH、及VL

抗體	區域	胺基酸序列	SEQ ID NO:
CD3B815	HCDR1	RYNMN	95
	HCDR2	SISTSSNYIYYADSVKG	96
	HCDR3	GWGPFDY	97
	LCDR1	RARQSIGTAIH	101
	LCDR2	YASESIS	102
	LCDR3	QSNSWPYT	103
	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDN	77

		AKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDYWGQGT LVTVSS	
	VL	DILLTQSPGILSVSPGERVSFSCRARQSIGTAIHWYQQR TNGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLTINSVES EDIADYYCQQSNSWPYTFGGGTKLEIK	78
CD3BW245	HCDR1	RYNMN	95
	HCDR2	SISTSSNYIYYADSVKG	96
	HCDR3	GWGPFDY	97
	LCDR1	RARQSIGTAIH	101
	LCDR2	YASESIS	102
	LCDR3	QQSGSWPYT	104
	VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSRYNMNW VRQAPGKGLEWVSSISTSSNYIYYADSVKGRFTFSRDN AKNSLDLQMSGLRAEDTAIYYCTRGWGPFDYWGQGT LVTVSS	77
	VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRARQSIGTAIHWYQQ KPGKAPKLLIKYASESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQSGSWPYTFGQGTKLEIK	80
CD3B376	HCDR1	NNNAAWS	98
	HCDR2	RTYYRSKWLYDYAYSYKS	99
	HCDR3	GYSSSFDY	100
	LCDR1	TGTSSNIGTYKFVS	106
	LCDR2	EVSKRPS	107
	LCDR3	VSYAGSGTLL	108
	VH	QVQLQQSGPRLVRPSQTLSLTCAISGDSVFNNNAAWS WIRQSPSRGLEWLGRTYYRSKWLYDYAVSVKSRITV NPDTSRNQFTLQLNSVTPEDTALYYCARGYSSSFDYW GQGTLVTVSS	84
	VL	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSNIGTYKFVSWYQ QHPDKAPKVLLYEVSKRPSGVSSRFSGSKSGNTASLTI SGLQAEDQADYHCVSYAGSGTLLFGGGTKLTVL	85

【0816】 CD3W245之VH及VL序列亦呈VH-連接子-VL定向(scFv-HL)或呈VL-連接子-VH定向(ScFv-LH)表現為scFv格式。使用SEQ ID NO:120之連接子序列(GGSEGKSSGSGSESKSTGGS)接合VH/VL區。CD3W245 scFv LH及CD3W245 scFv HL之序列顯示於表27中。

表27. scFv胺基酸序列

scFv 名稱	SEQ ID NO:
CD3W245-scFv-LH	105
CD3W245-scFv-HL	119

在熱休克之後人源化抗CD3 scFv變體與CD3之結合。

【0817】 CD3W245之可變區亦使用連接子GTEGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO:139)格式化為呈VH-連接子-VL定向的scFv以用於在大腸桿菌中表現。6X his標籤在C端經工程改造。使用此構築體測試與重組CD3（均二聚體CD3εγ-Fc，CD3W147，SEQ ID NO:200）之結合及與T細胞之結合。在大腸桿菌中表現之CD3W147及CD3W245 scFv HL之序列顯示於

【0818】 在大腸桿菌中表現之SEQ ID NO:200 (CD3W147)及SEQ ID NO:206 (CD3W245-HL-E.c.)中。

【0819】 簡言之，將編碼scFv之序列選殖至pADL™-22c載體中，該載體具有用於分泌之PelB前導序列。將大腸桿菌細胞用質體轉化，並於補充有100 μg/mL卡本西林(Carbenicillin)之2xYT微生物生長培養基中在37℃下生長整夜。蛋白質表現係藉由添加1 mM IPTG誘導，且使培養物生長整夜。在表現之後，將細胞以2,200 X g離心5 min而沉澱，並收集上清液且藉由ELISA直接測試與生物素化CD3W147的結合。

【0820】 抗CD3抗體(CD3W245 scFv-HL)與CD3W147之結合係藉由ELISA來判定。將生物素化CD3W147以於2倍稀釋液中範圍0.039 μg/mL至2.5 μg/mL之濃度固定在盤上，接著在室溫下培養45 min。使用雞抗HA-辣根過氧

化酶偵測結合scFv，然後用化學發光底物偵測。CD3W245顯示與CD3W147之結合（數據未顯示）

【0821】 接著使用流動式細胞測量術測試CD3W245 scFv-HL結合T細胞的能力。簡言之，將人類T細胞解凍並以1 X 10^6個細胞/mL重懸於流式染色緩衝劑並以50,000個細胞/孔接種。使用陽性對照（CD3W36，其包含格式化為scFv-LH之抗CD3抗體SP34）及陰性對照（B23，靶向呼吸道融合病毒之F-糖蛋白之scFv）比較。以150 µL/孔添加大腸桿菌上清液表現CD3W245 scFv-HL並在4℃下培養1 hr。在培養之後，將盤用染色緩衝劑洗滌，並用染色緩衝劑中之接合至Alexa-647之抗His抗體偵測。在培養之後，將200 µL的IntelliCyt運行緩衝劑添加至混合物中，且將細胞重懸於含有1:1,000 Sytox綠色死亡細胞染料之30 µL運行緩衝劑中，並在iQue篩選器上分析。如上所述執行閘控及分析。CD3W245 scFv-HL展示與T細胞結合一致的平均螢光指數（**表28**）。

表28.人源化scFv分子之基於T細胞之結合。

蛋白質	**MFI (n=2)**
CD3W245-HL-E.c.	178140.0
B23	51.8
CD3W36	99451.6

實例7. DLL3表位對於雙特異性DLL3 × CD3介導之細胞毒性之效應

【0822】 為了判定DLL3表位對於雙特異性DLL3 × CD3介導之殺滅DLL3+目標細胞的效應，T細胞重導向係使用人類泛T細胞作為效應物及SHP-77細胞作為目標以3:1比執行72小時。使用能夠結合至個別DLL3子域的DLL3抗

體生成各種DLL3 × CD3抗體，以研究域結合對細胞毒性的影響。將結合至各種DLL3子域之DLL3抗體與三個不同的CD3臂（實例5中所述之CD3B376及CD3W245及US20200048349中所述之CD3B219）組合以產生此研究中所用之雙特異性抗體。

【0823】 DLL3 × CD3介導之殺滅實驗係使用等體積(100ul)的2X測試樣本，於自20nM之½ log稀釋液（最終以10nM開始）中進行，將測試樣本添加至50,000個CSFE標示SHP-77細胞中並在37℃下與150,000個泛T細胞以最終體積200ul RPMI，10% FBS混合72hr。72小時之後，將盤用PBS洗滌1x，於染料緩衝液中與Near IR L/D染料及BV421標示抗CD25抗體一起培養20分鐘。將細胞用染色緩衝劑洗滌二次、重懸於25 ul Accutase達10分鐘，接著添加25 ul之QSol緩衝劑。在IQue plus上讀取盤且在CSFE陽性群體（腫瘤細胞）及CSFE陰性細胞（T細胞）上閘控細胞且兩個群體後續在活/死染色上閘控。進一步在CD25染色上閘控活T細胞。所計算之輸出係腫瘤殺滅%、CD25 T細胞活化%、及T細胞存活性。使用寶石紅染色對照（空白100%死亡）及僅T細胞/僅SHP-77從殘渣及接著個別細胞群體閘控含有核之細胞。使用4參數曲線擬合在GeneData Screenr中分析數據。

【0824】 表31至33顯示與各種CD3臂成對之各DLL3結合劑在72小時結束時所觀察到之SHP-77細胞最大裂解百分比。發明人意外發現，出現當DLL3內之結合域朝向一級序列之C端移動或靠近腫瘤膜時，各域之最大殺滅隨之增加的有趣趨勢。結果指示，%腫瘤殺滅取決於DLL3上之結合表位，且隨著抗體結合至離膜較遠的DLL3子域，細胞裂解減少（**表29至31**）。腫瘤殺滅%隨著DLL3結合表位變得更靠近膜而改善。此趨勢相對一致且與CD3臂無關。

【0825】 特別是，最大殺滅效率當DLL3-CD3雙特異性抗體結合時從DLL3之EGF2改善至EGF6子域，且當測試抗體結合EGF-6域或靠近C端時達到最高百分比。

表29.SHP-77在與人類泛T細胞及雙特異性抗DLL3 × CD3W245抗體以3:1 ET比（CD3:目標細胞）共培養之後第3天的裂解%。

名稱	雙特異性描述	DLL3 臂	DLL3 表位	最大殺滅%
CD3B1706	CD3W245-Fab-RF；DL3B279-scFv	DL3B279-scFv	EGF6	89.7
CD3B1506	CD3W245-Fab-RF；DL3B463-scFv	DL3B463-scFv	EGF3/EGF4	94.5
CD3B1346	CD3W245-Fab-RF；DL3B419-scFv	DL3B419-scFv	EGF2/EGF3	85.2
CD3B1586	CD3W245-Fab-RF；DL3B470-scFv	DL3B470-scFv	DSL	55.5

表30. SHP-77在與人類泛T細胞及雙特異性抗DLL3 × CD3B376抗體以3:1 ET比（CD3:目標細胞）共培養之後第3天的裂解%。

名稱	雙特異性描述	DLL3 臂	DLL3 表位	最大殺滅%
CD3B1738	CD3B376-Fab-RF；DL3B279-scFv	DL3B279-scFv	EGF6	74.3
CD3B1538	CD3B376-Fab-RF；DL3B463-scFv	DL3B463-scFv	EGF3/EGF4	25.9
CD3B1378	CD3B376-Fab-RF；DL3B419-scFv	DL3B419-scFv	EGF2/EGF3	49.1
CD3B1618	CD3B376-Fab-RF；DL3B470-scFv	DL3B470-scFv	DSL	3.4

表31. SHP-77在與人類泛T細胞及雙特異性抗DLL3 × CD3B219抗體以3:1 ET比（CD3:目標細胞）共培養之後第3天的裂解%。

名稱	雙特異性描述	DLL3 臂	DLL3 表位	最大殺滅%
CD3B1737	CD3B219-Fab-RF；DL3B279-scFv	DL3B279-scFv	EGF6	86.4
CD3B1377	CD3B219-Fab-RF；DL3B419-scFv	DL3B419-scFv	EGF2/EGF3	73.1
CD3B1617	CD3B219-Fab-RF；DL3B470-scFv	DL3B470-scFv	DSL	21.9

實例8.雙特異性DLL3 × CD3的產生

【0826】 選擇DL3B279及DL3B279變體(DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv)以用於產生DLL3 × CD3雙特異性。抗DLL3抗體之VH/VL區及抗CD3抗體CD3B376及CD3W245之VH/VL區係經工程改造為雙特異性格式且表現為IgG1。

工程改造CD3及DLL3 scFv以用於雙特異性DLL3 × CD3之產生

【0827】 使用SEQ ID NO: 120之連接子將CD3 VH/VL區工程改造為呈VH-連接子-VL或VL-連接子-VH定向之scFv（**表2**）。將結合CD3之VH-連接子-VL或VL-連接子-VH scFv分子進一步呈IgG1工程改造為scFv-鉸鏈-CH2-CH3格式，其包含Fc靜默突變(L234A/L235A/D265S)及允許DLL3及CD3重鏈異二聚化之二聚化突變。

【0828】 使用如上述產生CD3 scFv之相同連接子SEQ ID NO:120將DLL3 VH/VL區工程改造為呈VL-連接子-VH定向之scFv（**表2**）。將結合DLL3之VL-連接子-VH scFv分子進一步呈IgG1工程改造為包含Fc靜默突變(L234A/L235A/D265S)之scFv-鉸鏈-CH2-CH3格式。設計用來促進Fc域選擇性異二聚化之突變亦工程改造於Fc域中。

工程改造CD3及DLL3 Fab以用於DLL3/CD3雙特異性分子之產生

【0829】 亦將CD3及DLL3特異性VH及VL區分別工程改造為VH-CH1-鉸鏈-CH2-CH3及VL-CL格式，且表現為IgG1。將Fc靜默突變L234A/L235A/D265S導入Fc區。設計用來促進Fc域選擇性異二聚化之突變亦工程改造於Fc域中。

雙特異性DLL3 × CD3抗體的表現

【0830】 雙特異性抗體的表現係遵照製造商建議，在ExpiCHO-S™細胞中藉由暫時轉染經純化之質體DNA進行。簡言之，將ExpiCHO-S™細胞懸浮維持於設定37℃、8% CO_2、及125 RPM之迴轉震盪培養箱中之ExpiCHO™表現培養基(ThermoFisher Scientific, Cat # A29100)中。將細胞繼代並在轉染前稀釋至每ml 6.0×10^6個細胞，維持99.0%或更佳之細胞存活性。使用ExpiFectamine™ CHO轉染套組（例如，ThermoFisher Scientific，Cat # A29131）進行暫時轉染。以每ml之待轉染的經稀釋細胞而言，使用0.5微克之編碼各雙特異性抗體之DNA（以HC1:LC1:HC2 = 1:2:2之比）及0.5微克之pAdVAntage DNA (Promega, Cat# E1711)並稀釋於OptiPRO™ SFM複合培養基中。以每公升的細胞而言，將2.56 mL之ExpiFectamine™ CHO試劑稀釋於8 mL之OptiPRO™中。將稀釋的DNA及轉染試劑合併一分鐘，允許DNA/脂質錯合物形成，接著添加至細胞。在整夜培養後，依照製造商標準規程，將ExpiCHO™ feed及ExpiFectamine™ CHO增強劑添加至細胞。使細胞在37℃下迴轉震盪(125 rpm)培養七天，之後收集培養液。來自暫時轉染ExpiCHO-S™細胞之培養上清液係

藉由離心(30 min, 3000rcf)澄清，隨後過濾（0.2 μm PES膜，Corning；Corning, NY）。

雙特異性DLL3 × CD3的純化

【0831】 使用AKTA Avant 150層析系統，將過濾的細胞培養上清液裝載至預平衡(1xDPBS, pH 7.2)的HiTrap MabSelect SuRe蛋白質A管柱(GE Healthcare)上。在裝載後，將管柱用5倍管柱體積之1xDPBS, pH7.2洗滌。將蛋白質用8倍管柱體積之0.1 M乙酸鈉(Na) pH 3.5洗提。將蛋白質流份藉由添加2.5 M Tris HCl, pH 7.2至15% (v/v)最終體積來完全中和並經針筒過濾(0.2 μm)。將經中和之蛋白質溶液裝載至2x 5 mL預填充之CaptureSelect™ IgG-CH1 Affinity Matrix (Thermo Fisher Scientific)上。將管柱用10倍管柱體積之1xDPBS, pH7.2洗滌。將蛋白質用10倍管柱體積之0.1 M乙酸鈉(Na) pH 3.5洗提。將蛋白質流份藉由添加2.5 M Tris HCl, pH 7.2至15% (v/v)最終體積來完全中和。將主要尖峰流份彙集、用總共3次透析變化透析至1xDPBS, pH 7.2並過濾(0.2 μm)。

DLL3 × CD3雙特異性抗體之結構表徵

【0832】 **表32**描述所選DLL3/CD3雙特異性抗體之HC及LC胺基酸SEQ ID NO。**表33**顯示所選DLL3/CD3雙特異性抗體之HC及LC胺基酸序列。**表34**描述所選DLL3/CD3雙特異性抗體之Kabat CDR SEQ NO。**表35**描述所選DLL3/CD3雙特異性抗體之HC及LC核苷酸序列ID NO

表32. DLL3/CD3雙特異性抗體之HC及LC胺基酸SEQ ID NO

雙特異性名稱	DLL3 臂			CD3 臂		
	名稱	HC1 或 scFv -Fc SEQ ID NO:	LC1 SEQ ID NO:	名稱	HC2 或 scFv - Fc SEQ ID NO:	LC2 SEQ ID NO:
DL3B582	DL3B279-Fab-Fc	109	110	CD3W245-LH-scFv-Fc	112	
DL3B583	DL3B279-Fab-Fc	109	110	CD3W245-HL-scFv-Fc	113	
DL3B585	DL3B279-LH-scFv-Fc	111		CD3B376-Fab-Fc	116	117
DL3B587	DL3B279-LH-scFv-Fc	111		CD3W245-Fab-Fc	114	115
D3C3B80	DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv-Fc (ZW)	71		CD3B376-K477-Fab-Fc	118	117
D3C3BB3	DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv-Fc (KIH)	229		CD3B376-Fab-Fc	230	117

表33：所選雙特異性抗體之胺基酸序列

蛋白質	SEQ ID NO:
DL3B279-Fab-Fc HC1	109
DL3B279-Fab-Fc LC1	110
DL3B279-LH-scFv	111
DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv-Fc (ZW)	71
CD3W245-LH-scFv-Fc	112
CD3W245-HL-scFv-Fc	113
CD3W245-Fab-Fc HC2	114
CD3W245-Fab-Fc LC2	115
CD3B376-Fab-Fc HC2	116
CD3B376-Fab-Fc LC2	117
CD3B376-Fab-Fc K477 HC2	118
CD3B376-Fab-K477 LC2	117
DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv-Fc (KIH)	229
CD3B376-Fab-Fc HC2	230

表34.雙特異性DLL3/CD3抗體之Kabat CDR SEQ ID NO

雙特異性抗體	親本（DLL3 臂/CD3 臂）	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
DL3B582	DL3B279-Fab	15	16	17	33	34	35
	CD3W245 LH-scFv	95	96	97	101	102	104
DL3B583	DL3B279 Fab	15	16	17	33	34	35
	CD3W245-HL-scFv	95	96	97	101	102	104
DL3B585	DL3B279-LH-scFv	15	16	17	33	34	35
	CD3B376-Fab	98	99	100	106	107	108
DL3B587	DL3B279-scFv	15	16	17	33	34	35
	CD3W245-Fab	95	96	97	101	102	104
D3C3B80	DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv (ZWB)	15	16	17	33	34	35
	CD3B376-K477-Fab	98	99	100	106	107	108
D3C3BB3	DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv (KIH)	15	16	17	33	34	35
	CD3B376-Fab (KIH)	98	99	100	106	107	108

表35.DLL3/CD3雙特異性抗體之HC及LC DNA SEQ ID NO

雙特異性名稱	DLL3 臂			CD3 臂		
	名稱	HC1 或 scFv -Fc SEQ ID NO:	LC1 SEQ ID NO:	名稱	HC2 或 scFv - Fc SEQ ID NO:	LC2 SEQ ID NO:
DL3B582	DL3B279-Fab-Fc	267	268	CD3W245-LH-scFv-Fc	269	
DL3B583	DL3B279-Fab-Fc	267	268	CD3W245-HL-scFv-Fc	270	
DL3B585	DL3B279-LH-scFv-Fc	265		CD3B376-Fab-Fc	235	236
DL3B587	DL3B279-LH-scFv-Fc	265		CD3W245-Fab-Fc	177	202
D3C3B80	DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-	266		CD3B376-K477-Fab-Fc	256	264

	LH-scFv (ZWB)					
D3C3BB3	DL3B279-scFv-Fc (KIH)	239		CD3B376-Fab-Fc (KIH)	237	238

【0833】 特別是，DLL3/CD3雙特異性抗體之HC及LC DNA序列包括例如SEQ ID NO:267（DL3B582及DL3B583中之DL3B279-Fab-Fc HC1 cDNA）；SEQ ID NO:268（DL3B582及DL3B583中之DL3B279-Fab-Fc LC1 cDNA）；SEQ ID NO:265（DL3B585及DL3B587中之DL3B279 LH scFv-Fc cDNA）；SEQ ID NO:266（DL3B279 LH scFv變體-Fc cDNA）；SEQ ID NO:239（DL3B279 scFv-Fc變體KIH cDNA）；SEQ ID NO:269 (CD3W245 LH scFv-Fc cDNA)；SEQ ID NO:270 (CD3W245 HL scFv-Fc cDNA)；SEQ ID NO:177 (CD3W245 Fab-Fc HC2 cDNA)；SEQ ID NO:202 (CD3W245 Fab-Fc LC2 cDNA)；SEQ ID NO:256 (CD3B376 Fab-Fc HC2 cDNA)；SEQ ID NO:264 (CD3B376 Fab-Fc LC2 cDNA)；SEQ ID NO:237 (CD3B376 Fab-Fc HC2 KIH cDNA)；及SEQ ID NO:238 (CD3B376 Fab-Fc LC KIH cDNA)。

實例9.雙特異性DLL3 × CD3抗體之表徵

雙特異性抗DLL3 × CD3抗體對DLL3之結合親和力

【0834】 使用Biacore T200儀器，藉由表面電漿共振(SPR)判定抗DLL3xCD3抗體對重組人類DLL3之結合親和力。抗體被捕捉在經山羊抗Fc抗體修飾之C1晶片上，且用濃度橫跨90 nM至1.1 nM之DLL3抗原之3倍連續稀釋液滴定。使用100 μL/min之流速，監測締合2分鐘及解離5或60分鐘。原始結合數據係藉由減去來自空白之分析物結合信號參照，且使用1:1 Langmuir結合模型

使用Biacore Insight評估軟體分析，以獲得用於計算結合親和力之動力學。抗DLL3xCD3抗體對重組人類DLL3之結合親和力係彙總於**表36**。

表36：抗DLL3xCD3雙特異性抗體與人類DLL3之交互作用的親和力(K_D)。

名稱	描述	k_D (pM)
DL3B582	CD3W245-LH-scFv；DL3B279-Fab	16
DL3B583	CD3W245-HL-scFv；DL3B279-Fab	16
DL3B585	CD3B376-Fab；DL3B279-LH-scFv	24
DL3B587	CD3W245-Fab；DL3B279-LH-scFv	31

【0835】　為了確保如實例5所述之DL3B279變體之HCDR1區（或靠近HCDR1區，取決於所使用的描繪）中之N至Q突變不導致與DLL3結合之變化，使用如上文所述之Biacore T200儀器，藉由表面電漿共振(SPR)判定DL3B279變體與重組人類DLL3之結合親和性並與親本DL3B279比較。結果（**表37**）顯示含有DL3B279變體(DL3B279-VL-A99G-VH-DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-LH-scFV)之DLL3 × CD3雙特異性分子(D3C3B80)的結合親和力與含有原始DL3B279-LH-scFV分子(DL3B585: 24 pM)之原始DLL3xCD3雙特異性分子(DL3B585)係可相比的。

表37：雙特異性抗DLL3 × CD3抗體與人類DLL3之交互作用的親和力(K_D)。

名稱	描述	k_D (pM)
DL3B585	CD3B376-Fab； DL3B279-LH-scFv	24
D3C3B80	CD3B376-Fab； DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV	33

雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之熱穩定性

【0836】 使用自動化Prometheus儀器，藉由NanoDSF方法判定雙特異性抗DLL3xCD3抗體之熱穩定性（構形穩定性）。將樣本自384孔樣本盤裝載至24孔毛細管中，以進行測量。執行二重複運行。熱掃描以1.0℃/分鐘的速率自20℃跨至95℃。數據經處理以獲得整合數據及330 nm、350 nm、比率330/350、及散射數據的第一衍生分析，自此獲得熱轉變、去折疊開始、T_m、及T_{agg}。

【0837】 結果顯示雙特異性抗DLL3 × CD3抗體具有高於59℃的第一轉變(T_{m1})。結果亦顯示，除DL3B585之外，大多數蛋白質均具有低聚集潛能，其中T_{agg}高於70℃且比T_{m1}高5度或更高（**表38**）。

表38：使用NanoDSF儀器獲得之雙特異性抗DLL3 × CD3抗體之熱穩定性數據。

名稱	描述	T_{agg}	T_{m1}
DL3B582	CD3W245-LH-scFv；DL3B279-Fab	74.7℃	63.3℃
DL3B583	CD3W245-HL-scFv；DL3B279-Fab	75.4℃	63.1℃
DL3B585	CD3B376-Fab； DL3B279-LH-scFv	62.7℃	60.8℃
DL3B587	CD3W245-Fab； DL3B279-LH-scFv	74.6℃	62.4℃

【0838】 亦判定含有DL3B279變體之雙特異性抗DLL3 CD3抗體(D3C3B80)之熱穩定性。結果（**表39**）顯示具有DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV變體之雙特異性DLL3 × CD3抗體(D3C3B80)的熱穩定性

與具有原始DL3B279-LH-scFv序列之原始雙特異性分子（DL3B585：T_{agg} = 62.7，T_{m1} = 60.8，顯示於**表39**）係可相比的。

表39：使用nanoDSF儀器獲得之抗DLL3抗體之熱穩定性數據。

名稱	描述	T_{agg}	T_{m1}
DL3B585	CD3B376-Fab； DL3B279-LH-scFv	62.7℃	60.8℃
D3C3B80	CD3B376-Fab； DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV	62.4℃	60.9℃

雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在DLL3$^+$腫瘤細胞上之結合

【0839】 亦判定抗DLL3 × CD3抗體與DLL3$^+$人類腫瘤細胞系（HCC1833及SHP-77）之細胞結合概況。將附著的SCLC HCC1833細胞用DPBS洗滌，並添加0.25%胰蛋白酶以允許細胞剝離。添加培養基以中和胰蛋白酶，並將細胞轉移至15 mL錐形管。將懸浮SCLC SHP77細胞轉移至15 mL錐形管，並離心1200 rpm達3分鐘。將培養基吸出，並將細胞用DPBS再洗滌一次。細胞使用Vi-細胞XR細胞存活性分析儀計數並以100K/孔接種於100uL DPBS。將盤離心1200 rpm達3分鐘，並用DPBS洗滌2x。細胞用紫色活/死染料(Thermo-Fisher)染色，並在RT下於黑暗中培養25min。將細胞離心並用FACS染色緩衝劑(BD Pharmingen)洗滌2x。

【0840】 將測試抗體以FACS染色緩衝劑稀釋至最終起始濃度100nM，並自起始濃度製備3倍連續稀釋達總共10個稀釋點。將連續稀釋的測試抗體（100 µL/孔）添加至細胞，並在37°下培養30min。將細胞用FACS染色緩衝劑

洗滌2x，並添加接合AlexaFluor 647之驢抗人類二級抗體(Jackson Immunoresearch)且允許與細胞在4°下培養30 min。接著將細胞用FACS染色緩衝劑洗滌2x，並重懸於100uL FACS緩衝劑。細胞在BD Celesta上使用FACS Diva軟體運行，並使用FlowJo軟體分析。如**圖2A及圖2B**所示，DLL3-Fab臂（DL3B582及DL3B583）與DLL3-scFv臂（DL3B585及DL3B587）之間的結合概況係中度不同。

雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在泛T細胞上之結合

【0841】 亦評估抗DLL3 × CD3抗體與正常人類T細胞之細胞結合概況。將人類泛T細胞(Biological Specialty Corporation, Colmar, PA)解凍並轉移至含有DPBS（Dulbecco氏磷酸鹽鹽水緩衝劑）之15 mL錐形管。將細胞離心1300 rpm達5分鐘。將DPBS吸出，並將細胞重懸於DPBS中。細胞使用Vi-細胞XR細胞存活性分析儀計數並以100K/孔接種於100 µL DPBS。將盤離心1200 rpm達3分鐘，並用DPBS洗滌2x。細胞用紫色活/死染料(Thermo-Fisher)染色，並在RT下於黑暗中培養25min。將細胞離心並用FACS染色緩衝劑(BD Pharmingen)洗滌2x。將測試抗體以FACS染色緩衝劑稀釋至最終起始濃度100nM，並自起始濃度製備3倍連續稀釋達總共10個稀釋點。將連續稀釋的測試抗體（100uL/孔）添加至細胞，並在37°下培養30min。將細胞用FACS染色緩衝劑洗滌2x，並添加接合AlexaFluor 647之驢抗人類二級抗體(Jackson Immunoresearch)且允許與細胞在4°下培養30 min。將細胞用FACS染色緩衝劑洗滌2x，並重懸於100uL FACS緩衝劑。細胞在BD Celesta上使用FACS Diva軟體運行，並使用FlowJo軟體分析。如**圖3**所示，各種CD3臂的細胞結合概況不同。

【0842】 亦評估含有DL3B279變體(DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV)之抗DLL3 × CD3抗體與正常人類T細胞之細胞結合概況，且與含有原始DL3B279-LH-scFV分子之原始DLL3xCD3雙特異性(DL3B585)相比較。如**圖4**所示，具有DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV變體之雙特異性DLL3 × CD3抗體(D3C3B80)與具有原始DL3B279-LH-scFv序列之原始雙特異性分子(DL3B585)具有在T細胞上可相比的結合。

雙特異性DLL3 × CD3介導對抗泛T細胞中之DLL3$^+$目標細胞系之細胞毒性

【0843】 亦評估雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在DLL3$^+$及DLL3$^-$細胞系中之T細胞介導之殺滅潛力。產生穩定表現紅色核染料之DLL3$^+$ SHP77及DLL3$^-$ HEK293以用於基於IncuCyte之細胞毒性檢定。將健康供體T細胞(Biological Specialty Corporation, Colmar, PA)之冷凍小瓶於37℃水浴中解凍，轉移至15 mL錐形管，並用5 mL無酚紅RPMI/ 10% HI FBS培養基洗滌一次。使用Viacell XR細胞存活性分析儀計數細胞，並將T細胞與目標細胞合併達5:1之最終效應物T細胞對目標細胞(E: T)比。將細胞混合物（100uL/孔）合併於50 mL錐形管並添加至透明96孔平底盤。接著將測試抗體以無酚紅RPMI/10% HI FBS培養基稀釋至最終起始濃度60nM，並自起始濃度製備3倍連續稀釋達總共11個稀釋點。將連續稀釋的測試抗體（100uL/孔）添加至合併細胞。將盤放入IncuCyte® Zoom或IncuCyte S3® (Essen)在37℃、5% CO_2下達120小時。目標細胞系穩定表現紅色核染料，其係用於追蹤目標細胞裂解之動力學。細胞生長抑制百分比(%) =（初始活目標細胞數目-目前活目標細胞數目）/初始活細胞數目* 100%。如**圖**

5A及**圖5B**所示，T細胞細胞毒性檢定結果顯示所有雙特異性抗DLL3 × CD3抗體在5天內皆能夠達成>95%腫瘤裂解。

【0844】　亦評估含有DL3B279變體(DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV)之抗DLL3 × CD3抗體之T細胞介導之殺傷潛能，且與含有原始DL3B279-LH-scFV分子之原始DLL3xCD3雙特異性(DL3B585)相比較。如**圖6**所示，具有DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFV變體之雙特異性DLL3 × CD3抗體(D3C3B80)與具有原始DL3B279-LH-scFv序列之原始雙特異性分子(DL3B585)具有可相比的細胞生長抑制。

雙特異性DLL3 × CD3抗體介導泛T細胞中之細胞介素誘導

【0845】　評估雙特異性抗DLL3 xCD3抗體在DLL3$^+$人類腫瘤細胞系中的細胞介素釋放概況。上清液使用Human Proinflammatory Panel I組織培養套組(Meso Scale Discovery)分析並在濕冰上解凍，以1,500 rpm在4℃下離心5分鐘，接著放在冰上。MULT-SPOT檢定盤按照製造商規程預洗滌。標準曲線係藉由連續稀釋所提供的校正品於MSD稀釋劑1中製備。將標準品及測試抗體樣本（25uL/孔）添加至預洗滌盤。在SECTOR Imager 6000上讀取檢定盤。如**圖7**所示，細胞介素概況實驗之結果顯示IFN-γ生產與雙特異性抗DLL3 xCD3抗體之CD3親和力相關。

雙特異性DLL3 × CD3介導對抗PBMC中之DLL3$^+$目標細胞系之細胞毒性

【0846】　為了測試具有不同抗原表現水準之雙特異性對抗DLL3$^+$目標細胞之療效，在細胞毒性測定中測試DLL3高表現（SHP-77及HCC1833）及DLL3

低表現細胞系(G361)。SHP-77及HCC1833分別係肺部上皮及肺腺癌細胞系。G361細胞係衍生自惡性皮膚黑色素瘤。在細胞毒性檢定中使用穩定表現核限制NucLight Red (NLR)蛋白質之DLL3$^+$ SHP-77細胞系。在檢定當天，收集SHP-77-NLR細胞至50 ml falcon管，並以1300 rpm離心5 min。接著將細胞團塊重懸於經修飾之RPMI 1640培養基+ 10% FBS（完全培養基）且細胞計數使用血球計使用台盼藍活死亡標記估計。接著將SHP-77-NLR細胞以10,000個細胞/孔/90 µl之完全培養基接種至經膠原蛋白包覆之96孔盤。藉由輕柔攪動使細胞均勻分布並允許在5% CO_2培養箱中靜置1小時。在HCC1833及G361目標細胞系之情況下，在PBMC添加之前一天將3000個細胞/孔/90 µl完全培養基接種在96孔平底組織培養盤中。

【0847】　將來自健康供體(Clinigene)之冷凍PBMC小瓶在37℃水浴中快速解凍，轉移至15 mL錐形管，並用10 mL完全培養基洗滌一次。將細胞用抗人類CD3抗體染色並藉由流動式細胞測量儀分析以判定PBMC內之CD3%。來自各供體之PBMC使用血球計使用台盼藍活死亡標記計數，且將欲得到所需效應物對目標(ET)比（CD3:目標細胞）之所需數量的PBMC添加至經接種於於90 µl完全培養基中之目標細胞。接著將測試抗體製備為於完全培養基中之10X原液，並製備3倍連續稀釋。將連續稀釋的測試抗體以20 µl/孔添加至PBMC-腫瘤共培養，以使抗體之最終濃度變成1X。使用無抗體(NBS)之孔作為基準細胞毒性對照。將盤放入IncuCyte S3® (Essen BioScience)在37℃、5% CO_2下達5天。紅色信號的增加對應於目標細胞增生，且信號的降低對應於目標細胞死亡。結果彙總於**表40**。裂解%係計算為= {100 - (特定時間點含抗體之紅色信號強度/該時間點NBS孔之紅色信號強度) * 100}。

表40：SHP-77、HCC1833、及G361細胞在與全PBMC及所示濃度之雙特異性抗DLL3 × CD3抗體使用1:1 ET比（CD3:目標細胞）共培養之後第5天的裂解%。NA指示未測試。

分子		細胞毒性（第 6 天裂解%，1:1 ET 比）		
		SHP-77	**G361**	**HCC1833**
名稱	描述	30nM	30nM	30nM
DL3B582	CD3W245-LH-scFv；DL3B279-Fab	87.3	98.9	93.7
DL3B583	CD3W245-HL-scFv；DL3B279-Fab	99.8	98.9	88.4
DL3B585	CD3B376-Fab；DL3B279-LH-scFv	58.1	NA	NA
DL3B587	CD3W245-Fab；DL3B279-LH-ScFv	83.3	NA	NA

【0848】　觀察到雙特異性DLL3 × CD3抗體在不同來源之細胞系及抗原密度的強效腫瘤細胞裂解。為了比較高親和力CD3雙特異性(DL3B583)與低親和力CD3雙特異性(DL3B585)之療效，以各種ET比測試對抗DLL3高表現SHP-77細胞之細胞毒性。來自3個供體之全PBMC係與DLL3$^+$ SHP-77-NLR細胞以所示ET比(CD3: SHP-77)在雙特異性DLL3 × CD3抗體存在下培養。含有PBMC及目標細胞但無抗體之孔係用來作為基礎細胞毒性對照。將盤在IncuCyte S3® (Essen BioScience)中在37℃、5% CO2培養箱中掃描至多120小時。裂解%係計算為= {100 - (特定時間點含抗體之紅色信號強度/該時間點NBS孔之紅色信號強度) * 100}。該圖表上的各點代表3個供體的平均。如**圖8A、圖8B、及圖8C**所示，具有高親和力CD3 (DL3B583)及低親和力CD3 (DL3B585)臂兩者之雙特異

性DLL3 × CD3抗體顯示對抗SHP-77細胞之強健細胞毒性。在10:1 ET比下，在90nM及30nM抗體濃度下之目標細胞裂解在高及低親和力CD3抗體之間類似。

在全PBMC細胞毒性檢定中CD3+ T細胞回應於雙特異性DLL3 × CD3抗體之增生

【0849】 為了測試雙特異性DLL3 × CD3抗體與$CD8^+$T細胞之結合是否可誘導$CD8^+$ T細胞之增生及擴增，執行$CD8^+$ T細胞增生之時間進程分析。$DLL3^+$ SHP-77細胞係用於檢定。在檢定當天，收集SHP-77細胞至50 ml falcon管，並以1300 rpm離心5 min。接著將細胞團塊重懸於1 ml經修飾之RPMI 1640培養基+ 10% FBS（完全培養基）且細胞計數使用血球計使用台盼藍活死亡標記估計。接著將SHP77細胞以10,000個細胞/孔/90 µl之完全培養基接種於U底96孔盤。

【0850】 將來自健康供體(Clinigene)之冷凍PBMC小瓶在37℃水浴中快速解凍，轉移至15 mL錐形管，並用10 mL完全培養基洗滌一次。將細胞用抗人類CD3抗體染色並藉由流動式細胞測量儀分析以判定PBMC內之CD3%。PBMC用Cell Trace紫色染料(C34571, Thermo Fisher Scientific)染色。來自各供體之PBMC使用血球計使用台盼藍活死亡標記計數，且將欲得到效應物對目標(ET)比10:1（CD3:目標細胞）之所需數量的PBMC添加至經接種於於90 µl完全培養基中之目標細胞。

【0851】 接著將測試抗體製備為於完全培養基中之10X原液，並自起始濃度製備3倍連續稀釋達總共3個稀釋點。將連續稀釋的測試抗體以20 µl/孔添加至PBMC-腫瘤共培養，以使抗體之最終濃度變成1X。使用無抗體(NBS)之孔作為基準細胞毒性對照。將盤在5% CO_2培養箱中培養達所示時間期間。在培

養期結束時，將細胞懸浮液轉移至v底盤，並以1500 rpm離心5 min。將團塊重懸於100 µl之DPBS中。採集10 µl之細胞懸浮液，使用台盼藍與血球計判定各抗體濃度下之總細胞數。使剩餘的細胞懸浮液經受LIVE/DEAD™可固定近IR死亡細胞染色套組(L10119)並培養20 min。使用FACS緩衝劑將存活性染色去活化並以1500 rpm離心5 min。將細胞用BD Fc阻斷劑(564220, BD Pharmingen)染色10 min，隨後用CD3及CD8抗體染色並在流動式細胞測量儀上獲得。執行CD8 T細胞上的閘控以估計細胞毒性CD8 T細胞群體在CD3 T細胞內之擴增。如**圖9**所示，雙特異性DLL3 × CD3抗體與T細胞之結合強效介導細胞毒性CD8 T細胞之擴增。

在全PBMC檢定中藉由雙特異性DLL3 × CD3抗體之CD8 T細胞之活化概況

【0852】 為了評估細胞毒性CD8 T細胞群體回應於DLL3 × CD3雙特異性分子之結合的活化狀態，執行CD25、CD69、及CD71標記之動力學分析。$DLL3^+$ SHP-77細胞係用於檢定。收集SHP-77細胞至50 ml falcon管，並以1300 rpm離心5 min。接著將細胞團塊重懸於1 ml經修飾之RPMI 1640培養基+ 10% FBS（完全培養基）且細胞計數使用血球計使用台盼藍活死亡標記估計。接著將SHP-77細胞以10,000個細胞/孔/90 µl之完全培養基接種於U底96孔盤。

【0853】 將來自健康供體(Clinigene)之冷凍PBMC小瓶在37℃水浴中快速解凍，轉移至15 mL錐形管，並用10 mL完全培養基洗滌一次。將細胞用抗人類CD3抗體染色並藉由流動式細胞測量儀分析以判定PBMC內之CD3%。來自各供體之PBMC使用血球計使用台盼藍活死亡標記計數，且將欲得到效應物對目

標(ET)比10:1（CD3:目標細胞）之所需數量的PBMC添加至經接種於於90 µl完全培養基中之目標細胞。

【0854】 將測試抗體製備為於完全培養基中之10X原液，並自起始濃度製備3倍連續稀釋達總共3個稀釋點。將連續稀釋的測試抗體以20 µl/孔添加至PBMC-腫瘤共培養，以使抗體之最終濃度變成1X。使用無抗體(NBS)之孔作為基準細胞毒性對照。將盤在5% CO2培養箱中培養達所示時間期間。在培養期結束時，將細胞懸浮液轉移至v底盤，並以1500 rpm離心5 min。將團塊重懸於100 µl之DPBS中。採集10 µl之細胞懸浮液，使用台盼藍與血球計判定各抗體濃度下之總細胞數。

【0855】 使剩餘的細胞懸浮液經受LIVE/DEAD™可固定近IR死亡細胞染色套組(L10119)並培養20 min。使用FACS緩衝劑將存活性染色去活化並以1500 rpm離心5 min。將細胞用BD Fc阻斷劑(564220, BD Pharmingen)染色10 min，隨後用CD3、CD8、CD25、CD69、及CD71抗體染色並在流動式細胞測量儀上獲得。如**圖10A、圖10B、及圖10C**所示，見到雙特異性DLL3 × CD3抗體對細胞毒性CD8 T細胞之強效活化，如CD8 T細胞表面上CD25、CD69、及CD71表現之上調所示。

DLL3 × CD3雙特異性抗體在與DLL3+細胞共培養之T細胞上誘導活性。

【0856】 在重複實驗中，在三種泛T供體上，以5:1效應物對目標比(E:T)測試在SHP-77（表現DLL3之小細胞肺癌細胞系）上DLL3 × CD3雙特異性抗體之細胞毒性效應。在實驗第0天，用每孔20,000個SHP-77（0.4e6個細胞/mL中之50uL）細胞、50uL的生長培養基、及100,000個泛CD3+ T細胞（2e6個細胞/mL

中之50uL）接種檢定盤。預先用Encoder Dye B/Green (Sartorius)染色T細胞，以用於測量增生，且將50uL適當稀釋的DLL3 × CD3雙特異性抗體二重複地添加至適當孔中。使用DLL3 x空作為陰性對照。最終抗體濃度係100nM、33.3nM、11.1nM、3.70nM、1.23nM、0.41nM、0.14nM、0.046nM、0.015nM、及0nM。接著將盤培養48、72、及120小時。在各後續時間點之後，收集上清液（用於細胞介素計數）及T細胞（用於增生及活化）。分析含有細胞介素之上清液之IFNy CD3、CD8、CD25，且使用T細胞活化細胞及細胞介素概況套組(Sartorius Catalog# 90561)分析T細胞之增生。

【0857】 使用Sartorius之T細胞活化細胞及細胞介素概況套組之製備標準品，在48及120小時測量IFN細胞介素。三次單獨的泛CD3+ T供體實驗（二重複孔）之結果平均為n = 6。在48及120小時，觀察到DLL3 × CD3相比於DLL3 x空以劑量依賴性方式以較高濃度釋放IFNy（**圖11A及圖11B**）。

【0858】 藉由閘控CD3+群體內CD8+及CD25+標記來測量T細胞活化。三次泛T供體實驗結果(二重複)之結果平均n=6。與DLL3 x空相比，DLL3 × CD3在48及120小時以劑量依賴性方式誘導CD8+CD25+ T細胞之較大活化（**圖12A及圖12B**）。在72及120小時測量CD8+ T細胞之增生。自72至120小時，與DLL3 x空相比，CD8+ T細胞之DLL3 × CD3增生以劑量依賴性方式增加。

雙特異性DLL3 × CD3抗體介導全PBMC檢定中之細胞介素誘導

【0859】 T細胞重導向雙特異性抗體可造成毒性，因為誘導細胞介素釋放症候群。這些細胞介素可由T細胞本身或骨髓樣細胞生產，且導致更多細胞介素生產之回饋環路。為了瞭解藉由添加DLL3 × CD3雙特異性分子所釋放之

細胞介素諸如IL-6、TNF-a、IL-10、GMCSF、及其他T細胞細胞介素，測試細胞毒性檢定之培養上清液中這些細胞介素之水準。DLL3+ SHP-77細胞係用於檢定。收集SHP-77細胞至50 ml falcon管，並以1300 rpm離心5 min。接著將細胞團塊重懸於1 ml經修飾之RPMI 1640培養基+ 10% FBS（完全培養基）且細胞計數使用血球計使用台盼藍活死亡標記估計。接著將SHP-77細胞以10,000個細胞/孔/90 µl之完全培養基接種於U底96孔盤。

【0860】 將來自健康供體(Clinigene)之冷凍PBMC小瓶在37℃水浴中快速解凍，轉移至15 mL錐形管，並用10 mL完全培養基洗滌一次。將細胞用抗人類CD3抗體染色並藉由流動式細胞測量儀分析以判定PBMC內之CD3%。來自各供體之PBMC使用血球計使用台盼藍活死亡標記計數，且將欲得到效應物對目標(ET)比10:1（CD3:目標細胞）之所需數量的PBMC添加至經接種於於90 µl完全培養基中之目標細胞。

【0861】 將測試抗體製備為於完全培養基中之10X原液，並以20 µl/孔添加至PBMC-腫瘤共培養，以使抗體之最終濃度變成1X。使用無抗體(NBS)之孔作為基準細胞毒性對照。將盤在5% CO2培養箱中培養達所示時間期間。在培養期結束時，將細胞懸浮液轉移至v底盤並以1500 rpm離心5 min。收集上清液並儲存在-20℃下以使用MILLIPLEX MAP人類CD8+ T細胞磁珠組(HCD8MAG-15K, Millipore)執行Luminex。使用具有eXPONENT軟體之MAGPIX分析盤。結果彙總於**表41**。

表41：在全PBMC細胞毒性檢定中雙特異性DLL3 × CD3抗體介導之細胞介素釋放：在30nM濃度之CD3XDLL3抗體DL3B582及DL3B583及在90nM之

DL3B585存在下，將來自3個供體之全PBMC與DLL3$^+$ SHP-77細胞以10:1 ET比(CD3: SHP-77)培養。在所示時間點收集上清液，並使用Luminex分析細胞介素釋放。該圖表上的各點係3個供體的平均。

細胞介素(ng/ml)	雙特異性 DLL3 × CD3 抗體		
	DL3B582	DL3B583	DL3B585
TNFα	2.7	2.0	1.1
GMCSF	0.8	1.0	0.5
IL-10	13.5	20.7	1.9
IL-13	0.5	0.4	0.5
Gzm B	9.7	9.6	1.0
IL-2	1.0	0.8	0.0
IL-4	0.2	0.2	0.0
IL-5	0.1	0.1	0.1
IL-6	4.2	4.8	0.9

【0862】 觀察到具有較低親和力CD3 (DL3B585)之雙特異性DLL3 × CD3抗體相較於具有較高親和力CD3臂者（DL3B582及DL3B583）的細胞介素釋放水準低，特別是IL-10、IL-6、IL-2、及IL-4，然而這些雙特異性DLL3 × CD3的細胞毒性效力係可相比的。

【0863】 本發明實例顯示本文所揭示之單離多特異性抗原結合構築體尤其有效於介導T細胞介導之細胞毒性、促進T細胞活化及增生、增加T細胞細胞介素釋放、及/或展示增加之抗腫瘤效力。這些活性反映靶向目標細胞上之DLL3及T細胞上之CD3之抗原結合區的組合。所屬技術領域中具有通常知識者會瞭解到，此類活性將自組裝結合域成雙特異性抗體而預期，不論雙特異性抗體所憑藉之組裝機制為何。

【0864】 所屬技術領域中具有通常知識者將領會的是，能夠對以上所述的實施例進行變更而不違背其廣義的發明概念。因此，應了解本發明不限於所揭示之特定實施例，而是意欲涵蓋如隨附之申請專利範圍所定義的本發明之精神及範疇內的修改。

110303-seq

序列表

<110> 美商健生生物科技公司(Janssen Biotech, Inc.)

