202515920

(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 202515920 A

(43)公開日： 中華民國 114 (2025) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：113151576 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 04 月 11 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C07K16/30 (2006.01)*
C12N15/13 (2006.01) *C12N15/63 (2006.01)*
C12P21/08 (2006.01) *A61K39/395 (2006.01)*
A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2017/04/11 美國 62/484,217

(71)申請人：美商因荷布瑞克斯生物科學公司 (美國) INHIBRX BIOSCIENCES, INC. (US)
美國

(72)發明人：艾克曼 伯瑞登 ECKELMAN, BRENDAN (US)；卡布蘭 麥克 KAPLAN, MICHAEL (US)；威爾斯 凱特琳 WILLIS, KATELYN (US)；德夫勞克斯 昆恩 DEVERAUX, QUINN (US)；湯門 約翰 TIMMER, JOHN (US)

(74)代理人：陳長文；孫寶成；謝祥遇

申請實體審查：有 申請專利範圍項數：37 項 圖式數：38 共 392 頁

(54)名稱

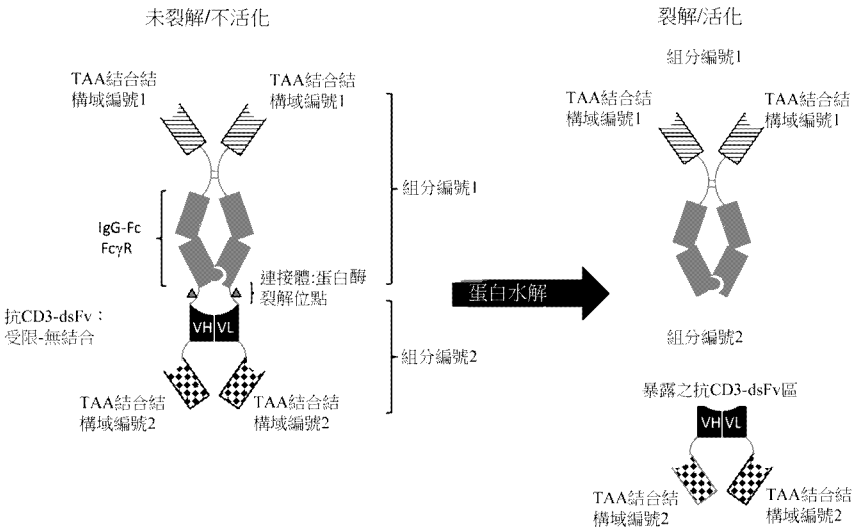
具有經受限 CD3 結合的多重特異性多肽構築體及使用其之方法

(57)摘要

本發明概言之係關於具有雙重效應物功能之多重特異性多肽以及製備該等多重特異性多肽之方法及使用該等多重特異性多肽於多種治療性、診斷性及預防性適應症之方法。

The invention relates generally to multispecific polypeptides having dual effector functions, as well as to methods of making and using these multispecific polypeptides in a variety of therapeutic, diagnostic and prophylactic indications.

指定代表圖：


未裂解/不活化
裂解/活化
TAA結合結
構域編號1
TAA結合結
構域編號1
IgG-Fc
FcγR
連接體:蛋白酶
裂解位點
抗CD3-dsFv：
受限-無結合
VH
VL
TAA結合結
構域編號2
TAA結合結
構域編號2
組分編號1
組分編號2
蛋白水解
組分編號1
TAA結合結
構域編號1
TAA結合結
構域編號1
組分編號2
暴露之抗CD3-dsFv區
VH
VL
TAA結合結
構域編號2
TAA結合結
構域編號2

【圖2】

202514040
專利案號：113151576
原申請案號：107112430

【發明摘要】

【中文發明名稱】

具有經受限CD3結合的多重特異性多肽構築體及使用其之方法

【英文發明名稱】

MULTISPECIFIC POLYPEPTIDE CONSTRUCTS HAVING CONSTRAINED CD3 BINDING AND METHODS OF USING THE SAME

【中文】

本發明概言之係關於具有雙重效應物功能之多重特異性多肽以及製備該等多重特異性多肽之方法及使用該等多重特異性多肽於多種治療性、診斷性及預防性適應症之方法。

【英文】

The invention relates generally to multispecific polypeptides having dual effector functions, as well as to methods of making and using these multispecific polypeptides in a variety of therapeutic, diagnostic and prophylactic indications.

【指定代表圖】

圖2

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

具有經受限CD3結合的多重特異性多肽構築體及使用其之方法

【英文發明名稱】

MULTISPECIFIC POLYPEPTIDE CONSTRUCTS HAVING CONSTRAINED CD3 BINDING AND METHODS OF USING THE SAME

【技術領域】

【0001】 本發明概言之係關於具有雙重效應物功能之多重特異性多肽以及製備該等多重特異性多肽之方法及使用該等多重特異性多肽於多種治療性、診斷性及預防性適應症之方法。

【先前技術】

【0002】 會導致靶細胞耗盡之治療性抗體通常依賴於經由與Fc-γ-受體(Fc γ R)及補體蛋白之相互作用介導的效應物功能。表現Fc γ R之效應細胞主要係先天免疫系統之彼等。T細胞並非參與抗體介導之靶細胞耗盡之直接效應細胞。

【0003】 CD3 (分化簇3) T細胞輔受體係由四條不同多肽鏈(稱為ε、γ、δ及ζ鏈)組成之多聚體蛋白。CD3複合物用作與T細胞受體(TCR)之抗原結合a/b鏈非共價締合的T細胞受體之信號傳導模組。

【0004】 由於CD3之直接接合導致T細胞活化，故其係各種治療及/或診斷性適應症之合意的靶標。因此，需要靶向CD3/TCR路徑之抗體及治療劑。

【發明內容】

【0005】 本發明提供至少結合CD3及第二抗原(例如腫瘤相關抗原(TAA))之多重特異性多肽構築體。本文提供之多重特異性多肽構築體至少包括第一組分，其包括結合連接至免疫球蛋白Fc區之抗原的抗原結合結構域之一或多個拷貝；第二組分，其包括至少一個結合CD3之結合結構域(本文中稱作抗CD3結合結構域或CD3結合區，其在本文中可互換使用)的一或多個拷貝；及聯接第一組分與第二組分之連接體，例如可裂解連接體。

【0006】 Fc區位於CD3結合區之N-末端會降低或防止了CD3結合區結合CD3之能力。在一些實施例中，在未裂解/無活性狀態下，多重特異性多肽構築體之第一組分(1號組分)及第二組分(2號組分)係經連接且不容許結合至CD3，除非抗原結合結構域結合至其同源抗原。此係有利的，此乃因其防止CD3結合區與T細胞系統性結合且使其集中於抗原表現之位點。此係有益的，此乃因其消除外周T細胞之主要結合槽，從而容許在抗原表現位點(例如腫瘤細胞或腫瘤微環境)更有利的分佈及定位。在一些情形下，藉由容納聯接1號組分與2號組分之可裂解連接體可放大或增加CD3之結合及/或接合，其中當可裂解連接體(例如)被蛋白分解裂解時，使得由CD3結合區之結合會增加。

【0007】 在非活性、亦即未裂解狀態下，多重特異性多肽構築體之1號組分及2號組分可操作連接CD3且不結合或以其他方式CD3，除非抗原結合結構域結合至其同源抗原。在一些實施例中，未裂解之多重特異性多肽構築體能與Fc γ R相互作用並介導先天免疫效應物功能，例如抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。在一些實施例中，未裂解之多重特異性多肽構築體能與補體蛋白(即C1q)相互作用並介

導補體依賴性細胞毒性。

【0008】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體通常具有一個以上抗原結合結構域。在其中多重特異性多肽構築體含有可裂解連接體之所提供態樣中，一旦聯接第一及第二組分之連接體由(例如)蛋白酶裂解，則每一組分維持至少一個抗原結合結構域。第一組分(即，1號組分)至少含有Fc區及抗原結合結構域。第二組分(即，2號組分)至少含有抗CD3結合結構域及抗原結合結構域。

【0009】 可裂解連接體內(例如)藉由蛋白分解之裂解完全分離1號組分與2號組分，該等組分各自具有治療用途，但取決於不同效應細胞。1號組分含有至少一個抗原結合結構域及Fc區。在一些實施例中，1號組分能引發先天免疫效應物功能，例如ADCC、細胞介素釋放、脫粒化及/或吞噬作用。2號組分至少含有結構域CD3結合區及抗原結合結構域，前者能結合CD3 (在與1號組分分離時)。2號組分能在抗原表現細胞與T細胞之間形成免疫突觸。此共接合介導抗原依賴性T細胞活化、細胞毒性、細胞介素釋放、脫粒化及增殖。在裂解/活化狀態下，2號組分不可操作連接至1號組分之Fc區且藉此2號組分不能與FcRn相互作用，且若定位於無表現抗原之細胞之位點，則具有增強之血清清除率。此係有利的，此乃因其限制活化抗CD3結合結構域之全身暴露且直接集中至表現抗原之組織(例如腫瘤細胞或腫瘤微環境)中。

【0010】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體由包含免疫球蛋白Fc區之第一組分及包含CD3結合區之第二組分組成，其中第一及第二組分由連接體偶合或可操作連接，其中Fc區位於CD3結合區之N-末端；且第一及第二組分中之一者或二者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合

結構域。在一些實施例中，呈無活性狀態之多重特異性多肽構築體由第一組分及第二組分組成，其中第一及第二組分可操作連接，其中第一及第二組分中之每一者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域，其中第一組分包含Fc區，其中第二組分包含CD3結合區，且其中第一及第二組分由可裂解連接體偶合。在一些實施例中，CD3結合區結合CD3 (CD3ε)。在一些實施例中，抗原結合結構域位於相對於多重特異性多肽構築體之Fc區的胺基末端及/或位於相對於CD3結合區的羧基末端。在一些實施例中，第一組分包含第一抗原結合結構域且第二組分包含第二抗原結合結構域，其中抗原結合結構域中之每一者結合腫瘤相關抗原(TAA)。在一些情形下，第一抗原結合結構域位於多重特異性構築體之胺基末端且第二抗原結合結構域位於多重特異性構築體之羧基末端。在一些實施例中，第一抗原結合結構域位於相對於多重特異性多肽構築體之Fc區的胺基末端及/或位於相對於CD3結合區的羧基末端。

【0011】 本文提供多重特異性多肽構築體，其中多重特異性構築體自N-末端至C-末端依序包含：結合至腫瘤相關抗原(TAA)之第一抗原結合結構域；免疫球蛋白Fc區；連接體；結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區；及結合腫瘤相關抗原(TAA)之第二抗原結合結構域。亦提供多重特異性多肽構築體，其中多重特異性構築體自N-末端至C-末端依序包含：免疫球蛋白Fc區；連接體；結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區；及結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。提供多重特異性多肽構築體，其中多重特異性構築體自N-末端至C-末端依序包含：結合至腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域；免疫球蛋白Fc區；連接體；及結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區。

【0012】 在一些實施例中，多重特異性多肽呈無活性狀態，亦即未裂解狀態，且在多重特異性多肽構築體與裂解狀態相比呈未裂解狀態時，CD3結合區與CD3之結合受到抑制或實質上降低。在一些實施例中，多重特異性多肽呈活化狀態，且第一及第二組分不可操作連接。在一些實施例中，多重特異性多肽呈活化狀態，亦即裂解狀態，且第二組分結合CD3之ε鏈(CD3ε)及腫瘤相關抗原(TAA)。

【0013】 在一些實施例中，第一抗原結合結構域包括抗體或其抗原結合片段之一或多個拷貝。在一些實施例中，第一抗原結合結構域包括選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的一或多個拷貝：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，第一抗原結合結構域包括一或多個單一結構域抗體(sdAb)片段(例如V_HH、V_{NAR}、經改造V_H或V_K結構域)之一或多個拷貝。V_HH可自駱駝科動物僅重鏈抗體生成。V_{NAR}可自軟骨魚類僅重鏈抗體生成。已執行各種方法自習用異二聚體V_H及V_K結構域生成單體sdAb，包括特異性種系家族之界面改造及選擇。

【0014】 在一些實施例中，第一抗原係腫瘤相關抗原(TAA)。在一些實施例中，TAA係選自由以下組成之群：1-92-LFA-3、α-4整聯蛋白、α-V整聯蛋白、α4β1整聯蛋白、α4β7整聯蛋白、AGR2、抗路易斯-Y (Anti-Lewis-Y)、艾普林J受體(Apelin J receptor)、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補體、C-242、CA9、CA19-9 (路易斯a)、碳酸酐酶9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、

CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、密連蛋白-3、密連蛋白-4、cMet、膠原、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、內皮素B受體(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV之F蛋白、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸鹽受體α (FRα)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受體、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、玻尿酸酶、ICOS、IFNα、IFNβ、IFNγ、IgE、IgE受體 (FceRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rβ1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、胰島素受體、鋸齒狀配體、鋸齒狀1、鋸齒狀2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、路易斯X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、間皮素、MRP4、MUC1、Mucin-16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATP酶、NGF、納卡斯楚因蛋白(Nicastrin)、Notch受體、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFRα、PDGFRβ、PD-1、PD-L1、PD-L2、磷脂醯基-絲胺酸、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、

RAAG12、RAGE、SLC44A4、磷酸神經鞘胺醇1、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFβ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFα、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、運鐵蛋白、運鐵蛋白受體、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2及WISP-3。

【0015】在一些實施例中，Fc區係同二聚體Fc區。在一些實施例中，第一組分之免疫球蛋白Fc區係選自由以下組成之群之IgG同型：IgG1同型、IgG2同型、IgG3同型及IgG4亞類。在一些實例中，Fc區係人類IgG1、人類IgG2、人類IgG3或人類IgG4之Fc區，或係其免疫活性片段。在一些實施例中，Fc區包含含有SEQ ID NO: 1中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:1具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在一些情形下，Fc區包含含有SEQ ID NO: 2中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:2具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在任何該等實施例中之一些中，Fc區包含含有SEQ ID NO: 4中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在一些實例中，Fc區包含含有SEQ ID NO: 5中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:5具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，Fc區係異二聚體Fc區。

【0016】在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含與選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列具有至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列的多肽。

【0017】在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含源自選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含源自選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列之胺基酸序列的多肽，其包含一或多個修飾。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含源自選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列之胺基酸序列的多肽，其包含一或多個修飾以防止醣基化，改變Fc受體相互作用，減少Fc受體結合，增強與CD32A之相互作用，減少補體蛋白C1q結合，延長半衰期，增強FcRn結合，改變抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及/或**補體依賴性細胞毒性**(CDC)，誘導異二聚化，防止二聚化，穩定CH3:CH3界面之同二聚化及其組合。在一些情形下，與同二聚體Fc區之多肽相比，視情況與SEQ ID NO:1中所述之Fc多肽或其免疫活性片段相比，異二聚體Fc區之一種或兩種Fc多肽包含至少一個修飾以誘導異二聚化。在一些實施例中，異二聚體Fc之Fc多肽中之每一者獨立地包含至少一個胺基酸修飾。在一些情形下，異二聚體Fc之Fc多肽中之每一者包含杵臼結構修飾或包含電荷突變以增加多肽之靜電互補。在一些實例中，胺基酸修飾係杵臼結構修飾。

【0018】在一些實施例中，異二聚體Fc之第一Fc多肽包含選自Thr366Ser、Leu368Ala、Tyr407Val及其組合之修飾，且異二聚體Fc之

第二Fc多肽包含修飾T366W。在一些情形下，第一及第二Fc多肽進一步包含非半胱胺酸殘基至半胱胺酸殘基之修飾，其中第一多肽之修飾係在位置Ser354及Y349中之一者，且第二Fc多肽之修飾係在位置Ser354及Y349中之另一者。在一些實例中，胺基酸修飾係電荷突變以增加多肽之靜電互補。在一些實施例中，第一及/或第二Fc多肽包含互補位置之修飾，其中修飾係用具有相反電荷之胺基酸置換另一多肽之互補胺基酸。在一些實施例中，第一或第二多肽包含互補位置之修飾，其中修飾係用具有相反電荷之胺基酸置換另一多肽之互補胺基酸。在一些實施例中，至少第一或第二Fc多肽各自包含互補位置之修飾，其中修飾係用具有相反電荷之胺基酸置換另一多肽之互補胺基酸。在一些實施例中，第一及第二Fc多肽各自包含互補位置之修飾，其中修飾係用具有相反電荷之胺基酸置換另一多肽之互補胺基酸。在一些實施例中，異二聚體Fc之第一或第二Fc多肽中之一者進一步包含殘基Ile253之修飾。在一些情況下，修飾係Ile253Arg。在一些實施例中，異二聚體Fc之第一或第二Fc多肽中之一者進一步包含殘基His435之修飾。在一些情況下，修飾係His435Arg。在一些實施例中，Fc區包含無Lys447之多肽。

【0019】 在一些實施例中，Fc區內之修飾降低與Fc-受體-γ受體之結合，但對與新生Fc受體(FcRn)之結合具有最小影響。在一些實施例中，突變或修飾之Fc多肽包括以下突變：使用Kabat編號系統，Met252Tyr及Met428Leu或Met252Tyr及Met428Val (M252Y、M428L或M252Y、M428V)。

【0020】 在一些實施例中，Fc區包含多肽，其包含至少一個修飾以增強FcRn結合。在一些實例中，修飾在選自由以下組成之群之位置：

Met252、Ser254、Thr256、Met428、Asn434及其組合。在一些情形下，修飾在選自由以下組成之群之位置：Met252Y、Ser254T、Thr256E、Met428L、Met428V、Asn434S及其組合。在一些特定實施例中，修飾在位置Met252及位置Met428。在一些情形下，修飾係Met252Y及Met428L。在一些情形下，修飾係Met252Y及Met428V。

【0021】在一些實施例中，異二聚體Fc之第一多肽包含SEQ ID NO:82、86、94或96中之任一者中所述之胺基酸序列，且異二聚體Fc之第二多肽包含SEQ ID NO:83、87、90、92、98或100中之任一者中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，Fc區包含含有至少一個胺基酸修飾之多肽，該胺基酸修飾降低效應物功能及/或降低與選自Fc γ受體或C1q之效應物分子的結合。在一些實例中，一或多個胺基酸修飾係Glu233、Leu234或Leu235中之一或多者之缺失。在一些態樣中，異二聚體Fc之第一多肽包含SEQ ID NO: 84、88、95或97中之任一者中所述之胺基酸序列，且異二聚體Fc之第二多肽包含SEQ ID NO: 85、89、93、99或100中之任一者中所述之胺基酸序列。

【0022】在一些實施例中，Fc區包含含有至少一個修飾以增強Fc γR結合之多肽。在一些情形下，修飾係Ser239或Ile332之修飾。在一些實施例中，與未經修飾之Fc區相比，Fc區之醣基化經修飾以增強Fc γR結合。在一些實例中，Fc區無岩藻糖含量或具有降低之岩藻糖含量。

【0023】在一些實施例中，CD3結合區係抗CD3抗體或抗原結合片段。在一些實施例中，抗CD3抗體或抗原結合片段包含可變重鏈區(VH)及可變輕鏈區(VL)。在任何該等實施例中之一些中，CD3結合區係單價的。

【0024】在一些實施例中，抗CD3抗體或抗原結合片段並非單鏈抗體，視情況並非單鏈可變片段(scFv)。在一些實施例中，Fc係異二聚體Fc，且構成抗CD3抗體或抗原結合片段之VH及VL連接至異二聚體Fc之相反多肽。在一些實施例中，除非抗原結合結構域中之至少一者結合至其TAA，否則CD3結合區不能或實質上不能結合或接合CD3。在一些態樣中，除非抗原結合結構域中之至少二者結合至其TAA，否則CD3結合區不能或實質上不能結合或接合CD3。

【0025】在一些實施例中，多重特異性多肽構築體含有為多肽連接體之連接體。在一些實施例中，連接體係長度為最多25個胺基酸之多肽。在一些情形下，連接體係約2至24個胺基酸、2至20個胺基酸、2至18個胺基酸、2至14個胺基酸、2至12個胺基酸、2至10個胺基酸、2至8個胺基酸、2至6個胺基酸、6至24個胺基酸、6至20個胺基酸、6至18個胺基酸、6至14個胺基酸、6至12個胺基酸、6至10個胺基酸、6至8個胺基酸、8至24個胺基酸、8至20個胺基酸、8至18個胺基酸、8至14個胺基酸、8至12個胺基酸、8至10個胺基酸、10至24個胺基酸、10至20個胺基酸、10至18個胺基酸、10至14個胺基酸、10至12個胺基酸、12至24個胺基酸、12至20個胺基酸、12至18個胺基酸、12至14個胺基酸、14至24個胺基酸、14至20個胺基酸、14至18個胺基酸、18至24個胺基酸、18至20個胺基酸或20至24個胺基酸之多肽。在一些實施例中，連接體係長度為3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸之多肽。在一些情形下，連接體係可裂解連接體。

【0026】在一些實施例中，第一抗原結合結構域及免疫球蛋白Fc多肽經由胺基酸連接體可操作連接。在一些實施例中，該等組分內連接體主

要由胺基酸甘胺酸及絲胺酸組成，本文中表示為GS-連接體。本發明融合蛋白之GS-連接體具有不同長度，例如長度為3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個胺基酸。

【0027】在一些實施例中，GS-連接體包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：GGSGGS，亦即$(GGS)_2$ (SEQ ID NO: 10)；GGSGGSGGS，亦即$(GGS)_3$ (SEQ ID NO: 11)；GGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_4$ (SEQ ID NO: 12)；及GGSGGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_5$ (SEQ ID NO: 13)。

【0028】在一些實施例中，第二組分亦包括抗CD3結合結構域之一或多個拷貝。在一些實施例中，抗CD3結合結構域包括抗體或其抗原結合片段之一或多個拷貝。在一些實施例中，抗CD3結合結構域包括選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的一或多個拷貝：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，抗CD3結合結構域包括結合CD3ε之Fv抗體片段(本文中稱作抗CD3ε Fv片段)。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括選自SEQ ID NO: 32-81之群之胺基酸序列。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括與選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括選自SEQ ID NO: 32-62之群之胺基酸序列及選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括與選自由SEQ ID NO: 32-62組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性

之胺基酸序列及與選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列的組合。

【0029】 在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段係經雙硫鍵穩定之抗CD3結合Fv片段(dsFv)。

【0030】 在一些實施例中，第二組分亦包括第二抗原結合結構域之一或多個拷貝。在一些實施例中，第二組分之第二抗原結合結構域與第一組分之第一抗原結合結構域結合相同抗原。在一些實施例中，第二組分之第二抗原結合結構域結合與第一組分之第一抗原結合結構域相同之抗原上的不同表位。在一些實施例中，第二組分之第二抗原結合結構域在與第一組分之第一抗原結合結構域相同之抗原上結合表位。

【0031】 在一些實施例中，第二抗原結合結構域包括抗體或其抗原結合片段之一或多個拷貝。在一些實施例中，第二抗原結合結構域包括選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的一或多個拷貝：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，第二抗原結合結構域包括一或多個單一結構域抗體(sdAb)片段(例如V_HH、V_{NAR}、經改造V_H或V_K結構域)之一或多個拷貝。V_HH可自駱駝科動物僅重鏈抗體生成。V_{NAR}可自軟骨魚類僅重鏈抗體生成。已執行各種方法自習用異二聚體V_H及V_K結構域生成單體sdAb，包括特異性種系家族之界面改造及選擇。

【0032】 在一些實施例中，第二組分之第二抗原結合結構域結合第二抗原。在一些實施例中，第二抗原係腫瘤相關抗原(TAA)。在一些實施例中，TAA係選自由以下組成之群：1-92-LFA-3、α-4整聯蛋白、α-V整

聯蛋白、α4β1整聯蛋白、α4β7整聯蛋白、AGR2、抗路易斯-Y、艾普林J受體、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補體、C-242、CA9、CA19-9 (路易斯a)、碳酸酐酶9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、密連蛋白-3、密連蛋白-4、cMet、膠原、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、內皮素B受體(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV之F蛋白、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸鹽受體α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受體、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、玻尿酸酶、ICOS、IFNα、IFNβ、IFNγ、IgE、IgE受體(FceRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rβ1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、胰島素受體、鋸齒狀配體、鋸齒狀1、鋸齒狀2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、路易斯X、

LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、間皮素、MRP4、MUC1、Mucin-16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATP酶、NGF、納卡斯楚因蛋白、Notch受體、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFRα、PDGFRβ、PD-1、PD-L1、PD-L2、磷脂醯基-絲胺酸、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、磷酸神經鞘胺醇1、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFβ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFα、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、運鐵蛋白、運鐵蛋白受體、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2及WISP-3。

【0033】在一些實施例中，第二抗原結合結構域及抗CD3結合結構域經由胺基酸連接體可操作連接。在一些實施例中，該等組分內連接體主要由胺基酸甘胺酸及絲胺酸組成，本文中表示為GS-連接體。本發明融合蛋白之GS-連接體可具有不同長度，例如長度為5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個胺基酸。

【0034】在一些實施例中，GS-連接體包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：GGSGGS，亦即$(GGS)_2$ (SEQ ID NO: 10)；GGSGGSGGS，亦即$(GGS)_3$ (SEQ ID NO: 11)；GGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_4$ (SEQ ID NO: 12)；及GGSGGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_5$ (SEQ ID NO: 13)。

【0035】本文提供多重特異性多肽構築體，該多重特異性多肽構築

體包含含有異二聚體Fc區之第一組分及包含包含可變重鏈區(VH)及可變輕鏈區(VL)之抗CD3抗體或抗原結合片段的第二組分，其中：構成抗CD3抗體或抗原結合片段之VH及VL連接至異二聚體Fc之相反多肽；第一及第二組分由可裂解連接體偶合，其中異二聚體Fc區位於抗CD3抗體之N-末端；且第一及第二組分中之一者或二者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。

【0036】 在一些實施例中，在多重特異性多肽構築體與裂解狀態相比呈未裂解狀態時，CD3結合區與CD3之結合實質上降低。在一些實施例中，在裂解狀態下，第一及第二組分未連接。

【0037】 在一些實施例中，可裂解連接體係多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係作為蛋白酶之受質之多肽。在一些實施例中，蛋白酶係由免疫效應細胞、由腫瘤或由腫瘤微環境中存在之細胞產生。在一些實施例中，蛋白酶係由靠近表現CD3ε之細胞之腫瘤產生及/或係由與組織中表現CD3ε之細胞共定位之腫瘤產生，且其中在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體中之可裂解連接體裂解。在一些實施例中，蛋白酶係由靠近表現一或多種腫瘤相關抗原(TAA)之細胞之腫瘤產生及/或係由與組織中表現靶TAA之細胞共定位之腫瘤產生，且其中在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體中之可裂解連接體裂解。在一些實施例中，蛋白酶係由免疫效應細胞產生。在一些實施例中，蛋白酶係由靠近表現TAA之細胞的免疫效應細胞產生。在一些實例中，蛋白酶係由免疫效應細胞產生，且免疫效應細胞係活化T細胞、天然殺手(NK)細胞或NK T細胞。在一些實施例中，在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體

中之可裂解連接體裂解。在一些實施例中，蛋白酶係由靠近表現TAA之細胞之免疫效應細胞產生，且其中在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體中之可裂解連接體裂解。

【0038】 在一些實施例中，可裂解連接體係長度為最多50個胺基酸之多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係長度為最多25個胺基酸之多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係長度為最多15個胺基酸之多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係選自本文所述蛋白酶之蛋白酶的受質。在一些實施例中，可裂解連接體係選自由以下組成之群之蛋白酶之受質：uPA、天冬醯胺內肽酶、間質蛋白酶(matriptase) (在本文中亦稱為MT-SP1或MTSP1)、ADAM17、BMP-1、TMPRSS3、TMPRSS4、MMP-9、MMP-12、MMP-13、MMP-14及其任何組合。在一些實施例中，可裂解連接體係選自由以下組成之群之蛋白酶之受質：uPA、天冬醯胺內肽酶及間質蛋白酶。在一些實施例中，蛋白酶係選自間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)、顆粒酶B及其組合。

【0039】 在一些實施例中，蛋白酶係顆粒酶B。在一些實例中，可裂解連接體包含通式P4 P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 150)之胺基酸序列，其中P4係胺基酸I、L、Y、M、F、V或A；P3係胺基酸A、G、S、V、E、D、Q、N或Y；P2係胺基酸H、P、A、V、G、S或T；P1係胺基酸D或E；且P1’係胺基酸I、L、Y、M、F、V、T、S、G或A。在一些實施例中，可裂解連接體包含通式P4 P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 151)之胺基酸序列，其中P4係胺基酸I或L；P3係胺基酸E；P2係胺基酸P或A；P1係胺基酸D；且P1’係胺基酸I、V、T、S或G。在一些實例中，可裂解連接體包含胺基酸序列IEPDI (SEQ ID NO:136)、LEPDG (SEQ ID

NO:152)、LEADT (SEQ ID NO:137)、IEPDG (SEQ ID NO:138)、IEPDV (SEQ ID NO:139)、IEPDS (SEQ ID NO:140)、IEPDT (SEQ ID NO:141)或LEADG (SEQ ID NO:153)。在一些情形下，可裂解連接體包含選自由SEQ ID NO:22、105-112、136-141、148、150-153組成之群之胺基酸序列。

【0040】 在一些實施例中，蛋白酶係間質蛋白酶。在一些情形下，可裂解連接體包含序列P1QAR↓(A/V) (SEQ ID NO: 154)，其中P1係任何胺基酸；或可裂解連接體包含序列RQAR(A/V) (SEQ ID NO: 155)。在一些實例中，可裂解連接體包含序列RQARV (SEQ ID NO: 156)。在一些情形下，可裂解連接體包含選自由SEQ ID NO: 23、154-156組成之群之胺基酸序列。

【0041】 在一些實施例中，蛋白酶係MMP。在一些實例中，MMP係MMP-2。在一些實施例中，可裂解連接體包含通式P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 157)，其中P3係P、V或A；P2係Q或D；P1係A或N；且P1’係L、I或M。在一些情形下，可裂解連接體包含通式P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 158)，其中P3係P；P2係Q或D；P1係A或N；且P1’係L或I。在一些實施例中，可裂解連接體包含序列PAGL (SEQ ID NO:24)。在一些實施例中，可裂解連接體係基質金屬蛋白酶(MMP)之受質。

【0042】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體至少包含(i) 第一多肽，其包含異二聚體Fc區之第一Fc多肽、連接體及抗CD3抗體或抗原結合片段之VH結構域；及(ii) 第二多肽，其包含異二聚體Fc區之第二Fc多肽、連接體及抗CD3抗體或抗原結合片段之VL結構域，其中第一及第二多肽中之一者或二者包含至少一個結合至腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合

結構域。在一些情形下，一或多個結合TAA之抗原結合結構域產生與TAA之單價、二價、三價、或四價結合。在一些情況下，第一或第二多肽中僅一者包含至少一個結合TAA之抗原結合結構域。

【0043】 在一些實施例中，至少一個抗原結合結構域位於相對於Fc區的胺基末端及/或位於相對於多重特異性多肽構築體之第一或第二多肽中之一者之CD3結合區的羧基末端。在一些情形下，至少一個抗原結合結構域位於相對於多重特異性構築體之Fc區的胺基末端，且第二抗原結合結構域位於相對於多重特異性構築體之CD3結合區的羧基末端。在一些態樣中，抗原結合結構域或獨立地抗原結合結構域中之每一者包含TAA之天然同源結合配偶體或展現與TAA之結合活性之其變體的細胞外結構域或其結合片段。

【0044】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含：(i) 第一多肽，其包含異二聚體Fc區之第一Fc多肽、連接體及抗CD3抗體或抗原結合片段之VH結構域；(ii) 第二多肽，其包含異二聚體Fc區之第二Fc多肽、連接體及抗CD3抗體或抗原結合片段之VL結構域，及 (iii) 第三多肽，其包含結合至腫瘤相關抗原之Fab抗體片段的VH-CH1 (Fd)或VL-CL，其中第一及/或第二多肽進一步包含Fab抗體片段之VH-CH1 (Fd)或VL-CL中之另一者。在一些情形下，第一或第二多肽中僅一者包含Fab抗體片段之VH-CH1 (Fd)或VL-CL中之另一者。在一些實施例中，第一或第二多肽二者皆包含Fab抗體片段之VH-CH1 (Fd)或VL-CL中之另一者。在一些情形下，Fab抗體片段之VH-CH1 (Fd)或VL-CL中之另一者未於相對於Fc區的胺基末端及/或位於相對於多重特異性多肽構築體之第一或第二多肽中之一者之CD3結合區的羧基末端。在一些實施例中，Fab抗體片段之VH-

CH1 (Fd)或VL-CL中之另一者位於相對於第一多肽或第二多肽之Fc區的胺基末端及位於相對於第一或第二多肽中之另一者之CD3結合區的羧基末端。

【0045】 在一些實例中，抗原結合結構域或獨立地抗原結合結構域中之每一者結合至選自以下之腫瘤抗原：1-92-LFA-3、5T4、α-4整聯蛋白、α-V整聯蛋白、α4β1整聯蛋白、α4β7整聯蛋白、AGR2、抗路易斯-Y、艾普林J受體、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補體、C-242、CA9、CA19-9 (路易斯a)、碳酸酐酶9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、密連蛋白-3、密連蛋白-4、cMet、膠原、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、內皮素B受體(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV之F蛋白、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸鹽受體α (FR α)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受體、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、玻尿酸酶、ICOS、IFNα、IFNβ、IFNγ、IgE、

IgE受體(FceRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rβ1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、胰島素受體、鋸齒狀配體、鋸齒狀1、鋸齒狀2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、路易斯X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、間皮素、MRP4、MUC1、Mucin-16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATP酶、NGF、納卡斯楚因蛋白、Notch受體、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFRα、PDGFRβ、PD-1、PD-L1、PD-L2、磷脂醯基-絲胺酸、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、磷酸神經鞘胺醇1、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFβ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFα、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、運鐵蛋白、運鐵蛋白受體、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2及WISP-3。

【0046】在一些實施例中，多重特異性抗原結合結構域至少包含第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域，其中第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域結合至相同TAA。在一些情形下，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域結合相同TAA上之不同表位。在一些情況下，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域結合相同TAA之相同表位。在一些實施例中，多重特異性抗原結合結構域至少包含第一抗原結合結構域及第

二抗原結合結構域，其中第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域結合不同TAA。

【0047】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含第一抗原結合結構域與免疫球蛋白Fc多肽區(Fc區)之間之第一連接肽(LP1)。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含抗CD3結合結構域(CD3結合區)與第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含第一抗原結合結構域與免疫球蛋白Fc多肽區(Fc區)之間之第一連接肽(LP1)及抗CD3結合結構域(CD3結合區)與第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。

【0048】 在一些實施例中，呈未裂解狀態之多重特異性多肽構築自N-末端至C-末端具有如下結構配置：第一抗原結合結構域- LP1-免疫球蛋白Fc多肽連接體區(Fc區) - 連接體(例如可裂解連接體) - 抗CD3結合結構域 - LP2 - 第二抗原結合結構域。在一些實施例中，呈未裂解狀態之多重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端具有如下結構配置：第二抗原結合結構域 - LP2 - 抗CD3結合結構域(CD3結合區) - 連接體 (例如可裂解連接體) - 免疫球蛋白Fc多肽連接體區 - LP1 - 第一抗原結合結構域。在一些實例中，連接體係可裂解連接體。在一些實施例中，兩個連接肽彼此不相同。在一些情形下，LP1或LP2獨立地係長度為約1至20個胺基酸之肽。在一些實例中，LP1或LP2獨立地包含係或包含如SEQ ID NO: 10-13、119、135、147、149中所述之任何Gly-Ser連接體的肽。

【0049】 在一些實施例中，多重特異性構築體係具有圖1中所示之結構配置之雙特異性構築體。在一些實施例中，雙特異性構築體自N-末端至C-末端具有如下結構配置。雙特異性構築體之N-末端包括結合腫瘤相

關抗原(TAA)之第一抗原結合結構域。第一結合結構域結合TAA靶標上之第一表位。調控Fc γ R相互作用及/或FcRn相互作用之中心免疫球蛋白Fc多肽區與第一抗原結合結構域偶合。在一些實施例中，中心免疫球蛋白Fc多肽區係異二聚體。免疫球蛋白Fc多肽區與可裂解連接體偶合，該可裂解連接體含有一或多個位於免疫球蛋白Fc多肽區之末端之C-末端位置的蛋白水解裂解位點。在一些實施例中，一或多個蛋白水解裂解位點係間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)或顆粒酶B之受質。可裂解連接體附接至位於第二組分遠端之抗CD3結合序列。

【0050】 在一些實施例中，抗CD3抗體或抗原結合片段係Fv抗體片段。在一些實施例中，Fv抗體片段包含經雙硫鍵穩定之抗CD3結合Fv片段(dsFv)。在一些實施例中，抗CD3結合序列係經改造以在可變重鏈(VH)區與可變輕鏈(VL)區之間包括雙硫鍵、藉此產生經雙硫鍵穩定之抗CD3結合Fv片段(dsFv)的Fv抗體片段。在一些實施例中，包含抗CD3 Fv之VH及VL結構域可操作連接至異二聚體Fc區之相對成員。在該等實施例中，抗CD3 Fv以單價型式結合CD3. 在可裂解連接體係完整的，亦即呈未裂解或無活性狀態時，抗CD3 dsFv不接合CD3。雙特異性構築體之C-末端包括結合TAA之第二抗原結合結構域。在一些實施例中，第二抗原結合結構域與位於第一組分內之第一抗原結合結構域結合相同TAA。在一些實施例中，第二抗原結合結構域結合TAA上之第二表位，其中第二表位與TAA上之第一表位無競爭性。在一些實施例中，第二抗原結合結構域結合與第一抗原結合結構域不同之TAA。

【0051】 在一些實施例中，雙特異性構築體之第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者包括抗體或其抗原結合片段之一或多個

拷貝。在一些實施例中，雙特異性構築體之第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者包括選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的一或多個拷貝：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，抗原結合結構域或獨立地抗原結合結構域中之每一者係選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段：Fab片段、F(ab')2片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，雙特異性構築體之第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者包括一或多個單一結構域抗體(sdAb)片段(例如V_HH、V_{NAR}、經改造V_H或V_K結構域)之一或多個拷貝。V_HH可自天然駱駝科動物僅重鏈抗體、產生僅重鏈抗體之遺傳修飾之齧齒類動物或幼稚/合成駱駝科動物或人類化駱駝科動物單一結構域抗體文庫生成。V_{NAR}可自軟骨魚類僅重鏈抗體生成。已執行各種方法自習用異二聚體V_H及V_K結構域生成單體sdAb，包括特異性種系家族之界面改造及選擇。

【0052】 在一些實施例中，抗體或抗原結合片段係sdAb。在一些情形下，sdAb係人類或人類化sdAb。在一些態樣中，sdAb係V_HH、V_{NAR}、經改造之VH結構域或經改造之VK結構域。在一些實例中，抗體或其抗原結合片段係scFv。在一些情形下，抗體或其抗原結合片段係Fab。

【0053】 在一些實施例中，抗CD3抗體或抗原結合片段包含含有胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)之VH CDR1；包含胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)之VH CD2；包含胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)之VH CDR3、包含胺基酸序列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)之VL CDR1；包含胺基酸序

列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)之VL CDR2；及包含胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)之VL CDR3。

【0054】在一些實施例中，抗CD3 dsFv包含：具有SEQ ID NO: 14及32-62中之任一者之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 14及32-62中之任一者展現至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之序列的VH；及具有SEQ ID NO: 15及63-81中之任一者之胺基酸序列或與SEQ ID NO:15及63-81中之任一者展現至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之序列的VL。在一些情形下，抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列及SEQ ID NO: 15之胺基酸序列。在一些情形下，抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列及SEQ ID NO: 72之胺基酸序列。

【0055】在一些實施例中，第一組分之免疫球蛋白Fc區係選自由以下組成之群之IgG同型：IgG1同型、IgG2同型、IgG3同型及IgG4亞類。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含與選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列具有至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致之胺基酸序列的多肽。

【0056】在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含源自選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列之胺基酸序列的多肽。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含源自選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列之胺基酸序列的多肽，其包含一或多個修飾。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含源自選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列

之胺基酸序列的多肽，其包含一或多個修飾以防止醣基化，改變Fc受體相互作用，減少Fc受體結合，增強與CD32A之相互作用，減少補體蛋白C1q結合，延長半衰期，增強FcRn結合，改變抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及/或**補體依賴性細胞毒性**(CDC)，誘導異二聚化，防止二聚化，穩定CH3:CH3界面之同二聚化及其組合。在一些實施例中，Fc區內之修飾降低與Fc-受體-γ受體之結合，同時對與新生Fc受體(FcRn)之結合具有最小影響。在一些實施例中，突變或經修飾Fc多肽包括以下突變：使用Kabat編號系統，Met252Tyr及Met428Leu或Met252Tyr及Met428Val(M252Y、M428L或M252Y、M428V)。

【0057】在一些實施例中，第一抗原結合結構域及免疫球蛋白Fc多肽經由胺基酸連接體可操作連接。在一些實施例中，該等組分內連接體主要由胺基酸甘胺酸及絲胺酸組成，本文中表示為GS-連接體。本發明融合蛋白之GS-連接體可具有不同長度，例如長度為5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個胺基酸。

【0058】在一些實施例中，GS-連接體包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：GGSGGS，亦即$(GGS)_2$ (SEQ ID NO: 10)；GGSGGSGGS，亦即$(GGS)_3$ (SEQ ID NO: 11)；GGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_4$ (SEQ ID NO: 12)；及GGSGGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_5$ (SEQ ID NO: 13)。

【0059】在一些實施例中，抗CD3ε dsFv抗體片段包括選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列。在一些實施例中，抗CD3ε dsFv抗體片段包括與選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一

致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括選自SEQ ID NO: 32-62之群之胺基酸序列及選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括與選自由SEQ ID NO: 32-62組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列及與選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列的組合。

【0060】 在一些實施例中，第二抗原結合結構域及抗CD3結合結構域經由胺基酸連接體可操作連接。在一些實施例中，該等組分內連接體主要由胺基酸甘胺酸及絲胺酸組成，本文中表示為GS-連接體。本發明融合蛋白之GS-連接體可具有不同長度，例如長度為5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20個胺基酸。

【0061】 在一些實施例中，GS-連接體包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：GGSGGS，亦即$(GGS)_2$ (SEQ ID NO: 10)；GGSGGSGGS，亦即$(GGS)_3$ (SEQ ID NO: 11)；GGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_4$ (SEQ ID NO: 12)；及GGSGGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_5$ (SEQ ID NO: 13)。

【0062】 在一些實施例中，可裂解連接體係多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係作為蛋白酶之受質之多肽。在一些實施例中，蛋白酶係由靠近表現CD3ε之細胞之腫瘤產生及/或係由與組織中表現CD3ε之細胞共定位之腫瘤產生，且其中在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體中之可裂解連接體裂解。在一些實施例

中，蛋白酶係由靠近表現一或多種腫瘤相關抗原(TAA)之細胞之腫瘤產生及/或係由與組織中表現靶TAA之細胞共定位之腫瘤產生，且其中在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體中之可裂解連接體裂解。

【0063】 在一些實施例中，可裂解連接體係長度為最多50個胺基酸之多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係長度為最多25個胺基酸之多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係長度為最多15個胺基酸之多肽。在一些實施例中，可裂解連接體係選自本文所述蛋白酶之蛋白酶的受質。在一些實施例中，可裂解連接體係選自由以下組成之群之蛋白酶之受質：uPA、天冬醯胺內肽酶、間質蛋白酶(在本文中亦稱為MT-SP1或MTSP1)、ADAM17、BMP-1、TMPRSS3、TMPRSS4、MMP-9、MMP-12、MMP-13、MMP-14及其任何組合。在一些實施例中，可裂解連接體係選自由以下組成之群之蛋白酶之受質：uPA、天冬醯胺內肽酶及間質蛋白酶。在一些實施例中，可裂解連接體係基質金屬蛋白酶(MMP)之受質。

【0064】 在一些實施例中，多重特異性構築體亦包括偶聯至多重特異性構築體之試劑。在一些實施例中，該試劑係治療劑。在一些實施例中，該試劑係可檢測部分。在一些實施例中，可檢測部分係診斷劑。在一些實施例中，該試劑經由連接體偶聯至多重特異性構築體。在一些實施例中，連接體係可裂解連接體。在一些實施例中，連接體係不可裂解連接體。