<120> 包括類δ配體3(DLL3)抗原結合區之蛋白質及其用途

<130> 065768.11796.112US1

<150> US 63/094,933
<151> 2020-10-22

<150> US 63/094,934
<151> 2020-10-22

<160> 270

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 1

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 Ile 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 Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Met 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 Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Ala Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 3
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 3

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 Gln Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Ile 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 Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Met 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 Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 4
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 4

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 5
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 5

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

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Arg Ser Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Lys Ser Ser Leu Lys
50 55 60

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

Asn Leu Asp Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ile Gly Pro Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 6
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 6

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 Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Phe 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> 7
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 7

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 His Ile Phe Ile Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Ser Lys 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 Gln Gly Met Ile Val Gly Thr Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 8

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 Ala Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 9
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 9

Glu 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 Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Leu Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 10

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln 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 Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 11
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 11

Gln Val Gln Leu Gln Gln 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 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 Lys
50 55 60

Ser Arg Val 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 Asp Gln Ala Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 12
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 12

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 13
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 13

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Pro Phe Ser Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 14
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 14

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gln Ile Ser Asn Pro Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr Gln Phe Pro His Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<223> 人工序列

<220>
<213> DL3B279

<400> 15

Asn Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 16
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 16

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15

Gly

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

<220>
<223> DL3B279

<400> 17

Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332 DL3B450

<400> 18

Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 19
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 19

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Lys Ser Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 20
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 20

Ile Gly Pro Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 21

Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 22
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 22

Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Ser Lys Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 23
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 23

Gln Gly Met Ile Val Gly Thr Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 24
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> TYYIH

<400> 24

Thr Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 25
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TYYIH

<400> 25

Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu
1 5 10 15

Gly

<210> 26
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TYYIH

<400> 26

Gly Gly Asp Gly Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 27
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子2

<400> 27

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 28
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 28

Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15

<210> 29
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 29

Asp Gln Ala Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp Val

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 30

Ser Tyr Val Ile Ser
1 5

<210> 31
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 31

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Asp

<210> 32
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 32

Asp Pro Phe Ser Asp Leu
1 5

<210> 33
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 33

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 34

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 35
<211> 9

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 35

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 36

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332 DL3B358

<400> 37

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 38
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 38

Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Ile Thr
1 5

<210> 39

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 39

Arg Ala Ser Gln Ser Ala Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 40
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 40

Gln Gln Tyr Asn Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 41
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 41

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 42

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 43

Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 44

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 45

Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 46

Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr
1 5

<210> 47
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 47

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn
1 5 10 15

<210> 48
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 48

Gln Ile Ser Asn Pro Phe Ser
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 49

Met Gln Ala Thr Gln Phe Pro His Thr
1 5

<210> 50
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 50

Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 51

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser
1 5 10

<210> 52
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 52

Gly Gln Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 53
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 53

Gly Asp Ser Ile Arg Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 54

Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn

1 5

<210> 55
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 55

Gly His Ile Phe Ile Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 56
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 56

Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Ser Lys Ser
1 5 10

<210> 57
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 57

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 58
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 58

Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser
1 5 10

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 59

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5 10

<210> 60
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 60

Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn
1 5

<210> 61
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 61

Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr Val Ile Ser
1 5 10

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 62

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn
1 5 10

<210> 63
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 scFv_LH

<400> 63

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Ala Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
145 150 155 160

```
Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
                165                 170                 175

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
            180                 185                 190

Gly Arg Met Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
        195                 200                 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
    210                 215                 220

Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
225                 230                 235                 240

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
                245
```

<210> 64
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 scFv_LH變體

<400> 64

```
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1               5                   10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
            20                  25                  30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
        35                  40                  45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
```

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gln Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
180 185 190

Gly Arg Met Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
210 215 220

Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 65
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332 scFv _LH

<400> 65

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 Arg Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Phe 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 Gly Gly Ser Glu
100 105 110

Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser
115 120 125

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
130 135 140

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Arg Ser Tyr
145 150 155 160

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
165 170 175

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Lys Ser Ser Leu Lys
180 185 190

Ser Arg Val Thr Ile Ser Leu Asp Thr Ser Lys Lys Gln Phe Ser Leu
195 200 205

Asn Leu Asp Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Ile Gly Pro Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 66
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358 scFv_LH

<400> 66

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 Ala Ser Ser Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly His Ile Phe Ile Ser Tyr Tyr
145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Ser Lys Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
180 185 190

Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Gln Gly Met Ile Val Gly Thr Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 67
<211> 248
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409 scFv_LH

<400> 67

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln 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 Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Tyr
145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Leu
180 185 190

Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
210 215 220

Arg Gly Gly Asp Gly Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 68
<211> 258
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450 scFv_LH

<400> 68

110303-seq

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser
115 120 125

Thr Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val
130 135 140

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

Ile Ser Ser Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Ala Gly Lys Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Ile Gly Arg Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asn
180 185 190

Pro Ser Leu Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn
195 200 205

Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Ala Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Ser Tyr
225 230 235 240

Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 69
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461 scFv_LH

<400> 69

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly
1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gln Ile Ser Asn Pro Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Thr Gln Phe Pro His Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser
115 120 125

Thr Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys
130 135 140

Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr
145 150 155 160

Leu Ser Ser Tyr Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly
165 170 175

Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr
180 185 190

Ala Gln Lys Phe Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr
195 200 205

Asn Thr Ala Tyr Met Glu Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Pro Phe Ser Asp Leu Trp Gly Arg Gly
225 230 235 240

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 70
<211> 231
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 實例3

<400> 70

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
20 25 30

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
35 40 45

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
65 70 75 80

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
100 105 110

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
115 120 125

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
130 135 140

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
145 150 155 160

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
165 170 175

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
225 230

<210> 71
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv-Fc (ZW)

<400> 71

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gln Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
180 185 190

Gly Arg Met Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala

210 215 220

Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
245 250 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
260 265 270

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
275 280 285

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu Asp Pro Glu
290 295 300

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
305 310 315 320

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
325 330 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
340 345 350

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
355 360 365

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
370 375 380

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu
385 390 395 400

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
405 410 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser
420 425 430

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
435 440 445

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
450 455 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470 475

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子3

<400> 72

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 73
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子4

<400> 73

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 74
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子5

<400> 74

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 75
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子6

<400> 75

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 76
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子7

<400> 76

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 77
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815_VH

<400> 77

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 78
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815_VL

<400> 78

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 79
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子8

<400> 79

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 Ser
20 25

<210> 80
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245_VL

<400> 80

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 81
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子9

<400> 81

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 82
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子10

<400> 82

Ile Arg Pro Arg Ala Ile Gly Gly Ser Lys Pro Arg Val Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子11

<400> 83

Gly Lys Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 84
<211> 106
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab之VH胺基酸序列

<400> 84

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

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

Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60

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

Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Tyr Ser Ser Ser
100 105

<210> 85
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab之VL胺基酸序列

<400> 85

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30

Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45

Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Val Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95

Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 86
<211> 348
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 86
gaggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agatataaca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtacta gtagtaatta catatactac 180

gcagactcag tgaagggccg attcaccttc tccagagaca acgccaagaa ctcactggat 240

ctgcaaatga gcggcctgag agccgaggac acggctattt attactgtac gagaggctgg 300

gggccttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 87
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 87
gatatacttc ttacccagag tcccggcatc ctctccgtta gccctgggga gagagtctca 60

ttctcatgcc gagccagaca gtcaattggt accgcaatac actggtatca acagcggacc 120

aatggttctc cccgacttct gataaagtac gcatcagaat caattagtgg aataccatca 180

agatttagtg gctcagggag tggaaccgat tttactctga ccatcaactc agtggaatct 240

gaggacattg ccgactacta ctgtcaacaa agcaatagtt ggccatatac cttcggaggc 300

ggaactaaat tggagataaa a 321

<210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子12

<400> 88

Gly Gly Lys Gly Ser Gly Gly Lys Gly Ser Gly Gly Lys Gly Ser
1 5 10 15

<210> 89
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245

<400> 89
gacatacaaa tgacacaatc accctcttct ctttctgcaa gcgttggcga ccgtgtcact 60

atcacttgtc gagcccgcca gtccataggt actgccattc actggtatca acagaagcct 120

ggcaaggctc ccaaactcct gattaagtat gccagcgaga gcatttccgg cgtaccttca 180

agattttccg gctccggtag tgggacagat ttcactctca ctatatctag cctccaacca 240

gaagatttcg ccacttacta ctgtcaacaa tcaggttcat ggccttacac tttcggccag 300

gggacaaaat tggagatcaa g 321

<210> 90
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子13

<400> 90

Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Gly Lys Ser
1 5 10 15

<210> 91
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子14

<400> 91

Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser
1 5 10 15

<210> 92
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子15

<400> 92

Gly Gly Gly Lys Ser Gly Gly Lys Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 93
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab之VH核酸序列

<400> 93
caggtgcagc tgcagcagtc tggccctaga ctcgtgcggc cttcccagac cctgtctctg 60

acctgtgcca tctccggcga ctccgtgttc aacaacaacg ccgcctggtc ctggatccgg 120

cagagccctt ctagaggcct ggaatggctg ggccggacct actaccggtc caagtggctg 180

tacgactacg ccgtgtccgt gaagtcccgg atcaccgtga accctgacac ctcccggaac 240

cagttcaccc tgcagctgaa ctccgtgacc cctgaggaca ccgccctgta ctactgcgcc 300

agaggctact cctcctcctt cgactattgg ggccagggca ccctcgtgac cgtgtcctct 360

<210> 94
<211> 329
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab之VL核酸序列

<400> 94
agtctgctct gacccagcct gcctccgtgt ctggctctcc cggccagtcc atcaccatca 60

gctgtaccgg cacctcctcc aacatcggca cctacaagtt cgtgtcctgg tatcagcagc 120

accccgacaa ggcccccaaa gtgctgctgt acgaggtgtc caagcggccc tctggcgtgt 180

cctccagatt ctccggctcc aagtctggca acaccgcctc cctgaccatc agcggactgc 240

aggctgagga ccaggccgac taccactgtg tgtcctacgc tggctctggc accctgctgt 300

ttggcggagg caccaagctg accgtgctg 329

<210> 95
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 95

Arg Tyr Asn Met Asn
1 5

<210> 96
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 96

Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 97
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 97

Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr
1 5

<210> 98
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 HCDR1

<400> 98

Asn Asn Asn Ala Ala Trp Ser
1 5

<210> 99
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376HCDR2

<400> 99

Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala Tyr Ser Tyr
1 5 10 15

Lys Ser

<210> 100
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 HCDR3

<400> 100

Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10

<210> 101
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 101

Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala Ile His
1 5 10

<210> 102
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 102

Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
1 5

<210> 103
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815

<400> 103

Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 104
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LCDR3

<400> 104

Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 105
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-scFv-LH

<400> 105

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
130 135 140

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Asn
145 150 155 160

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
165 170 175

Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
180 185 190

Gly Arg Phe Thr Phe Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Asp Leu
195 200 205

Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Thr
210 215 220

Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240

Val Ser Ser

<210> 106
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 LCDR1

<400> 106

Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr Lys Phe Val Ser
1 5 10

<210> 107
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 LCDR2

<400> 107

Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser
1 5

<210> 108
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> CD3B376 LCDR3

<400> 108

Val Ser Tyr Ala Gly Ser Gly Thr Leu Leu
1 5 10

<210> 109
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-Fab-Fc HC1

<400> 109

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 Ile 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 Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Met 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 Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

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

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

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

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

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Val Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 110
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-Fab-Fc LC1

<400> 110

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Ala 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
210

<210> 111
<211> 476
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-LH-scFv

<400> 111

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Ala Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
165 170 175

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
180 185 190

Gly Arg Met Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
210 215 220

Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Met Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
245 250 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val

260 265 270

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
275 280 285

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu Asp Pro Glu
290 295 300

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
305 310 315 320

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
325 330 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
340 345 350

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
355 360 365

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro
370 375 380

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Leu Cys Leu
385 390 395 400

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
405 410 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Leu Thr Trp Pro Pro Val Leu Asp Ser
420 425 430

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
435 440 445

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
450 455 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
465 470 475

<210> 112
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-LH-scFv-Fc

<400> 112

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu
115 120 125

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
130 135 140

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Asn
145 150 155 160

Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
165 170 175

Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

180 185 190

Gly Arg Phe Thr Phe Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Asp Leu
195 200 205

Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Thr
210 215 220

Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240

Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
260 265 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
275 280 285

Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
290 295 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305 310 315 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
325 330 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
340 345 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
355 360 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu
370 375 380

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385 390 395 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
405 410 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
420 425 430

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
465 470

<210> 113
<211> 474
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-HL-scFv-Fc

<400> 113

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser
115 120 125

Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255

Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
260 265 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
275 280 285

Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
290 295 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305 310 315 320

```
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
                325                 330                 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
            340                 345                 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
        355                 360                 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu
    370                 375                 380

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385                 390                 395                 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
                405                 410                 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
            420                 425                 430

Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
        435                 440                 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
    450                 455                 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
465                 470
```

<210> 114
<211> 445
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-Fab-Fc HC2