【0065】 在一些實施例中，本文所述抗多重特異性構築體連同一或多種額外試劑或額外試劑之組合使用。適宜額外試劑包括用於預期應用

(例如癌症)之當前醫藥及/或手術療法。舉例而言，多重特異性構築體可連同額外化學治療劑或抗瘤劑使用。

【0066】 在一些實施例中，將多重特異性構築體及額外試劑調配成單一治療性組合物，且同時投與多重特異性構築體及額外試劑。在一些實施例中，多重特異性構築體及額外試劑彼此分開，例如，各自調配成單獨治療性組合物，且同時投與多重特異性構築體及額外試劑，或在治療方案期間之不同時間投與多重特異性構築體及額外試劑。舉例而言，在投與額外試劑之前投與多重特異性構築體，在投與額外試劑之後投與多重特異性構築體，或多重特異性構築體及額外試劑以交替型式投與。如本文所述，多重特異性構築體及額外試劑係以單一劑量或以多個劑量投與。

【0067】 在一些實施例中，多重特異性構築體天然含有一或多個雙硫鍵。在一些實施例中，多重特異性構築體可經改造以包括一或多個雙硫鍵。

【0068】 本揭示內容亦提供編碼本文所述多重特異性構築體之至少一部分的經分離核酸分子或多核苷酸及/或一或多個編碼本文所述多重特異性構築體之核酸分子，例如至少編碼多重特異性構築體之第一組分之至少一部分的第一核酸及編碼多重特異性構築體之第二組分之至少一部分的第二核酸，以及包括該等經分離核酸序列之載體。

【0069】 所提供實施例係編碼所提供多重特異性多肽構築體中之任一者之多核苷酸。亦提供編碼所提供多重特異性多肽構築體中之任一者之多肽鏈的多核苷酸。進一步提供多核苷酸，其包含編碼所提供多重特異性構築體中之任一者之第一多肽的第一核酸序列及編碼多重特異性構築體之第二多肽的第二核酸序列，其中第一及第二核酸序列係藉由內部核糖體進

入位點(IRES)、或編碼自我裂解肽或會造成核糖體跳躍之肽的核酸隔開。在一些情形下，第一核酸序列及第二核酸序列可操作連接至相同啟動子。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含第三多肽鏈，且多核苷酸進一步包含編碼多重特異性構築體之第三多肽的第三核酸。在一些實施例中，第三核酸係由內部核糖體進入位點(IRES)與第一及/或第二核酸、或編碼自我裂解肽或會造成核糖體跳躍之肽的核酸隔開，及/或第三核酸序列可操作連接至與第一及/或第二核酸序列相同之啟動子。在一些實例中，編碼自我裂解肽或引起核糖體跳躍之肽的核酸係選自T2A、P2A、E2A或F2A (SEQ ID NO: 159-164，或由SEQ ID NO: 165中所述之序列編碼)。

【0070】 本文提供包含所提供多核苷酸中之任一者之載體。在一些實施例中，載體係表現載體。在一些實例中，載體係病毒載體或真核載體，視情況其中真核載體係哺乳動物載體。

【0071】 提供包含所提供多核苷酸或載體中之任一者之細胞。在一些情形下，細胞係重組或分離的。在一些實例中，細胞係哺乳動物細胞。在一些實例中，細胞係HEK293或CHO細胞。

【0072】 本揭示內容提供藉由在導致多重特異性構築體表現之條件下培養細胞產生多重特異性構築體的方法，其中細胞包含該(等)核酸分子。在一些實施例中，細胞包含該載體。

【0073】 本文提供產生重特異性多肽構築體之方法，該方法包含將所提供多核苷酸或載體中之任一者引入細胞中及在導致多重特異性構築體表現之條件下培養細胞以產生多重特異性多肽構築體。亦提供產生多重特異性多肽構築體之方法，該方法包含在由細胞表現或產生多重特異性多肽

之條件下培養所提供細胞中之任一者。在一些情形下，細胞係哺乳動物細胞。在一些實例中，細胞係HEK293或CHO細胞。在一些實施例中，該方法進一步包括自細胞分離或純化多重特異性多肽構築體。在一些情形下，多重特異性多肽構築體係異二聚體。

【0074】 本文提供藉由所提供方法中之任一者產生之多重特異性多肽構築體。

【0075】 本文提供刺激或誘導免疫反應之方法，該方法包含使靶細胞及T細胞與所提供多重特異性多肽構築體中之任一者或醫藥組合物接觸，該靶細胞表現由多重特異性多肽構築體識別之腫瘤相關抗原。在一些實施例中，靶細胞係表現腫瘤相關抗原(TAA)之腫瘤細胞。

【0076】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含用作蛋白酶之受質之可裂解連接體，且在蛋白酶存在下增大誘導或刺激免疫反應。在一些情形下，蛋白酶係由免疫效應細胞、由腫瘤或由腫瘤微環境中存在之細胞產生。

【0077】 在一些實施例中，蛋白酶係由免疫效應細胞產生，且免疫效應細胞係活化T細胞、天然殺手(NK)細胞或NK T細胞。在一些情況下，免疫效應細胞靠近表現抗原之細胞。在一些實施例中，蛋白酶係由靠近表現組織中之TAA之細胞的腫瘤產生及/或係由與組織中之TAA共定位之腫瘤產生，且其中在多重特異性多肽構築體暴露於蛋白酶時，蛋白酶使多重特異性多肽構築體中之可裂解連接體裂解。在一些實例中，蛋白酶係選自間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)、顆粒酶B及其組合。在一些情況下，蛋白酶係顆粒酶B。

【0078】 在一些實施例中，接觸係離體或活體外實施。在一些實施

例中，接觸係在個體活體內實施。

【0079】 提供刺激或誘導個體之免疫反應的方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之所提供多重特異性偶聯物或醫藥組合物中之任一者。在一些情形下，該方法增加細胞介導之免疫性。在一些實施例中，該方法增加T細胞活性。在一些實施例中，該方法增加細胞溶解T細胞(CTL)活性。在一些實例中，增加針對腫瘤或癌症之免疫反應。在一些實施例中，該方法治療個體之疾病或病況。

【0080】 本發明亦提供治療、預防或以其他方式改善一或多種病理之症狀、延遲其進展或緩和與該等病理相關之症狀的方法，其係藉由向期望該治療或預防之個體投與本揭示內容之多重特異性多肽構築體來完成。本文提供治療個體之疾病或病況的方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之所提供多重特異性偶聯物或醫藥組合物中之任一者。在一些實施例中，疾病或病況係腫瘤或癌症。

【0081】 在所提供方法中之任一者之一些實施例中，個體(例如欲治療之個體)係(例如)人類或其他哺乳動物。在所提供方法中之任一者之一些實施例中，個體係人類。在一些實施例中，個體係非人類哺乳動物，例如非人類靈長類動物、伴侶動物(例如貓、狗、馬)、農場動物、役畜或動物園動物。在一些實施例中，個體係齧齒類動物。

【0082】 該等方法及用途之實施例中之任一者中所用之本揭示內容之多重特異性多肽構築體可在疾病之任何階段投與。舉例而言，該多重特異性多肽構築體可投與患有任何階段(自早期至轉移)癌症之患者。術語個體及患者在本文中可互換使用。

【0083】 該等方法及用途之實施例中之任一者中所用之本揭示內容

之多重特異性多肽構築體可用於包含前導性療法之治療方案中。

【0084】該等方法及用途之實施例中之任一者中所用之本揭示內容之多重特異性多肽構築體可單獨或與一或多種額外試劑組合投與，該等額外試劑包括小分子抑制劑、其他基於抗體之療法、基於多肽或肽之療法、基於核酸之療法及/或其他生物製品。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體係一或多種額外試劑組合投與，該等額外試劑例如(藉助非限制性實例)化學治療劑，例如烷基化劑、抗代謝物、抗微管劑、拓樸異構酶抑制劑、細胞毒性抗生素及任何其他核酸損害劑。在一些實施例中，額外試劑係紫杉烷(taxane)，例如太平洋紫杉醇(paclitaxel) (例如Abraxane®)。在一些實施例中，額外試劑係抗代謝物，例如吉西他濱(gemcitabine)。在一些實施例中，額外試劑係烷基化劑，例如基於鉑之化學療法，例如卡鉑(carboplatin)或順鉑(cisplatin)。在一些實施例中，額外試劑係靶向試劑，例如激酶抑制劑，例如索拉菲尼(sorafenib)或厄洛替尼(erlotinib)。在一些實施例中，額外試劑係靶向試劑，例如另一抗體，例如單株抗體(例如貝伐珠單抗(bevacizumab))、雙特異性抗體或多重特異性抗體。在一些實施例中，額外試劑係蛋白體抑制劑，例如硼替佐米(bortezomib)或卡非佐米(carfilzomib)。在一些實施例中，額外試劑係免疫調節劑，例如來那度胺(lenolidominde)或IL-2。在一些實施例中，額外試劑係輻射。在一些實施例中，額外試劑係由熟習此項技術者視為護理標準之試劑。在一些實施例中，額外試劑係熟習此項技術者熟知之化學治療劑。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體及額外試劑調配於單一組合物中。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體及額外試劑係兩種或更多種單獨組合物形式投與。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體及額外試劑係同時投

與。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體及額外試劑係依序投與。

【0085】 在一些實施例中，額外試劑係化學治療劑，例如選自由以下組成之群之化學治療劑：多西他賽(docetaxel)、太平洋紫杉醇、亞伯杉烷(abraxane)（即，白蛋白偶聯之太平洋紫杉醇）、多柔比星(doxorubicin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、卡鉑、順鉑、伊立替康(irinotecan)及吉西他濱(gemcitabine)。

【0086】 在一些實施例中，額外試劑係檢查點抑制劑、激酶抑制劑、腫瘤微環境中試劑靶向抑制劑及/或T細胞或NK激動劑。在一些實施例中，額外試劑係放射療法，其係單獨的與另一額外試劑(例如化學治療劑或抗瘤劑)組合。在一些實施例中，額外試劑係疫苗、致癌病毒及/或DC活化劑(例如藉助非限制性實例類鐸受體(TLR)激動劑及/或α-CD40)。在一些實施例中，額外試劑係經設計經由ADCC或經由與毒素直接結合(例如抗體藥物偶聯物(ADC))殺死腫瘤之腫瘤靶向抗體。

【0087】 在一些實施例中，檢查點抑制劑係選自由以下組成之群之靶標之抑制劑：CTLA-4、LAG-3、PD-1、PDL1、TIGIT、TIM-3、B7H3、B7H4及Vista。在一些實施例中，激酶抑制劑係選自由以下組成之群：B-RAFi、MEKi及Btk抑制劑，例如依魯替尼(ibrutinib)。在一些實施例中，激酶抑制劑係克唑替尼(carfilzomib)。在一些實施例中，腫瘤微環境抑制劑係選自由以下組成之群：IDO抑制劑、α-CSF1R抑制劑、α-CCR4抑制劑、TGF-β、骨髓源抑制細胞或T-調節細胞。在一些實施例中，激動劑係選自由以下組成之群：OX40、GITR、CD137、CD28、ICOS、CD27及HVEM。在一些實施例中，檢查點抑制劑係結合選自CTLA-4、PD-1及/或PD-L1之靶標之抗體。在一些實施例中，檢查點抑制

劑係抗CTLA4抗體、抗PD-1抗體及抗PD-L1抗體及/或其組合。在一些實施例中，檢查點抑制劑係抗CTLA4抗體，例如Yervoy™。在一些實施例中，檢查點抑制劑係抗PD-1抗體，例如Opdivo™及/或Keytruda™。

【0088】 在一些實施例中，抑制劑係CTLA-4抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係LAG-3抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係PD-1抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係PDL1抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係TIGIT抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係TIM-3抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係B7H3抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係B7H4抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係Vista抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係B-RAFi抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係MEKi抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係Btk抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係依魯替尼。在一些實施例中，抑制劑係克唑替尼。在一些實施例中，抑制劑係IDO抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係α-CSF1R抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係α-CCR4抑制劑。在一些實施例中，抑制劑係TGF-β。在一些實施例中，抑制劑係骨髓源抑制細胞。在一些實施例中，抑制劑係T-調節細胞。

【0089】 在一些實施例中，激動劑係OX40。在一些實施例中，激動劑係GITR。在一些實施例中，激動劑係CD137。在一些實施例中，激動劑係CD28。在一些實施例中，激動劑係ICOS。在一些實施例中，激動劑係CD27。在一些實施例中，激動劑係HVEM。

【0090】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體係在與一或多種額外試劑(例如化學治療劑、抗發炎劑及/或免疫抑制劑)組合治療期間及/或之後投與。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體及額外試劑調配成單一治療性組合物，且多重特異性多肽構築體及額外試劑係同時投與。或

者，多重特異性多肽構築體及額外試劑彼此分開，例如，各自調配成單獨治療性組合物，且同時投與多重特異性多肽構築體及額外試劑，或在治療方案期間之不同時間投與多重特異性多肽構築體及額外試劑。舉例而言，在投與額外試劑之前投與多重特異性多肽構築體，在投與額外試劑之後投與多重特異性多肽構築體，或多重特異性多肽構築體及額外試劑以交替型式投與。如本文所述，多重特異性多肽構築體及額外試劑係以單一劑量或以多個劑量投與。

【0091】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體及額外試劑係同時投與。舉例而言，多重特異性多肽構築體及額外試劑可調配於單一組合物中或以兩種或更多種組合物形式投與。在一些實施例中，依序投與多重特異性多肽構築體及額外試劑，或在治療方案期間之不同時間投與多重特異性多肽構築體及額外試劑。

【0092】 除了上述要素外，多重特異性多肽構築體亦可含有額外要素，例如多重特異性多肽構築體之N-或C-末端之胺基酸序列。舉例而言，多重特異性多肽構築體可包括靶向部分以有利於遞送至所關注細胞或組織。多重特異性多肽構築體可偶聯至諸如治療劑、可檢測部分或診斷劑等試劑。本文揭示試劑之實例。

【0093】 多重特異性多肽構築體亦可包括本文所述偶聯試劑、連接體及其他組分中之任一者連同本揭示內容之多重特異性多肽構築體。

【0094】 本揭示內容亦係關於包含偶聯至細胞毒性劑(例如毒素(例如細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素或其片段))或放射性同位素(即，放射性偶聯物)之多重特異性多肽構築體的免疫偶聯物。適用於靶向(例如) T細胞源淋巴瘤中之患病T細胞的細胞毒性劑包括例如尾海兔素及

其衍生物(例如奧裡斯他汀E (auristatin E)、AFP、MMAD、MMAF、MMAE)。在一些實施例中，試劑係尾海兔素。在一些實施例中，試劑係奧裡斯他汀或其衍生物。在一些實施例中，試劑係類美登素(maytansinoid)或類美登素衍生物。在一些實施例中，試劑係DM1或DM4。在一些實施例中，試劑係倍癌黴素(duocarmycin)或其衍生物。在一些實施例中，試劑係卡奇黴素(calicheamicin)或其衍生物。在一些實施例中，試劑係吡咯并苯二氮雜卓。

【0095】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體與細胞毒性劑之間之連接體係可裂解的。在一些實施例中，連接體係不可裂解的。在一些實施例中，存在兩個或更多個連接體。兩個或更多個連接體皆相同，例如均可裂解或不可裂解，或兩個或更多個連接體不同，例如，至少一個可裂解且至少一個不可裂解。

【0096】 多重特異性多肽構築體及其偶聯物可用於治療多種病症及/或疾病之方法中。疾病之非限制性實例包括：所有類型之癌症(乳癌、肺癌、結腸直腸癌、前列腺癌、黑色素瘤、頭頸癌及胰臟癌等)、類風濕性關節炎、克隆氏病(Crohn's disuse)、SLE、心血管損傷、缺血等。舉例而言，適應症將包括白血病(包括T細胞急性淋巴母細胞性白血病(T-ALL))、淋巴母細胞性疾病(包括多發性骨髓瘤)及實體腫瘤(包括肺腫瘤、結腸直腸腫瘤、前列腺腫瘤、胰臟腫瘤及乳房腫瘤(包括三陰性乳癌))。舉例而言，適應症包括骨疾病或癌症轉移，其與原發性腫瘤來源無關；乳癌，包括(藉助非限制性實例) ER/PR+ 乳癌、Her2+ 乳癌、三陰性乳癌；結腸直腸癌；子宮內膜癌；胃癌；神經膠母細胞瘤；頭頸癌，例如食管癌；肺癌，例如藉助非限制性實例，非小細胞肺癌；多發性骨髓瘤、卵巢

癌；胰臟癌；前列腺癌；肉瘤，例如骨肉瘤；腎癌，例如藉助非限制性實例，腎細胞癌；及/或皮膚癌，例如藉助非限制性實例，鱗狀細胞癌、基底細胞癌或黑色素瘤。在一些實施例中，癌症係鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係皮膚鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係食管鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係頭頸部鱗狀細胞癌.在一些實施例中，癌症係肺鱗狀細胞癌。

【0097】 亦提供包含本文提供之多重特異性多肽構築體中之任一者及醫藥上可接受之載劑的醫藥組合物。在一些情形下，醫藥組合物係無菌的。本揭示內容之醫藥組合物可包括本揭示內容之多重特異性多肽構築體及載劑。該等醫藥組合物可包括套組(例如診斷套組)中。

【0098】 熟習此項技術者應瞭解，本揭示內容之抗體具有多種用途。舉例而言，本揭示內容之蛋白質用作多種病症之治療劑。本揭示內容之抗體亦用作診斷套組中之試劑或用作診斷工具，或該等抗體可用於競爭分析以生成治療性試劑。

【圖式簡單說明】

【0099】 **圖1**係具有經受限CD3結合之本發明多重特異性多肽構築體之基本組分的示意圖。抗原結合結構域位於胺基及/或羧基末端。Fc區(例如異二聚體Fc區)位於CD3結合區之N-末端。Fc緊靠CD3結合區之此定位阻礙CD3結合。

【0100】 **圖2**係繪示含有可裂解連接體並具有雙重效應物功能之本揭示內容之多重特異性分子之實例性結構的圖解說明，其中可裂解連接體之蛋白水解裂解引起多重特異性多肽構築體活化，以產生各自具有生物活性之兩個組分。

【0101】 **圖3**係由兩個多肽(即，鏈1及鏈2)組成之各種FRα-靶向經受限CD3構築體的示意圖。上圖提供可裂解多重特異性多肽構築體之實例性繪示，該可裂解多重特異性多肽構築體含有(例如) MTSP1、MMP及/或顆粒酶B中之一或多者之一或多個蛋白酶受質識別位點的具有可裂解連接體。鏈1含有FRα sdAb (抗原結合結構域)，其連接至異二聚體Fc「臼」、經由蛋白酶可裂解連接體(cx1547：僅顆粒酶B，cx309：MTSP1、MMP及顆粒酶B)連接至抗CD3 VL結構域、連接至第二FRα sdAb。鏈2含有FRα sdAb，其連接至互補異二聚體Fc 「杵」，經由與上述相同之蛋白酶連接體連接至抗CD3 VH結構域、連接至第二FRα sdAb。圖6之下圖繪示與上圖類似之構形，只是連接體係不可裂解連接體(範圍介於cx1356中之3個胺基酸至cx681中之18個胺基酸)。在共表現時，CD3結合結構域經由VL:VH分別締合於臼及杵上而適當地組裝。

【0102】 **圖4A-4C**繪示所生成用以比較連接體限制所生成構築體中之CD3結合之效應的構築體。**圖4A**繪示在每一多肽鏈中含有相同可裂解連接體以偶合異二聚體Fc之每一Fc多肽與CD3結合區之結構域的多重特異性多肽構築體之實例(顯示實例性構築體cx1762)。在**圖4A**中所示之格式中，繪示呈未分解狀態之構築體。**圖4B**中顯示構築體之替代型式，其中僅採用單一可裂解連接體將Fc區連接至CD3結合結構域，命名為半裂解(顯示實例性構築體cx3238)。**圖4C**繪示代表**圖4A**及**4B**中之構築體在完全裂解時之格式的結構(顯示實例性構築體cx2190)。代表蛋白水解裂解產物之構築體可藉由共表現所繪示之各種鏈重組產生。FRα靶向之sdAb位於每一構築體之C末端位置。

【0103】 **圖5A-5E**繪示代表性EGFR靶向及EGFR/cMET雙重靶向之

經受限CD3接合體。在**圖5**A中，cx2513具有位於異二聚體之每一鏈之C-末端之EGFR靶向之sdAb且藉此展現與EGFR之二價結合。在**圖5B**中，cx3030具有位於異二聚體之每一鏈之N及C-末端二者之EGFR靶向之sdAb且藉此展現與EGFR之四價結合。在**圖5C**中，cx2973具有位於異二聚體之每一鏈之N-末端之cMET靶向之sdAb及位於C-末端之EGFR靶向之sdAb且藉此展示與每一cMET及EGFR之二價結合。在**圖5D**中，cx2979具有位於異二聚體之一條鏈之N-末端之cMET靶向之sdAb及位於C-末端之EGFR靶向之sdAb且藉此展現與cMET之單價結合及與EGFR之二價結合。在**圖5E**中，cx2977具有位於異二聚體之一條鏈或另一鏈之N-末端之cMET靶向之sdAb及位於C-末端之EGFR靶向之sdAb且藉此展現與每一cMET及EGFR之單價結合。

【0104】 **圖6A及6B**係用以組裝實例性B7H3靶向之經受限CD3接合體之組分鏈的示意圖。該等代表性構築體中所利用之B7H3結合結構域包括sdAb、scFv或FAB。通常，含有sdAb及scFv之構築體由兩條異二聚體鏈組成，而含有FAB之構築體包括同源輕鏈之第三鏈(VL-CL)。

【0105】 **圖7**繪示5T4靶向之經受限CD3接合體。生成分子之核心以含有異二聚體Fc，之後係可裂解連接體及經雙硫鍵穩定之抗CD3 Fv。將該等分子之TAA結合部分放置於異二聚體Fc鏈之N-或C-末端。在頂部列中，TAA結合單元係Fab，其由杵多肽之N-末端及臼多肽之C-末端上之Fd(VH-CH1)組成。在Fab係結合單元之情形下，使第三鏈(輕鏈- VL-CL)表現以與Fd締合。在中間及底部列中，TAA結合單位係位於N-末端及C-末端之杵多肽上的單一結構域抗體。在中間列中，生成之構築體之TAA結合sdAb係相同的，而在底部列中，生成之構築體之TAA結合sdab係具有不

同表位之不同序列。

【0106】 **圖8**係代表性CD20靶向之經受限CD3接合構築體cx3309的示意圖，其中CD20結合結構域係源自CD20抗體GA101之scFv。

【0107】 **圖9**係代表性DLL3靶向之經受限CD3接合構築體cx3308的示意圖，其中DLL3結合結構域係scFvs。此實例性構築體包括兩條鏈，其各自具有連接至CD3結合結構域及DLL3結合scFv之一個組分之異二聚體Fc的互補組分。呈組裝形式之構築體對於DLL3係二價的且具有位於Fc異二聚體之C-末端之CD3結合結構域。