<400> 114

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr
```

20 25 30

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Val Tyr Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 115
<211> 214
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-Fab-Fc LC2

<400> 115

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly Ser Trp 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
210

<210> 116
<211> 449
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376-Fab-Fc HC2

<400> 116

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

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

Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60

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

Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95

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

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

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

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

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

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 117
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376-Fab-Fc LC2

<400> 117

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asn Ile Gly Thr Tyr
20 25 30

Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Asp Lys Ala Pro Lys Val
35 40 45

Leu Leu Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Gln Ala Asp Tyr His Cys Val Ser Tyr Ala Gly Ser

85 90 95

Gly Thr Leu Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110

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

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 118
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376-Fab-Fc K477 HC2

<400> 118

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

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

Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60

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

Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Val Tyr Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 119
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-scFv-HL

<400> 119

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser
115 120 125

Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg
145 150 155 160

Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175

Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser
180 185 190

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

195 200 205

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220

Gln Gln Ser Gly Ser Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240

Glu Ile Lys

<210> 120
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子1

<400> 120

Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser
1 5 10 15

Thr Gly Gly Ser
20

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子16

<400> 121

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

<210> 122
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子17

<400> 122

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
1 5 10 15

Lys Pro Gly Ser
20

<210> 123
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子18

<400> 123

Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly Lys Gly Lys Ser Gly
1 5 10 15

Lys Gly Lys Ser
20

<210> 124
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子19

<400> 124

Ser Thr Ala Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp
1 5 10

<210> 125
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子20

<400> 125

Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子21

<400> 126

Gly Gly Glu Gly Ser Gly Gly Glu Gly Ser Gly Gly Glu Gly Ser
1 5 10 15

<210> 127
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子22

<400> 127

Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser
1 5 10 15

<210> 128
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子23

<400> 128

Gly Gly Gly Glu Ser Gly Gly Glu Gly Ser Gly Glu Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 129
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子24

<400> 129

Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser Gly Glu Gly Glu Ser Gly
1 5 10 15

Glu Gly Glu Ser
20

<210> 130
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子25

<400> 130

Gly Ser Thr Ser Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Glu Gly Ser Thr
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 131
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子26

<400> 131

Pro Arg Gly Ala Ser Lys Ser Gly Ser Ala Ser Gln Thr Gly Ser Ala
1 5 10 15

Pro Gly Ser

<210> 132
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子27

<400> 132

Gly Thr Ala Ala Ala Gly Ala Gly Ala Ala Gly Gly Ala Ala Ala Gly
1 5 10 15

Ala Ala Gly

<210> 133
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子28

<400> 133

Gly Thr Ser Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly

<210> 134
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子29

<400> 134

Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly Lys Pro Gly Ser Gly
1 5 10 15

Lys Pro Gly Ser
20

<210> 135
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子30

<400> 135

Gly Ser Gly Ser
1

<210> 136
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子31

<400> 136

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 137
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子32

<400> 137

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro
20

<210> 138
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子33

<400> 138

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Ala
1 5 10 15

Lys Glu Ala Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Ala Lys Ala Ala Ala
20 25 30

<210> 139
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子34

<400> 139

Gly Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr
1 5 10 15

<210> 140
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 140

Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr
1 5

<210> 141
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 141

Asn Pro Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 142

Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp
1 5 10

<210> 143
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 143

Gly Gln Thr Phe Thr Asn Tyr
1 5

<210> 144
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 144

Tyr Tyr Ser Gly Thr
1 5

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 145

Ile Gly Pro Ala Gly Phe Tyr Phe Asp
1 5

<210> 146
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 146

Gly His Ile Phe Ile Ser Tyr
1 5

<210> 147
<211> 6
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 147

Asp Pro Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 148
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 148

Gln Gly Met Ile Val Gly Thr Thr Gly Asp Ala Phe Asp
1 5 10

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 149

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr
1 5

<210> 150
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 150

Asp Pro Ser Gly Gly Arg
1 5

<210> 151
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 151

Gly Gly Asp Gly Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp
1 5 10

<210> 152
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 152

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
1 5

<210> 153
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 153

Tyr Thr Ser Gly Ser
1 5

<210> 154
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 154

Asp Gln Ala Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met
1 5 10 15

Asp

<210> 155
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 155

Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr
1 5

<210> 156
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 156

Ile Pro Ile Phe Gly Thr
1 5

<210> 157
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 157

Asp Pro Phe Ser Asp
1 5

<210> 158
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 158

Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 159
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 159

Ala Ala Ser Ser
1

<210> 160
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 160

Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
1 5

<210> 161
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 161

Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
1 5

<210> 162
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 162

Gly Ala Ser Ser
1

<210> 163
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 VH cDNA

<400> 163
caggttcagt tggtccagtc tggcgccgag gtaaaaaaac ctggagcatc agtcaaggta 60

agctgtaaag cctccgggga tacctttaca agctattaca tgcattgggt ccgtcaagct 120

ccaggccagg gacttgaatg gatgggaatc atcaacccaa gtggtggttc tacctcctat 180

gctcaaaaat tccaaggccg cgttactatg acacgtgata catctacaag caccgtgtac 240

atggagttga gcagcctgcg tagcgaggat accgccgttt attattgtgc tcgctggggt 300

cagggtacaa cagttaccgt ttccagc 327

<210> 164
<211> 309
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 VL cDNA

<400> 164
gacattcaga tgacacaatc tccctcaagt cttagcgcca gtgttgggga tcgagtaacc 60

atcacttgta gagcctccca gggaattagc aattacttgg catggttcca gcaaaaacct 120

ggaaaggccc ccaaaagcct catttacgca gctagttctc ttcagagcgg tgtgccctct 180

aaattttcag gatctggttc aggcaccgat ttcacactca caatctctag ccttcaacct 240

gaagatttcg ctacttatta ttgtcaacaa tacaacagct tcggtcaagg aactaaactt 300

gaaatcaag 309

<210> 165
<211> 360
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> DL3B279變體-VH cDNA

<400> 165
caggttcagc tggttcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgcctc tgtgaaggtg 60

tcctgcaagg cttctggaca gaccttcacc aactactaca tccactgggt ccgacaggcc 120

cctggacaag gattggagtg gatgggcatc atcaaccctt ccggcggctc tacctcttac 180

gcccagaaac tgcagggcag aatgaccatg accagagaca cctccaccag caccgtgtac 240

atggaactgt ccagcctgag atccgaggat accgccgtgt acttctgtgc cagacaggga 300

ccttttatcg gcgacgcctt cgacatctgg ggccagggaa caacagtgac cgtgtcctct 360

<210> 166
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279變體-VL cDNA

<400> 166
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgta gagcctctca gggcatctcc aactacctgg cctggttcca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ccaagagcct gatctacgct gcttccagtc tgcagtctgg cgtgccctct 180

aagttctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacagct acccctacac ctttggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa g 321

<210> 167
<211> 354
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332 VH cDNA

<400> 167
caggtgcagc tgcaggagag cggcccaggc ctggtgaagc caagcgagac cctgagcctg 60

agctgcaccg tgagcggcga cagcatccgc agctactact ggagctggat ccgccagcca 120

ccaggtaagg gcctggaatg gatcggctac atctactaca gcggcaccac caactacaag 180

agcagcctga agagccgcgt gaccatcagc ctcgacacca gcaagaagca gttcagcctg 240

aacctggaca gcgtgaccgc cgccgacacc gctgtgtact actgcgcccg catcggccca 300

gccggcttct acttcgacta ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgag cagc 354

<210> 168
<211> 324
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332 VL cDNA

<400> 168
gagatcgtgc tgacccagag cccaggcacc ctgagcctga gcccaggcga gcgccaccc 60

ctgagctgcc gcgccagcca gagcgtgagc cgcagctacc tcgcttggta ccagcagaag 120

ccaggccaag ccccacgctt cctgatctac ggtgctagca gccgcgctac cggcatccca 180

gaccgcttca gcggcagcgg cagcggcacc gacttcaccc tgaccatcag ccgcctggag 240

ccagaggact tcgccgtgta ctactgccag cagtacggca ccagcccaat caccttcggc 300

cagggcaccc gcctggagat caag 324

<210> 169
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358 VH cDNA

<400> 169
caggttcagc tcgtccagag tggcgcagaa gtgaaaaaac caggtgcgtc agtaaaagtt 60

tcctgtaaag caagcggaca tattttcatc agttactaca ttcactgggt ccgacaagct 120

ccagggcaag ggctggagtg gatggggatc atcgatccct ctggaggcag caaatcctac 180

gcccaaaaat ttcaagggcg ggtgaccatg accagggata catcaacctc taccgtttac 240

atggaactgt catcacttcg atcagaagat accgctgtgt actattgcgc gcggcagggc 300

atgatcgtgg gcactactgg tgatgctttc gacatttggg gccagggcac tatggtgacc 360

gtttccagt 369

<210> 170
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358 VL cDNA

<400> 170
gagatcgtgt tgacacagtc tccgggaacg cttagtctga gcccgggtga gagagccact 60

ttgagctgtc gagcttccca gtcagctagc agctatctcg cttggtatca gcaaaaacct 120

ggacaggcgc ccaggttgct catttacgga gctagtagcc gcgctacggg aatcccggac 180

aggtttagcg gcagtggttc tgggactgac tttacgctga caataagtag gctggaaccc 240

gaggacttcg cggtgtatta ctgccaacag tataactcaa gcccctacac ctttggtcaa 300

ggcaccaaac tggaaataaa g 321

<210> 171
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409 VH cDNA

<400> 171
gaagtgcagc ttgttcaatc tggtgctgag gttaaaaagc caggagcttc cgtcaaagtt 60

agctgtaagg ccagcggata tacatttact acctattata tccattgggt tcgtcaagct 120

ccaggacaag gccttgagtg gatgggaata atagacccta gcggcggtcg gacaagctac 180

gcacaaaagt ttctgggcag ggtgaccatg actagggata cctcaacctc aactgtgtat 240

atggagctgc gttctctgcg gtcagaggat actgccgtct actattgcgc cagaggtggt 300

gacggcacct ggtattacgg aatggatgta tggggccagg ggaccacagt caccgtctca 360

tct 363

<210> 172
<211> 321
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409 VL cDNA

<400> 172
gatattgtaa tgactcagtc cccaagcttc ctgtcagcca gtgtaggaga tcgggttaca 60

ataacatgca gggcatcaca agggatctct aactatctgg cctggtacca acaaaagcct 120

ggaaaagccc ctaagcttct catatacgca gcatcaactt tgcaatccgg cgtcccctca 180

aggtttagtg gatcaggatc aggcacagaa tttactctta ctatctctag cttgcaacca 240

gaagatttcg ctacatacta ctgtcagcag cttaacagtt acccccttgac ctttgggggc 300

ggcaccaagg tagagataaa a 321

<210> 173
<211> 378
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450 VH cDNA

<400> 173
caagtccaac ttcaacaatc tggaccagga cttgtgaagc cttctgagac cctgtccctt 60

acatgcacag tgagcggggg tagcataagc agctactact ggtcttggat taggcaaccc 120

gccggcaaag ggcttgagtg gatcggaagg atttacacat caggaagcac caactataac 180

cctagcctca agtctcgagt aaccatgtcc gttgatacct caaaaaacca atttagcctt 240

aaactttcct ccgtgaccgc agccgataca gcagtgtatt attgtgctcg agaccaagcc 300

tattctggtt acgattggtc ttactattat tatggaatgg atgtttgggg acagggaact 360

atggttacag tttccagc 378

<210> 174
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450 VL cDNA

<400> 174
gaaaccacac tgacacagtc cccacttagc ctgcctgtga ctcccggcga accagctagc 60

attagttgca ggtcctcaca aagccttctt cactcaaacg gatacaatta tctcgattgg 120

tatctccaaa aaccaggaca gtctccccaa cttcttatct atttgggttc taatcgagca 180

agtggtgtac cagacagatt cagtggaagc ggaagcggca ctgatttcac tttgaaaata 240

tcacgagtgg aggccgaaga tgtcggggtt tactattgta tgcaggcttt gcaaacacct 300

ctgacctttg ggggaggaac taaggtagag ataaaa 336

<210> 175
<211> 345
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461 VH cDNA

<400> 175
caagtccagc tcgtccaatc tggtgctgag gtgaagaagc ctggctcatc tgttaaggtc 60

tcctgcaagg cttcaggcgg caccctgtcc agctacgtga tctcttgggt acggcaggcc 120

cctggtcaag gactcgaatg gatgggtggt attattccca tttttggcac cgcaaactac 180

gcacagaaat tccaagacag agtaaccata accgccgaca agtcaaccaa tactgcctac 240

atggagctga cctcactgac tagtgaagat accgcagttt actactgcgc ccgcgatccc 300

tttagcgacc tttggggacg gggtacaatg gttaccgtat ccagt 345

<210> 176
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461 VL cDNA

<400> 176
gacatagtaa tgactcaatc acctctctca agcccagtca cacttgggca accagcctct 60

atttcatgta ggtcttcaca gagtctcgta cattcagatg gtaacaccta tcttaattgg 120

ctccaacaga gacccggcca gccacctcga cttttgattt atcaaatctc taacccattc 180

agtggagtac ctgaccgctt cagcggatca ggcgcaggta ccgattttac tctcaagata 240

agcagagtgg aagcagaaga cgtaggtgta tattactgta tgcaggccac acaattccct 300

cacactttcg ggccaggtac taaggtggag attaaa 336

<210> 177
<211> 1335
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245 Fab-Fc HC2 cDNA

<400> 177
gaggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agatataaca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtacta gtagtaatta catatactac 180

gcagactcag tgaagggccg attcaccttc tccagagaca acgccaagaa ctcactggat 240

ctgcaaatga gcggcctgag agccgaggac acggctattt attactgtac gagaggctgg 300

gggccttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctcagc ctccaccaag 360

ggcccatcgg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc 420

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cggtgtcgtg gaactcaggc 480

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc 540

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 600

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac 660

aaaactcaca catgtccacc gtgcccagca cctgaagcag caggggggacc gtcagtcttc 720

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 780

gtggtggtga gcgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 840

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 900

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 960

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1020

cagccccgag aaccacaggt gtacgtgtac cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1080

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1140

gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1200

ggctccttcg ccctcgtgag caagctcacc gtggacaagt ctagatggca gcaggggaac 1260

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1320

tccctgtctc cgggt 1335

<210> 178
<211> 527
<212> PRT
<223> 人工序列

<220>
<223> DL3W33

<400> 178

Ser Gly Val Phe Glu Leu Lys Leu Gln Glu Phe Val Asn Lys Lys Gly
1 5 10 15

Leu Leu Gly Asn Arg Asn Cys Cys Arg Gly Gly Ala Gly Pro Pro Pro
20 25 30

Cys Ala Cys Arg Thr Phe Phe Arg Val Cys Leu Lys His Tyr Gln Ala
35 40 45

Ser Val Ser Pro Glu Pro Pro Cys Thr Tyr Gly Ser Ala Val Thr Pro
50 55 60

Val Leu Gly Val Asp Ser Phe Ser Leu Pro Asp Gly Gly Gly Ala Asp
65 70 75 80

Ser Ala Phe Ser Asn Pro Ile Arg Phe Pro Phe Gly Phe Thr Trp Pro
85 90 95

Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Leu His Thr Asp Ser Pro Asp
100 105 110

Asp Leu Ala Thr Glu Asn Pro Glu Arg Leu Ile Ser Arg Leu Ala Thr
115 120 125

Gln Arg His Leu Thr Val Gly Glu Glu Trp Ser Gln Asp Leu His Ser
130 135 140

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

His Tyr Tyr Gly Glu Gly Cys Ser Val Phe Cys Arg Pro Arg Asp Asp
165 170 175

Ala Phe Gly His Phe Thr Cys Gly Glu Arg Gly Glu Lys Val Cys Asn
180 185 190

Pro Gly Trp Lys Gly Pro Tyr Cys Thr Glu Pro Ile Cys Leu Pro Gly
195 200 205

Cys Asp Glu Gln His Gly Phe Cys Asp Lys Pro Gly Glu Cys Lys Cys
210 215 220

Arg Val Gly Trp Gln Gly Arg Tyr Cys Asp Glu Cys Ile Arg Tyr Pro
225 230 235 240

Gly Cys Leu His Gly Thr Cys Gln Gln Pro Trp Gln Cys Asn Cys Gln
245 250 255

Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys Asn Gln Asp Leu Asn Tyr Cys Thr
260 265 270

His His Lys Pro Cys Lys Asn Gly Ala Thr Cys Thr Asn Thr Gly Gln
275 280 285

Gly Ser Tyr Thr Cys Ser Cys Arg Pro Gly Tyr Thr Gly Ala Thr Cys
290 295 300

Glu Leu Gly Ile Asp Glu Cys Asp Pro Ser Pro Cys Lys Asn Gly Gly
305 310 315 320

Ser Cys Thr Asp Leu Glu Asn Ser Tyr Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly
325 330 335

Phe Tyr Gly Lys Ile Cys Glu Leu Ser Ala Met Thr Cys Ala Asp Gly
340 345 350

Pro Cys Phe Asn Gly Gly Arg Cys Ser Asp Ser Pro Asp Gly Gly Tyr
355 360 365

Ser Cys Arg Cys Pro Val Gly Tyr Ser Gly Phe Asn Cys Glu Lys Lys
370 375 380

Ile Asp Tyr Cys Ser Ser Ser Pro Cys Ser Asn Gly Ala Lys Cys Val
385 390 395 400

Asp Leu Gly Asp Ala Tyr Leu Cys Arg Cys Gln Ala Gly Phe Ser Gly
405 410 415

Arg His Cys Asp Asp Asn Val Asp Asp Cys Ala Ser Ser Pro Cys Ala
420 425 430

Asn Gly Gly Thr Cys Arg Asp Gly Val Asn Asp Phe Ser Cys Thr Cys
435 440 445

Pro Pro Gly Tyr Thr Gly Arg Asn Cys Ser Ala Pro Val Ser Arg Cys
450 455 460

Glu His Ala Pro Cys His Asn Gly Ala Thr Cys His Glu Arg Gly His
465 470 475 480

Gly Tyr Val Cys Glu Cys Ala Arg Gly Tyr Gly Gly Pro Asn Cys Gln
485 490 495

Phe Leu Leu Pro Glu Leu Pro Pro Gly Pro Ala Val Val Asp Leu Thr
500 505 510

Glu Lys Leu Glu Gly Gln Gly Asp Ile His His His His His His
515 520 525

<210> 179
<211> 508
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W34

<400> 179

Ser Gly Val Phe Gln Leu Gln Leu Gln Glu Phe Ile Asn Glu Arg Gly
1 5 10 15

Val Leu Ala Ser Gly Arg Pro Cys Glu Pro Gly Cys Arg Thr Phe Phe
20 25 30

Arg Val Cys Leu Lys His Phe Gln Ala Val Val Ser Pro Gly Pro Cys
35 40 45

Thr Phe Gly Thr Val Ser Thr Pro Val Leu Gly Thr Asn Ser Phe Ala
50 55 60

Val Arg Asp Asp Ser Ser Gly Gly Gly Arg Asn Pro Leu Gln Leu Pro
65 70 75 80

Phe Asn Phe Thr Trp Pro Gly Thr Phe Ser Leu Ile Ile Glu Ala Trp
85 90 95

His Ala Pro Gly Asp Asp Leu Arg Pro Glu Ala Leu Pro Pro Asp Ala
100 105 110

Leu Ile Ser Lys Ile Ala Ile Gln Gly Ser Leu Ala Val Gly Gln Asn
115 120 125

Trp Leu Leu Asp Glu Gln Thr Ser Thr Leu Thr Arg Leu Arg Tyr Ser
130 135 140

Tyr Arg Val Ile Cys Ser Asp Asn Tyr Tyr Gly Asp Asn Cys Ser Arg
145 150 155 160

Leu Cys Lys Lys Arg Asn Asp His Phe Gly His Tyr Val Cys Gln Pro
165 170 175

Asp Gly Asn Leu Ser Cys Leu Pro Gly Trp Thr Gly Glu Tyr Cys Gln
180 185 190

Gln Pro Ile Cys Leu Ser Gly Cys His Glu Gln Asn Gly Tyr Cys Ser
195 200 205

Lys Pro Ala Glu Cys Leu Cys Arg Pro Gly Trp Gln Gly Arg Leu Cys
210 215 220

Asn Glu Cys Ile Pro His Asn Gly Cys Arg His Gly Thr Cys Ser Thr
225 230 235 240

Pro Trp Gln Cys Thr Cys Asp Glu Gly Trp Gly Gly Leu Phe Cys Asp
245 250 255

Gln Asp Leu Asn Tyr Cys Thr His His Ser Pro Cys Lys Asn Gly Ala
260 265 270

Thr Cys Ser Asn Ser Gly Gln Arg Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Arg Pro
275 280 285

Gly Tyr Thr Gly Val Asp Cys Glu Leu Glu Leu Ser Glu Cys Asp Ser
290 295 300

Asn Pro Cys Arg Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Gln Glu Asp Gly Tyr
305 310 315 320

His Cys Leu Cys Pro Pro Gly Tyr Tyr Gly Leu His Cys Glu His Ser
325 330 335

Thr Leu Ser Cys Ala Asp Ser Pro Cys Phe Asn Gly Gly Ser Cys Arg
340 345 350

Glu Arg Asn Gln Gly Ala Asn Tyr Ala Cys Glu Cys Pro Pro Asn Phe
355 360 365

Thr Gly Ser Asn Cys Glu Lys Lys Val Asp Arg Cys Thr Ser Asn Pro
370 375 380

Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Asn Arg Gly Pro Ser Arg Met Cys
385 390 395 400

Arg Cys Arg Pro Gly Phe Thr Gly Thr Tyr Cys Glu Leu His Val Ser
405 410 415

Asp Cys Ala Arg Asn Pro Cys Ala His Gly Gly Thr Cys His Asp Leu
420 425 430

Glu Asn Gly Leu Met Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe Ser Gly Arg Arg
435 440 445

Cys Glu Val Arg Thr Ser Ile Asp Ala Cys Ala Ser Ser Pro Cys Phe
450 455 460

Asn Arg Ala Thr Cys Tyr Thr Asp Leu Ser Thr Asp Thr Phe Val Cys
465 470 475 480

Asn Cys Pro Tyr Gly Phe Val Gly Ser Arg Cys Glu Phe Pro Val Gly
485 490 495

Leu Pro His His His His His His His His His His
500 505

<210> 180
<211> 473
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 重組人類DLL3 27-479 C端-6xHis HPGGGSGGGSGGGS連接子

<400> 180

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 His Pro Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
450 455 460

Gly Gly Ser His His His His His His
465 470

<210> 181
<211> 659
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W36

<400> 181

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

Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys
65 70 75 80

Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala
85 90 95

Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn
100 105 110

Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu
115 120 125

Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr
130 135 140

Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala
145 150 155 160

Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp
165 170 175

Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys
180 185 190

Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr
195 200 205

Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe
210 215 220

Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala
225 230 235 240

Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu
245 250 255

Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln
260 265 270

Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser
275 280 285

Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr
290 295 300

Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu
305 310 315 320

Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln
325 330 335

Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu

340 345 350

Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala
355 360 365

Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys
370 375 380

Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr
385 390 395 400

Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg
405 410 415

Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala
420 425 430

Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu
435 440 445

Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu
450 455 460

Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr
465 470 475 480

Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg
485 490 495

Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys
500 505 510

Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu
515 520 525

Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys
530 535 540

Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu
545 550 555 560

Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr
565 570 575

Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys
580 585 590

Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr
595 600 605

Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu
610 615 620

Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly
625 630 635 640

Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu His His His
645 650 655

His His His

<210> 182
<211> 632
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W37

<400> 182

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 Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val
35 40 45

Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val
50 55 60

Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His

65 70 75 80

Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
85 90 95

Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly
100 105 110

Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met
115 120 125

Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu
130 135 140

Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu
145 150 155 160

Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu
165 170 175

Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala
180 185 190

Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu
195 200 205

Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp
210 215 220

Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys
225 230 235 240

Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala
245 250 255

Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val
260 265 270

Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His
275 280 285

Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr
290 295 300

Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys
305 310 315 320

Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn
325 330 335

Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu
340 345 350

Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu
355 360 365

Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
370 375 380

Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
385 390 395 400

Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
405 410 415

Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
420 425 430

Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
435 440 445

Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
450 455 460

Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys
465 470 475 480

His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
485 490 495

Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
500 505 510

Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
515 520 525

Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
530 535 540

Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
545 550 555 560

Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His
565 570 575

Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
580 585 590

Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
595 600 605

Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
610 615 620

Gly Leu His His His His His His
625 630

<210> 183
<211> 631
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W38

<400> 183

Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val
1 5 10 15

Glu Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly
20 25 30

Arg Asp Cys Arg Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
35 40 45

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
50 55 60

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val
65 70 75 80

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
85 90 95

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
100 105 110

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
115 120 125

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
130 135 140

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
145 150 155 160

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
165 170 175

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
180 185 190

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
195 200 205

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
210 215 220

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
225 230 235 240

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
245 250 255

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
260 265 270

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
275 280 285

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
290 295 300

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
305 310 315 320

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
325 330 335

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
340 345 350

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
355 360 365

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
370 375 380

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
385 390 395 400

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
405 410 415

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
420 425 430

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
435 440 445

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
450 455 460

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
465 470 475 480

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
485 490 495

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
500 505 510

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
515 520 525

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
530 535 540

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
545 550 555 560

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
565 570 575

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
580 585 590

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
595 600 605

Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
610 615 620

Leu His His His His His His
625 630

<210> 184
<211> 632
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W39

<400> 184

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 Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val
35 40 45

Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val
50 55 60

Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His
65 70 75 80

Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
85 90 95

Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly
100 105 110

Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met
115 120 125

Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu
130 135 140

Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu
145 150 155 160

Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu
165 170 175

Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala
180 185 190

Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu
195 200 205

Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp
210 215 220

Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys
225 230 235 240

Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala
245 250 255

Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val
260 265 270

Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His
275 280 285

Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr
290 295 300

Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys
305 310 315 320

Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn
325 330 335

Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu
340 345 350

Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu
355 360 365

Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
370 375 380

Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
385 390 395 400

Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
405 410 415

Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
420 425 430

Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
435 440 445

Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
450 455 460

Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys

465 470 475 480

His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
485 490 495

Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
500 505 510

Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
515 520 525

Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
530 535 540

Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
545 550 555 560

Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His
565 570 575

Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
580 585 590

Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
595 600 605

Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
610 615 620

Gly Leu His His His His His His
625 630

<210> 185
<211> 635
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W40

<400> 185

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 Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys
35 40 45

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys
50 55 60

Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe
65 70 75 80

Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr
85 90 95

Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr
100 105 110

Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr
115 120 125

Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu
130 135 140

Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val
145 150 155 160

Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu
165 170 175

Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr
180 185 190

Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala
195 200 205

Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro
210 215 220

Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln

225 230 235 240

Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
245 250 255

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe
260 265 270

Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu
275 280 285

Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu
290 295 300

Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys
305 310 315 320

Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu
325 330 335

Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp
340 345 350

Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp
355 360 365

Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp
370 375 380

Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr
385 390 395 400

Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys
405 410 415

Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile
420 425 430

Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln
435 440 445

Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr
450 455 460

Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys
465 470 475 480

Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr
485 490 495

Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro
500 505 510

Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg
515 520 525

Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys
530 535 540

Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu
545 550 555 560

Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu
565 570 575

Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met
580 585 590

Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys
595 600 605

Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln
610 615 620

Ala Ala Leu Gly Leu His His His His His His
625 630 635

<210> 186
<211> 632
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W41

<400> 186

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 Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val
35 40 45

Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val
50 55 60

Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His
65 70 75 80

Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
85 90 95

Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly
100 105 110

Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met
115 120 125

Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu
130 135 140

Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu
145 150 155 160

Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu
165 170 175

Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala
180 185 190

Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu
195 200 205

Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp
210 215 220

Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys
225 230 235 240

Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala
245 250 255

Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val
260 265 270

Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His
275 280 285

Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr
290 295 300

Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys
305 310 315 320

Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn
325 330 335

Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu
340 345 350

Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu
355 360 365

Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
370 375 380

Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
385 390 395 400

Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
405 410 415

Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
420 425 430

Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
435 440 445

Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
450 455 460

Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys
465 470 475 480

His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
485 490 495

Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
500 505 510

Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
515 520 525

Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
530 535 540

Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
545 550 555 560

Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His
565 570 575

Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
580 585 590

Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
595 600 605

Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
610 615 620

Gly Leu His His His His His His
625 630

<210> 187
<211> 690

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W42

<400> 187

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 Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
100 105 110

Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
115 120 125

Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
130 135 140

Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
145 150 155 160

Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
165 170 175

Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
180 185 190

Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
195 200 205

Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
210 215 220

Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
225 230 235 240

Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
245 250 255

Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
260 265 270

Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
275 280 285

Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
290 295 300

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
305 310 315 320

Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
325 330 335

Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
340 345 350

Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
355 360 365

Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
370 375 380

Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
385 390 395 400

Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
405 410 415

Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
420 425 430

Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
435 440 445

Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
450 455 460

Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
465 470 475 480

Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
485 490 495

Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
500 505 510

Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
515 520 525

Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
530 535 540

Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
545 550 555 560

Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
565 570 575

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
580 585 590

Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
595 600 605

His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
610 615 620

Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys

625 630 635 640

Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
645 650 655

Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
660 665 670

Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu His His His His
675 680 685

His His
690

<210> 188
<211> 629
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W43

<400> 188

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 Gly Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg
35 40 45

Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala
50 55 60

Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
65 70 75 80

Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
85 90 95

Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
100 105 110

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

Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
130 135 140

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
145 150 155 160

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr
165 170 175

Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
180 185 190

Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln
195 200 205

Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
210 215 220

Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
225 230 235 240

Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
245 250 255

Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