【0108】 **圖10A**係還原(R)及非還原(NR)條件之代表性FRα靶向經受限CD3接合構築體cx1547之SDS-PAGE的影像。預計分子量為135kDa。**圖10B**及**圖10C**係來自cx1547之尺寸排除分析之層析圖的圖，證實其係具有137.9kDa之測定分子量之單一物質。**圖10C**係**圖10B**中顯示之主峰附近的放大視圖。

【0109】 **圖11A及11B**係展現本揭示內容之實例性多重特異性多肽構築體(本文中稱作cx309)以未裂解或以蛋白水解方式裂解狀態結合人類T細胞的結合能力之一對圖。間質蛋白酶及MMP-2分別用於使**圖11A**及**圖11B**中之cx309裂解。

【0110】 **圖12A-12D**繪示由代表性FRα靶向經受限CD3接合構築體cx1356、cx681及cx1547之細胞結合。**圖12A**及**圖12C**顯示與Ovcar5細胞(FRα陽性卵巢癌細胞系)結合。**圖12B**及**圖12D**繪示未與T細胞結合。**圖12A**及**圖12B**展示正規化之細胞計數對每一構築體之100nM之螢光的直方圖。各種細胞類型上之每一構築體之完全滴定示於**圖12C**及**圖12D**中。在**圖12A**及**圖12B**中，僅二級抗人類APC抗體對照顯示於填充之黑色跡線

中，而陽性對照抗CD3結合顯示於開放跡線中，且cx1356、cx681及cx1547顯示於灰色陰影跡線中。

【0111】 **圖13A-13B**繪示由代表性EFGR靶向經受限CD3接合構築體cx3030的細胞結合。**圖13A**顯示與100nM之EGFR陽性細胞系Colo-205的結合。**圖13B**展現與100nM之T細胞未結合。結合展示為正規化之細胞計數對螢光的直方圖。僅二級抗人類APC抗體對照顯示於填充之黑色跡線中，而陽性對照抗CD3結合顯示於開放之跡線中，且cx3030顯示於灰色陰影跡線中。

【0112】 **圖14A-14D**繪示由B7H3靶向經受限CD3接合體與B7H3陽性A375結合(**圖14A**及**14B**)及與T細胞上之CD3未結合(**圖14C**及**14D**)。靶向B7H3及CD3之替代格式DART-Fc展示與T細胞上之B7H3及CD3之強烈結合。本文使用各種B7H3抗原結合結構域，包括cx3095 sdAb、cx3313 FAB及cx3314 scFv。scFv及FAB含有DART-Fc格式中所用之相同的抗B7H3VH及VL序列。**圖14A**及**14C**顯示100nM濃度之每一構築體之比較直方圖。僅二級抗人類APC抗體對照顯示於填充之黑色跡線中，且各種B7H3靶向之CD3接合構築體顯示於白色非共享跡線中。**圖14B**及**14D**分別顯示由各種構築體與BH73及CD3之結合的滴定。

【0113】 **圖15A-15B**繪示由代表性5T4靶向經受限CD3接合構築體cx3262及cx3315的細胞結合。**圖15A**顯示與400nM之5T4陽性細胞系Ovcar-5的結合。**圖15B**展現與400nM之T細胞未結合。結合展示為正規化之細胞計數對螢光的直方圖。僅二級抗人類APC抗體對照顯示於填充之黑色跡線中，而陽性對照抗CD3結合顯示於開放之跡線中，且cx3262及cx3315顯示於灰色陰影跡線中。

【0114】 **圖16A-16D**繪示由代表性CD20靶向經受限CD3接合構築體cx3309的細胞結合。**圖16A**及**圖16C**顯示與Ramos細胞(一種CD20陽性細胞系)之結合。**圖16B**及**圖16D**展現未與T細胞結合。**圖16A-16B**展示正規化之細胞計數對每一構築體之100nM之螢光的直方圖。各種細胞類型上之每一構築體之完全滴定示於**圖16C-16D**中。僅二級抗人類APC抗體對照顯示於填充之黑色跡線中，而陽性對照抗CD3結合顯示於開放之跡線中，且cx3309顯示於灰色陰影跡線中。

【0115】 **圖17**係展現在存在或不存在表現FRα之細胞Ovcar5下裂解或未裂解的cx309活化CD3 NFAT報導基因Jurkat細胞系(Promega, USA)之能力的圖。

【0116】 **圖18**繪示由cx1547之抗原依賴性T細胞活化。將呈FRα陽性(T47D、IGROV1、NCI-H2342、Ovcar-5、Skov-3及A2780)或陰性(NCI-H460)之各種細胞系與Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞系共培育，並在6小時量測螢光。此展現經受限CD3構築體以抗原方式活化T細胞之能力。

【0117】 **圖19A-19D**繪示若在Fc結構域與CD3結構域之間之連接體內發生蛋白分解，則經受限CD3接合體之T細胞活化能力增強。此處顯示在FRα陽性Ovcar-5細胞(**圖19A**)或FRα陰性CCRF-CEM細胞(**圖19B**)存在下由20nM cx1762、cx3238或cx2190介導之T細胞活化的動力學。此處亦顯示在FRα陽性Ovcar-5細胞(**圖19C**)或FRα陰性CCRF-CEM細胞(**圖19D**)存在下由cx1762、cx3238或cx2190介導之T細胞活化的功效。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因，使用Incucyte ZOOM成像儀在24小時內監測CD3信號傳導。值得注意的是，T細胞活化依賴於靶細胞系上之抗原表

現，且藉由移除CD3結合VH:VL結構域之一側或兩側上之CD3結合結構域之N-末端的Fc結構域而大大增強。

【0118】 **圖20A-20D**係展現各種EGFR及EGFR/cMET靶向經受限CD3接合體之抗原依賴性T細胞活化能力的圖系列。值得注意的是，T細胞活化能力隨增加之價態或額外之靶抗原結合特異性而增強。由抗原陽性A431細胞上之各種構築體介導的T細胞活化動力學繪示於**圖20A**中，或由抗原陽性CCRF-CEM細胞上之各種構築體介導的T細胞活化動力學繪示於**圖20C**中。由抗原陽性A431細胞上之各種構築體的T細胞活化功效繪示於**圖20B**中，或由抗原陽性CCRF-CEM細胞上之各種構築體的T細胞活化功效繪示於**圖20D**中。在此使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞系。

【0119】 **圖21A-21B**繪示由代表性B7H3靶向經受限CD3接合構築體cx3095及靶向B7H3及CD3之替代DART-Fc格式來介導靶抗原特異性T細胞活化的能力。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞評價在B7H3陽性細胞系A375 (**圖21A**)及B7H3陰性細胞系Raji (**圖21B**)存在下的T細胞活化。

【0120】 **圖22A-22F**繪示由代表性B7H3靶向經受限CD3接合構築體及靶向B7H3及CD3之替代DART-Fc格式來介導靶抗原特異性T細胞活化的能力。值得注意的是，經受限CD3接合構築體利用B7H3靶向之sdAb、scFv或FAB。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞評價在B7H3陽性細胞系A375 (**圖22A**、**22C**、**22E**)及B7H3陰性細胞系CCRF (**圖22B**、**22D**、**22F**)存在下的T細胞活化。顯示由50nM (**圖22A**及**22B**)或2nM (**圖22C**或**22D**)之每一構築體介導之T細胞活化的動力學。亦顯示由抗原陽性(**圖22E**)及陰性(**圖22F**)細胞系上之每一構築體介導之T細胞活化的功效。

【0121】 **圖23A-23B**係顯示5T4靶向經受限CD3接合構築體之T細胞活化能力的圖系列。此實例顯示二價二表位TAA靶向如何在TAA陽性細胞(OVCAR5)上相對於二價單表位蛋白增加經受限CD3接合體之活性。在TAA陰性細胞(CCRF)存在下，構築體皆不誘導T細胞活化。

【0122】 **圖24**係顯示由代表性5T4靶向經受限CD3接合構築體cx3315誘導抗原依賴性T細胞活化之能力的圖。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞系監測在5T4陽性細胞系(OVCAR5)及5T4陰性細胞系(CCRF-CEM)存在下由cx3315之T細胞活化。

【0123】 **圖25**繪示由代表性CD20靶向經受限CD3接合構築體cx3309誘導抗原依賴性T細胞活化的能力。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞系監測在CD20陽性細胞系Ramos及細胞CD20陰性細胞系CCRF-CEM存在下由cx3309的T細胞活化。

【0124】 **圖26**係顯示由代表性DLL3靶向經受限CD3接合構築體cx3308誘導T細胞活化之能力的圖。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞系監測在SHP-77細胞(其係DLL3陽性的)存在下由cx3309之T細胞活化。此展現scFv部分可用於以經受限CD3格式靶向TAA，並在結合至同源TAA陽性細胞系時有效活化T細胞。

【0125】 **圖27A-27F**繪示連接體長度對在FRα陽性細胞IGROV1 (**圖27A、27C、27E**)或FRα陰性NCI-H460 (**圖27B、27D、27F**)存在下活化T細胞之能力的影響。**圖27A-27B**分別顯示由抗原陽性及陰性細胞上之2nM各種構築體的T細胞活化之動力學。**圖27C-27D**分別顯示由抗原陽性及陰性細胞上之2nM各種構築體的T細胞活化能力之量值。**圖27E-27F**分別顯示抗原陽性及陰性細胞上具有不同連接體長度各種構築體之T細胞活化能

力的功效。使用Jurkat CD3 NFAT-GFP報導基因細胞系評價T細胞活化。當與靶細胞上之第二抗原結合時，經受限CD3蛋白僅在T細胞上有效地接合及簇集CD3。

【0126】 **圖28A-28C**繪示由cx1547之抗原依賴性T細胞介導之細胞毒性。**圖28A**展現cx1547不誘導T細胞介導之抗原陰性細胞系(NCI-H460)之細胞毒性。**圖28B**展現cx1547誘導T細胞介導之抗原陽性細胞系(Ovcar5)之細胞毒性。**圖28C**顯示對於由3nM cx1547誘導之OVCAR5細胞之T細胞介導之細胞毒性的動力學。cx1547僅在抗原陽性細胞系中誘導T細胞介導之細胞毒性。在Incucyte ZOOM成像儀上使用差異標記之靶細胞之半胱天冬酶-3/7螢光探針受質監測細胞毒性。在此分析中以20:1及10:1評價效應細胞對靶細胞比率(E:T)。

【0127】 **圖29A-29F**繪示由代表性B7H3靶向經受限CD3接合構築體及靶向B7H3及CD3之替代DART-Fc格式驅動之T細胞介導之細胞毒性的動力學。B7H3陽性A375細胞系上之CD3接合構築體之50nM至80pM的滴定範圍示於**圖29A-29E**中。**圖29F**繪出B7H3表現已敲低之A549細胞上50nM之每一構築體的量測。值得注意的是，所有構築體皆展示B7H3依賴性T細胞介導之細胞毒性。

【0128】 **圖30**繪示抗原陽性(A375)及陰性(A549-B7H3敲低)細胞系上由2.5nM B7H3靶向經受限CD3接合構築體及DART-Fc B7H3 x CD3格式誘導之T細胞介導之細胞毒性的量值。

【0129】 **圖31A-31F**繪示兩種格式FRa靶向之CD3接合體誘導對FRα陽性Ovcar-5細胞(**圖31A-31E**)及FRα陰性NCI-H60細胞(**圖31F**)之介導之T細胞細胞毒性的比較功效。cx2190係可源自cx1762之顆粒酶B蛋白

水解處理的代表性C-末端產物。值得注意的是，cx2190與cx1792相比展示優異功效，此展現由Fc與CD3結合結構域之間之連接體區內的蛋白分解介導之CD3結合顯著增強。20nM、32pM及6pM之FRa陽性細胞上T細胞介導之細胞毒性的動力學分別繪示於**圖31A**、**31B**及**31C**中。**圖31D**及**圖31E**分別顯示在24及40小時FRα CD3接合體之兩種格式之功效。圖F展現，在靶細胞上無FRα表現下，任何構築體未介導顯著細胞毒性。

【0130】 **圖32**繪示由代表性5T4靶向經受限CD3接合構築體cx3315介導之T細胞介導之細胞毒性。cx3315對5t4表現細胞系Ovcar-5、而不對5T4陰性細胞系CCRF-CEM誘導特異性T細胞毒性。此分析中使用20nM cx3315。

【0131】 **圖33**係展現在裂解或未裂解cx309存在下T細胞及Ovcar5細胞共培養20hr後之T細胞活化的圖。僅裂解之cx309能夠經由CD3結合介導FRα依賴性T細胞活化。藉由CD25%之CD4及CD8群體之流式細胞分析監測T細胞活化。

【0132】 **圖34A-34H**繪示以靶標依賴性方式由代表性B7H3靶向經受限CD3接合構築體及靶向B7H3及CD3之替代DART-Fc格式活化CD4 (**圖34A**及**34E**)及CD8 (**圖34C**及**34G**) T細胞的能力。將T細胞與B7H3陽性細胞系A375 (**圖34A**、**34C**、**34E**、**34G**)或B7H3敲低A549細胞系(**圖34B**、**34D**、**34F**、**34H**)一起培育，並藉由流式細胞術評價活化標記CD25及CD71。該等數據展現所用構築體之B7H3依賴性T細胞活化能力。

【0133】 **圖35**繪示B7H3靶向經受限CD3接合構築體cx3095介導抗原依賴性INFγ產生的能力。使用INFγ ELISA量化細胞介素產生。使用A375作為B7H3陽性細胞系，而使用B7H3敲低A549細胞系作為陰性細胞

系。

【0134】 **圖36A-36B**繪示代表性FRα靶向經受限CD3接合構築體cx1547誘導來自人類PBMC之FRα依賴性IFNγ (**圖36A**)及IL-2 (**圖36B**)的能力。使用FluoroSpot細胞介素捕獲分析量測細胞介素產生。分別使用IGROV-1及NCI-H460作為FRα陽性及陰性細胞系。

【0135】 **圖37**繪示B7H3靶向經受限CD3接合構築體cx3095介導抗原依賴性INFγ產生的能力。使用FluoroSpot分析監測細胞介素產生。分別使用A375及CCRF-CEM細胞系作為B7H3陽性及陰性細胞系。

【0136】 **圖38A-38D**繪示FRα靶向經受限CD3構築體cx1547活化離解之原發性人類卵巢腫瘤樣品中存在之T細胞及引發細胞毒性的能力。**圖38A**繪示解離之卵巢腫瘤樣品中腫瘤細胞(EpCAM+)及浸潤性淋巴球(CD45+)之相對盛行率的流程圖。**圖38B**顯示在用習用FRα抗體或cx1547處理後6天培育後黏附性腫瘤細胞之存活率(CellTiterGlo)。**圖38C**顯示在用FRa抗體或cx1547處理後6天培育後之INFγ產生。**圖38D**顯示在未用抗體(左圖)、用習用FRα抗體(中間圖)或cx1547 (右圖)處理6天後剩餘黏附性腫瘤細胞的代表性影像。

【實施方式】

【0137】 本申請案主張於2017年4月11日提出申請之標題為「MULTISPECIFIC POLYPEPTIDES HAVING DUAL EFFECTOR FUNCTION AND METHODS OF USING THE SAME」之美國臨時申請案第62/484,217號的優先權，該案件全文之內容以引用方式併入。

序列表以引用方式併入

【0138】 本申請案係以電子格式與序列表一起提出申請。序列表以

標題為744952000141SeqList.TXT之文件形式提供，其創建於2018年4月10日，其大小為174,509字節。序列表之電子格式中之資訊以引用方式整體併入。

【0139】 本發明提供呈至少結合CD3及第二抗原之多重特異性多肽構築體形式的經受限T細胞接合融合蛋白。本文提供之多重特異性多肽構築體至少包括第一組分，其包括結合可操作連接至免疫球蛋白Fc區之抗原的抗原結合結構域之一或多個拷貝；第二組分，其包括至少一個結合CD3之結合結構域(本文中稱作抗CD3結合結構域或CD3結合區，其係在本文中可互換使用之術語)的一或多個拷貝；及聯接第一組分與第二組分之連接體，例如多肽連接體。在一些實施例中，抗原係腫瘤相關抗原(TAA)。在一些實施例中，連接體係可裂解連接體。

【0140】 所提供多重特異性多肽構築體包括其中含有Fc區之第一組分在含有CD3結合區之第二組分之N-末端的構形。在該實施例中，第一及第二組分經由在Fc區端之C-末端的連接體聯接。在一些實施例中，抗原結合結構域位於多重特異性多肽構築體之胺基末端(N-末端)區上。在一些實施例中，抗原結合結構域位於多重特異性多肽構築體之羧基末端(C-末端)區上。在一些實施例中，抗原結合結構域位於多重特異性多肽構築體之N-及C-末端區上。如本文提供之多重特異性多肽構築體之各種構形示於**圖1**中。

【0141】 所提供多重特異性多肽構築體展現經受限T細胞接合活性，此乃因一旦抗原經由抗原結合結構域結合，該等構築體僅實質上結合至CD3。此例示於本文提供之實例及圖中，其展現經受限CD3接合蛋白有效結合TAA陽性細胞、同時極少結合至不結合T細胞的能力。此獨特性質

容許經受限CD3接合蛋白分佈至存在TAA之位點而不結合至外周T細胞。此格式與其他CD3接合多重特異性構築體之不同之處在於不容許或消除組成型CD3結合，從而提供避免外周T細胞結合之顯著益處並允許優先分佈至如由抗原結合結構域識別之抗原之位點。舉例而言，如實例中所示，經受限CD3接合格式能夠具有與DART-Fc格式(例如公開之PCT申請案第WO2017/030926號)類似之功效，但與外周T細胞之結合顯著減弱。此外，其他CD3接合構築體介導抗原依賴性T細胞活化，然而，本文提供之多重特異性多肽構築體介導抗原依賴性T細胞結合及活化二者。

【0142】 在一些態樣中，所提供多重特異性多肽構築體之經受限T細胞接合活性係由於Fc區定位於CD3結合區之N-末端。在一些實施例中，該定位減少、減弱、阻抑及/或防止由CD3結合區之CD3結合。在不存在由抗原結合結構域之抗原結合下，本文提供之多重特異性多肽構築體展現降低或消除之CD3結合及T細胞活化能力。在一些實施例中，在存在由多重特異性多肽構築體之抗原結合結構域介導的抗原結合事件下，由CD3結合區結合CD3之能力大大增強。在一些實施例中，在存在由多重特異性多肽構築體之抗原結合結構域介導的抗原結合事件下，活化T細胞之能力大大增強。多重特異性多肽構築體內由抗原結合結構域之其同源抗原的接合導致隨後T細胞接合並介導抗原依賴性T細胞活化，例如細胞毒性、細胞介素釋放、脫粒化及增殖。在一些實施例中，所提供多重特異性多肽構築體可用於增加免疫反應，例如增強T細胞活性，包括細胞溶解(或細胞毒性) T細胞活性。在一些態樣中，免疫反應之調節可治療個體之疾病或病況。

【0143】 在一些實施例中，一或多個抗原結合結構域結合腫瘤細胞

或腫瘤微環境之細胞上之抗原。在一些態樣中，所提供多重特異性多肽構築體可用於增加針對腫瘤或癌症之免疫反應，例如T細胞活性，例如細胞毒性活性。在一些實施例中，所提供多重特異性多肽構築體可用於治療個體之腫瘤或癌症。

【0144】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體確保經由外周血中之CD3未結合T細胞，此乃因該等構築體之CD3結合區因Fc區之存在受限或以其他方式被阻斷及/或抑制。因此，本揭示內容之多重特異性多肽構築體提供多個優點。在一些態樣中，該等構築體限制結合所有T細胞之槽效應。在一些態樣中，該等構築體降低全身性毒性。

【0145】 在一些實施例中，本揭示內容之所提供多重特異性多肽構築體容許受控生物分佈至個體之期望位點，例如腫瘤相關抗原(TAA)表現之位點。TAA表現之位點包括(例如)腫瘤及周圍腫瘤微環境。

【0146】 在一些實施例中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體展現對CD3及一或多種其他抗原之特異性。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體可含有一個以上能結合一或多種TAA之抗原結合結構域，例如2、3或4個抗原結合結構域，例如參見圖1。在一些實施例中，一或多個抗原結合結構域結合相同抗原。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包括一個以上結合相同抗原之不同表位之抗原結合結構域。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包括一個以上結合一或多種不同抗原之抗原結合結構域。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包括一個以上結合相同抗原上之不同表位之抗原結合結構域，以及包括結合至一或多種不同抗原之額外抗原結合結構域。在一些態樣中，所提供多重特異性多肽構築體係雙特異性多肽構築體，使得其能夠經由多重特異性多肽構築體之抗原結

合結構域之結合而結合至CD3及另一抗原(例如TAA)。在一些實例中，所提供多重特異性多肽構築體係雙特異性多肽構築體，其經由使用第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域提供一或多種TAA之四價接合。舉例而言，在一些實施例中，雙特異性多肽構築包括第一抗原結合單一結構域抗體(sdAb)及第二抗原結合sdAb，如**圖1**及**2**中所示。

【0147】 在一些實施例中，本文提供之多重特異性多肽構築體就結合CD3及隨後活化T細胞之能力而言以兩種狀態存在：(1) 在未由任何或全部抗原結合結構域進行任何結合時，發生「無活性」狀態，亦即未裂解狀態，使得CD3結合受限且排除T細胞相互作用，及(2) 在由任何或全部抗原結合結構域抗原結合時，發生「活性」狀態，使得CD3結合區能夠結合CD3並容許T細胞相互作用。

【0148】 在一些實施例中，Fc區經由一或多個連接體連接至CD3結合結構域。在一些實施例中，Fc區經由一或多個不可裂解連接體連接至CD3結合區。在一些實施例中，Fc區經由可裂解連接體或以其他方式不穩定之連接體連接至CD3結合區。

【0149】 在一些實施例中，Fc區及CD3結合區由可裂解連接體連接，其中在一些態樣中，在可裂解連接體裂解後發生增強之CD3結合。在一些該等態樣中，「活性」狀態可經由若干機制包括經由聯接CD3結合區與Fc區之連接體之裂解進一步放大。在一些實施例中，可裂解連接體係含有蛋白酶之受質識別位點之連接體。在一些實施例中，其中Fc區及CD3結合區由可裂解連接體連接，在連接體內裂解後可發生增強之CD3結合。

【0150】 在一些態樣中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體容許在不存在蛋白分解下之治療效能。

【0151】 在一些實施例中，Fc區係同二聚體Fc區。在一些實施例中，Fc區係異二聚體Fc區。在一些實施例中，Fc區係單體Fc區。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體之Fc區能與FcγR相互作用並介導先天免疫效應物功能，例如抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體之Fc區能與補體蛋白(即C1q)相互作用並介導補體依賴性細胞毒性。因此，在一些態樣中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體容許多重免疫效應物機制，包括先天免疫效應物及T細胞。

【0152】 在一些實施例中，其中Fc區及CD3結合區由可裂解連接體可操作連接，Fc區與CD3結合區之間之連接體之裂解可將多重特異性多肽構築體分成第一及第二組分。端視多重特異性多肽構築體之組成而定，第一及第二組分可具有不同功能性。在一些實施例中，Fc區係展現一或多種效應物功能(例如ADCC、CDC或ADCP功能)之區。在該等實例中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體可用於產生自放大系統。舉例而言，多重特異性構築體可如下使用：在Fc區之TAA靶向及CD16結合後由NK細胞介導之ADCC引起釋放顆粒酶B，其能使多重特異性多肽構築體之第一及第二組分之間之連接體細胞外蛋白分解及裂解。

【0153】 在一些實施例中，連接體係可裂解連接體。多重特異性多肽構築體提供具有雙重效應物功能之二合一治療部分，其中多重特異性多肽構築體之蛋白水解活化產生兩種各自具有生物活性之組分。本揭示內容之多重特異性多肽構築體能提供僅Fc介導之效應物功能，例如ADCC (例如由NK細胞釋放顆粒酶B)、ADCP及/或CDC。

【0154】 預期經受限CD3接合構築體適於與任何TAA結合結構域一

起使用，從而藉由避免與外周T細胞相互作用及介導強效TAA依賴性T細胞細胞毒性而容許在腫瘤或腫瘤微環境中更佳治療暴露。在Fc與CD3結合結構域之組分之間納入蛋白酶可裂解連接體藉由容許CD3結合結構域完全暴露使得能夠放大T細胞活化能力。端視所包括之特定連接體而定，放大步驟可由腫瘤相關之蛋白酶或在抗原依賴性T細胞活化後釋放之顆粒酶來介導。若包括腫瘤蛋白酶可裂解連接體，則由腫瘤或腫瘤微環境介導放大。而若包括顆粒酶B可裂解連接體，則放大可在抗原依賴性活化後由T細胞自介導。此外，在其中構築體中包括效應物啟用之Fc之情形下，放大可由自NK細胞釋放之顆粒酶介導，其係經由ADCC機制發生。

【0155】 在一些實施例中，蛋白酶係在腫瘤微環境中產生及/或在T細胞活化時經由抗原結合結構域與TAA之結合由腫瘤微環境中CD3結合區與CD3之初始結合誘導的蛋白酶。在一些實施例中，蛋白酶係顆粒酶B。在一些態樣中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體影響腫瘤微環境內之蛋白酶及/或顆粒酶B裂解Fc免疫球蛋白多肽下方位置之多重特異性多肽構築體內的連接體的能力，藉此產生兩種在一些情形下具有不同效應細胞接合之治療活性蛋白質。在一些態樣中，在可裂解連接體裂解時，裂解之第一部分或組分保留Fc-效應物功能及經由第一抗原結合結構域之第一抗原(例如TAA)之二價靶向，且第二部分或組分保留T細胞接合之能力，此乃因CD3結合區與Fc區之分離容許CD3結合。裂解之第二部分或組分在一些情形下亦保留結合至TAA之能力，其可為經由第二抗原結合結構域之二價結合。

【0156】 在一些實施例中，第二部分或組分含有與CD3呈單價之CD3結合區，使得除非存在TAA，否則將不活化T細胞。在一些態樣中，

若多價多肽構築體含有可裂解連接體，則裂解之第二部分或組分容許TAA依賴性T細胞介導之細胞毒性。在一些情形下，裂解之第二部分或組分確保無FcRn相互作用。此外，裂解之第二部分或組分的大小將足夠小，例如僅約50kDa，若出於任何原因裂解之第二部分或組分在裂解後分佈至腫瘤位點外及/或若其在腫瘤位點外異常裂解，此將確保快速釋放。

【0157】 在一些實施例中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體容許同時發生T細胞及NK細胞介導之細胞毒性。在一些情形下，該活性可在多重特異性多肽構築體中發生，其中含有可靶向給定TAA上之不同及/或非競爭表位之第一抗原結合結構域(例如第一抗TAA抗原結合結構域)及第二抗原結合結構域(例如第二抗TAA抗原結合結構域)。

【0158】 在一些態樣中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體提供許多優於目前雙特異性治療劑之優點。本揭示內容之多重特異性多肽構築體比習用治療性抗體小，例如150kDa對125kDa，此將容許更佳靶標(例如腫瘤)滲透。首先，整個多重特異性多肽構築體之大小為未裂解之構築體提供長的半衰期，且在構築體裂解時，裂解之第二部分或組分將足夠小以確保短的半衰期。在一些態樣中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體展現降低之全身性毒性或降低之腫瘤及/或腫瘤微環境外之任何區域之毒性，此乃因在CD3接合發生之前，由CD3結合區之CD3結合取決於TAA接合。在一些情形下，對腫瘤環境之蛋白酶具有特異性之可裂解連接體的納入減少了由多重特異性構築體之CD3結合，直至蛋白水解活化及TAA接合，藉此放大CD3接合。

【0159】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體經設計以確保使可裂解連接體裂解之蛋白酶無需偏向腫瘤(例如無需僅在腫瘤位點及/或在腫瘤

環境中不同表現)。相反，該等多重特異性多肽構築體僅需要蛋白酶與TAA存在於相同位置。該等構築體之化合價將驅動生物分佈及保留於腫瘤及/或腫瘤微環境中。

【0160】 本文中引用之所有出版物及專利文獻以引用方式併入本文中，如同每一該出版物或文獻具體地及單獨地指示為以引用方式併入本文中一般。出版物及專利文獻之引用並不意欲承認任一者係相關先前技術，其亦不欲構成對該等出版物及專利文獻之內容或日期之任何承認。現已藉助書面說明闡述了本發明，熟習此項技術者將認識到，本發明可在各種實施例中實踐且以下說明及實例用於闡釋目的，而不限制以下申請專利範圍。

I. 定義

【0161】 除非另外定義，否則與本發明相關使用之科學及技術術語應具有熟習此項技術者通常理解之含義。術語「一(a)」實體或「一(an)」實體係指一或多個該實體。舉例而言，化合物係指一或多種化合物。因此，術語「一(a、an)」、「一或多個」及「至少一個」在可互換使用。此外，除非上下文另外需要，否則單數術語將包括複數且複數術語將包括單數。通常，與本文所述之細胞及組織培養、分子生物學以及蛋白質及寡核苷酸或或多核苷酸化學及雜交相關利用之命名及技術係業內熟知及常用之彼等。標準技術用於重組DNA、寡核苷酸合成及組織培養及轉變(例如電穿孔、脂轉染)。酶促反應及純化技術係根據製造商之說明書來實施，或如業內貫常方法完成，或如本文所述實施。通常根據業內熟知之習用方法且如各種一般且更具體參考文獻中所述實施上述技術及程序，該等參考文獻貫穿本說明書引用且論述。參見(例如) Sambrook等人Molecular

Cloning: A Laboratory Manual (第2版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))。與本文所述之分析化學、合成有機化學以及醫學及醫藥化學相關利用之命名及其實驗室程序及技術為係業內熟知且常用之彼等。對化學合成、化學分析、醫藥製備、調配及遞送及患者治療使用標準技術。

【0162】 如根據本發明所利用，以下術語除非另有指示否則應理解為具有以下含義：

【0163】 如本文所用術語「抗體」係指免疫球蛋白分子及免疫球蛋白(Ig)分子之抗原結合部分，亦即，含有特異性結合抗原(與抗原免疫反應)之抗原結合位點的分子。「特異性結合」或「與……免疫反應」或「免疫特異性結合」意指抗體與期望抗原之一或多種抗原決定子反應且不與其他多肽結合或以遠更低之親和性($K_d > 10^{-6}$)結合。抗體包括(但不限於)多株、單株、嵌合、完全人類、結構域抗體、單鏈、Fab、及$F(ab')_2$片段、Fv、scFv及Fab表現文庫。

【0164】 已知基本抗體結構單元包含四聚體。每一四聚體由兩個相同的多肽鏈對組成，每一對具有一條「輕」鏈(約25 kDa)及一條「重」鏈(約50-70 kDa)。每一鏈之胺基末端部分包括約100個至110個或更多個主要負責抗原識別之胺基酸的可變區。每一鏈之羧基末端部分界定主要負責效應功能之恆定區。一般而言，自人類獲得之抗體分子係指種類IgG、IgM、IgA、IgE及IgD中之任一者，其因分子中存在之重鏈之性質彼此不同。某些種類亦具有亞類，例如IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4及其他。此外，在人類中，輕鏈可為κ鏈或λ鏈。

【0165】 如本文所用術語「單株抗體」 (mAb)或「單株抗體組合

物」係指僅含有一分子種類之抗體分子群體，該抗體分子由獨特輕鏈基因產物及獨特重鏈基因產物組成。具體而言，單株抗體之互補決定區(CDR)在群體之所有分子中皆相同。MAb含有能夠與抗原之特定表位免疫反應之抗原結合位點，其特徵在於對抗原之獨特結合親和性。

【0166】 術語「抗原結合位點」或「結合部分」係指免疫球蛋白分子中參與抗原結合之部分。抗原結合位點係由重(「H」)及輕(「L」)鏈之N-末端可變(「V」)區之胺基酸殘基形成。重鏈及輕鏈之V區內之三個高度趨異伸展序列(稱作「超變區」)插入稱作「框架區」或「FR」之更保守側翼伸展序列之間。因此，術語「FR」係指在免疫球蛋白中之超變區之間及附近天然發現之胺基酸序列。在抗體分子中，輕鏈之三個超變區及重鏈之三個超變區相對於彼此佈置於三維空間中以形成抗原結合表面。抗原結合表面與結合抗原之三維表面互補，且重鏈及輕鏈中之每一者之三個超變區稱為「互補決定區」或「CDR」。胺基酸在每一結構域中之分配係按照以下之定義：Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987及1991))，或Chothia及Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)，Chothia等人， Nature 342:878-883 (1989)。

【0167】 如本文所用術語「表位」包括由抗體、抗體片段或其他結合結構域靶向之抗原之任何特異性部分。術語「表位」包括特異性結合針對之任何蛋白區。術語「表位」包括能夠特異性結合至免疫球蛋白或T細胞受體之任何蛋白決定子。表位決定子通常是由分子之化學活性表面分型(例如，胺基酸或糖側鏈)組成，且通常具有特定三維結構特徵以及特定電荷特徵。舉例而言，可針對多肽之N-末端、中心或C-末端肽產生抗體。

另外，可針對多肽之線性或中斷表位產生抗體。在解離常數係≤ 1 μM，例如在一些實施例中≤ 100 nM且在一些實施例中≤ 10 nM時，據稱抗體特異性結合抗原，且抗體不展示與緊密相關或不同之其他蛋白之結合。

【0168】 如本文所用術語「特異性結合」、「免疫結合」及「免疫結合性質」係指在免疫球蛋白分子與免疫球蛋白特異性針對之抗原之間發生的類型之非共價相互作用。免疫結合相互作用之強度或親和性可相互作用之解離常數(K_d)表示，其中K_d愈小代表親和性愈大。所選多肽之免疫結合性質可使用業內熟知之方法量化。一種該方法需要量測抗原結合位點/抗原複合物形成及解離之速率，其中彼等速率取決於複合配偶體之濃度、相互作用之親和性以及在兩個方向上同樣影響速率之幾何參數。因此，可藉由計算濃度及實際締合及解離速率來測定「締合速率常數」(K_{on})及「解離速率常數」(K_{off})。(參見Nature 361:186-87 (1993))。K_{off} /K_{on}之比率能夠取消與親和性無關之所有參數，並且等於解離常數K_d。(*通常參見*Davies等人 (1990) Annual Rev Biochem 59:439-473)。在如藉由諸如放射性配體結合分析或熟習此項技術者已知之類似分析等分析所量測之結合常數(K_d)係≤1 μM、例如在一些實施例中≤ 100 nM、在一些實施例中≤ 10 nM且在一些實施例中≤ 100 pM至約1 pM時，據稱本發明抗體特異性結合至EGFR。

【0169】 如本文所用術語「分離之多核苷酸」應意指基因體、cDNA或合成起源或其一些組合之多核苷酸，其由於其起源，「分離之多核苷酸」(1) 與多核苷酸之全部或一部分不相關，其中「分離之多核苷酸」係在自然界中發現，(2) 可操作連接至多核苷酸，其中其在自然界中不連接至多核苷酸，或(3) 作為較大序列之一部分不會在自然界發生。根

據本揭示內容之多核苷酸包括編碼本文所示之重鏈免疫球蛋白分子之核酸分子及編碼本文所示之輕鏈免疫球蛋白分子之核酸分子。

【0170】 本文中提及之術語「分離之蛋白質」意指cDNA、重組RNA或合成起源或其一些組合之蛋白質，其由於其起源或衍生之來源，「分離之蛋白質」(1) 與自然界中發現之蛋白質不相關，(2) 不含來自同一來源之其他蛋白質，例如不含鼠類蛋白質，(3) 由來自不同物種之細胞表現，或(4)自然界中不出現。

【0171】 術語「多肽」在本文中用作通用術語來指天然蛋白質、多肽序列之片段或類似物。因此，天然蛋白質片段及類似物係多肽屬之種類。根據本揭示內容之多肽包含本文所示之重鏈免疫球蛋白分子及本文所示之輕鏈免疫球蛋白分子，以及由包含重鏈免疫球蛋白分子與輕鏈免疫球蛋白分子(例如κ輕鏈免疫球蛋白分子)之組合形式的抗體分子且反之亦然，以及其片段及類似物。

【0172】 如適於物體之如本文所用術語「天然」係指自然界中可發現之物體的事實。舉例而言，可自自然界中之來源分離且尚未在實驗室中由人有意修飾或以其他方式修飾之生物體(包括病毒)中存在之多肽或多核苷酸序列係天然的。

【0173】 如本文所用術語「可操作連接」係指如此闡述之組分之位置處於允許其以其預期方式發揮功能之關係。「可操作連接」至編碼序列之控制序列以使在與控制序列相容之條件下實現編碼序列之表現的方式接合。

【0174】 如本文所用術語「控制序列」係指實現與其接合之編碼序列之表現及處理所必需的多核苷酸序列。該等控制序列之性質根據原核生

物中之宿主生物體而不同，該等控制序列通常包括真核生物中之啟動子、核糖體結合位點及轉錄終止序列，通常，該等控制序列包括啟動子及轉錄終止序列。術語「控制序列」意欲至少包括其存在對於表現及處理係必不可少之所有組分，且亦可包括其存在係有利之額外組分，例如，前導序列及融合伴侶序列。如本文中提及之術語「多核苷酸」意指至少10個鹼基長度之核苷酸，核糖核苷酸或去氧核苷酸，或任一類型之核苷酸之修飾形式。該術語包括單鏈及雙鏈形式之DNA。

【0175】 本文中提及之術語寡核苷酸包括藉由天然及非天然寡核苷酸鏈接連接在一起之天然及修飾之核苷酸。寡核苷酸通常包含200個或更少鹼基長度之多核苷酸亞組。在一些實施例中，寡核苷酸係10至60個鹼基長，例如，在一些實施例中，係12、13、14、15、16、17、18、19或20至40個鹼基長。寡核苷酸通常係例如用於探針之單鏈，但寡核苷酸可為例如用於構築基因突變體之雙鏈。本揭示內容之寡核苷酸係正義或反義寡核苷酸。

【0176】 本文中提及之術語「天然核苷酸」包括去氧核糖核苷酸及核糖核苷酸。本文中提及之術語「修飾之核苷酸」包括具有修飾或取代之糖基團之核苷酸及諸如此類。本文中提及之術語「寡核苷酸鏈接」包括寡核苷酸鏈接，例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硒代磷酸酯、二硒代磷酸酯、苯胺磷酸硫醇酯(phosphoroanilothioate)、苯胺磷酸酯(phoshoraniladate)、胺基磷酸酯(phosphoronmidate)及諸如此類。*參見(例如)* LaPlanche等人，Nucl. Acids Res. 14:9081 (1986)；Stec等人，J. Am. Chem. Soc. 106:6077 (1984)，Stein等人，Nucl. Acids Res. 16:3209 (1988)，Zon等人 Anti Cancer Drug Design 6:539 (1991)；Zon

等人 Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach,，第87-108頁(F. Eckstein編輯，Oxford University Press, Oxford England (1991))；Stec等人，美國專利第5,151,510號；Uhlmann and Peyman Chemical Reviews 90:543 (1990)。若有需要，寡核苷酸可包括用於檢測之標記。

【0177】 如本文所用，20個常規胺基酸及其縮寫係遵循習用用法。*參見*Immunology - A Synthesis (第2版，E.S. Golub及D.R. Gren編輯，Sinauer Associates, Sunderland7 Mass. (1991))。20個常規胺基酸、非天然胺基酸(例如α-,α-二取代之胺基酸、N-烷基胺基酸、乳酸及其他非常規胺基酸)之立體異構物(例如D-胺基酸)亦可為適於本發明多肽之組分。非常規胺基酸之實例包括：4羥脯胺酸、γ-羧基麩胺酸鹽、ε-N,N,N-三甲基離胺酸、ε-N-乙醯基離胺酸、O-磷絲胺酸、N- 乙醯基絲胺酸、N-甲醯基甲硫胺酸、3-甲基組胺酸、5-羥離胺酸、σ-N-甲基精胺酸及其他類似胺基酸及亞胺基酸(例如4- 羥脯胺酸)。在本文使用之多肽符號中，根據標準用法及慣例，左手方向係胺基末端方向，且右手方向係羧基末端方向。

【0178】 類似地，除非另有說明，否則單鏈多核苷酸序列之左手末端係雙鏈多核苷酸序列之左手方向之5'端，稱為5'方向。新生RNA轉錄本之5'至3'添加方向稱為轉錄方向；DNA鏈上具有與RNA相同序列且為RNA轉錄本之5'至5'端之序列區稱為「上游序列」，DNA鏈上具有與RNA相同序列且為RNA轉錄本之3'至3'端之序列區稱為「下游序列」。

【0179】 當應用於多肽時，術語「實質一致性」意指在例如藉由程式GAP或BESTFIT使用默認空位權重最佳比對時，兩個肽序列共有至少80序列一致性百分比、例如在一些實施例中至少90序列一致性百分比、在一些實施例中至少95序列一致性百分比及在一些實施例中至少99序列

一致性百分比。

【0180】 在一些實施例中，不同之殘基位置因保守胺基酸取代而不同。

【0181】 如本文所論述，涵蓋抗體或免疫球蛋白分子之胺基酸序列之微小變化，如由本發明所包括，前提係胺基酸序列之變化維持至少75%、例如在一些實施例中至少80%、90%、95%且在一些實施例中99%。具體而言，涵蓋保守胺基酸置換。保守置換係在其側鏈中相關之胺基酸家族內進行之彼等。遺傳編碼之胺基酸通常分成以下家族：(1) 酸性胺基酸係天冬胺酸鹽、麩胺酸鹽；(2) 鹼性胺基酸係離胺酸、精胺酸、組胺酸；(3) 非極性胺基酸係丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸；及(4) 不帶電極性胺基酸係甘胺酸、天冬醯胺、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、胺酸、酪胺酸。親水性胺基酸包括精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸鹽、麩醯胺酸、麩胺酸鹽、組胺酸、離胺酸、絲胺酸及蘇胺酸。疏水性胺基酸包括丙胺酸、半胱胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸、酪胺酸及纈胺酸。胺基酸之其他家族包括(i) 絲胺酸及蘇胺酸，其係脂肪族-羥基家族；(ii) 天冬醯胺及麩醯胺酸，其係含有醯胺之家族；(iii) 丙胺酸、纈胺酸、白胺酸及異白胺酸，其係脂肪族家族；及(iv) 苯丙胺酸、色胺酸及酪胺酸，其係芳香族家族。舉例而言，可以合理地預計用異白胺酸或纈氨酸分離置換白胺酸、用麩胺酸鹽置換天冬胺酸鹽、用絲胺酸置換蘇氨酸或用結構上相關之胺基酸類似地置換取代胺基酸不會對所得分子之結合或性質產生主要效應，尤其若取代不涉及框架位點內之胺基酸。藉由分析多肽衍生物之比活性可容易地確定胺基酸變化是否產生功能性肽。本文中詳細闡述分析。

抗體或免疫球蛋白分子之片段或類似物可由熟習此項技術者容易地製備。在一些實施例中，片段或類似物之胺基-及羧基-末端出現在功能結構域之邊界附近。結構及結構域可藉由比較核苷酸及/或胺基酸序列數據與公開或專利序列資料庫來鑑別。使用電腦化比較方法以鑑別在已知結構及/或功能之其他蛋白質中出現之序列基序或預測之蛋白質構形結構域。已知鑑別摺疊成已知三維結構之蛋白質序列的方法。Bowie等人， Science 253:164 (1991)。因此，上述實例表明，熟習此項技術者可識別可用於定義根據本揭示內容之結構及功能結構域之序列基序及結構構形。

【0182】 在一些實施例中，胺基酸取代係如下之彼等：(1) 降低對蛋白分解之敏感性，(2) 降低對氧化之敏感性，(3) 改變結合親和性以形成蛋白複合物，(4) 改變結合親和性，及(4)賦予或修改該等類似物之其他物理化學或功能性質。類似物可包括除天然肽序列外之序列之各種突變蛋白質。舉例而言，單一或多個胺基酸取代(例如，保守胺基酸取代)可在天然序列中(例如，在形成分子間接觸之結構域外之多肽部分中)製得。保守胺基酸取代不應顯著改變母序列之結構特徵(例如置換胺基酸不應傾向於切斷母序列中出現之螺旋或破壞表徵母序列之其他類型之二級結構)。業內公認之多肽二級及三級結構之實例闡述於以下中：Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton 編輯， W. H. Freeman and Company, New York (1984))；Introduction to Protein Structure (C. Branden及J. Tooze編輯，Garland Publishing, New York, N.Y. (1991))；及Thornton等人， Nature 354:105 (1991)。