260 265 270

Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
275 280 285

Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
290 295 300

Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
305 310 315 320

Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met

325 330 335

Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
340 345 350

Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
355 360 365

Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
370 375 380

Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
385 390 395 400

Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
405 410 415

Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
420 425 430

Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
435 440 445

Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
450 455 460

Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
465 470 475 480

Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
485 490 495

Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
500 505 510

Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
515 520 525

Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
530 535 540

Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
545 550 555 560

Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
565 570 575

Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
580 585 590

Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
595 600 605

Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu His
610 615 620

His His His His His
625

<210> 189
<211> 784
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3W44

<400> 189

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 Gly Gly Gly
180 185 190

Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly
195 200 205

Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu
210 215 220

Gln Gln Ser Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr
225 230 235 240

Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp
245 250 255

Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr
260 265 270

Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu
275 280 285

Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn
290 295 300

Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe
305 310 315 320

His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala
325 330 335

Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys
340 345 350

Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala
355 360 365

Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala
370 375 380

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly
385 390 395 400

Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe
405 410 415

Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr
420 425 430

Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp
435 440 445

Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile
450 455 460

Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser
465 470 475 480

His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro
485 490 495

Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr
500 505 510

Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala
515 520 525

Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys
530 535 540

Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His
545 550 555 560

Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu
565 570 575

Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly
580 585 590

Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val
595 600 605

Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly
610 615 620

Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro
625 630 635 640

Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu
645 650 655

His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu
660 665 670

Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu
675 680 685

Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala
690 695 700

Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr
705 710 715 720

Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln
725 730 735

Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys
740 745 750

Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu
755 760 765

Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu His His His His His His
770 775 780

<210> 190
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 scFv_HL

<400> 190

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 Ile 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 Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Met 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 Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
115 120 125

Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp Phe
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Ala Gln
225 230 235 240

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 191
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 scFv變體_HL

<400> 191

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 Gln Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Tyr Ile 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 Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Met 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 Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser
115 120 125

Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met
130 135 140

Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr
145 150 155 160

Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp Phe
165 170 175

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ala Ala Ser
180 185 190

Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
210 215 220

Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln
225 230 235 240

Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 192
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332 scFv _HL

<400> 192

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

Thr Leu Ser Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Arg Ser Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Lys Ser Ser Leu Lys
50 55 60

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

Asn Leu Asp Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Ile Gly Pro Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser
115 120 125

Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser
145 150 155 160

Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln
165 170 175

Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Phe Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser
180 185 190

Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245

<210> 193
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358 scFv_HL

<400> 193

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 His Ile Phe Ile Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Ser Lys 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 Gln Gly Met Ile Val Gly Thr Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly
115 120 125

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Glu

130 135 140

Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu
145 150 155 160

Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ala Ser Ser Tyr Leu
165 170 175

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
180 185 190

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu
210 215 220

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Ser Pro Tyr Thr
225 230 235 240

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245 250

<210> 194
<211> 248
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409 scFv_HL

<400> 194

Glu 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 Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Asp Pro Ser Gly Gly Arg Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Leu Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser
115 120 125

Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Asp Ile Val
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala Trp
165 170 175

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
180 185 190

Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
210 215 220

Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Leu Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
225 230 235 240

Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 195
<211> 258
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450 scFv_HL

<400> 195

Gln Val Gln Leu Gln Gln 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 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 Lys
50 55 60

Ser Arg Val 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 Asp Gln Ala Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
115 120 125

Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly
130 135 140

Gly Ser Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr
145 150 155 160

Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu
165 170 175

His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly
180 185 190

Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly
195 200 205

Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu
210 215 220

Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met
225 230 235 240

Gln Ala Leu Gln Thr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu
245 250 255

Ile Lys

<210> 196
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461 scFv_HL

<400> 196

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Val Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Asp Pro Phe Ser Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Met Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Ser Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu
130 135 140

Ser Ser Pro Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
145 150 155 160

Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Leu
165 170 175

Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gln Ile Ser
180 185 190

Asn Pro Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly
195 200 205

Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Thr Gln Phe Pro His Thr Phe Gly Pro
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 197
<211> 432
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> TRCW5

<400> 197

Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg Val Phe Val Asn Cys
1 5 10 15

Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val Gly Thr Leu Leu Ser
20 25 30

Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile Leu Asp Pro Arg Gly
35 40 45

Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys Asp Lys Glu Ser Thr
50 55 60

Val Gln Val His Tyr Arg Met Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp
65 70 75 80

Ala Ala Lys Lys Asp Asp Ala Lys Lys Asp Asp Ala Lys Lys Asp Gly
85 90 95

Ser Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
100 105 110

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro
115 120 125

Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
130 135 140

Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys
145 150 155 160

Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
165 170 175

Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
180 185 190

Val Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
195 200 205

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
210 215 220

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
225 230 235 240

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
245 250 255

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
260 265 270

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
275 280 285

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
290 295 300

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
305 310 315 320

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
325 330 335

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
340 345 350

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
355 360 365

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
370 375 380

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
385 390 395 400

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly
405 410 415

Gly Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
420 425 430

<210> 198
<211> 446
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815重鏈

<400> 198

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 199
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B815輕鏈

<400> 199

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Gly Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Phe Ser Cys Arg Ala Arg Gln Ser Ile Gly Thr Ala
20 25 30

Ile His Trp Tyr Gln Gln Arg Thr Asn Gly Ser Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ile Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Ser Trp Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly 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
210

<210> 200
<211> 426
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W147

<400> 200

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro
20 25 30

Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp
35 40 45

Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys
50 55 60

Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg
65 70 75 80

Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg
85 90 95

Val Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Asp
100 105 110

Ala Lys Lys Asp Asp Ala Lys Lys Asp Gly Ser Gln Ser Ile Lys Gly
115 120 125

Asn His Leu Val Lys Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu
130 135 140

Leu Thr Cys Asp Ala Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly
145 150 155 160

Lys Met Ile Gly Phe Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly
165 170 175

Ser Asn Ala Lys Asp Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln
180 185 190

Asn Lys Ser Lys Pro Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Gly Ser Gly Ser
195 200 205

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
210 215 220

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
225 230 235 240

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
245 250 255

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
260 265 270

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
275 280 285

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
290 295 300

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
305 310 315 320

Gln Val Tyr Thr Phe Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
325 330 335

Val Ser Leu Arg Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
340 345 350

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
355 360 365

Lys Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Arg Leu Glu Ser Arg Leu
370 375 380

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
385 390 395 400

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
405 410 415

Leu Ser Gly Gly His His His His His His
420 425

<210> 201
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 201

Tyr Gly Thr Ser Pro Ile
1 5

<210> 202
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245 Fab-Fc LC2 cDNA

<400> 202
gacatacaaa tgacacaatc accctcttct ctttctgcaa gcgttggcga ccgtgtcact 60

atcacttgtc gagcccgcca gtccataggt actgccattc actggtatca acagaagcct 120

ggcaaggctc ccaaactcct gattaagtat gccagcgaga gcatttccgg cgtaccttca 180

agattttccg gctccggtag tgggacagat ttcactctca ctatatctag cctccaacca 240

gaagatttcg ccacttacta ctgtcaacaa tcaggttcat ggccttacac tttcggccag 300

gggacaaaat tggagatcaa gcggacagtg gccgctcctt ccgtgttcat cttcccacct 360

tccgacgagc agctgaagtc cggcacagct tctgtcgtgt gcctgctgaa caacttctac 420

cctcgggaag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaatgccc tgcagtccgg caactcccaa 480

gagtctgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctaca gcctgtcctc cacactgacc 540

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccatcagggc 600

ctgtctagcc ctgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gt 642

<210> 203
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 203

Leu Asn Ser Tyr Pro Leu
1 5

<210> 204
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 204

Ser Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 205
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 205

Leu Gly Ser Asn
1

<210> 206

<211> 262
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245-HL-E.c.

<400> 206

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Ser Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Ser Gly Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Arg Gly Trp Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Gly Thr Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
130 135 140

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Arg Gln Ser
145 150 155 160

Ile Gly Thr Ala Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
165 170 175

Lys Leu Leu Ile Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser
180 185 190

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
195 200 205

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Gly
210 215 220

Ser Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
225 230 235 240

Pro Gly Gly Gln His His His His His His Gly Ala Tyr Pro Tyr Asp
245 250 255

Val Pro Asp Tyr Ala Ser
260

<210> 207
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 207

Ala Leu Gln Thr Pro Leu
1 5

<210> 208
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 208

Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 209
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 209

Gln Ile Ser Asn
1

<210> 210
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 210

Ala Thr Gln Phe Pro His
1 5

<210> 211
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 211

Gly Asn Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
1 5

<210> 212
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 212

Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr
1 5

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

<220>
<223> DL3B279

<400> 213

Ala Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10

<210> 214
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279變體

<400> 214

Gly Gln Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
1 5

<210> 215
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 215

Gly Asp Ser Ile Arg Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 216
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 216

Ile Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr
1 5

<210> 217
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 217

Ala Arg Ile Gly Pro Ala Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 218
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 218

Gly His Ile Phe Ile Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 219
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 219

Ile Asp Pro Ser Gly Gly Ser Lys
1 5

<210> 220
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 220

Ala Arg Gln Gly Met Ile Val Gly Thr Thr Gly Asp Ala Phe Asp Ile
1 5 10 15

<210> 221
<211> 8

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 221

Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr Tyr
1 5

<210> 222
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 222

Ile Asp Pro Ser Gly Gly Arg Thr
1 5

<210> 223
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B409

<400> 223

Ala Arg Gly Gly Asp Gly Thr Trp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 224
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 224

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr
1 5

<210> 225

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 225

Ile Tyr Thr Ser Gly Ser Thr
1 5

<210> 226
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 226

Ala Arg Asp Gln Ala Tyr Ser Gly Tyr Asp Trp Ser Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Gly Met Asp Val
20

<210> 227
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 227

Gly Gly Thr Leu Ser Ser Tyr Val
1 5

<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 228

Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala
1 5

<210> 229
<211> 479
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-VL-A99G-VH-N27Q_M105T-LH-scFv-Fc (KIH)

<400> 229

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Lys Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Ser Glu Gly
100 105 110

Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr Gly Gly Ser Gln
115 120 125

Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser
130 135 140

Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gln Thr Phe Thr Asn Tyr Tyr
145 150 155 160

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly

165 170 175

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
180 185 190

Gly Arg Met Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met
195 200 205

Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
210 215 220

Arg Gln Gly Pro Phe Ile Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
245 250 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
260 265 270

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
275 280 285

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu Asp Pro Glu
290 295 300

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
305 310 315 320

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
325 330 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
340 345 350

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
355 360 365

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