【0183】 如本文所用術語「多肽片段」係指具有胺基末端及/或羧基末端缺失及/或一個或多個內部缺失之多肽，但其中其餘胺基酸序列與自

例如全長cDNA序列之推斷天然序列中的相應位置一致。片段通常係至少5、6、8或10個胺基酸長，例如在一些實施例中至少14個胺基酸長，在一些實施例中至少20個胺基酸長，通常至少50個胺基酸長，且在一些實施例中至少70個胺基酸長。如本文所用術語「類似物」係指包括至少25個胺基酸之區段之多肽，該等胺基酸與推斷之胺基酸序列之一部分具有實質一致性且在適宜結合條件下與EGFR特異性結合。通常，相對於天然序列，多肽類似物包含保守胺基酸取代(或添加或缺失)。類似物通常係至少20個胺基酸長，例如在一些實施例中至少50個胺基酸長或更長，且通常可與全長天然多肽一樣長。

【0184】 術語「藥劑」在本文中用於表示自生物材料製得之化學化合物、化學化合物之混合物、生物大分子或萃取物。

【0185】 如本文所用術語「標記」或「標記之」係指納入可檢測標記物，例如藉由納入經放射標記之胺基酸或附接至可藉由經標記抗生物素蛋白(例如，含有螢光標記物或可藉由光學或比色方法檢測之酶活性之鏈黴抗生物素蛋白)檢測之生物素基部分之多肽。在某些情況下，標記或標記物亦可具有治療性。標記多肽及醣蛋白之各種方法為業內已知且可使用。用於多肽之標記之實例包括(但不限於)以下：放射性同位素或放射性核種(例如，^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I)、螢光標記(例如，螢光團、玫瑰紅(rhodamine)、鑭系元素磷光體)、酶標記(例如，辣根過氧化物酶、p-半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶)、化學發光標記物、生物素基、由第二報告子識別之預定多肽表位(例如，白胺酸拉鍊對序列、二級抗體之結合位點、金屬結合結構域、表位標籤)。在一些實施例中，標記由各種長度之間隔臂附接以減少潛在的空間位阻。如本

文所用術語「醫藥劑或藥物」係指當適當地投與患者時能夠誘導期望治療效應之化學化合物或組合物。

【0186】 如本文所用之「實質上純」意指目標物質係存在之主要物質(即，基於莫耳濃度，其比組合物中之任何其他個別物質更豐富)，且實質上純化之部分係其中目標物質包含佔存在之所有巨分子物質之至少約50%(基於莫耳濃度)的組合物。

【0187】 通常，實質上純之組合物將佔組合物中存在之所有巨分子物質的約80%以上，例如在一些實施例中約85%、90%、95%及99%以上。在一些實施例中，將目標物質純化至基本均質性(藉由習用檢測方法在組合物中不能檢測到污染物質)，其中組合物基本上由單個巨分子物質組成。

【0188】 術語患者包括人類及家畜個體。

【0189】 本文中之其他化學術語根據業內習慣用法使用，如由The McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (Parker, S.編輯，McGraw-Hill, San Francisco (1985))所例示。

II. 多重特異性多肽構築體

【0190】 本文提供含有包含免疫球蛋白Fc區之第一組分及包含CD3結合區之第二組分的多重特異性多肽構築體，其中第一及第二組分由連接體偶合，其中Fc區位於CD3結合區之N-末端；且第一及第二組分中之一者或二者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。

【0191】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端依序含有：免疫球蛋白Fc區；連接體；結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區；及結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。在一些實施例中，多

重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端依序包含：結合至腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域；免疫球蛋白Fc區；連接體；及結合CD3(CD3ε)之CD3結合區。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體至少含有結合TAA之第一抗原結合結構域及結合TAA之第二抗原結合結構域。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端依序包含：結合至腫瘤相關抗原(TAA)之第一抗原結合結構域；免疫球蛋白Fc區；連接體；結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區；及結合腫瘤相關抗原(TAA)之第二抗原結合結構域。

【0192】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體之每一組分更詳細闡述於下文中。

1. 抗CD3結合結構域：

【0193】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體包括抗CD3結合結構域之一或多個拷貝。本揭示內容之抗CD3結合結構域經由T細胞上CD3ε之接合活化T細胞。本揭示內容之抗CD3結合結構域激動、刺激、活化及/或以其他方式增大CD3介導之T細胞活化。CD3之生物活性包括例如經由CD3與T細胞受體(TCR)之抗原結合亞單位之間之相互作用的T細胞活化及其他信號傳導。舉例而言，本揭示內容之抗CD3結合結構域經由T細胞上之CD3ε之接合藉由調節、例如激動、刺激、活化或以其他方式增大CD3介導之T細胞活化完全或部分活化T細胞。

【0194】 在較佳實施例中，本揭示內容之抗CD3結合結構域特異性結合CD3之ε鏈，亦稱為CD3ε。本揭示內容之抗CD3ε結合結構域經由T細胞上之CD3ε之接合活化T細胞。本揭示內容之抗CD3ε結合結構域包括單株抗體，例如哺乳動物單株抗體、靈長類動物單株抗體、完全人類單株抗

體、以及人類化單株抗體及嵌合抗體，以及其抗原結合片段。在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括抗體或其抗原結合片段之一或多個拷貝。

【0195】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段的一或多個拷貝：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，抗CD3結合結構域包括結合CD3ε之Fv抗體片段(本文中稱作抗CD3ε Fv片段)。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段係經雙硫鍵穩定之抗CD3結合Fv片段(dsFv)。在一些實施例中，抗CD3結合結構域單價結合CD3。

【0196】在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域包含含有SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之可變重鏈(Hv)。在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包含含有SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。在一些實施例中，其抗CD3 ε 結合結構域包含含有SEQ ID NO: 14之胺基酸序列之可變重鏈(Hv)及包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。在一些實施例中，其抗CD3 ε 結合結構域包含含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之可變重鏈(Hv)。在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包含含有SEQ ID NO: 72之胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。在一些實施例中，其抗CD3 ε 結合結構域包含含有SEQ ID NO: 44之胺基酸序列之可變重鏈(Hv)及包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。在一些實施例中，其抗CD3 ε 結合結構域包含含有選自SEQ ID NO: 32-81之群之胺基酸序列之重鏈可變區胺基酸序列與輕鏈可變區胺基酸序列的組合。在一些實施例中，其抗CD3 ε 結合結構域包括選自SEQ ID NO: 32-62之群之重鏈可變區胺基酸序列及包含選自SEQ ID NO: 63-81之群之胺基酸序列之輕鏈可變區胺基

酸序列的組合。

【0197】在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域包含含有與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變重鏈(Hv)。在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包含含有與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域包含含有與SEQ ID NO: 14之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變重鏈(Hv)及包含與SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。

【0198】在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域包含含有與SEQ ID NO: 44之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變重鏈(Hv)。在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包含含有與SEQ ID NO: 72之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域包含含有與SEQ ID NO: 44之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變重鏈(Hv)及包含與SEQ ID NO: 72之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之可變輕鏈(Lv)。

【0199】在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括選自SEQ ID NO: 32-81之群之胺基酸序列。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括與選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括選自SEQ ID NO: 32-62之群之胺基酸序列及選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，抗CD3ε Fv抗體片段包括與選自由SEQ ID NO: 32-62組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列及與選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之胺基酸序列的組合。

【0200】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括VH CDR1序列、VH CDR2序列及VH CDR3序列之組合，其中VH CDR1序列、VH CDR2序列及VH CDR3序列中之至少一者選自至少包括胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)之VH CDR1序列；至少包括胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)之VH CD2序列；及至少包括胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)之VH CDR3序列。

【0201】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括VL CDR1序列、VL CDR2序列及VL CDR3序列之組合，其中VL CDR1序列、VL CDR2序列及VL CDR3序列中之至少一者選自至少包括胺基酸序列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)之VL CDR1序列；至少包括胺基

酸序列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)之VL CDR2序列；及至少包括胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)之VL CDR3序列。

【0202】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括至少包括胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)之VH CDR1序列；至少包括胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)之VH CD2序列；至少包括胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)之VH CDR3序列、至少包括胺基酸序列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)之VL CDR1序列；至少包括胺基酸序列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)之VL CDR2序列；及至少包括胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)之VL CDR3序列。

【0203】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括VH CDR1序列、VH CDR2序列及VH CDR3序列之組合，其中VH CDR1序列、VH CDR2序列及VH CDR3序列中之至少一者選自包括與胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的序列之VH CDR1序列；包括與胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的序列之VH CD2序列；及包括與胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的序列之VH CDR3序列。

【0204】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括VL CDR1序列、VL CDR2序列及VL CDR3序列之組合，其中VL CDR1序列、VL CDR2序列及VL CDR3序列中之至少一者選自包括與胺基酸序列

RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的序列之VL CDR1序列；包括與胺基酸序列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的序列之VL CDR2序列；及包括與胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的序列之VL CDR3序列。

【0205】在一些實施例中，抗CD3ε結合結構域包括與胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之VH CDR1序列；與胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之VH CD2序列；與胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之VH CDR3序列、與胺基酸序列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之VL CDR1序列；與胺基酸序列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之VL CDR2序列；及與胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性之VL CDR3序列。

【0206】在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域係包括重鏈可變

胺基酸序列及輕鏈可變胺基酸序列之組合之Fv片段。在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域係Fv片段，其包含含有與選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序之重鏈可變胺基酸序列與輕鏈可變胺基酸序列之組合。在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域係Fv片段，其包含含有選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列之重鏈可變胺基酸序列與輕鏈可變胺基酸序列的組合。在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域係Fv片段，其包括選自SEQ ID NO: 32-62之群之重鏈可變胺基酸序列與選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，其抗CD3ε結合結構域係Fv片段，其包括與選自由SEQ ID NO: 32-62組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的重鏈可變胺基酸序列及與選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高一致性的胺基酸序列之組合。

2. 免疫球蛋白Fc多肽：

【0207】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體之第一組分包括免疫球蛋白Fc區。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係選自由IgG1同型、IgG2同型、IgG3同型及IgG4亞類組成之群之IgG同型。在一些實施例中，Fc區係人類Fc。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區係包含選自由SEQ ID NO: 1-6組成之群之胺基酸序列之多肽。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區含有為SEQ ID NO: 1-6中之任一者之免疫活性片段的Fc鏈。在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區含有與SEQ ID NO: 1-6中之任一者之

胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的Fc多肽鏈或其免疫活性片段。

【0208】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體係由各自含有Fc之多肽形成之二聚體。在一些具體實施例中，相同或實質上相同之多肽將二聚化以產生同二聚體。在一些實施例中，二聚體係其中多重特異性多肽構築體之兩條多肽相同之同二聚體。在其他情形下，Fc區係由Fc結構域形成，該等Fc結構域經突變或經修飾以促進異二聚化，其中不同多肽可二聚化以產生異二聚體。因此，在一些實施例中，二聚體係其中多重特異性多肽構築體之兩條多肽鏈不同之異二聚體。已知用以促進異二聚化之實例性修飾，包括如下文所述之任一者。

【0209】 一般而言，除抗原結合能力(其係免疫球蛋白之主要功能)外，Fc區亦負責效應物功能，例如補體依賴性細胞毒性(CDC)及抗體依賴性細胞細胞毒性(ADCC)。另外，Fc區中存在之FcRn序列藉由通過偶合至活體內FcRn受體延長活體內半衰期起調控IgG含量之作用。在一些實施例中，在使用所提供多重特異性多肽構築體之Fc區，該等功能可改變，例如降低或增強。

【0210】 在一些實施例中，所提供多重特異性多肽構築體之Fc區展現一或多種效應物功能。在一些情形下，Fc區能提供Fc介導之效應物功能，例如ADCC（例如由NK細胞釋放顆粒酶B)、ADCP及/或CDC。因此，在其中多重特異性多肽構築體含有可裂解連接體之一些實施例中，連接體之裂解可產生兩種各自具有生物活性之組分：能夠結合並接合T細胞上之CD3的CD3結合區，以及連接至可展現靶標特異性效應物功能之

TAA-抗原結合結構域的Fc區。

【0211】 在一些實施例中，Fc區包括經突變或經修飾以改變一或多種效應物功能之Fc多肽。已知突變成Fc多肽以改變(例如降低)效應物功能之各種實例，包括如下文所述之任一者。在一些實施例中，除非參照特定SEQ ID NO闡述，否則在提及Fc區中之胺基酸取代時係由Kabat之EU編號(亦稱作Kabat編號)。EU編號係已知的且係根據最近更新之IMGT Scientific Chart (IMGT®, the international ImMunoGeneTics information system®, http://www.imgt.org/IMGTScientificChart/Numbering/Hu_IGHGnber.html (創建日期：2001年5月17日，最後更新日期：2013年1月10日)及如以下中所報告之EU索引：Kabat, E.A.等人 Sequences of Proteins of Immunological interest. 第5版，US Department of Health and Human Services, NIH公開案第91-3242號(1991)。

【0212】 在一些實施例中，含有展現降低之效應物功能之Fc區之所提供多重特異性多肽構築體可為其中期望經受限CD3結合但某些效應物功能(例如CDC及ADCC)係非必需或有害的應用之合意的候選者。可實施活體外及/或活體內細胞毒性分析來確認CDC及/或ADCC活性之降低/消耗。舉例而言，可實施Fc受體(FcR)結合分析以確保多重特異性多肽構築體及/或其裂解之組分無Fc γ R結合(因此可能無ADCC活性)，但保留FcRn結合能力。用於介導ADCC之原代細胞(NK細胞)僅表現Fc γ RIII，而單核球表現Fc γ RI、Fc γ RII及Fc γ RIII。評估所關注分子之ADCC活性之活體外分析的非限制性實例闡述於以下中：美國專利第5,500,362號(例如，參見Hellstrom, I.等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986))及Hellstrom, I等人，*Proc.Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；美

國專利第5,821,337號(參見Bruggemann, M.等人，*J. Exp. Med.* 166:1351-1361 (1987))。或者，可採用非放射性分析方法(例如參見用於流式細胞術之ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, Calif.)及CytoTox 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, Wis.))。可用於該等分析之效應細胞包括末梢血單核細胞(PBMC)及自然殺傷(NK)細胞。或者或另外，可在活體內(例如)在諸如Clynes等人，*Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)中所揭示者等動物模型中評價所關注分子之ADCC活性。亦可實施C1q結合分析來確認多重特異性多肽構築體及/或其裂解之組分不能結合C1q且因此無CDC活性。例如，參見WO 2006/029879及WO 2005/100402中之C1q及C3c結合ELISA。為評價補體活化，可實施CDC分析(例如，參見Gazzano-Santoro等人，*J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M. S.等人，*Blood* 101:1045-1052 (2003)；及Cragg, M. S.及M. J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004))。亦可使用業內已知之方法來實施FcRn結合及活體內清除率/半衰期測定(例如，參見Petkova, S. B.等人，*Int'l. Immunol.* 18(12): 1759-1769 (2006))。

【0213】在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區或其免疫活性片段係IgG同型。舉例而言，融合蛋白之免疫球蛋白Fc區屬人類IgG1同型，其具有以下胺基酸序列：

PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN

NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 1)。

【0214】在一些實施例中，免疫球蛋白Fc區或其免疫活性片段包含與SEQ ID NO: 1之胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的人類IgG1多肽序列。

【0215】在一些實施例中，人類IgG1 Fc區經修飾以改變抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及/或**補體依賴性細胞毒性**(CDC)，例如，以下中所述之胺基酸修飾：Natsume等人，2008 Cancer Res, 68(10): 3863-72；Idusogie等人，2001 J Immunol, 166(4): 2571-5；Moore等人，2010 mAbs, 2(2): 181-189；Lazar等人，2006 PNAS, 103(11): 4005-4010, Shields等人，2001 JBC, 276(9): 6591-6604；Stavenhagen等人，2007 Cancer Res, 67(18): 8882-8890；Stavenhagen等人，2008 Advan. Enzyme Regul., 48: 152-164；Alegre等人，1992 J Immunol, 148: 3461-3468；參閱Kaneko及Niwa, 2011 Biodrugs, 25(1):1-11，其全部內容以引用方式併入本文中。

【0216】在一些實施例中，Fc區(例如人類IgG1 Fc區)經修飾以增強ADCC活性或CDC活性。增強ADCC之突變之實例包括Ser239及Ile332之修飾，例如Ser239Asp及Ile332Glu (S239D, I332E)。增強CDC之突變之實例包括Lys326及Glu333之修飾。在一些實施例中，Fc區在使用Kabat編號系統之該等位置之一者或二者處經修飾，例如Lys326Ala及/或Glu333Ala (K326A及E333A)。

【0217】在一些實施例中，本發明之人類IgG1 Fc區融合蛋白無或

具有減少之在N297附接至N-連接之聚醣鏈的岩藻糖。存在多種方式來防止岩藻糖基化，包括(但不限於)在FUT8缺陷型細胞系中產生；向哺乳動物細胞培養基中添加抑制劑，例如澳粟精胺(Castanospermine)；及產生細胞系之代謝改造。在一些實施例中，人類IgG1 Fc區在胺基酸Asn297(加框，Kabat編號)經修飾以防止融合蛋白之醣基化，例如Asn297Ala (N297A)或Asn297Asp (N297D)。

【0218】 在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在以下位置中之一或多者經改變以降低Fc受體結合：Leu 234 (L234)、Leu235 (L235)、Asp265 (D265)、Asp270 (D270)、Ser298 (S298)、Asn297 (N297)、Asn325 (N325)或Ala327 (A327)。舉例而言，Leu 234Ala (L234A)、Leu235Ala (L235A)、Asp265Asn (D265N)、Asp270Asn (D270N)、Ser298Asn (S298N)、Asn297Ala (N297A)、Asn325Glu (N325E)或Ala327Ser (A327S)。在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在胺基酸Leu235 (在上述SEQ ID NO:1中加框，Kabat編號)經修飾以改變Fc受體相互作用，例如Leu235Glu (L235E)或Leu235Ala (L235A)。在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在胺基酸Leu234 (在上述SEQ ID NO:1中加框，Kabat編號)經修飾以改變Fc受體相互作用，例如Leu234Ala (L234A)。在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在胺基酸234及235二者經改變，例如Leu234Ala及Leu235Ala (L234A/L235A)或Leu234Val及Leu235Ala (L234V/L235A)。在較佳實施例中，Fc區內之修飾降低與Fc-受體-γ受體之結合，同時對與新生Fc受體(FcRn)之結合具有最小影響。

【0219】 在一些實施例中，人類IgG Fc區經修飾以增強FcRn結合。增強與FcRn之結合之Fc突變的實例係Met252Tyr, Ser254Thr, Thr256Glu

(分別M252Y, S254T, T256E) (Kabat編號，Dall'Acqua等人，2006, *J. Biol Chem* Vol. 281(33) 23514-23524), Met428Leu 及 Asn434Ser (M428L, N434S) (Zalevsky等人，2010 *Nature Biotech*，第28(2)卷，157-159) (*Kabat* 等人1991 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*之EU索引)。在一些實施例中，突變或修飾之Fc多肽包括以下突變：使用Kabat編號系統，Met252Tyr及Met428Leu或Met252Tyr及Met428Val (M252Y、M428L或M252Y、M428V)。

【0220】在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在以下位置中之一或多者無胺基酸以降低Fc受體結合：Glu233 (E233)、Leu234 (L234)或Leu235 (L235)。在該等實施例中，該三個胺基酸之Fc缺失降低補體蛋白C1q結合。

【0221】PAPGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK (SEQ ID NO: 2)

【0222】在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在Gly236 (在上述SEQ ID NO:1中加框)經改變以降低Fc受體結合。舉例而言，其中自融合蛋白缺失Gly236。在一些實施例中，人類IgG1 Fc區在胺基酸Gly236經修飾以增強與CD32A之相互作用，例如Gly236Ala (G236A)。

【0223】在一些實施例中，人類IgG1 Fc區無Lys447 (*Kabat*等人1991 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*之EU索引)。

【0224】在一些實施例中，融合或其免疫活性片段包含與SEQ ID NO: 2之胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的人類IgG2多肽序列。

【0225】在一些實施例中，融合蛋白之免疫球蛋白Fc區或免疫活性片段屬人類IgG2同型，其具有以下胺基酸序列：

PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE WESNGQPENN YKTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK (SEQ ID NO: 3)

【0226】在一些實施例中，融合或其免疫活性片段包含與SEQ ID NO: 3之胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的人類IgG2多肽序列。

【0227】在一些實施例中，人類IgG2 Fc區在胺基酸Asn297 (加框)經修飾以防止抗體之醣基化，例如Asn297Ala (N297A)或Asn297Asp (N297D)。在一些實施例中，人類IgG2 Fc區無Lys447 (*Kabat*等人1991 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*之EU索引)。

【0228】在一些實施例中，融合蛋白之免疫球蛋白Fc區或免疫活性片段屬人類IgG3同型，其具有以下胺基酸序列：

PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE

DPEVQFKWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST FRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKT KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESSGQPEN NYNTTPPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNIFSCSVMH EALHNRFTQK SLSLSPGK (SEQ ID NO: 4)

【0229】在一些實施例中，抗體或其免疫活性片段包含與SEQ ID NO: 4之胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的人類IgG3多肽序列。

【0230】在一些實施例中，人類IgG3 Fc區在胺基酸Asn297 (加框，Kabat編號)經修飾以防止抗體之醣基化，例如Asn297Ala (N297A)或Asn297Asp (N297D)。在一些實施例中，人類IgG3 Fc區在胺基酸435經修飾以延長半衰期，例如Arg435His (R435H)。在一些實施例中，人類IgG3 Fc區無Lys447 (*Kabat* 等人 1991 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*之EU索引)。

【0231】在一些實施例中，融合蛋白之免疫球蛋白Fc區或免疫活性片段屬人類IgG4同型，其具有以下胺基酸序列：

PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 5)

【0232】在一些實施例中，抗體或其免疫活性片段包含與SEQ ID NO: 5之胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的人類IgG4多肽序列。

【0233】在一些實施例中，融合蛋白之免疫球蛋白Fc區或免疫活性片段屬人類IgG4同型，其具有以下胺基酸序列：

PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK (SEQ ID NO: 6)

【0234】在一些實施例中，抗體或其免疫活性片段包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列至少50%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的人類IgG4多肽序列。

【0235】在其他實施例中，人類IgG4 Fc區在胺基酸235經修飾以改變Fc受體相互作用，例如Leu235Glu (L235E)。在一些實施例中，人類IgG4 Fc區在胺基酸Asn297 (加框，Kabat編號)經修飾以防止抗體之醣基化，例如Asn297Ala (N297A)或Asn297Asp (N297D)。在一些實施例中，人類IgG4 Fc區無Lys447 (*Kabat*等人1991 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*之EU索引)。

【0236】在一些實施例中，在CH3:CH3界面藉由引入兩個雙硫鍵藉

由將Ser354變為Cys (S354C)及將Tyr349變為Cys (Y349C) (S354C/Y349C)修飾人類IgG Fc區以穩定同二聚化。

【0237】在一些實施例中，人類IgG Fc區經修飾以誘導異二聚化。已知用於促進互補Fc多肽之異二聚化之各種方法，例如參見Ridgway等人，Protein Eng. 9:617-621 (1996)；Merchant等人，Nat. Biotechnol. 16(7): 677-81 (1998)；Moore等人 (2011) MAbs, 3:546-57；Von Kreudenstein等人 MAbs, (2013) 5:646-54；Gunasekaran等人(2010) J. Biol. Chem., 285:19637-46; Leaver-Fay等人 (2016) Structure, 24:641-51；Ha等人 (2016) Frontiers in Immunology, 7:1；Davis等人 (2010) Protein Eng Des Sel, 23:195-202；公開之國際PCT申請案第WO 1998/050431號、第WO 2009/089004號、第WO2011143545號、第WO 2014/067011號、第WO 2012/058768號、第WO2018027025號；公開之美國專利申請案第US20140363426號、第US20150307628號、第US20180016354號、第US20150239991號；及美國專利第US5731168號、第US7183076號、第US9701759號、第US9605084號及第US9650446號。用以促進Fc鏈之異二聚化之方法包括誘變Fc區，例如藉由包括一組「杵臼結構」突變或包括突變以實現Fc之靜電操縱以有利於不同多肽鏈間的吸引相互作用。舉例而言，在一些實施例中，異二聚體之Fc多肽包括突變以改變跨越Fc二聚體界面之電荷極性，使得靜電匹配之Fc鏈之共表現支持有利之吸引相互作用，藉此促進期望Fc異二聚體形成，而不利之排斥性電荷相互作用抑制不期望之Fc同二聚體形成(Guneskaran等人 (2010) JBC, 285: 19637-19646)。當在細胞中共表現時，鏈間之締合係可能的，但由於電荷排斥，該等鏈實質上不自我締合。用於生成異二聚

體Fc之其他策略包括混合人類IgG及IgA CH3結構域區段以產生互補CH3異二聚體，其稱為SEED Fc。

【0238】 在一些實施例中，為了促進異二聚化，Fc異二聚體之兩種多肽皆含有成對或互補之胺基酸修飾。Fc融合物之多肽之實例性成對胺基酸修飾闡述於表1中。

表1：異二聚體Fc之成對胺基酸	
第一Fc多肽	**第二Fc多肽**
T366W	T366S/L368W/Y407V
T366W/S354C	T366S/L368A/Y407V/Y349C
S364H/F405A	Y349T/Y349F
T350V/L351Y/F405A/Y407V	T350V/T366L/K392L/T394W
K360D/D399M/Y407A	E345R/Q347R/T366V/K409V
K409D/K392D	D399K/E356K
K360E/K409W	Q347R/D399V/F405T
L360E/K409W/Y349C	Q347R/399V/F405T/S354C
K370E/K409W	E357N/D399V/F405T

【0239】 在一些實施例中，修飾包括將突起(杵)引入第一Fc多肽中和將空腔(臼)引入第二Fc多肽中，使得突起位於空腔中以促進第一及第二含Fc之多肽的複合。靶向置換及/或修飾以在多肽中產生突起或空腔之胺基酸通常係與第二多肽之界面中之一或多個胺基酸相互作用或接觸的界面胺基酸。

【0240】 在一些實施例中，經修飾以含有突起(臼)胺基酸之第一Fc多肽包括用具有至少一條側鏈之胺基酸置換天然或原始胺基酸，該側鏈自第一Fc多肽之界面突出且因此可定位在第二多肽之毗鄰界面中之互補空腔(臼)中。最經常地，置換胺基酸係具有比原始胺基殘基大之側鏈體積者。熟習此項技術者知道如何確定及/或評價胺基酸殘基之性質，以鑑別作為

理想置換胺基酸以產生突起之彼等。在一些實施例中，用於形成突起之置換殘基係天然胺基酸殘基且包括(例如)精胺酸(R)、苯丙胺酸(F)、酪胺酸(Y)或色胺酸(W)。在一些實例中，鑑別用於置換之原始殘基係具有小的側鏈之胺基酸殘基，例如丙胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸或纈胺酸。

【0241】 在一些實施例中，經修飾以含有空腔(臼)之第二Fc多肽係包括用具有至少一條側鏈之胺基酸置換天然或原始胺基酸者，該側鏈自第二多肽之界面凹陷且因此能夠容納來自第一多肽之界面之相應突起。最經常地，置換胺基酸係具有比原始胺基殘基小之側鏈體積者。熟習此項技術者知道如何確定及/或評價胺基酸殘基之性質，以鑑別用於形成空腔之理想置換胺基酸之彼等。通常，用於形成空腔之置換殘基係天然胺基酸殘基且包括(例如)丙胺酸(A)、絲胺酸(S)、蘇胺酸(T)及纈胺酸(V)。在一些實例中，鑑別用於置換之原始胺基酸係具有大的側鏈之胺基酸，例如酪胺酸、精胺酸、苯丙胺酸或色胺酸。

【0242】 人類IgG1之CH3界面(例如)包括每一結構域上之16個殘基，該結構域位於四條反向平行β鏈上且距每一表面包埋1090 Å2 (例如，參見Deisenhofer等人(1981) Biochemistry, 20:2361-2370；Miller等人，(1990) J Mol. Biol., 216, 965-973；Ridgway等人，(1996) Prot. Engin., 9: 617-621；美國專利第5,731,168號)。用以產生突起或空腔之CH3結構域之修飾闡述於(例如)美國專利第5,731,168號；國際專利申請案WO98/50431及WO 2005/063816號；及Ridgway等人，(1996) Prot. Engin., 9: 617-621中。在一些實例中，用以產生突起或空腔之CH3結構域之修飾通常靶向位於兩條中央反向平行β鏈上之殘基。目的係最小化產

生之突起可藉由伸入周圍溶劑中容納而非由配偶體CH3結構域中之互補空腔容納之風險。

【0243】 舉例而言，在一些實施例中，異二聚體Fc包括CH3結構域內在Thr366處具有胺基酸修飾之多肽，當用較大胺基酸(例如Try (T366W))置換時，其優先與在位置Thr366、Leu368及Tyr407具有較小胺基酸之胺基酸修飾(例如分別Ser、Ala及Val (T366S/L368A/Y407V))之第二CH3結構域配對。可藉由引入雙硫鍵、例如藉由在相對之CH3結構域上將Ser354變為Cys (S354C)並將Tyr349變為Cys (Y349C)進一步穩定經由CH3修飾之異二聚化(參閱Carter, 2001 Journal of Immunological Methods, 248: 7-15)。

【0244】 可藉由任何適宜方法、例如藉由在蛋白質A或蛋白質G管柱上親和層析純化所得多重特異性多肽構築體。若編碼不同多肽之兩個核酸分子轉變至細胞中，則會形成同二聚體及異二聚體。可調整表現之條件，以使異二聚體形成比同二聚體形成更受青睞。

【0245】 已知基於異二聚體對親和性試劑之差別親和性自同二聚體回收異二聚體的技術。在一些態樣中，該等技術包括設計異二聚體，以使其中Fc多肽鏈中之一者不與親和性試劑蛋白A結合。在一些情形下，多肽鏈中之一者可含有一或多個胺基酸取代以消除或降低Fc異二聚體之多肽中之一者中對蛋白質A試劑之親和性，參見例如WO2017134440、WO2010151792、Jendeberg等人 (Jendeberg等人，(1997) J. Immunol. Methods, 201(1): 25-34。在該等實施例中之一些中，Fc區可在異二聚體之一個成員上之蛋白質-A結合位點經修飾，以便防止蛋白質-A結合且藉此更有效地純化異二聚體融合蛋白。此結合位點內之實例性修飾係

Ile253，例如Ile253Arg (I253R)。在一些實施例中，修飾可為H435R或H435R/Y436F。在一些實施例中，Fc異二聚體之Fc多肽可含有修飾以使其能結合蛋白質A而非蛋白質G (pA+/pG-)。實例性pA+/pG-胺基酸修飾包括在位置428含有絲胺酸、在位置434含有絲胺酸及視情況在位置436含有組胺酸之Fc，參照人類IgG1或在人類IgG 2、3、或4之相應位置包含該等殘基。在一些態樣中，在位置428、434及視情況436之一個IgG Fc多肽中之該等胺基酸修飾減少或防止蛋白G之結合，從而增強蛋白之純化。

【0246】 在一些實施例中，賦予親和性試劑差異親和性之任何該等修飾可與上述任一或多種其他胺基酸修飾組合。舉例而言，I253R修飾可與T366S/L368A/Y407V修飾或T366W修飾組合。T366S/L368A/Y407V修飾之Fc能形成同二聚體，此乃因無二聚化界面之空間封閉，如同在T336W修飾之Fc之情形下。。因此，在一些實施例中，I253R修飾與T366S/L368A/Y407V修飾之Fc組合以不允許純化任何可能形成之同二聚體Fc。可藉由組合T366S/L368A/Y407V及H453R利用相似修飾。

【0247】 在一些實施例中，異二聚體分子之Fc區另外可含有一或多個其他Fc突變，例如上文所述中之任一者。在一些實施例中，異二聚體分子含有具有降低效應物功能之突變之Fc區。

【0248】 在一些實施例中，異二聚體Fc之一個Fc多肽包含SEQ ID NO:82、86、94或96中之任一者中所述之胺基酸序列，且異二聚體Fc之另一Fc多肽含有SEQ ID NO:83、87、90、92、98或100中之任一者中所述之胺基酸序列。在一些實施例中，異二聚體Fc之一個Fc多肽包含SEQ ID NO: 84、88、95或97中之任一者中所述之胺基酸序列且異二聚體Fc之另一Fc多肽包含SEQ ID NO: 85、89、93、99或100中之任一者中所述之

胺基酸序列。

【0249】 在一些實施例中，人類IgG Fc區經修飾以防止二聚化。在該等實施例中，本發明之融合蛋白係單體的。舉例而言，在殘基Thr366修飾成帶電殘基(例如Thr366Lys、Thr366Arg、Thr366Asp或Thr366Glu(分別T366K、T366R、T366D或T366E))會防止CH3-CH3二聚化。

【0250】 在一些實施例中，融合蛋白之Fc區在以下位置中之一或多者經改變以降低Fc受體結合：Leu 234 (L234)、Leu235 (L235)、Asp265 (D265)、Asp270 (D270)、Ser298 (S298)、Asn297 (N297)、Asn325 (N325)或Ala327 (A327)。舉例而言，Leu 234Ala (L234A)、Leu235Ala (L235A)、Asp265Asn (D265N)、Asp270Asn (D270N)、Ser298Asn (S298N)、Asn297Ala (N297A)、Asn325Glu (N325E) 或 Ala327Ser (A327S)。在較佳實施例中，Fc區內之修飾降低與Fc-受體-γ受體之結合，同時對與新生Fc受體(FcRn)之結合具有最小影響。

【0251】 在一些實施例中，融合蛋白含有源自免疫球蛋白鉸鏈區之多肽。鉸鏈區可選自人類IgG亞類中之任一者。舉例而言，融合蛋白可含有具有EPKSSDKTHTCPPC (SEQ ID NO: 7)之序列之經修飾之IgG1鉸鏈，其中在與輕鏈之C-末端半胱胺酸形成二硫化物之Cys220中，突變成絲胺酸，例如Cys220Ser (C220S)。在其他實施例中，融合蛋白含有具有序列DKTHTCPPC (SEQ ID NO: 8)之截短之鉸鏈。

【0252】 在一些實施例中，融合蛋白具有來自IgG4之修飾之鉸鏈，其經修飾以防止或減少鏈改變，例如Ser228Pro (S228P)，具有序列ESKYGPPCPPC (SEQ ID NO: 9)。在一些實施例中，融合蛋白含有連接體多肽。在其他實施例中，融合蛋白含有連接體及鉸鏈多肽。

3. 連接體：

【0253】 所提供多重特異性多肽構築體含有連接體，其聯接或偶合含有免疫球蛋白Fc區之第一組分及含有CD3結合區之第二組分。在一些實施例中，連接體位於Fc區之C-末端區之末端，使得Fc區在CD3結合區之N-末端。由於所提供多重特異性多肽構築體係多聚體(例如二聚體)，故所提供構築體包括聯接第一Fc多肽與第一多肽之CD3結合區之第一結構域(例如VH)以及第二Fc多肽與第二多肽之CD3結合區之第二結構域(例如VL)的連接體。通常，多重特異性多肽構築體之第一及第二多肽中存在之連接體相同。因此，在一些實施例中，CD3結合結構域之每一結構域經由連接體(例如相同連接體)連接至Fc (例如異二聚體Fc)之相反多肽。

【0254】 已知用於融合蛋白中之各種多肽連接體(例如，參見Chen等人 (2013) Adv. Drug. Deliv. 65:1357-1369；及國際PCT公開案第WO 2014/099997號、第WO2000/24884號；美國專利第5,258,498號；美國專利第5,525,491號；美國專利第5,525,491號、美國專利第6,132,992號)。

【0255】 在一些實施例中，選擇連接體，使得當CD3結合區聯接至多重特異性多肽偶聯物之Fc區時，CD3結合區受限，且在多重特異性多肽構築體與細胞接觸時，不能或實質上不能結合或接合細胞(例如T細胞)表面上之CD3。可採用各種分析來評價CD3由多重特異性多肽構築體之結合或接合，包括用以評價T細胞結合、使用報導基因系統之NFAT活化、細胞溶解性T細胞活性、細胞介素產生及/或T細胞活化標記物之表現的分析。實例性分析示於所提供實例中。通常，連接體亦係確保多肽構築體正確摺疊者，不展現將與連接之多肽之活性或功能不一致的電荷或不與一或多個結構域中之胺基酸殘基形成鍵或其他相互作用，其可阻礙或或改變連

接多肽之活性。在一些實施例中，連接體係多肽連接體。多肽連接體可為撓性連接體或剛性連接體或二者之組合。在一些態樣中，連接體係短的、中等或長的連接體。在一些實施例中，連接體係最多40個胺基酸長。在一些實施例中，連接體係最多25個胺基酸長。在一些實施例中，連接體係至少或係至少約2個胺基酸長。在一些態樣中，適宜長度係(例如)至少一個且通常少於約40個胺基酸殘基(例如2-25個胺基酸殘基、5-20個胺基酸殘基、5-15個胺基酸殘基、8-12個胺基酸)長。在一些實施例中，連接體係約2至24個胺基酸、2至20個胺基酸、2至18個胺基酸、2至14個胺基酸、2至12個胺基酸、2至10個胺基酸、2至8個胺基酸、2至6個胺基酸、6至24個胺基酸、6至20個胺基酸、6至18個胺基酸、6至14個胺基酸、6至12個胺基酸、6至10個胺基酸、6至8個胺基酸、8至24個胺基酸、8至20個胺基酸、8至18個胺基酸、8至14個胺基酸、8至12個胺基酸、8至10個胺基酸、10至24個胺基酸、10至20個胺基酸、10至18個胺基酸、10至14個胺基酸、10至12個胺基酸、12至24個胺基酸、12至20個胺基酸、12至18個胺基酸、12至14個胺基酸、14至24個胺基酸、14至20個胺基酸、14至18個胺基酸、18至24個胺基酸、18至20個胺基酸或20至24個胺基酸。在一些實施例中，連接體係2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸長。

【0256】 在某些態樣中，連接體長度愈長，則在多重特異性多肽偶聯物結合至其抗原(例如TAA)時之CD3結合愈大。因此，在一些態樣中，連接體之長度大於12個胺基酸，例如長度大於13、14、15、16、17或18個胺基酸。在一些實施例中，連接體之長度係12至40個胺基酸、12至30個胺基酸、12至24個胺基酸、12至18個胺基酸、12至15個胺基酸、15至

40個胺基酸、15至30個胺基酸、15至24個胺基酸、15至18個胺基酸、18至40個胺基酸、18至30個胺基酸、18至24個胺基酸、24至40個胺基酸、24至30個胺基酸或30至40個胺基酸。

【0257】 連接體可為天然的、合成的或二者之組合。尤其適宜之連接體多肽主要包括選自甘胺酸(Gly)、絲胺酸(Ser)、丙胺酸(Ala)及蘇胺酸(Thr)之胺基酸殘基。舉例而言，連接體可含有至少75% (基於肽連接體中存在之殘基之總數計算)、例如至少80%、至少85%或至少90%選自Gly、Ser、Ala及Thr之胺基酸殘基。連接體亦可僅由Gly、Ser、Ala及/或Thr殘基組成。在一些實施例中，連接體含有1-25個甘胺酸殘基、5-20個甘胺酸殘基、5-15個甘胺酸殘基或8-12個甘胺酸殘基。在一些態樣中，適宜肽連接體通常含有至少50%甘胺酸殘基，例如至少75%甘胺酸殘基。在一些實施例中，肽連接體僅包含甘胺酸殘基。在一些實施例中，肽連接體僅包含甘胺酸及絲胺酸殘基。

【0258】 在一些實施例中，該等連接體主要由胺基酸甘胺酸及絲胺酸構成，本文中表示為GS-連接體。在一些實施例中，連接體含有(GGS)n，其中n係1至10，例如1至5，例如1至3，例如GGS(GGS)n (SEQ ID NO:171)，其中n係0至10。在特定實施例中，連接體含有序列(GGGGS)n (SEQ ID NO: 173)，其中n係1至10或n係1至5，例如1至3。在其他實施例中，連接體含有(GGGGGS)n (SEQ ID NO:172)，其中n係1至4，例如1至3。連接體可包括上述中任一者之組合，例如可組合2、3、4或5個GS、GGS、GGGGS及/或GGGGGS連接體之重複。在一些實施例中，該連接體係2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18或19個胺基酸長。

【0259】在一些實施例中，連接體係(以單字母胺基酸代碼)：GGS、GGGGS (SEQ ID NO: 149)或GGGGGS (SEQ ID NO: 135)。在一些實施例中，GS-連接體包含以下之胺基酸序列：GGSGGS，亦即$(GGS)_2$ (SEQ ID NO: 10)；GGSGGSGGS，亦即$(GGS)_3$ (SEQ ID NO: 11)；GGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_4$ (SEQ ID NO: 12)；GGSGGSGGSGGSGGS，亦即$(GGS)_5$ (SEQ ID NO: 13)；GGGGGSGGGGGSGGGGGS，亦即$(G5S)_3$ (SEQ ID NO: 119)；GGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 147)及GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:170)。在一些實施例中，連接體係GGGG (SEQ ID NO:103)。在任何上述實例中之一些中，絲胺酸可經丙胺酸(例如(Gly4Ala)或(Gly3Ala))置換。

【0260】在一些實施例中，連接體包括具有胺基酸序列Gly_xXaa-Gly_y-Xaa-Gly_z (SEQ ID NO:174)之肽連接體，其中各Xaa獨立地選自丙胺酸(Ala)、纈胺酸(Val)、白胺酸(Leu)、異白胺酸(Ile)、甲硫胺酸(Met)、苯丙胺酸(Phe)、色胺酸(Trp)、脯胺酸(Pro)、甘胺酸(Gly)、絲胺酸(Ser)、蘇胺酸(Thr)、半胱胺酸(Cys)、酪胺酸(Tyr)、天冬醯胺(Asn)、麩醯胺酸(Gln)、離胺酸(Lys)、精胺酸(Arg)、組胺酸(His)、天冬胺酸鹽(Asp)及麩胺酸鹽(Glu)，且其中x、y及z各自係1-5範圍內之整數。在一些實施例中，各Xaa獨立地選自由Ser、Ala及Thr組成之群。在具體變化形式中，x、y及z中之每一者等於3 (藉此產生具有胺基酸序列Gly-Gly-Gly-Xaa-Gly-Gly-Gly-Xaa-Gly-Gly-Gly (SEQ ID NO:175)之肽連接體，其中各Xaa係如上文所選擇。

【0261】在一些實施例中，連接體係基於(SSSSG)y (SEQ ID

NO:185)基序之重複之富含絲胺酸之連接體，其中y係至少1，但y可為2、3、4、5、6、7、8及9。

【0262】 在一些情形下，可期望向肽連接體中提供一些剛性。此可藉由在肽連接體之胺基酸序列中包括脯胺酸殘基來完成。因此，在一些實施例中，連接體包含肽連接體之胺基酸序列中之至少一個脯胺酸殘基。舉例而言，肽連接體可具有胺基酸序列，其中至少25% (例如至少50%或至少75%)之胺基酸殘基係脯胺酸殘基。在一個特定實施例中，肽連接體僅包含脯胺酸殘基。

【0263】 在一些態樣中，肽連接體包含至少一個半胱胺酸殘基，例如一個半胱胺酸殘基。舉例而言，在一些實施例中，連接體包含至少一個半胱胺酸殘基及選自由Gly、Ser、Ala及Thr組成之群之胺基酸殘基。在一些該等實施例中，連接體包含甘胺酸殘基及半胱胺酸殘基，例如僅甘胺酸殘基及半胱胺酸殘基。通常，每肽連接體將包括僅一個半胱胺酸殘基。包含半胱胺酸殘基之具體連接體之一個實例包括具有胺基酸序列Gly-Cys-Glyn之肽連接體，其中n及m各自係1-12、例如3-9、4-8或4-7之整數。在具體變化形式中，該肽連接體具有胺基酸序列GGGGG-C-GGGGG (SEQ ID NO:177)。

【0264】 在一些實施例中，融合蛋白之連接體係結構化或經受限連接體。在特定實施例中，結構化連接體含有序列(AP)n或(EAAAK)n (SEQ ID NO:178)，其中n係2至20，較佳4至10，包括但不限於AS-(AP)n-GT (SEQ ID NO:179)或AS-(EAAAK)n-GT (SEQ ID NO:180)，其中n係2至20，例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15。在其他實施例中，連接體包含序列(GGGGA)n (SEQ ID NO:181)、

(PGGGS)n (SEQ ID NO:182)、(AGGGS)n (SEQ ID NO:183)或GGS-(EGKSSGSGSESKST)n-GGS (SEQ ID NO:184，其中n係2至20。在一些實施例中，連接體係SSSASASSA (SEQ ID NO:186)、GSPGSPG (SEQ ID NO:187)或ATTTGSSPGPT (SEQ ID NO:176)。在一些實施例中，該等連接體由於其結構可對蛋白水解降解更具抗性，藉此在活體內注射時提供優點。