370 375 380

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
385 390 395 400

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
405 410 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
420 425 430

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
435 440 445

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
450 455 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470 475

<210> 230
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376-Fab-Fc HC2

<400> 230

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

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

Asn Ala Ala Trp Ser Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Leu Tyr Asp Tyr Ala
50 55 60

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

Gln Phe Thr Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Leu

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ser Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 231
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461

<400> 231

Ala Arg Asp Pro Phe Ser Asp Leu
1 5

<210> 232

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279

<400> 232

Gln Gly Ile Ser Asn Tyr
1 5

<210> 233
<211> 750
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358-scFv-LH DNA

<400> 233
gaaatcgttc tcactcagtc tcccggaact ctcagtcttt caccagggga acgagcaaca 60

ctgtcctgcc gcgcatctca atccgcctcc tcttaccttg cttggtatca acaaaagcca 120

ggacaagctc ctcgcttgct tatatacggg gcatcaagca gggcaaccgg tatcccagat 180

agattttctg gcagtggatc agggacagat tttactctta ctatctcccg attggaacca 240

gaggattttg ctgtttacta ctgccaacag tacaattcat ccccatatac ttttggtcag 300

gggacaaaat tggaaataaa gggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag ccaggttcaa cttgtgcaaa gcggcgctga ggtgaagaaa 420

cctggagcct ctgtcaaggt gtcttgtaag gcatctggcc acatctttat tagctattac 480

atacactggg ttcgccaagc tccagggcag ggtcttgagt ggatgggtat tatagacccc 540

tcaggaggaa gcaaatcata cgctcagaaa ttccaaggac gagtaaccat gacacgagat 600

acaagcacat caaccgtgta tatggagctc tctagtctgc gcagcgagga cacagccgtt 660

tattactgtg cccggcaggg gatgattgtg gggactaccg gggatgcttt cgacatttgg 720

ggccagggga ctatggttac tgtttccagc 750

<210> 234
<211> 744
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> DL3B409-scFv-LH DNA

<400> 234
gatattgtaa tgactcagtc cccaagcttc ctgtcagcca gtgtaggaga tcgggttaca 60

ataacatgca gggcatcaca agggatctct aactatctgg cctggtacca acaaaagcct 120

ggaaaagccc ctaagcttct catatacgca gcatcaactt tgcaatccgg cgtcccctca 180

aggtttagtg gatcaggatc aggcacagaa tttactctta ctatctctag cttgcaacca 240

gaagatttcg ctacatacta ctgtcagcag cttaacagtt acccccttgac ctttgggggc 300

ggcaccaagg tagagataaa aggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag cgaagtgcag cttgttcaat ctggtgctga ggttaaaaag 420

ccaggagctt ccgtcaaagt tagctgtaag gccagcggat atacatttac tacctattat 480

atccattggg ttcgtcaagc tccaggacaa ggccttgagt ggatgggaat aatagaccct 540

agcggcggtc ggacaagcta cgcacaaaag tttctgggca gggtgaccat gactagggat 600

acctcaacct caactgtgta tatggagctg cgttctctgc ggtcagagga tactgccgtc 660

tactattgcg ccagaggtgg tgacggcacc tggtattacg gaatggatgt atggggccag 720

gggaccacag tcaccgtctc atct 744

<210> 235
<211> 774
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450-scFv-LH DNA

<400> 235
gaaaccacac tgacacagtc cccacttagc ctgcctgtga ctcccggcga accagctagc 60

attagttgca ggtcctcaca aagccttctt cactcaaacg gatacaatta tctcgattgg 120

tatctccaaa aaccaggaca gtctccccaa cttcttatct atttgggttc taatcgagca 180

agtggtgtac cagacagatt cagtggaagc ggaagcggca ctgatttcac tttgaaaata 240

tcacgagtgg aggccgaaga tgtcggggtt tactattgta tgcaggcttt gcaaacacct 300

ctgacctttg ggggaggaac taaggtagag ataaaaggcg gctccgaggg caagagcagc 360

ggcagcggca gcgagagcaa gagcaccggc ggcagccaag tccaacttca acaatctgga 420

ccaggacttg tgaagccttc tgagaccctg tcccttacat gcacagtgag cgggggtagc 480

ataagcagct actactggtc ttggattagg caacccgccg gcaaagggct tgagtggatc 540

ggaaggattt acacatcagg aagcaccaac tataacccta gcctcaagtc tcgagtaacc 600

atgtccgttg atacctcaaa aaaccaattt agccttaaac tttcctccgt gaccgcagcc 660

gatacagcag tgtattattg tgctcgagac caagcctatt ctggttacga ttggtcttac 720

tattattatg gaatggatgt ttggggacag ggaactatgg ttacagtttc cagc 774

<210> 236
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B461-scFv-LH DNA

<400> 236
gacatagtaa tgactcaatc acctctctca agcccagtca cacttgggca accagcctct 60

atttcatgta ggtcttcaca gagtctcgta cattcagatg gtaacaccta tcttaattgg 120

ctccaacaga gacccggcca gccacctcga cttttgattt atcaaatctc taacccattc 180

agtggagtac ctgaccgctt cagcggatca ggcgcaggta ccgattttac tctcaagata 240

agcagagtgg aagcagaaga cgtaggtgta tattactgta tgcaggccac acaattccct 300

cacactttcg ggccaggtac taaggtggag attaaaggcg gctccgaggg caagagcagc 360

ggcagcggca gcgagagcaa gagcaccggc ggcagccaag tccagctcgt ccaatctggt 420

gctgaggtga agaagcctgg ctcatctgtt aaggtctcct gcaaggcttc aggcggcacc 480

ctgtccagct acgtgatctc ttgggtacgg caggcccctg gtcaaggact cgaatggatg 540

ggtggtatta ttcccatttt tggcaccgca aactacgcac agaaattcca agacagagta 600

accataaccg ccgacaagtc aaccaatact gcctacatgg agctgacctc actgactagt 660

gaagataccg cagtttacta ctgcgcccgc gatcccttta gcgacctttg gggacggggt 720

acaatggtta ccgtatccag t 741

<210> 237
<211> 1350
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab-Fc HC2 KIH cDNA

<400> 237
caggtgcagc tgcagcagtc tggccctaga ctcgtgcggc cttcccagac cctgtctctg 60

acctgtgcca tctccggcga ctccgtgttc aacaacaacg ccgcctggtc ctggatccgg 120

cagtctccat ctcgcggtct ggagtggctc ggtcgcacct actaccgctc taaatggctg 180

tacgactacg ccgtgtccgt gaagtcccgg atcaccgtga accctgacac ctcccggaac 240

cagttcaccc tgcagctgaa ctccgtgacc cctgaggaca ccgccctgta ctactgcgcc 300

agaggctact cctcctcctt cgactattgg ggccaaggca ccctcgtgac cgtgtcctct 360

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccgtgcccag cacctgaagc cgccggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt gagcgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtgtc gaacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgtcctgc gccgtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gagcagatgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccggttcacg 1320

cagaagtctc tctccctgtc tccgggaaaa 1350

<210> 238
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab-Fc LC KIH cDNA

<400> 238
cagtctgctc tgacccagcc tgcctccgtg tctggctctc ccggccagtc catcaccatc 60

agctgtaccg gcacctcctc caacatcggc acctacaagt tcgtgtcctg gtatcagcag 120

caccccgaca aggcccccaa agtgctgctg tacgaggtgt ccaagcggcc ctctggcgtg 180

tcctccagat tctccggctc caagtctggc aacaccgcct ccctgaccat cagcggactg 240

caggctgagg accaggccga ctaccactgt gtgtcctacg ctggctctgg caccctgctg 300

tttggcggag gcaccaagct gaccgtgctg ggtcagccca aggctgcacc cagtgtcact 360

ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata 420

agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg ccgatagcag ccccgtcaag 480

gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540

tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca 648

<210> 239
<211> 1437
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 scFv-Fc變體KIH cDNA

<400> 239
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgta gagcctctca gggcatctcc aactacctgg cctggttcca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ccaagagcct gatctacgct gcttccagtc tgcagtctgg cgtgccctct 180

aagttctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacagct acccctacac ctttggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa gggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag ccaggttcag ctggttcagt ctggcgccga agtgaagaaa 420

cctggcgcct ctgtgaaggt gtcctgcaag gcttctggac agaccttcac caactactac 480

atccactggg tccgacaggc ccctggacaa ggattggagt ggatgggcat catcaaccct 540

tccggcggct ctacctctta cgcccagaaa ctgcagggca gaatgaccat gaccagagac 600

acctccacca gcaccgtgta catggaactg tccagcctga gatccgagga taccgccgtg 660

tacttctgtg ccagacaggg acctttttatc ggcgacgcct tcgacatctg gggccaggga 720

acaacagtga ccgtgtcctc tgagcccaaa tctagcgaca aaactcacac atgtccaccg 780

tgcccagcac ctgaagcagc agggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag 840

gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgag cgtgagccac 900

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 960

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 1020

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc 1080

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 1140

tacaccctgc ccccatcccg ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gtggtgcctg 1200

gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1260

aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1320

aagctcaccg tggacaagtc tagatggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1380

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1437

<210> 240
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 240

Gln Ser Val Ser Arg Ser Tyr
1 5

<210> 241
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 241

Gln Ser Ala Ser Ser Tyr
1 5

<210> 242
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 242

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr
1 5 10

<210> 243
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B450

<400> 243

Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
1 5 10

<210> 244
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332

<400> 244

Gly Asp Ser Ile Arg Ser Tyr
1 5

<210> 245
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B358

<400> 245

Tyr Asn Ser Ser Pro Tyr
1 5

<210> 246
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3-DSL域

<400> 246

Ala Arg Cys Glu Pro Pro Ala Val Gly Thr Ala Cys Thr Arg Leu Cys
1 5 10 15

Arg Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys
20 25 30

Ala Pro Leu Glu Asp Glu
35

<210> 247
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3-EGF-1域

<400> 247

Cys Glu Ala Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys Ser Pro Glu His Gly
1 5 10 15

Phe Cys Glu Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu Glu Gly Trp Thr Gly
20 25 30

Pro Leu Cys Thr
35

<210> 248
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 EGF-2域

<400> 248

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
20 25

<210> 249
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 EGF-3域

<400> 249

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> 250
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 EGF-4域

<400> 250

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> 251
<211> 37

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 EGF-5域

<400> 251

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> 252
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 EGF-6域

<400> 252

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

Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly
20 25 30

Ala Arg Cys Glu
35

<210> 253
<211> 207
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類CD3 ε

<400> 253

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 254
<211> 104
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人類CD3 ε 胞外域

<400> 254

Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys Val
1 5 10 15

Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys Pro Gln Tyr Pro Gly
20 25 30

Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys Asn Ile Gly Gly Asp Glu
35 40 45

Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp His Leu Ser Leu Lys Glu
50 55 60

Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr Val Cys Tyr Pro Arg Gly
65 70 75 80

Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu Tyr Leu Arg Ala Arg Val
85 90 95

Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp
100

<210> 255
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> NP_058637.1

<400> 255

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 Ala Gly Val Phe Glu Leu
20 25 30

Gln Ile His Ser Phe Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Ala Pro Arg Ser
35 40 45

Pro Cys Ser Ala Arg Leu Pro Cys Arg Leu Phe Phe Arg Val Cys Leu

50 55 60

Lys Pro Gly Leu Ser Glu Glu Ala Ala Glu Ser Pro Cys Ala Leu Gly
65 70 75 80

Ala Ala Leu Ser Ala Arg Gly Pro Val Tyr Thr Glu Gln Pro Gly Ala
85 90 95

Pro Ala Pro Asp Leu Pro Leu Pro Asp Gly Leu Leu Gln Val Pro Phe
100 105 110

Arg Asp Ala Trp Pro Gly Thr Phe Ser Phe Ile Ile Glu Thr Trp Arg
115 120 125

Glu Glu Leu Gly Asp Gln Ile Gly Gly Pro Ala Trp Ser Leu Leu Ala
130 135 140

Arg Val Ala Gly Arg Arg Arg Leu Ala Ala Gly Gly Pro Trp Ala Arg
145 150 155 160

Asp Ile Gln Arg Ala Gly Ala Trp Glu Leu Arg Phe Ser Tyr Arg Ala
165 170 175

Arg Cys Glu Pro Pro Ala Val Gly Thr Ala Cys Thr Arg Leu Cys Arg
180 185 190

Pro Arg Ser Ala Pro Ser Arg Cys Gly Pro Gly Leu Arg Pro Cys Ala
195 200 205

Pro Leu Glu Asp Glu Cys Glu Ala Pro Leu Val Cys Arg Ala Gly Cys
210 215 220

Ser Pro Glu His Gly Phe Cys Glu Gln Pro Gly Glu Cys Arg Cys Leu
225 230 235 240

Glu Gly Trp Thr Gly Pro Leu Cys Thr Val Pro Val Ser Thr Ser Ser
245 250 255

Cys Leu Ser Pro Arg Gly Pro Ser Ser Ala Thr Thr Gly Cys Leu Val
260 265 270

Pro Gly Pro Gly Pro Cys Asp Gly Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Ser
275 280 285

Cys Ser Glu Thr Pro Arg Ser Phe Glu Cys Thr Cys Pro Arg Gly Phe
290 295 300

Tyr Gly Leu Arg Cys Glu Val Ser Gly Val Thr Cys Ala Asp Gly Pro
305 310 315 320

Cys Phe Asn Gly Gly Leu Cys Val Gly Gly Ala Asp Pro Asp Ser Ala
325 330 335

Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Gly Phe Gln Gly Ser Asn Cys Glu Lys
340 345 350

Arg Val Asp Arg Cys Ser Leu Gln Pro Cys Arg Asn Gly Gly Leu Cys
355 360 365

Leu Asp Leu Gly His Ala Leu Arg Cys Arg Cys Arg Ala Gly Phe Ala
370 375 380

Gly Pro Arg Cys Glu His Asp Leu Asp Asp Cys Ala Gly Arg Ala Cys
385 390 395 400

Ala Asn Gly Gly Thr Cys Val Glu Gly Gly Gly Ala His Arg Cys Ser
405 410 415

Cys Ala Leu Gly Phe Gly Gly Arg Asp Cys Arg Glu Arg Ala Asp Pro
420 425 430

Cys Ala Ala Arg Pro Cys Ala His Gly Gly Arg Cys Tyr Ala His Phe
435 440 445

Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly Ala Arg Cys
450 455 460

Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu Pro Ala Ala Pro
465 470 475 480

Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Leu Pro Pro Ala
485 490 495

Leu Gly Leu Leu Val Ala Ala Gly Val Ala Gly Ala Ala Leu Leu Leu
500 505 510

Val His Val Arg Arg Arg Gly His Ser Gln Asp Ala Gly Ser Arg Leu
515 520 525

Leu Ala Gly Thr Pro Glu Pro Ser Val His Ala Leu Pro Asp Ala Leu
530 535 540

Asn Asn Leu Arg Thr Gln Glu Gly Ser Gly Asp Gly Pro Ser Ser Ser
545 550 555 560

Val Asp Trp Asn Arg Pro Glu Asp Val Asp Pro Gln Gly Ile Tyr Val
565 570 575

Ile Ser Ala Pro Ser Ile Tyr Ala Arg Glu Val Ala Thr Pro Leu Phe
580 585 590

Pro Pro Leu His Thr Gly Arg Ala Gly Gln Arg Gln His Leu Leu Phe
595 600 605

Pro Tyr Pro Ser Ser Ile Leu Ser Val Lys
610 615

<210> 256
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab-Fc HC2 cDNA

<400> 256
caggtgcagc tccaacagag tggtcccaga ctcgtgagac cctctcaaac actcagtttg 60

acttgtgcca tctcaggcga ttcagttttc aacaacaatg cagcttggag ctggattagg 120

cagtcaccta gtcgcggtct tgaatggctt gggcgtacat actatcgctc taaatggttg 180

tatgattacg ctgtgtccgt gaagagccga atcaccgtaa accctgatac ctccaggaat 240

cagttcacat tgcaactgaa tagtgtgact cccgaggata ctgcactcta ttattgtgcc 300

cgaggatata gcagtagctt cgactattgg ggacaaggga cactcgttac cgttagttca 360

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgtcca ccgtgcccag cacctgaagc agcaggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt gagcgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacgtgt acccccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cgccctcgtg agcaagctca ccgtggacaa gtctagatgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 257
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型IgG1

<400> 257

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 258
<211> 326
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型IgG2

<400> 258

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 259
<211> 327
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 野生型IgG4

<400> 259

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 260
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-scFv-LH DNA

<400> 260
gatatacaaa tgactcaaag tccctctagt ctcagtgctt ccgttgggga tagggtaact 60

atcacttgcc gcgctagtca aggcatctca aattatttgg catggttcca acagaagcct 120

ggtaaggcac caaaatcact catctacgct gctagttctc tgcaatcagg tgtgccatcc 180

aaattctcag gcagtgggtc tgggacagac tttaccctca ccataagttc tctccaacct 240

gaggattttg caacatacta ttgtcagcag tataatagtt atccatacac attcgcacaa 300

ggtactaaac tggaaatcaa gggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag ccaagttcaa cttgtccaaa gtggagctga agtgaagaaa 420

ccaggggcaa gcgtcaaagt atcatgtaaa gccagcggaa acactttcac caactactac 480

attcattggg taaggcaggc accaggacaa ggcttggaat ggatgggtat tataaaccct 540

tcaggtggca gtacatccta tgcccaaaaa ctgcaaggtc ggatgaccat gactcgtgac 600

acttcaactt ctactgttta tatggagctt tcatccctgc gatccgaaga tacagccgtg 660

tatttttgtg ctcgccaggg gcctttcatc ggagatgcct tcgatatatg gggtcaaggc 720

acaatggtaa ctgtgtcaag c 741

<210> 261
<211> 741
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279-scFv-LH變體DNA

<400> 261
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgta gagcctctca gggcatctcc aactacctgg cctggttcca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ccaagagcct gatctacgct gcttccagtc tgcagtctgg cgtgccctct 180

aagttctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacagct acccctacac ctttggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa gggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag ccaggttcag ctggttcagt ctggcgccga agtgaagaaa 420

cctggcgcct ctgtgaaggt gtcctgcaag gcttctggac agaccttcac caactactac 480

atccactggg tccgacaggc ccctggacaa ggattggagt ggatgggcat catcaaccct 540

tccggcggct ctacctctta cgcccagaaa ctgcagggca gaatgaccat gaccagagac 600

acctccacca gcaccgtgta catggaactg tccagcctga gatccgagga taccgccgtg 660

tacttctgtg ccagacaggg acctttttatc ggcgacgcct tcgacatctg gggccaggga 720

acaacagtga ccgtgtcctc t 741

<210> 262
<211> 738
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B332-scFv-LH DNA

<400> 262
gaaatcgtac tgacacagag tccaggaacc ctttctctct ctcccggaga gcgtgctact 60

ctgagctgcc gggcctctca aagcgtgagt cgcagctacc tcgcatggta tcagcagaaa 120

ccaggacagg cacctcggtt tctcatatat ggtgcttcct ccagagccac agggataccc 180

gatagattca gtggatccgg ctctggaact gattttactt tgactatatc ccgcttggag 240

cctgaggatt tcgcagtgta ctattgccaa cagtatggaa cctctccaat aactttcggc 300

caggggacca gactcgaaat aaaaggcggc tccgagggca agagcagcgg cagcggcagc 360

gagagcaaga gcaccggcgg cagccaggtc caactgcaag aatctggtcc tggtctggta 420

aaaccttcag agacccttc cttgtcttgt actgtcagcg gagactctat ccggtcatat 480

tactggtcct ggattcgcca gccccccgga aagggactcg aatggattgg ctatatttat 540

tactcaggta caacaaacta taagtcatca ttgaagtcaa gggttaccat cagtcttgat 600

acttctaaga aacagttttc tttgaacttg gacagtgtta ccgcagccga cactgctgtc 660

tactactgcg ctcgaatcgg accagccggt ttctactttg attattgggg gcagggcact 720

ctggtaactg tgagttca 738

<210> 263
<211> 189
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 EGF6 + C端域

<400> 263

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

Ala His Phe Ser Gly Leu Val Cys Ala Cys Ala Pro Gly Tyr Met Gly
20 25 30

Ala Arg Cys Glu Phe Pro Val His Pro Asp Gly Ala Ser Ala Leu Pro
35 40 45

Ala Ala Pro Pro Gly Leu Arg Pro Gly Asp Pro Gln Arg Tyr Leu Leu
50 55 60

Pro Pro Ala Leu Gly Leu Leu Val Ala Ala Gly Val Ala Gly Ala Ala
65 70 75 80

Leu Leu Leu Val His Val Arg Arg Arg Gly His Ser Gln Asp Ala Gly
85 90 95

Ser Arg Leu Leu Ala Gly Thr Pro Glu Pro Ser Val His Ala Leu Pro
100 105 110

Asp Ala Leu Asn Asn Leu Arg Thr Gln Glu Gly Ser Gly Asp Gly Pro
115 120 125

Ser Ser Ser Val Asp Trp Asn Arg Pro Glu Asp Val Asp Pro Gln Gly
130 135 140

Ile Tyr Val Ile Ser Ala Pro Ser Ile Tyr Ala Arg Glu Val Ala Thr
145 150 155 160

Pro Leu Phe Pro Pro Leu His Thr Gly Arg Ala Gly Gln Arg Gln His
165 170 175

Leu Leu Phe Pro Tyr Pro Ser Ser Ile Leu Ser Val Lys
180 185

<210> 264
<211> 648
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3B376 Fab-Fc LC2 cDNA

<400> 264
cagtctgctc tgacccagcc tgcctccgtg tctggctctc ccggccagtc catcaccatc 60

agctgtaccg gcacctcctc caacatcggc acctacaagt tcgtgtcctg gtatcagcaa 120

cacccgaca aggcccccaa agtgctgctg tacgaggtgt ccaagcggcc ctctggcgtg 180

tcctccagat tctccggctc caagtctggc aacaccgcct ccctgaccat cagcggactg 240

caggctgagg accaggccga ctaccactgt gtgtcctacg ctggctctgg caccctgctg 300

tttggcggag gcaccaagct gactgtcctg ggtcagccca aggctgcacc cagtgtcact 360

ctgttcccgc cctcctctga ggagcttcaa gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata 420

agtgacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg ccgatagcag ccccgtcaag 480

gcgggagtcg aaaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540

tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtg gcccctacag aatgttca 648

<210> 265
<211> 1434
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B585及DL3B587中之DL3B279 LH scFv-Fc cDNA

<400> 265
gatattcaga tgacacagtc tccatccagc ttgtcagcaa gcgtgggtga tagggttacc 60

atcacttgtc gcgcaagtca aggaattagt aactatttgg catggtttca gcagaaaccc 120

ggtaaggctc caaaatcact catatatgca gcatcctccc tccagtctgg tgttccaagt 180

aagttttccg ggagcggttc cggcaccgat ttcactctca caatctctag ccttcaaccc 240

gaggacttcg ctacctatta ttgccaacag tataatagct acccatacac ttttgctcaa 300

gggaccaaac tcgagatcaa aggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag ccaggttcag ttggtccaga gtggtgccga agtaaagaag 420

cccggagcat ccgtaaaggt gtcctgtaaa gccagtggca atactttcac taactattac 480

atccattggg tccgacaagc ccccggacaa ggattggagt ggatgggtat tatcaacccc 540

tccggtgggt ctacttctta cgctcaaaaa ctccagggcc gaatgacaat gacacgcgac 600

acctcaactt caaccgttta catggagctt agcagtcttc gatctgagga cactgctgtt 660

tacttttgcg ctaggcaggg gcctttcata ggagacgctt ttgacatctg ggggcaagga 720

acaatggtca ctgtcagttc cgagcccaaa tctagcgaca aaactcacac atgtccaccg 780

tgcccagcac ctgaagcagc agggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag 840

gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgag cgtgagccac 900

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 960

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 1020

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc 1080

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 1140

tacgtgctgc ccccatcccg ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gctgtgcctg 1200

gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1260

aacaactacc tcacctggcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1320

aagctcaccg tggacaagtc tagatggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1380

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagagcctct ccctgtctcc gggt 1434

<210> 266
<211> 1437
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B279 LH scFv變體-Fc cDNA

<400> 266
gacatccaga tgacccagtc tccatcctct ctgtccgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60

atcacctgta gagcctctca gggcatctcc aactacctgg cctggttcca gcagaagcct 120

ggcaaggctc ccaagagcct gatctacgct gcttccagtc tgcagtctgg cgtgccctct 180

aagttctccg gctctggctc tggcaccgac tttaccctga caatctccag cctgcagcct 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacagct acccctacac ctttggccag 300

ggcaccaagc tggaaatcaa gggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag ccaggttcag ctggttcagt ctggcgccga agtgaagaaa 420

cctggcgcct ctgtgaaggt gtcctgcaag gcttctggac agaccttcac caactactac 480

atccactggg tccgacaggc ccctggacaa ggattggagt ggatgggcat catcaaccct 540

tccggcggct ctacctctta cgcccagaaa ctgcagggca gaatgaccat gaccagagac 600

acctccacca gcaccgtgta catggaactg tccagcctga gatccgagga taccgccgtg 660

tacttctgtg ccagacaggg acctttttatc ggcgacgcct tcgacatctg gggccaggga 720

acaacagtga ccgtgtcctc tgagcccaaa tctagcgaca aaactcacac ttgtccaccg 780

tgcccagcac ctgaagcagc agggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag 840

gacaccctca tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tggtggtgag cgtgagccac 900

gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag 960

acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc 1020

ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtgtccaa caaagccctc 1080

ccagccccca tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggc agccccgaga accacaggtg 1140

tacgtgctgc ccccatcccg ggaggagatg accaagaacc aggtcagcct gctgtgcctg 1200

gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag 1260

aacaactacc tcacctggcc tcccgtgctg gactccgacg gctccttctt cctctacagc 1320

aagctcaccg tggacaagtc cagatggcag caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg 1380

catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag aagtctctct ccctgtctcc gggaaaa 1437

<210> 267
<211> 1347
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B582及DL3B583中之DL3B279-Fab-Fc HC1 cDNA

<400> 267
caggttcagt tggtccagag tggtgccgaa gtaaagaagc ccggagcatc cgtaaaggtg 60

tcctgtaaag ccagtggcaa tactttcact aactattaca tccattgggt ccgacaagcc 120

cccggacaag gattggagtg gatgggtatt atcaacccct ccggtgggtc tacttcttac 180

gctcaaaaac tccagggccg aatgacaatg acacgcgaca cctcaacttc aaccgtttac 240

atggagctta gcagtcttcg atctgaggac actgctgttt acttttgcgc taggcagggg 300

cctttcatag gagacgcttt tgacatctgg gggcaaggaa caatggtcac tgtcagttcc 360

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420

ggcacagcgg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca 540

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 600

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc 660

aaatcttgtg acaaaactca cacatgtcca ccgtgcccag cacctgaagc agcaggggga 720

ccgtcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 780

gaggtcacat gcgtggtggt gagcgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 840

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900

agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 960

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020

aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacgtgc tgcccccatc ccgggaggag 1080

atgaccaaga accaggtcag cctgctgtgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acctcacctg gcctcccgtg 1200

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gtctagatgg 1260

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320

cagaagagcc tctccctgtc tccgggt 1347

<210> 268
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> DL3B582及DL3B583中之DL3B279-Fab-Fc LC1 cDNA

<400> 268
gacatccaga tgacccagag ccctagctct ttaagcgcta gcgtgggcga tcgtgtgacc 60

atcacttgtc gtgccagcca aggtatcagc aactatttag cttggttcca gcagaagccc 120

ggcaaggctc ccaagtcttt aatctatgcc gctagctctt tacagagcgg agtgcccagc 180

aagtttagcg gcagcggtag cggaaccgac ttcactttaa ccatcagctc tctgcagccc 240

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacagct acccctacac cttcgcccaa 300

ggtaccaagc tggagatcaa gcgtacggtg gctgcaccat ctgtcttcat cttcccgcca 360

tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480

gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540

ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600

ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 269
<211> 1422
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245 LH scFv-Fc cDNA

<400> 269
gacatacaaa tgacacaatc accctcttct ctttctgcaa gcgttggcga ccgtgtcact 60

atcacttgtc gagcccgcca gtccataggt actgccattc actggtatca acagaagcct 120

ggcaaggctc ccaaactcct gattaagtat gccagcgaga gcatttccgg cgtaccttca 180

agattttccg gctccggtag tgggacagat ttcactctca ctatatctag cctccaacca 240

gaagatttcg ccacttacta ctgtcaacaa tcaggttcat ggccttacac tttcggccag 300

gggacaaaat tggagatcaa gggcggctcc gagggcaaga gcagcggcag cggcagcgag 360

agcaagagca ccggcggcag cgaggtgcaa ctggtggagt ctgggggagg cctggtcaag 420

cctgggggggt ccctgagact ctcctgtgca gcctctggat tcaccttcag tagatataac 480

atgaactggg tccgccaggc tccagggaag gggctggagt gggtctcatc cattagtact 540

agtagtaatt acatatacta cgcagactca gtgaagggcc gattcacctt ctccagagac 600

aacgccaaga actcactgga tctgcaaatg agcggcctga gagccgagga cacggctatt 660

tattactgta cgagaggctg ggggccttttt gactactggg gccagggaac cctggtcacc 720

gtctcctcag agcccaaatc tagcgacaaa actcacacat gtccaccgtg cccagcacct 780

gaagcagcag ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccccaa aacccaagga caccctcatg 840

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtgagcg tgagccacga agaccctgag 900

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 960

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1020

tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1080

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta cgtgtacccc 1140

ccatcccggg aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1200

tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1260

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcgccc tcgtgagcaa gctcaccgtg 1320

gacaagtcta gatggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1380

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gt 1422

<210> 270
<211> 1422
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> CD3W245 HL scFv-Fc cDNA

<400> 270
gaggtgcaac tggtggagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggGtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agatataaca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtacta gtagtaatta catatactac 180

gcagactcag tgaagggccg attcaccttc tccagagaca acgccaagaa ctcactggat 240

ctgcaaatga gcggcctgag agccgaggac acggctattt attactgtac gagaggctgg 300

gggccttttg actactgggg ccagggaacc ctggtcaccg tctcctcagg cggctccgag 360

ggcaagagca gcggcagcgg cagcgagagc aagagcaccg gcggcagcga catacaaatg 420

acacaatcac cctcttctct ttctgcaagc gttggcgacc gtgtcactat cacttgtcga 480

gcccgccagt ccataggtac tgccattcac tggtatcaac agaagcctgg caaggctccc 540

aaactcctga ttaagtatgc cagcgagagc atttccggcg taccttcaag attttccggc 600

tccggtagtg ggacagattt cactctcact atatctagcc tccaaccaga agatttcgcc 660

acttactact gtcaacaatc aggttcatgg ccttacactt tcggccaggg gacaaaattg 720

gagatcaagg agcccaaatc tagcgacaaa actcacacat gtccaccgtg cccagcacct 780

gaagcagcag ggggaccgtc agtcttcctc ttcccccccaa aacccaagga caccctcatg 840

atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtgagcg tgagccacga agaccctgag 900

gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 960

gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1020

tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agcccccatc 1080

gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta cgtgtacccc 1140

ccatcccggg aggagatgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1200

tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1260

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcgccc tcgtgagcaa gctcaccgtg 1320

gacaagtcta gatggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1380

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gt 1422

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種單離蛋白質，其包含結合類δ蛋白質3 (DLL3)之抗原結合區，其中該抗原結合區結合至SEQ ID NO:263之胺基酸序列內之表位。

【請求項2】 如請求項1所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區與參考抗體競爭結合至DLL3，該參考抗體包含含有重鏈互補決定區(HCDR) HCDR1、HCDR2、及HCDR3之重鏈可變區(VH)及包含輕鏈互補決定區(LCDR) LCDR1、LCDR2、及LCDR3之輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3具有下列之胺基酸序列：

a. SEQ ID NO:1 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:2 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3；

b. SEQ ID NO:3 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:4 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3；

c. SEQ ID NO:5 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:6 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3；

d. SEQ ID NO:7 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:8 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3；

e. SEQ ID NO:9 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:10 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3；

f. SEQ ID NO:11 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:12 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3；或

g. SEQ ID NO:13 之 VH 的該 HCDR1、該 HCDR2、及該 HCDR3 及 SEQ ID NO:14 之 VL 的該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3。

【請求項3】 如請求項1至2中任一項所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含下列之胺基酸序列之該HCDR1、該HCDR2、該HCDR3、該LCDR1、該LCDR2、及該LCDR3：

a. 分別為 SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

b. 分別為 SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

c. 分別為 SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

d. 分別為 SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

e. 分別為 SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

f. 分別為 SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

g. 分別為 SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

h. 分別為 SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

i. 分別為 SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

j. 分別為 SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

k. 分別為 SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

l. 分別為 SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

m. 分別為 SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

【請求項4】 如請求項1至3中任一項所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含分別地具有與SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、或13至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列的該VH，及具有與SEQ ID NO:2、4、6、8、10、12、或14至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的該胺基酸序列的該VL。

【請求項5】 如請求項4所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含：

a. SEQ ID NO:1 之該 VH 及 SEQ ID NO:2 之該 VL；

b. SEQ ID NO:3 之該 VH 及 SEQ ID NO:4 之該 VL；

c. SEQ ID NO:5 之該 VH 及 SEQ ID NO:6 之該 VL；

d. SEQ ID NO:7 之該 VH 及 SEQ ID NO:8 之該 VL；

e. SEQ ID NO:9 之該 VH 及 SEQ ID NO:10 之該 VL；

f. SEQ ID NO:11 之該 VH 及 SEQ ID NO:12 之該 VL；或

g. SEQ ID NO:13 之該 VH 及 SEQ ID NO:14 之該 VL。

【請求項6】 如請求項1至5中任一項所述之單離蛋白質，其中該抗原結合區包含具有與SEQ ID NO:63或64之胺基酸序列至少80%（例如，至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%、或100%）同一的該胺基酸序列的scFv。

【請求項7】 一種免疫接合物，其包含接合至治療劑或顯像劑的如請求項1至6中任一項所述之單離蛋白質。

【請求項8】 一種多特異性抗原結合構築體，其包含如請求項1至6中任一項所述之蛋白質。

【請求項9】 如請求項8所述之多特異性抗原結合構築體，其進一步包含結合諸如T細胞或自然殺手(NK)細胞之淋巴球上的抗原之第二抗原結合區。

【請求項10】如請求項9所述之多特異性抗原結合構築體，其中該淋巴球上的該抗原係CD3、CD3ε (CD3 epsilon)、CD8、KI2L4、NKG2E、NKG2D、NKG2F、BTNL3、CD186、BTNL8、PD-1、CD195、或NKG2C。

【請求項11】如請求項10所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區結合CD3ε且包含具有HCDR1、HCDR2、及HCDR3之VH、及具有LCDR1、LCDR2、及LCDR3之VL，且該第二抗原結合區之該HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及LCDR3包含下列之胺基酸序列：

a. 分別為 SEQ ID NO:98、99、100、106、107、及 108；或

b. 分別為 SEQ ID NO:95、96、97、101、102、及 104。

【請求項12】如請求項11所述之多特異性抗原結合構築體，其中該第二抗原結合區包含：

a. 具有與 SEQ ID NO:84 之胺基酸序列至少 80%（例如，至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100%）同一的該胺基酸序列的該 VH、及具有與 SEQ ID NO:85 之胺基酸序列至少 80%（例如，至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100%）同一的該胺基酸序列的該 VL；較佳地，該 VH 包含 SEQ ID NO:84 之該胺基酸序列且該 VL 包含 SEQ ID NO:85 之該胺基酸序列；或

b. 具有與 SEQ ID NO:77 之胺基酸序列至少 80%（例如，至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100%）同一的該胺基酸序列的該 VH、及具有與 SEQ ID NO:80 之胺基酸序列至少 80%（例如，至少 85%、至少 90%、至少 91%、至少 92%、至少 93%、

至少 94%、至少 95%、至少 96%、至少 97%、至少 98%、至少 99%、或 100%）同一的該胺基酸序列的該 VL，該 VH 包含 SEQ ID NO:77 之該胺基酸序列且該 VL 包含 SEQ ID NO:80 之該胺基酸序列。

【請求項13】如請求項8至12中任一項所述之多特異性抗原結合構築體，其中結合DLL3之該抗原結合域具有分別為該胺基酸序列SEQ ID NO:15、16、17、33、34、及35之該HCDR1、該HCDR2、該HCDR3、該LCDR1、該LCDR2、及該LCDR3，較佳地，結合DLL3之該抗原結合域包含具有與SEQ ID NO:3至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列的該VH、及具有與SEQ ID NO:4至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列的該VL。

【請求項14】一種融合物或接合物，其包含與如請求項1至6中任一項所述之單離蛋白質或如請求項8至13中任一項所述之多特異性抗原結合構築體融合的半衰期延長部份，其中該半衰期延長部份係免疫球蛋白(Ig)、該Ig之片段、Ig恆定區、該Ig恆定區之片段、Fc區、轉鐵蛋白、白蛋白、白蛋白結合域、或聚乙二醇。

【請求項15】如請求項14所述之融合物或接合物，其中該半衰期延長部份包含該Ig恆定區之片段，諸如包含至少一個選自由下列所組成之群組的突變的Ig恆定區：T350V、L351Y、F405A、Y407V、T366Y、T366W、F405W、T394W、T394S、Y407T、Y407A、T366S/L368A/Y407V、L351Y/F405A/Y407V、T366I/K392M/T394W、F405A/Y407V、T366L/K392M/T394W、L351Y/Y407A、T366A/K409F、L351Y/Y407A、

T366V/K409F、T366A/K409F、T350V/L351Y/F405A/Y407V、T350V/T366L/K392L/T394W、及L234A/L235A/D265S，其中殘基編號係根據EU索引。

【請求項16】一種雙特異性抗原結合構築體，其包含：

(1) 結合 DLL3 之第一抗原結合區，其中該第一抗原結合區包含具有 HCDR1、HCDR2、及 HCDR3 之第一 VH、及具有 LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 之第一 VL，且該 HCDR1、該 HCDR2、該 HCDR3、該 LCDR1、該 LCDR2、及該 LCDR3 包含下列之胺基酸序列

(a) 分別為 SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35；

(b) 分別為 SEQ ID NO:18、19、20、36、37、38；

(c) 分別為 SEQ ID NO:21、22、23、39、37、40；

(d) 分別為 SEQ ID NO:24、25、26、41、42、43；

(e) 分別為 SEQ ID NO:18、28、29、44、45、46；

(f) 分別為 SEQ ID NO:30、31、32、47、48、49；

(g) 分別為 SEQ ID NO:50、51、17、33、34、35；

(h) 分別為 SEQ ID NO:52、51、17、33、34、35；

(i) 分別為 SEQ ID NO:53、54、20、36、37、38；

(j) 分別為 SEQ ID NO:55、56、23、39、37、40；

(k) 分別為 SEQ ID NO:57、58、26、41、42、43；

(l) 分別為 SEQ ID NO:59、60、29、44、45、46；或

(m) 分別為 SEQ ID NO:61、62、32、47、48、49。

(2) 結合 CD3ε 之第二抗原結合區，其中該第二抗原結合區包含：

(a)具有分別為 SEQ ID NO:95、96、及 97 之胺基酸序列之 HCDR1、HCDR2、及 HCDR3 的第二 VH、及具有分別為 SEQ ID NO:101、102、及 104 之胺基酸序列之 LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 的第二 VL；或

(b)具有分別為 SEQ ID NO:98、99、及 100 之胺基酸序列之 HCDR1、HCDR2、及 HCDR3 的第二 VH、及具有分別為 SEQ ID NO:106、107、及 108 之胺基酸序列之 LCDR1、LCDR2、及 LCDR3 的第二 VL。

【請求項17】如請求項16所述之雙特異性抗原結合構築體，其中

a. 該第一 VH 及該第一 VL 具有與下列至少 90%（例如，至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%）同一的胺基酸序列：

i. 分別為 SEQ ID NO:1 之該 VH 及 SEQ ID NO:2 之該 VL；

ii. 分別為 SEQ ID NO:3 之該 VH 及 SEQ ID NO:4 之該 VL；

iii. 分別為 SEQ ID NO:5 之該 VH 及 SEQ ID NO:6 之該 VL；

iv. 分別為 SEQ ID NO:7 之該 VH 及 SEQ ID NO:8 之該 VL；

v. 分別為 SEQ ID NO:9 之該 VH 及 SEQ ID NO:10 之該 VL；

vi. 分別為 SEQ ID NO:11 之該 VH 及 SEQ ID NO:12 之該 VL；或

vii. 分別為 SEQ ID NO:13 之該 VH 及 SEQ ID NO:14 之該 VL；

b. 該第二 VH 及該第二 VL 具有與下列至少 90%（例如，至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或 100%）同一的胺基酸序列：

i. SEQ ID NO:77 之該 VH 及 SEQ ID NO:80 之該 VL；或

ii. SEQ ID NO:84 之該 VH 及 SEQ ID NO:85 之該 VL。

【請求項18】如請求項16或17所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含分別具有SEQ ID NO:15、16、17、33、34、35之該胺基酸序列的該HCDR1、該HCDR2、該HCDR3、該LCDR1、該LCDR2、及該LCDR3。

【請求項19】如請求項18所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一VH包含與SEQ ID NO:3至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列，且該第一VL包含與SEQ ID NO:4至少90%（例如，至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%）同一的胺基酸序列。

【請求項20】如請求項16至19中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含含有該第一VH及該第一VL之第一scFv或第一Fab，且該第二抗原結合區包含含有該第二VH及該第二VL之第二Fab或第二scFv。

【請求項21】如請求項20所述之雙特異性抗原結合構築體，其中該第一抗原結合區包含該第一scFv，且該第二抗原結合區包含該第二Fab。

【請求項22】如請求項16至21中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體，其係包含第一重鏈及第二重鏈之雙特異性抗體，其中該第一重鏈包含該第一VH，可任選地進一步包含該第一VL，且該第二重鏈包含該第二VH，可任選地進一步包含該第二VL，其中該第一重鏈及該第二重鏈中之各者進一步包含含有一或多個異二聚體突變的免疫球蛋白(Ig)恆定區。

【請求項23】如請求項22所述之雙特異性抗原結合構築體，其包含：

(4) 具有與選自由 SEQ ID NO:111、111、71 及 229 所組成之群組的胺基酸序列至少 80%，諸如至少 85%、90%、95%、或 100%，同一的胺基酸序列的第一重鏈；

(5) 具有與分別選自由 SEQ ID NO:117、115、117、及 117 所組成之群組的胺基酸序列至少 80%，諸如至少 85%、90%、95%、或 100%，同一的胺基酸序列的輕鏈；及

(6) 具有與分別選自由 SEQ ID NO:116、114、118、及 230 所組成之群組的胺基酸序列至少 80%，諸如至少 85%、90%、95%、或 100%同一的胺基酸序列的第二重鏈。

【請求項24】一種單離核酸，其編碼如請求項1至6中任一項所述之蛋白質、如請求項8至13中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、如請求項14至15中任一項所述之融合物或接合物、或如請求項16至23中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體。

【請求項25】一種載體，其包含如請求項24所述之核酸。

【請求項26】一種宿主細胞，其包含如請求項24所述之核酸或如請求項25所述之載體。

【請求項27】一種生產如請求項1至6中任一項所述之蛋白質、如請求項8至13中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、如請求項14至25中任一項所述之融合物或接合物、或如請求項16至23中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體的方法，其包含在生產該蛋白質、該多特異性抗原結合構築體、該融合物或接合物、或該雙特異性抗原結合構築體之條件下培養如請求項26所述之宿主細胞，及自該細胞或細胞培養物回收彼等。

【請求項28】一種醫藥組成物，其包含如請求項1至6中任一項所述之蛋白質、如請求項7所述之免疫接合物、如請求項8至13中任一項所述之多特異性抗原結合構築體、如請求項14至25中任一項所述之融合物或接合物、如請求項16至23中任一項所述之雙特異性抗原結合構築體、如請求項24所述之核酸、如請求項25所述之載體、或如請求項26所述之宿主細胞，及醫藥上可接受之載劑。

【請求項29】一種如請求項28所述之醫藥組成物用於製備治療DLL3表現性癌症之藥物之用途，其中較佳地該癌症選自由下列所組成之群組：肺癌（諸如小細胞肺癌）、前列腺癌（諸如神經內分泌前列腺癌、或復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌）、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌、或其任何組合。

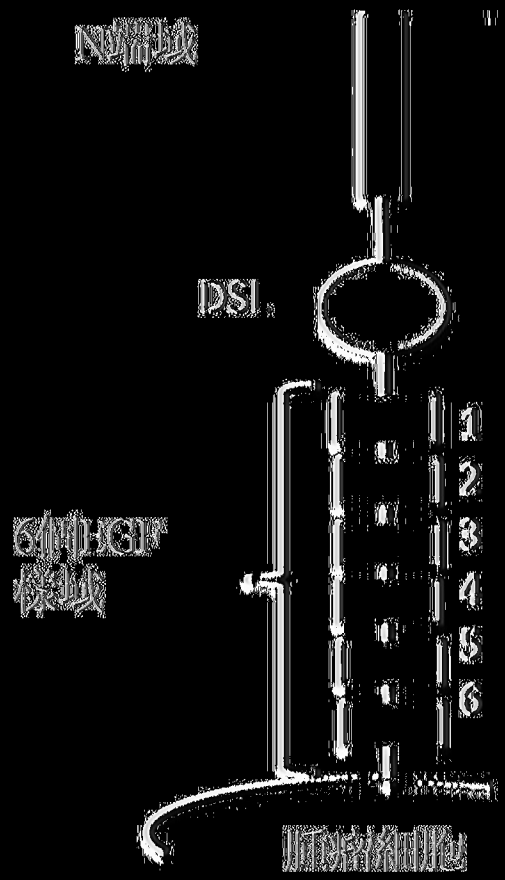
【請求項30】一種如請求項28所述之醫藥組成物用於製備減少對象之DLL3表現性腫瘤細胞之量之藥物之用途，其中較佳地該對象需要治療選自由下列所組成之群組的癌症：肺癌（諸如小細胞肺癌）、前列腺癌（諸如神經內分泌前列腺癌、或復發性、難治性、惡性、或去勢抗性前列腺癌）、神經膠質瘤、神經膠質母細胞瘤、黑色素瘤、神經內分泌胰臟癌、肝母細胞瘤、及肝細胞癌、或其任何組合。

【請求項31】一種如請求項28所述之醫藥組成物用於製備治療有發展DLL3表現性癌症之風險的對象之非癌性病況之藥物之用途，其中較佳地該非癌性病況係前列腺肥大、良性前列腺增生(BPH)、或未診斷出前列腺癌下具有高前列腺特異性抗原(PSA)水準的病況。

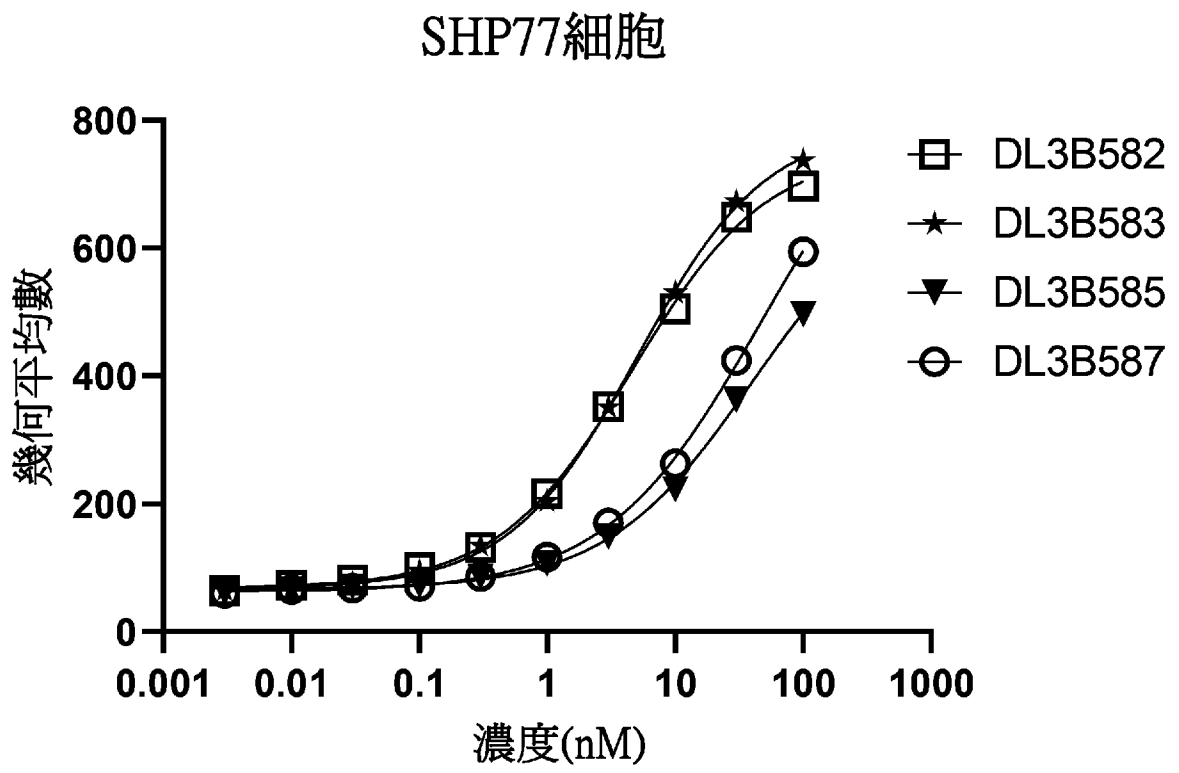
【請求項32】一種偵測對象之神經內分泌前列腺癌或小細胞肺癌之存在的方法，其包含向懷疑患有前列腺癌或小細胞肺癌之對象投予如請求項7所述之

免疫接合物，及視覺化該免疫接合物所結合之生物結構，藉以偵測前列腺癌或小細胞肺癌之存在。

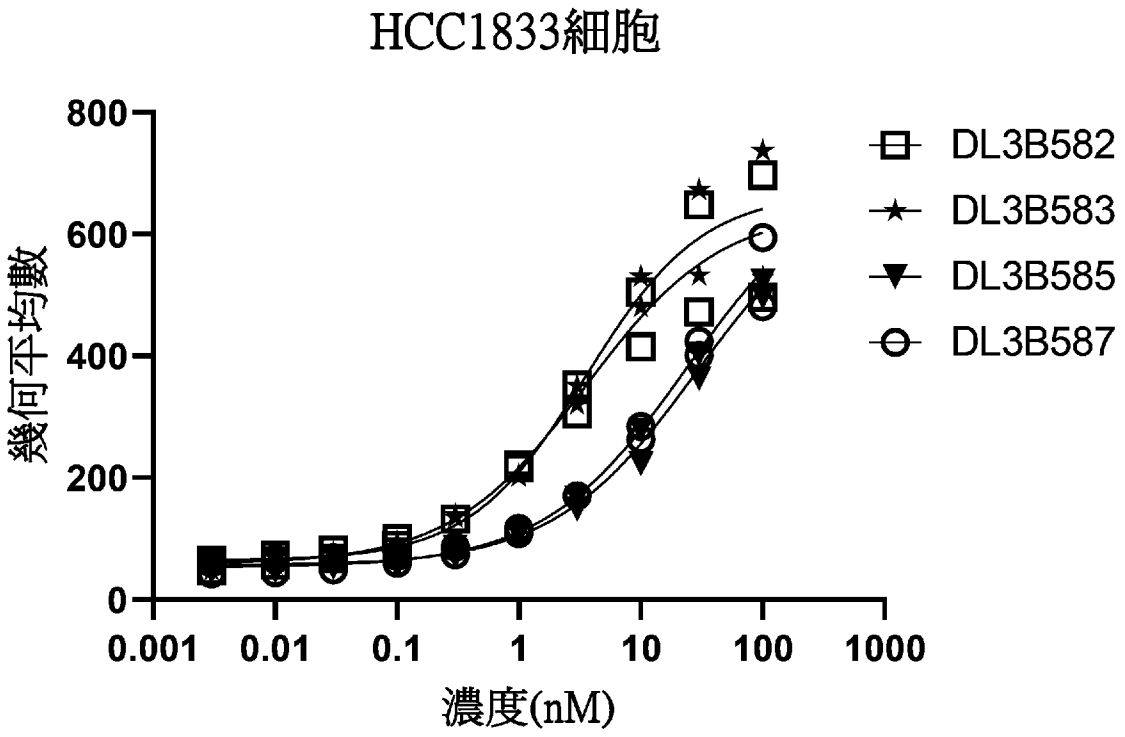
[發明圖式]



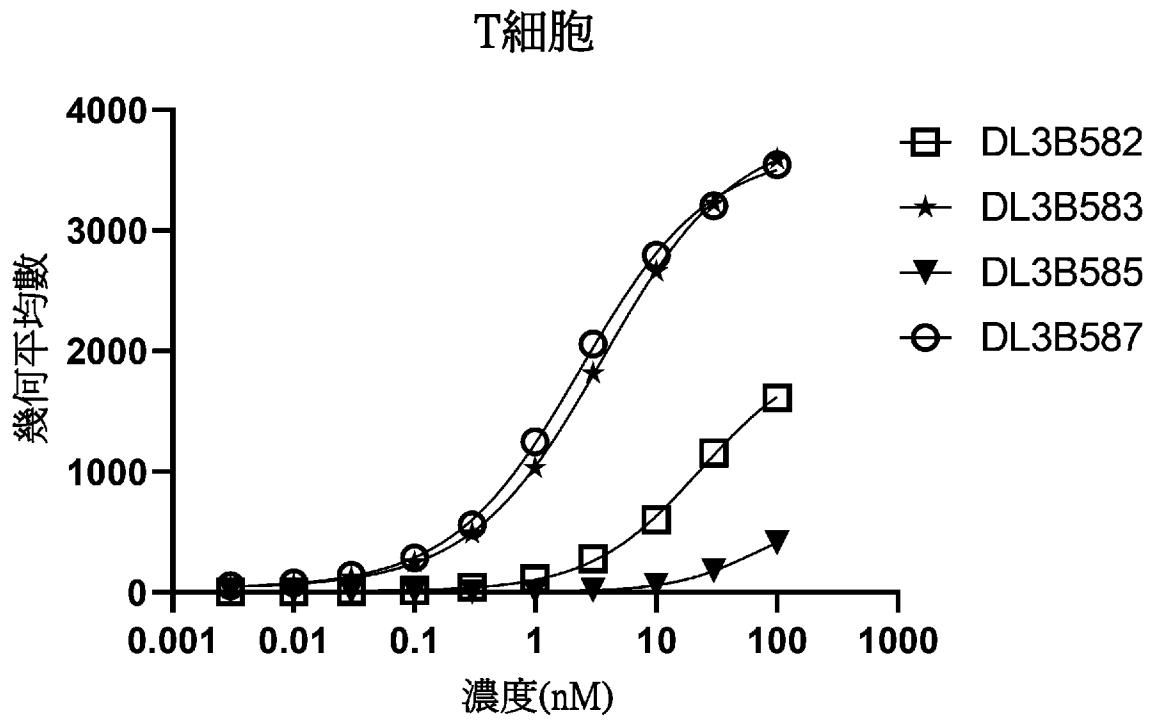
[圖1]


SHP77細胞
800
600
400
200
0
幾何平均數
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DL3B582
DL3B583
DL3B585
DL3B587

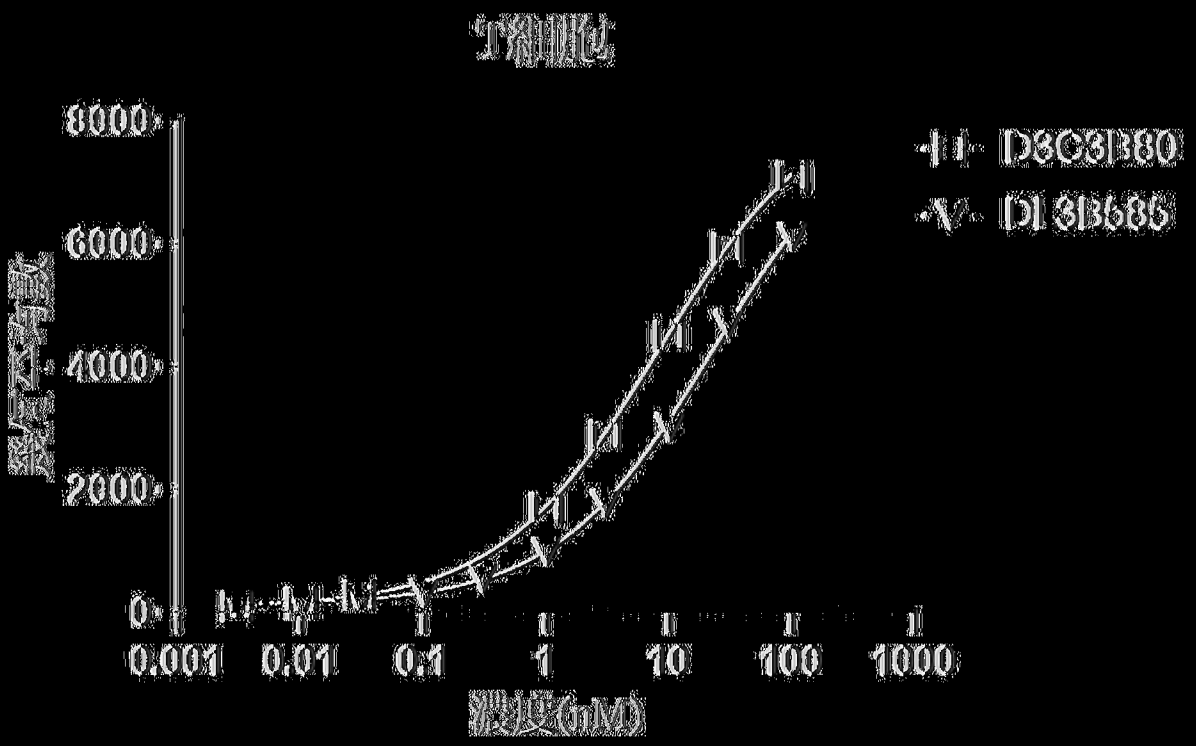
【圖2A】


HCC1833細胞
800
600
400
200
0
幾何平均數
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DL3B582
DL3B583
DL3B585
DL3B587

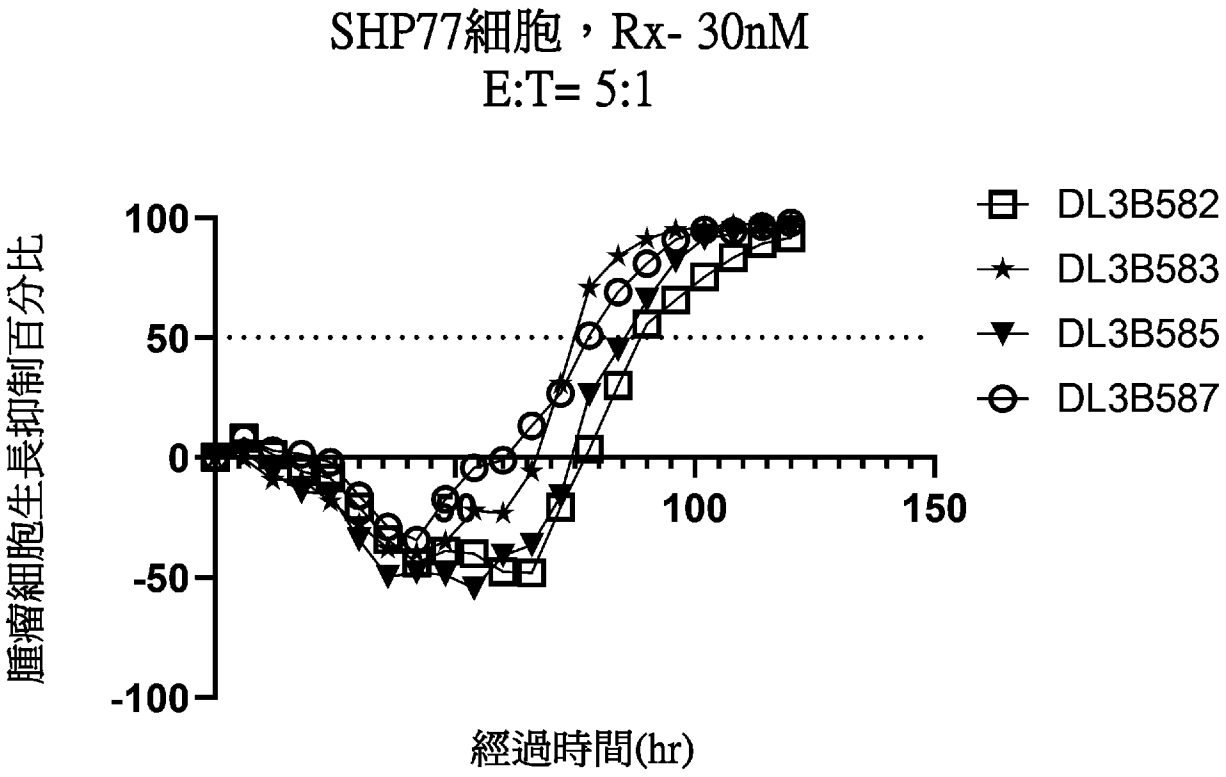
【圖2B】


T細胞
4000
3000
2000
1000
0
幾何平均數
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DL3B582
DL3B583
DL3B585
DL3B587

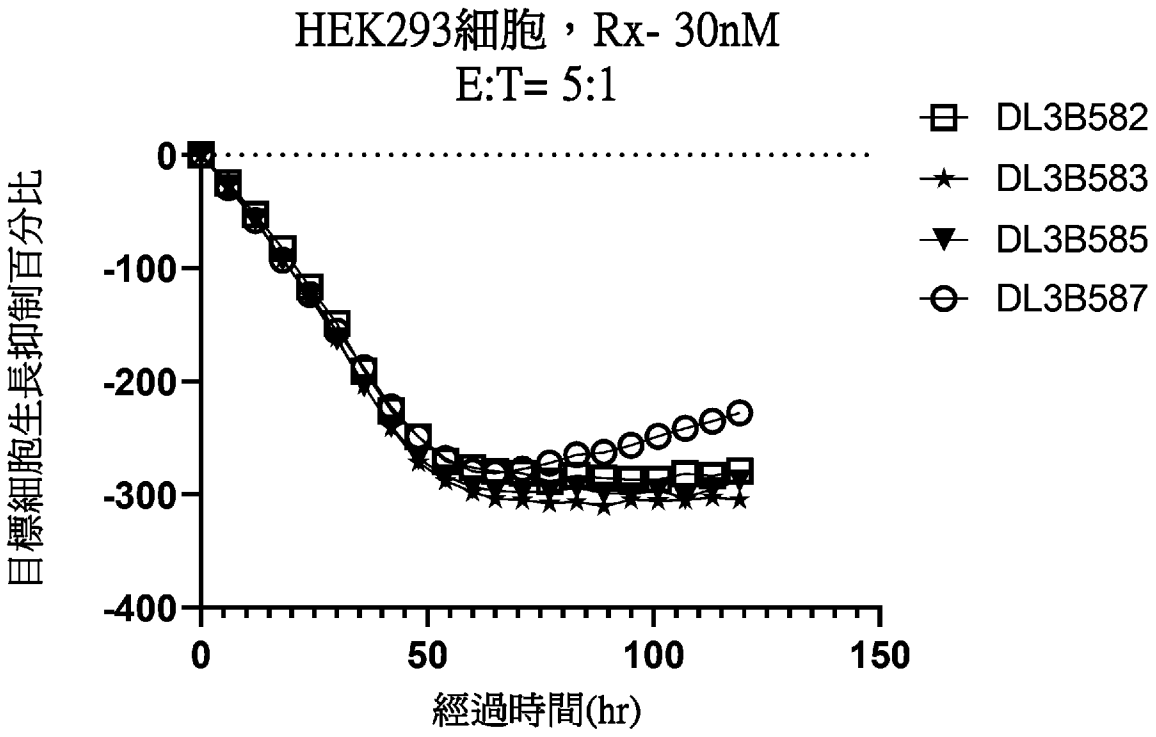
【圖3】


T細胞
8000
6000
4000
2000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DBCB380
DB3B685

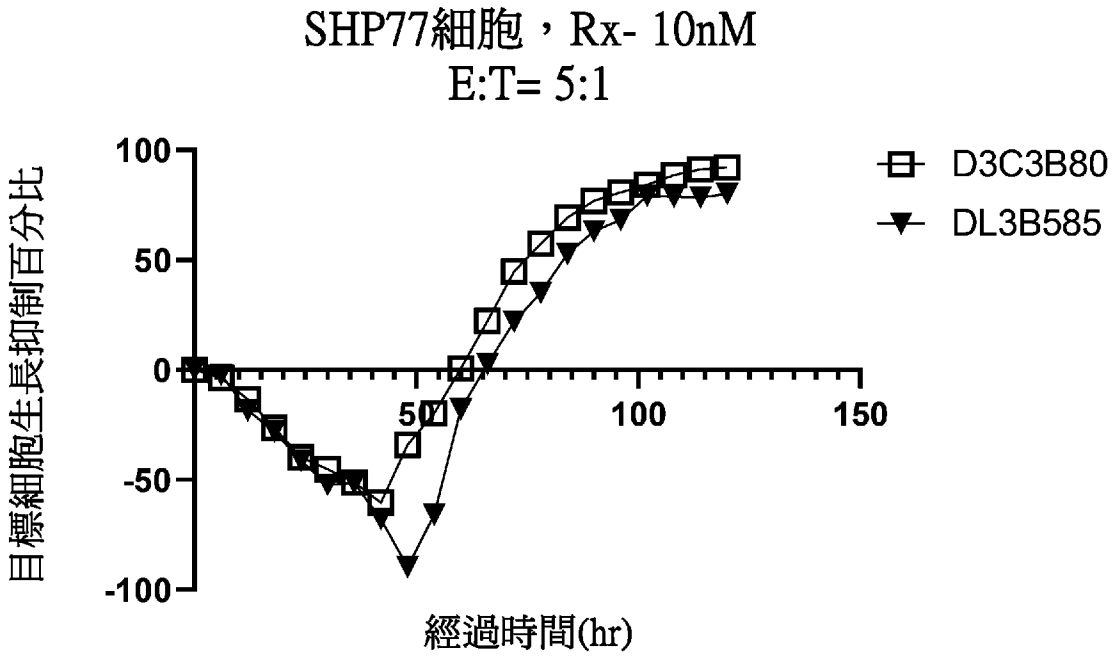
[圖4]


SHP77細胞，Rx- 30nM
E:T= 5:1
腫瘤細胞生長抑制百分比
100
50
0
-50
-100
50
100
150
經過時間(hr)
DL3B582
DL3B583
DL3B585
DL3B587

【圖5A】


HEK293細胞，Rx- 30nM
E:T= 5:1
目標細胞生長抑制百分比
0
-100
-200
-300
-400
0
50
100
150
經過時間(hr)
DL3B582
DL3B583
DL3B585
DL3B587

【圖5B】


SHP77細胞，Rx- 10nM
E:T= 5:1
目標細胞生長抑制百分比
100
50
0
-50
-100
50
100
150
經過時間(hr)
D3C3B80
DL3B585

【圖6】

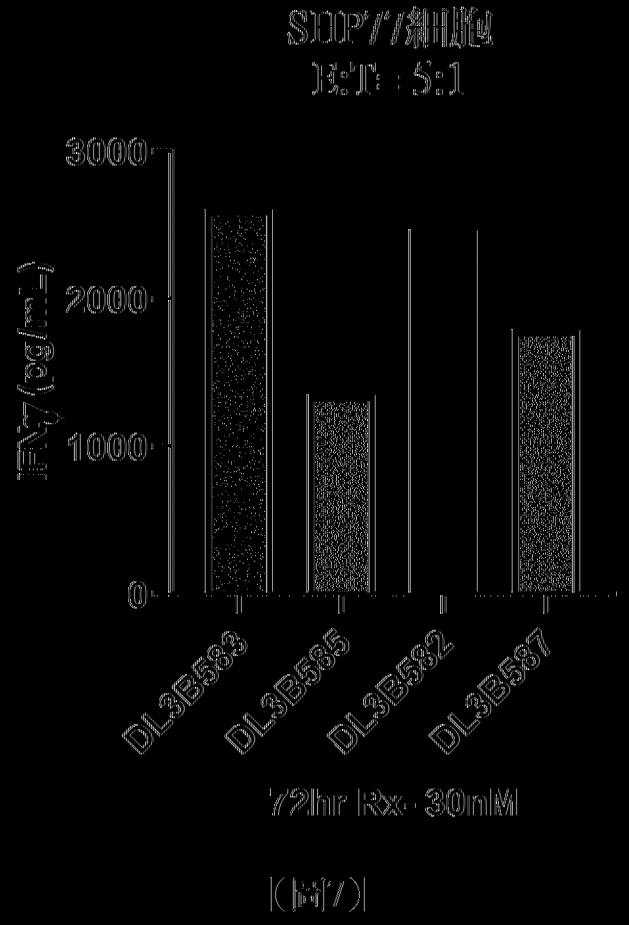
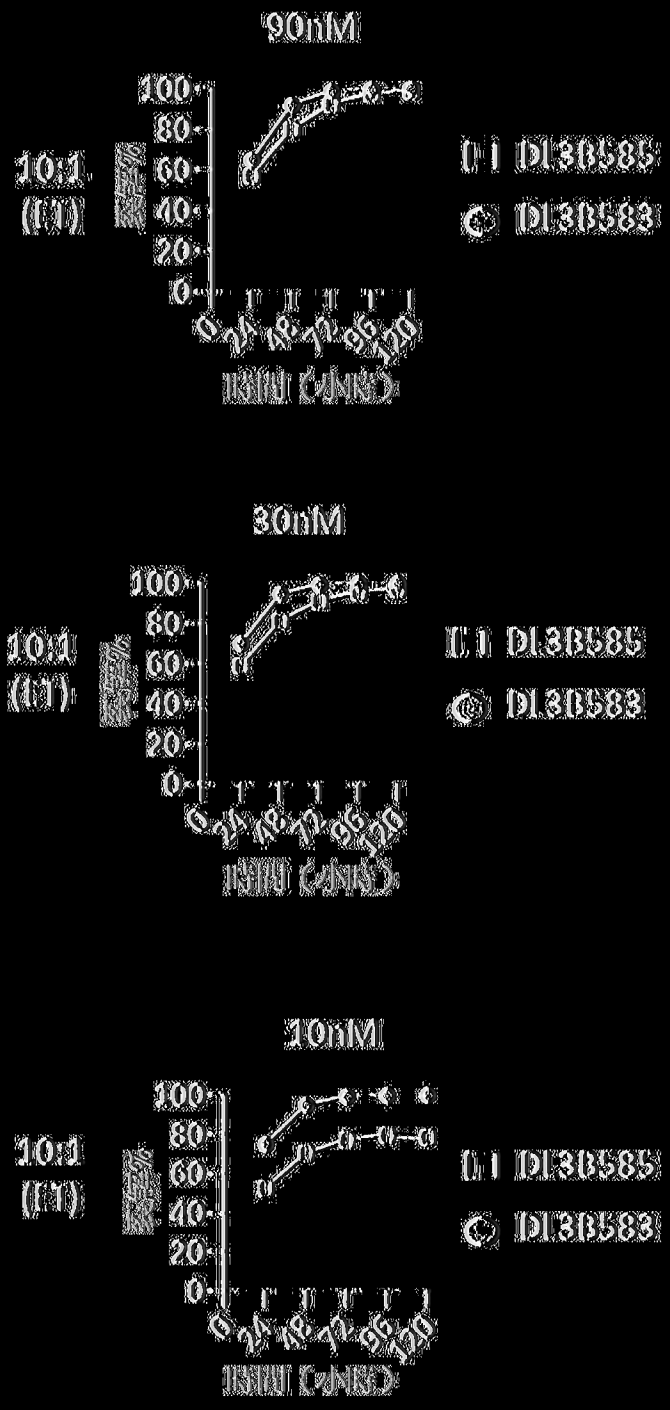
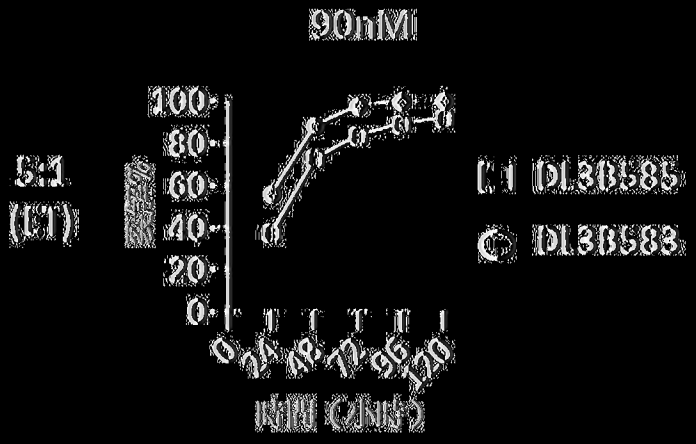
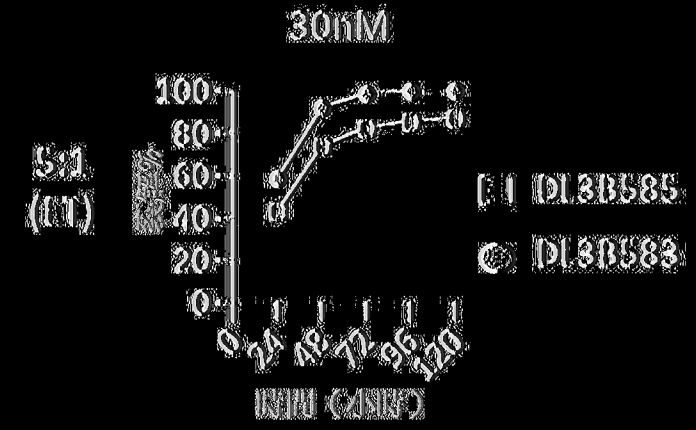

SOP7/細胞
E:T = 5:1
3000
2000
1000
0
IFN-γ (pg/mL)
DL3B582
DL3B585
DL3B582
DL3B587
72hr Rx = 30nM

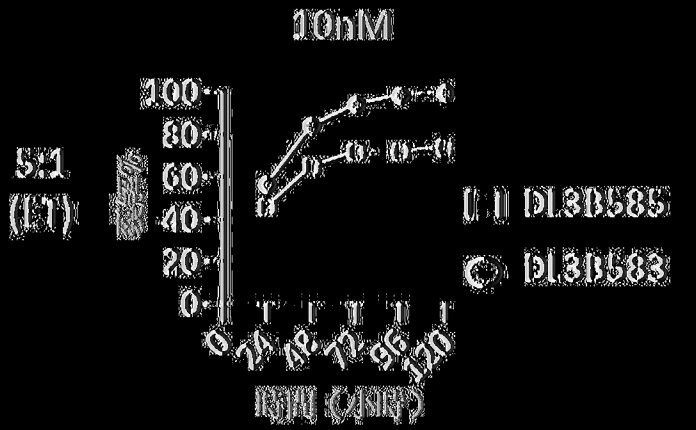
圖7


90nM
100
80
60
40
20
0
10:1
(IT)
IT
DL3B585
DL3B583
30nM
100
80
60
40
20
0
10:1
(IT)
IT
DL3B585
DL3B583
10nM
100
80
60
40
20
0
10:1
(IT)
IT
DL3B585
DL3B583

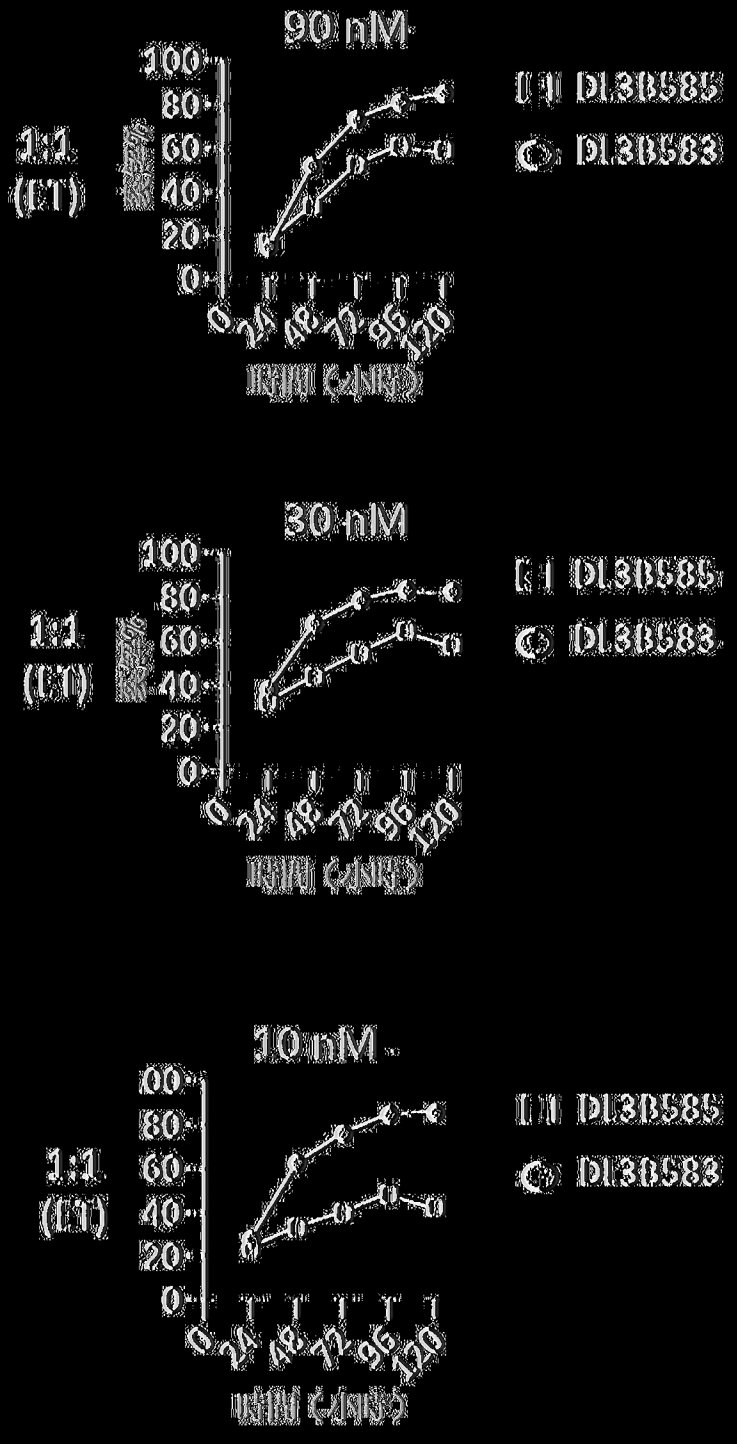
[圖8A]


90nM
5:1
(LT)
100
80
60
40
20
0
0
24
48
72
96
120
時間 (分鐘)
DL3B585
DL3B583

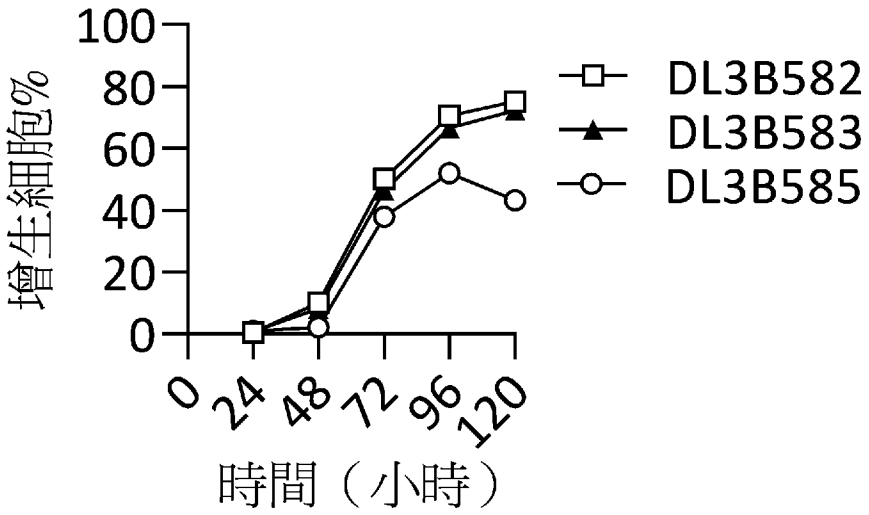

30nM
5:1
(LT)
100
80
60
40
20
0
0
24
48
72
96
120
時間 (分鐘)
DL3B585
DL3B583


10nM
5:1
(LT)
100
80
60
40
20
0
0
24
48
72
96
120
時間 (分鐘)
DL3B585
DL3B583

[圖8B]


90 nM
30 nM
10 nM
1:1
(E:T)
DL3B585
DL3B583
100
80
60
40
20
0
0
24
48
72
96
120

|(圖8C)|


100
80
60
40
20
0
增生細胞%
0
24
48
72
96
120
時間（小時）
DL3B582
DL3B583
DL3B585

【圖9】

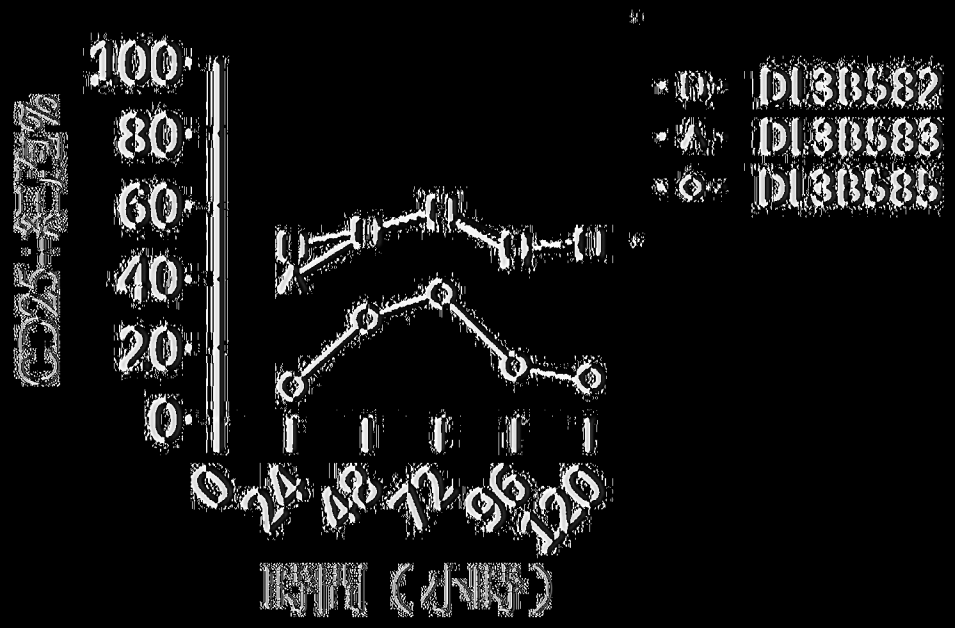


圖10A

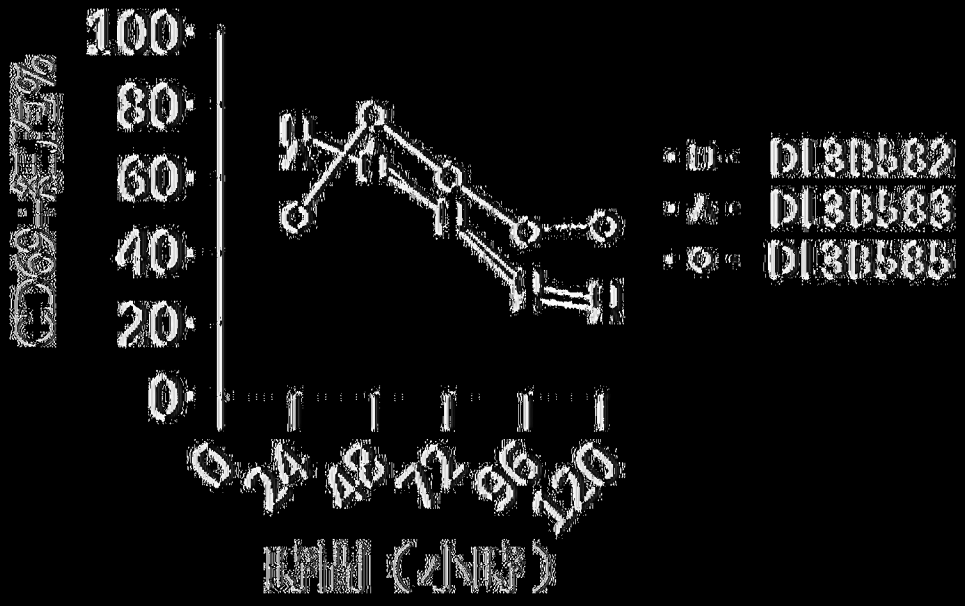
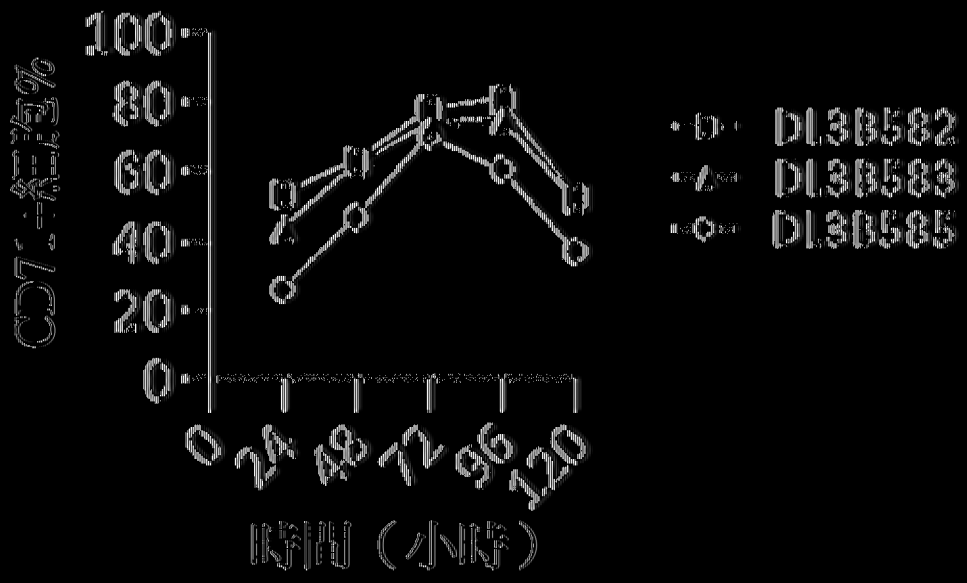


圖10B



|(圖10C)|

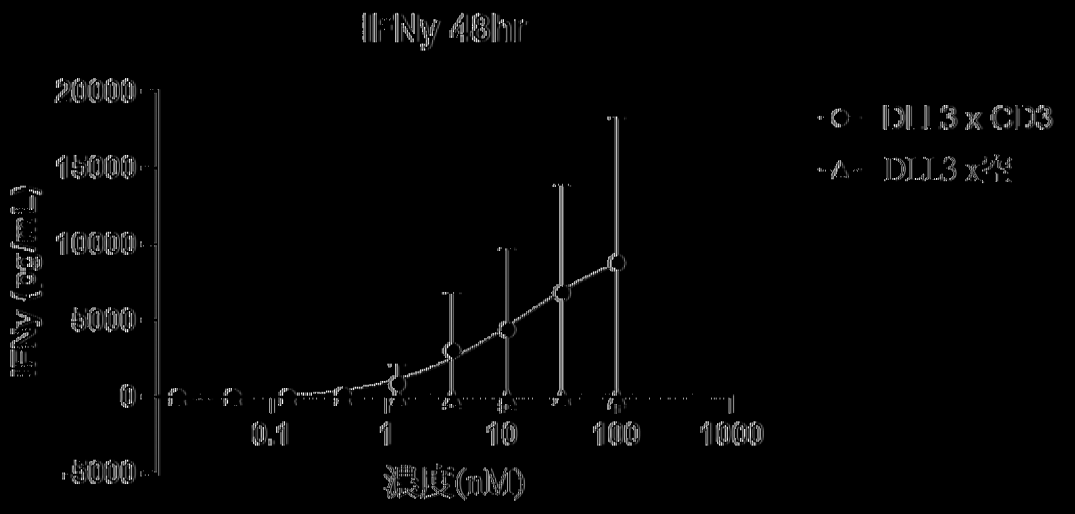

IFNγ 48hr
20000
15000
10000
5000
0
-5000
IFNγ (pg/mL)
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DLL3 x CD3
DLL3 x空

圖11A

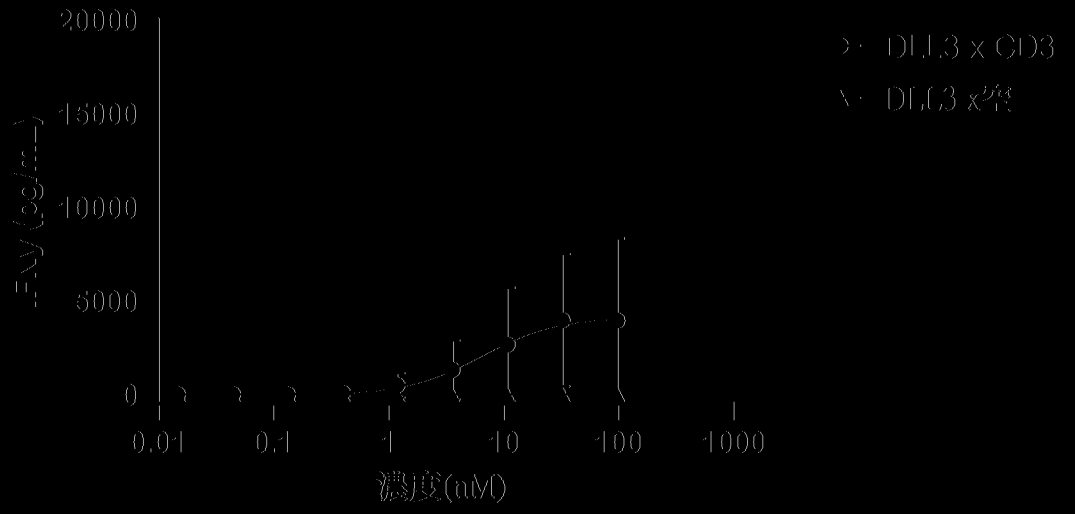
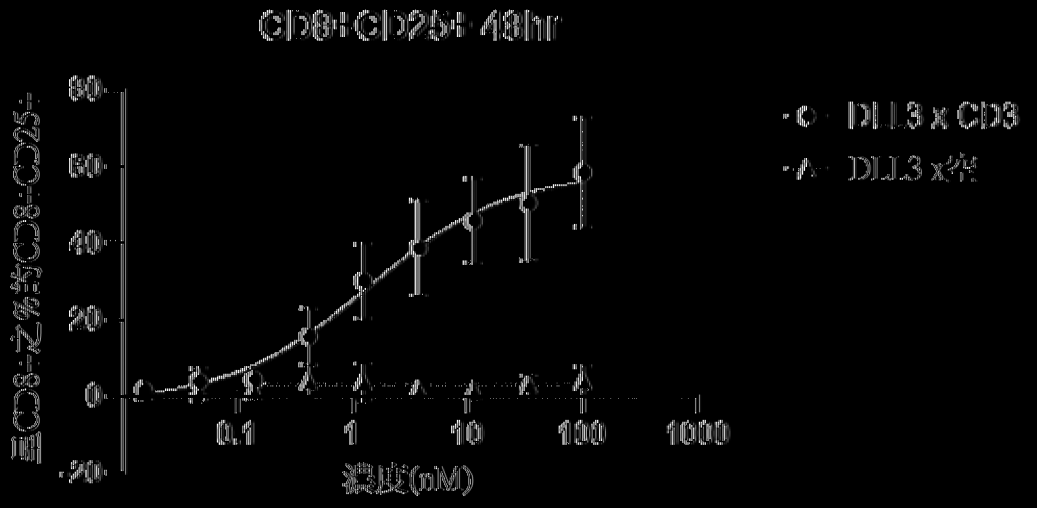
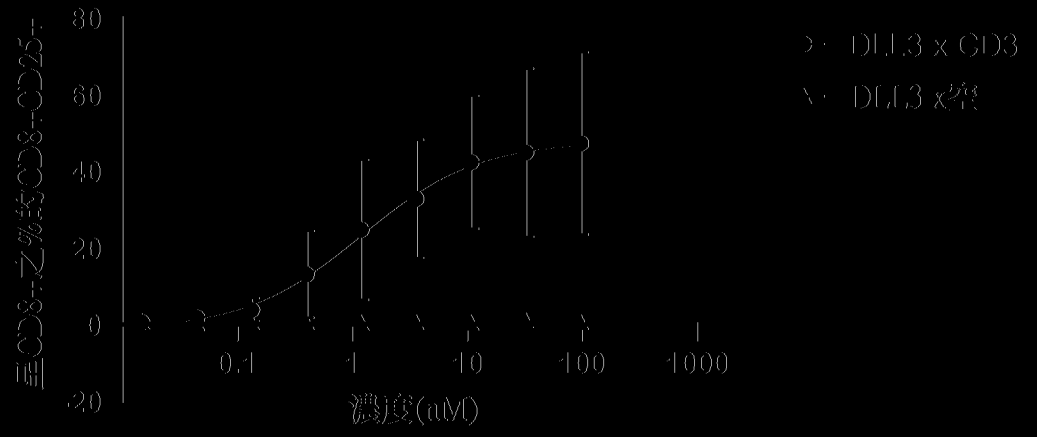

IFNγ 120hr
20000
15000
10000
5000
0
IFNγ (pg/mL)
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DLL3 x CD3
DLL3 x空

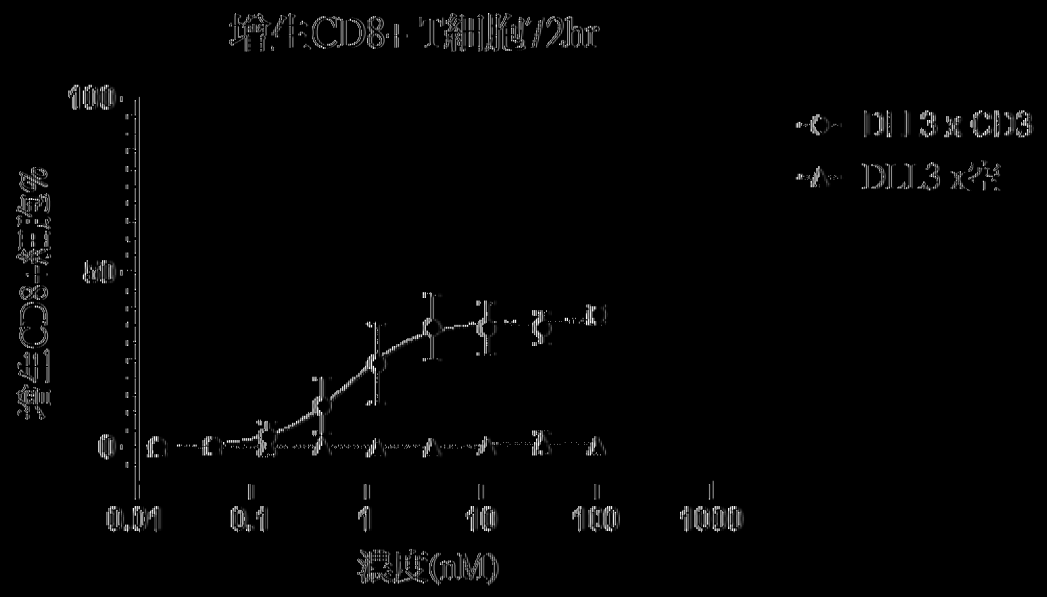
圖11B


CD8+CD25+ 48hr
DLL3 x CD3
DLL3 x空
濃度(nM)
0.1
1
10
100
1000
80
60
40
20
0
-20

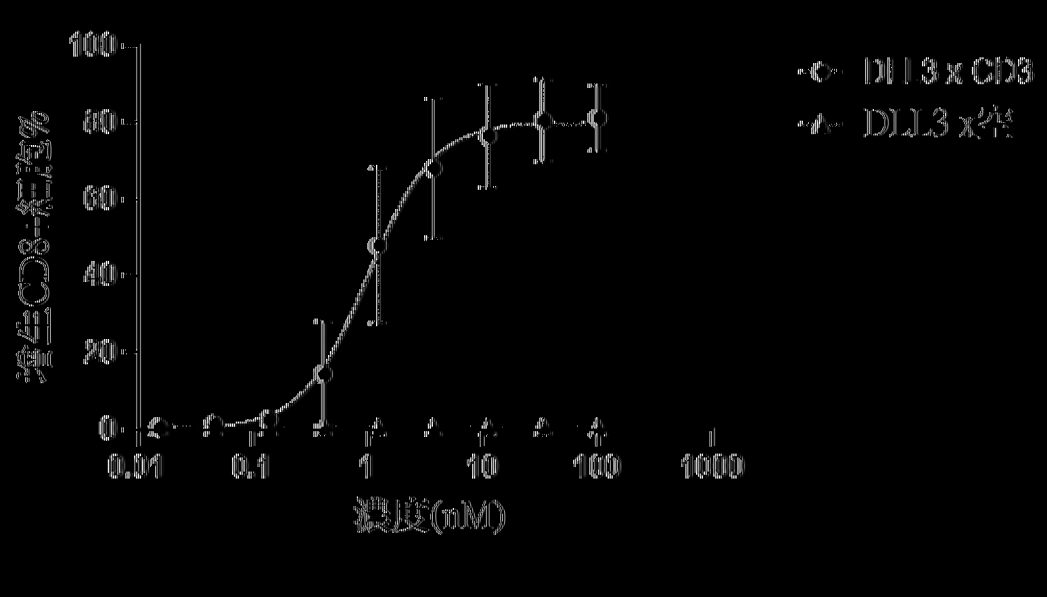
圖(圖12A)


CD8+CD25+ 120hr
DLL3 x CD3
DLL3 x空
濃度(nM)
0.1
1
10
100
1000
80
60
40
20
0
-20

圖(圖12B)


增生CD8+ T細胞/2hr
100
60
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DLL3 x CD3
DLL3 x空

[圖13A]


增生CD8+ T細胞120hr
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
濃度(nM)
DLL3 x CD3
DLL3 x空

[圖13B]