【0265】 在一些實施例中，連接體並非可裂解連接體，亦稱作不可裂解連接體。在一些實施例中，連接體不可由蛋白酶裂解。在一些實施例中，並非可裂解連接體或不可由蛋白酶裂解之連接體係通常對於活體內遞送或重組產生穩定者。在一些態樣中，不可由蛋白酶裂解之連接體包括不含至少一個肽鍵之彼等，該肽鍵較佳位於蛋白酶之可裂解肽序列或識別位點內。在特定實施例中，不可裂解連接體並非蛋白酶之靶受質，使得與含有相同蛋白酶之受質識別位點之連接體相比，其並不由蛋白酶優先或特異性裂解。

【0266】 在一些實施例中，連接體係可裂解連接體。在一些態樣中，可裂解連接體係包括作為蛋白酶之受質之序列的連接體，由於存在至少一個可在生理條件下斷裂之鍵。在一些情形下，可裂解連接體在活體內存在之特定條件下、例如在暴露於細胞外蛋白酶(包括細胞環境中活體內存在之彼等)後，易於裂解或對裂解敏感。在一些情形下，蛋白酶可存在於特定生理微環境、例如腫瘤微環境中，藉此限制裂解可能發生之位點。

【0267】 與另一非靶受質相比，蛋白酶通常展現對特定靶受質之裂解之特異性或優先性。該特異性之程度可基於序列(例如連接體)之裂解速率常數來測定，其係蛋白酶對其受質之優先性以及酶之效率的量度。用以

測定在不同濃度之受質存在下裂解隨時間增加之速率之任何方法皆可用於計算特異性常數。舉例而言，受質連接至螢光探針部分，其在由蛋白酶裂解時釋放。藉由測定不同蛋白酶濃度下之裂解速率，可測定特定蛋白酶對特定連接體之裂解特異性常數(k_{cat}/K_m)。在一些實施例中，可裂解連接體係能以約至少1×10^4 $M^{-1}S^{-1}$、或至少5×10^4 $M^{-1}S$、至少10×10^4 $M^{-1}S$、至少10×10^5 $M^{-1}S$或更大之速率由蛋白酶特異性裂解之連接體。

可裂解連接體

【0268】 在一些實施例中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體包括聯接第一及第二組分之可裂解連接體。在一些實施例中，可裂解連接體包括可用作蛋白酶、通常細胞外蛋白酶之受質之胺基酸序列。舉例而言，可裂解連接體可包含含有至少一個肽鍵之裂解序列，該肽鍵位於蛋白酶之可裂解肽序列內。適宜蛋白酶包括(例如)基質金屬蛋白酶(MMP)、半胱胺酸蛋白酶、絲胺酸蛋白酶及胞漿素活化劑，其在諸如類風濕性關節炎或癌症等疾病中以強化方式形成或活化，從而導致過度組織降解、發炎及轉移。在特定實施例中，蛋白酶係由腫瘤、活化免疫效應細胞(例如T細胞或NK細胞)或腫瘤微環境中之細胞產生之蛋白酶。在一些實施例中，蛋白酶係顆粒酶B、間質蛋白酶或MMP (例如MMP-2)。

【0269】 可裂解連接體可基於由靠近表現靶標之細胞之腫瘤產生及/或由與多重特異性多肽構築體之期望靶標共定位於組織中之腫瘤產生的蛋白酶來進行選擇。有文獻報導了在許多癌症(例如實體腫瘤)中具有已知受質之蛋白酶之含量增加。參見(例如) La Rocca等人，(2004) British J. of Cancer 90(7): 1414-1421。

【0270】 在一些實施例中，聯接多重特異性多肽構築體之第一及第

二組分之可裂解連接體可由免疫效應細胞所產生之蛋白酶裂解，該免疫效應細胞由該等組分中之一者活化。舉例而言，涵蓋效應物啟用或增強之IgG Fc區之多重特異性多肽構築體在與靶抗原接合時能引發ADCC。對ADCC至關重要的是自效應細胞(即NK細胞及細胞毒性T細胞)釋放顆粒酶B及穿孔蛋白。在釋放時，顆粒酶B以穿孔蛋白依賴性方式進入靶細胞，其中其介導細胞凋亡。重要的是，顆粒酶B在效應細胞與靶細胞之間之細胞外突觸內具有活性。在一些實施例中，聯接多重特異性多肽構築體之第一及第二組分之可裂解連接體可由顆粒酶B裂解。在由多重特異性多肽構築體之組分之一介導之效應細胞活化期間，釋放顆粒酶B。在一些實施例中，顆粒酶B及其他蛋白酶可由免疫效應細胞(包括活化T細胞或NK細胞)產生。在一些實施例中，在TAA由多重特異性多肽構築體結合時，藉由CD3接合之T細胞活化可釋放該等蛋白酶，其隨後可裂解特異性可裂解連接體，藉此增強或增加CD3結合分子接合CD3之活性。在一些實施例中，裂解可放大或增加在未裂解狀態下結合至TAA時由多重特異性構築體達成之活性。

【0271】 實例性受質包括但不限於可由以下酶或蛋白酶中之一或多者裂解之受質：ADAMS、ADAMTS，例如ADAM8；ADAM9；ADAM10；ADAM12；ADAM15；ADAM17/TACE；ADAMDEC1；ADAMTS1；ADAMTS4；ADAMTS5；天冬胺酸鹽蛋白酶，例如BACE或Renin；天冬胺酸細胞自溶酶，例如細胞自溶酶D或細胞自溶酶E；半胱天冬酶，例如半胱天冬酶1、半胱天冬酶2、半胱天冬酶3、半胱天冬酶4、半胱天冬酶5、半胱天冬酶6、半胱天冬酶7、半胱天冬酶8、半胱天冬酶9、半胱天冬酶10或半胱天冬酶14；半胱胺酸細胞自溶酶，例如細胞自

溶酶B、細胞自溶酶C、細胞自溶酶K、細胞自溶酶L、細胞自溶酶S、細胞自溶酶V/L2、細胞自溶酶X/Z/P；半胱胺酸蛋白酶，例如Cruzipain；天冬醯胺內肽酶；Otubain-2；KLK，例如KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13或KLK14；金屬蛋白酶，例如甲丙胺酯(Meprin)；腦啡肽酶；PSMA；BMP-1；MMP，例如MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP10、MMP11、MMP12、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、MMP19、MMP20、MMP23、MMP24、MMP26或MMP27；絲胺酸蛋白酶，例如活化蛋白C、細胞自溶酶A、細胞自溶酶G、凝乳酶、凝血因子蛋白酶(例如FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa)、彈性蛋白酶、顆粒酶B、胍基苯甲酸酯酶、HtrA1、人類嗜中性球彈性蛋白酶、乳鐵蛋白、Marapsin、NS3/4A、PACE4、胞漿素、PSA、tPA、凝血酶、纖溶酶、uPA；II型跨膜絲胺酸蛋白酶(TTSP)，例如DESC1、DPP-4、FAP、Hepsin、間質蛋白酶-2、間質蛋白酶、TMPRSS2、TMPRSS3,或TMPRSS4；及其任何組合。

【0272】 在一些實施例中，可裂解連接體可由多種蛋白酶、例如2種或更多種蛋白酶、3種或更多種蛋白酶、4種或更多種蛋白酶等裂解。

【0273】 在一些實施例中，可裂解連接體選擇使用特異性蛋白酶，例如已知由靠近表現靶標之細胞之腫瘤產生及/或由與多重特異性多肽構築體之靶標共定位之腫瘤產生的蛋白酶。

【0274】 在一些實施例中，可裂解連接體含有特定蛋白酶之受質識別位點或裂解位點，其係由蛋白酶所裂解之蛋白酶之活性位點識別的序列。通常，例如，對於絲胺酸蛋白酶而言，裂解序列由受質中之P1-P4及

P1´-P4´胺基酸構成，其中裂解發生在P1位置之後。通常，絲胺酸蛋白酶之裂解序列係6個殘基長以匹配許多蛋白酶之擴大的受質特異性，但根據蛋白酶而定可更長或更短。通常，可裂解連接體包括由蛋白酶識別之P1-P1´易裂鍵序列。在一些態樣中，可裂解連接體經改造以引入能夠由特異性蛋白酶裂解之肽鍵，例如藉由引入蛋白酶之受質識別位點序列或裂解序列。

【0275】在一些實施例中，可裂解連接體包括兩個或更多個受質序列之組合。在一些實施例中，各受質序列由相同蛋白酶裂解。在一些實施例中，受質序列中之至少二者由不同蛋白酶裂解。在一些實施例中，可裂解連接體包含作為顆粒酶B之受質之胺基酸。在一些實施例中，顆粒酶B可裂解連接體含有具有通式P4 P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 150)之胺基酸序列，其中P4係胺基酸I、L、Y、M、F、V或A；P3係胺基酸A、G、S、V、E、D、Q、N或Y；P2係胺基酸H、P、A、V、G、S或T；P1係胺基酸D或E；且P1’係胺基酸I、L、Y、M、F、V、T、S、G或A。在一些實施例中，顆粒酶B可裂解連接體含有具有通式P4 P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 151)之胺基酸序列，其中P4係胺基酸I或L；P3係胺基酸E；P2係胺基酸P或A；P1係胺基酸D；且P1’係胺基酸I、V、T、S或G。

【0276】在一些實施例中，顆粒酶B之受質包含胺基酸序列LEAD (SEQ ID NO: 22)、LEPG (SEQ ID NO: 142)或LEAE (SEQ ID NO:143)。在一些實施例中，可裂解連接體含有胺基酸序列IEPDI (SEQ ID NO:136)、LEPDG (SEQ ID NO:152)、LEADT (SEQ ID NO:137)、IEPDG (SEQ ID NO:138)、IEPDV (SEQ ID NO:139)、IEPDS (SEQ ID NO:140)、IEPDT (SEQ ID NO:141)、IEPDP (SEQ ID NO:144)、

LEPDG (SEQ ID NO:152)或LEADG (SEQ ID NO:153)。

【0277】 在一些實施例中，可裂解連接體包含作為間質蛋白酶之受質之胺基酸。在一些實施例中，可裂解連接體包含序列P4QAR↓(A/V) (SEQ ID NO: 154)，其中P4係任何胺基酸。在一些實施例中，可裂解連接體包含序列RQAR(A/V) (SEQ ID NO: 155)。在一些實施例中，間質蛋白酶之受質包含胺基酸序列RQAR (SEQ ID NO: 23)。在一些實施例中，可裂解連接體包含胺基酸序列RQARV (SEQ ID NO: 156)。

【0278】 在一些實施例中，可裂解連接體包含作為一或多種基質金屬蛋白酶(MMP)之受質之胺基酸。在一些實施例中，MMP係MMP-2。在一些實施例中，可裂解連接體含有通式P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 157)，其中P3係P、V或A；P2係Q或D；P1係A或N；且P1’係L、I或M。在一些實施例中，可裂解連接體含有通式P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 158)，其中P3係P；P2係Q或D；P1係A或N；且P1’係L或I。在一些實施例中，MMP之受質包含胺基酸序列PAGL (SEQ ID NO: 24)。

【0279】 在一些實施例中，可裂解連接體包含作為顆粒酶B之受質之胺基酸序列與作為間質蛋白酶之受質之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，可裂解連接體包含胺基酸序列LEAD (SEQ ID NO: 22)與胺基酸序列RQAR (SEQ ID NO: 23)之組合。

【0280】 在一些實施例中，可裂解連接體包含作為顆粒酶B之受質之胺基酸序列與作為MMP之受質之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，可裂解連接體包含胺基酸序列LEAD (SEQ ID NO: 22)與胺基酸序列PAGL (SEQ ID NO: 24)之組合。

【0281】 在一些實施例中，可裂解連接體包含作為間質蛋白酶之受

質之胺基酸序列與作為MMP之受質之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，可裂解連接體包含胺基酸序列RQAR (SEQ ID NO: 23)與胺基酸序列PAGL (SEQ ID NO: 24)之組合。

【0282】 在一些實施例中，可裂解連接體包含作為顆粒酶B之受質之胺基酸序列、作為間質蛋白酶之受質之胺基酸序列及作為MMP之受質之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，可裂解連接體包含作為顆粒酶B之受質之胺基酸序列與作為MMP之受質之胺基酸序列的組合。在一些實施例中，可裂解連接體包含胺基酸序列LEAD (SEQ ID NO: 22)、胺基酸序列RQAR (SEQ ID NO: 23)及胺基酸序列PAGL (SEQ ID NO: 24)之組合。

【0283】 可裂解連接體可包括任何已知連接體。可裂解連接體之實例闡述於以下中：Be'liveau等人 (2009) FEBS Journal, 276；美國公開申請案第US20160194399號；第US20150079088號；第US20170204139號；第US20160289324號；第US20160122425號；第US20150087810號；第US20170081397號；美國專利第US9644016號。

【0284】 在一些實施例中，可裂解連接體包含選自由以下組成之群之胺基酸序列：TGLEADGSPAGLGRQARVG (SEQ ID NO: 25)；TGLEADGSRQARVGPAGLG (SEQ ID NO: 26)；TGSPAGLEADGSRQARVGS (SEQ ID NO: 27)；TGPAGLGLEADGSRQARVG (SEQ ID NO: 28)；TGRQARVGLEADGSPAGLG (SEQ ID NO: 29)；TGSRQARVGPAGLEADGS (SEQ ID NO: 30)；及TGPAGLGSRQARVGLEADGS (SEQ ID NO: 31)；

GPAGLGLEPDGSRQARVG (SEQ ID NO: 104) ; GGSGGGGIEPDIGGSGGS (SEQ ID NO: 105) ; GGSGGGGLEADTGGSGGS (SEQ ID NO: 106)；GSIEPDIGS (SEQ ID NO: 107) ; GSLEADTGS (SEQ ID NO: 108) ; GGSGGGGIEPDGGGSGGS (SEQ ID NO: 109) ; GGSGGGGIEPDVGGSGGS (SEQ ID NO: 110) ; GGSGGGGIEPDSGGSGGS (SEQ ID NO: 111) ; GGSGGGGIEPDTGGSGGS (SEQ ID NO: 112) ; GGGSLEPDGSGS (SEQ ID NO: 113)；及GPAGLGLEADGSRQARVG (SEQ ID NO: 114), GGEGGGGSGGSGGGS (SEQ ID NO: 115) ; GSSAGSEAGGSGQAGVGS (SEQ ID NO: 116) ; GGSGGGGLEAEGSGGGGS (SEQ ID NO: 117) ; GGSGGGGIEPDPGGSGGS(SEQ ID NO: 118) ; TGGSGGGGIEPDIGGSGGS (SEQ ID NO: 148)。

4. 抗原結合結構域：

【0285】本發明之多重特異性多肽構築體至少包括第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者包括抗體或其抗原結合片段之一或多個拷貝。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者包括選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段之一或多個拷貝：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者包括一或多個單一結構域抗體(sdAb)片段，例

如V_HH、V_{NAR}、經改造之V_H或V_K結構域。V_HH可自天然駱駝科動物僅重鏈抗體、產生僅重鏈抗體之遺傳修飾之齧齒類動物或幼稚/合成駱駝科動物或人類化駱駝科動物單一結構域抗體文庫生成。V_{NAR}可自軟骨魚類僅重鏈抗體生成。已執行各種方法自習用異二聚體V_H及V_K結構域生成單體sdAb，包括特異性種系家族之界面改造及選擇。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體之第一抗原結合結構域及/或第二抗原結合結構域中之每一者含有組裝成FAB或scFv之VH及VL序列。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體之第一抗原結合結構域及/或第二抗原結合結構域中之每一者含有作為單一結構域抗體(sdAb)之結合結構域。

【0286】 在一些實施例中，抗原結合結構域或獨立地各抗原結合結構域係或包括TAA之天然同源結合配偶體之細胞外結構域或其結合片段，或其展現與TAA之結合活性之變體。

【0287】 在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者結合相同抗原。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者結合不同抗原。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者結合相同腫瘤相關抗原(TAA)。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者結合不同TAA。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者結合相同TAA上之不同表位。在一些實施例中，第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域中之每一者結合相同TAA上之相同表位。

【0288】 在一些實施例中，結合TAA之抗原結合結構域或獨立地各抗原結合結構域與TAA產生單價、二價、三價或四價結合。

【0289】在一些實施例中，TAA係選自由以下組成之群：1-92-LFA-3、5T4、α-4整聯蛋白、α-V整聯蛋白、α4β1整聯蛋白、α4β7整聯蛋白、AGR2、抗路易斯-Y、艾普林J受體、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補體、C-242、CA9、CA19-9 (路易斯a)、碳酸酐酶9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、密連蛋白-3、密連蛋白-4、cMet、膠原、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、內皮素B受體(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV之F蛋白、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸鹽受體α (FRα)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受體、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、玻尿酸酶、ICOS、IFNα、IFNβ、IFNγ、IgE、IgE受體(FceRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rβ1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、

IL4、IL4R、IL6、IL6R、胰島素受體、鋸齒狀配體、鋸齒狀1、鋸齒狀2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、路易斯X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、間皮素、MRP4、MUC1、Mucin-16(MUC16、CA-125)、Na/K ATP酶、NGF、納卡斯楚因蛋白、Notch受體、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFRα、PDGFRβ、PD-1、PD-L1、PD-L2、磷脂醯基-絲胺酸、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、磷酸神經鞘胺醇1、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFβ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFα、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、運鐵蛋白、運鐵蛋白受體、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2及WISP-3。

【0290】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原(TAA)葉酸鹽受體α (FRα)。舉例而言，抗原結合結構域含有作為結合FRα之sdAb之結合結構域。實例性FRα-結合sdAb闡述於SEQ ID NO: 120、121及122中。

【0291】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原(TAA) cMET。舉例而言，抗原結合結構域含有作為結合cMET之sdAb之結合結構域。實例性cMET-結合sdAb闡述於SEQ ID NO: 123 (美國專利第9,346,884號)中。

【0292】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原

(TAA) B7H3。舉例而言，抗原結合結構域含有作為結合B7H3之scFv之結合結構域。實例性B7H3-結合scFv闡述於SEQ ID NO: 124中。在一些實施例中，抗原結合結構域係或含有包含VH-CH1 (Fd)及LC之Fab抗體片段。實例性B7H3 Fd闡述於SEQ ID NO: 127中且實例性B7H3 LC闡述於SEQ ID NO: 128 (PCT公開案第WO2017/030926號)中。

【0293】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原(TAA) CD20。舉例而言，抗原結合結構域含有作為結合CD20之scFv之結合結構域。實例性CD20-結合scFv闡述於SEQ ID NO: 125、189及190 (美國公開案第US 2005/0123546號)中。

【0294】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原(TAA) DLL3。舉例而言，抗原結合結構域含有作為結合DLL3之scFv之結合結構域。實例性DLL3-結合scFv闡述於SEQ ID NO: 126及189 (美國公開案第US 2017/0037130號)中。在一些實施例中，抗原結合結構域係或含有包含結合DLL3之Fd及LC之Fab抗體片段。實例性DLL3 Fd闡述於SEQ ID NO: 133中且實例性DLL3 LC闡述於SEQ ID NO: 134 (美國專利第US 8,044,178號)中。

【0295】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原(TAA) 5T4。實例性5T4 Fd闡述於SEQ ID NO: 129中且實例性5T4 LC闡述於SEQ ID NO: 130中。在一些實施例中，抗體結合結構域包含如SEQ ID NO: 167及168 (美國專利第US 8,044,178號)中所述之VH-CH1 (Fd)或VL-CL。

【0296】在一些實施例中，抗原結合結構域結合腫瘤相關抗原(TAA) gpNMB。在一些實施例中，抗原結合結構域係或含有包含Fd及LC

鏈之Fab片段。實例性gpNMB Fd闡述於SEQ ID NO: 131中且實例性gpNMB LC闡述於SEQ ID NO: 132中。

【0297】 在一些實施例中，抗原結合結構域直接或經由連接體間接連接至Fc區及/或CD3結合區。在一些實施例中，鏈接係經由連接體。在一些實施例中，連接體係連接肽(LP)，其可包括如部分II.3中所述之任何撓性或剛性連接體，但連接一或多個抗原結合結構域之肽通常並非可裂解連接體。

【0298】 在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含第一抗原結合結構域與Fc區之間之第一連接肽(LP1)。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含CD3結合區與第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。在一些實施例中，多重特異性多肽構築體包含第一抗原結合結構域與Fc區之間之第一連接肽(LP1)以及CD3結合區與第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。在一些態樣中，多重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端具有如下結構配置：第一抗原結合結構域 - LP1- Fc區 -連接體 -CD3結合區 - LP2 - 第二抗原結合結構域。在一些實施例中，兩種連接肽彼此不同。

【0299】 在一些實施例中，LP1或LP2獨立地係約1至20個胺基酸長之肽。在一些實施例中，LP1或LP2獨立地係作為或包含如SEQ ID NO: 10-13、119、135、147、149或GGS中所述之任何Gly-Ser連接體的肽。

III.醫藥組合物

【0300】 本文提供所提供多重特異性多肽構築體中之任一者之組合物。應瞭解，根據本揭示內容之治療性實體之投與應與適宜載劑、賦形劑及納入調配物中以提供改良之轉移、遞送、耐受及諸如此類之其他試劑一

起投與。多種適當調配物可參見所有醫藥化學家已知之配方：Remington's Pharmaceutical Sciences (第15版，Mack Publishing Company, Easton, PA (1975))，特定而言其中之第87章，Blaug, Seymour。該等調配物包括例如粉末、糊劑、軟膏劑、凝膠劑、蠟、油、脂質、含有囊泡之脂質(陽離子或陰離子型) (例如Lipofectin™)、DNA偶聯物、無水吸收糊劑、水包油及油包水乳液、乳液卡波蠟(各種分子量之聚乙二醇)、半固體凝膠及含有卡波蠟之半固體混合物。上述混合物中之任一者可適於根據本發明之治療及療法中，條件係調配物中之活性成分不會被調配物不活化且調配物與投與途徑生理上相容且耐受。關於醫藥化學家熟知之調配物、賦形劑及載劑相關之額外資訊，亦參見Baldrick P.「Pharmaceutical excipient development: the need for preclinical guidance.」 Regul. Toxicol Pharmacol. 32(2):210-8 (2000), Wang W.「Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals.」 Int. J. Pharm. 203(1-2):1-60 (2000), Charman WN「Lipids, lipophilic drugs, and oral drug delivery-some emerging concepts.」 J Pharm Sci.89(8):967-78 (2000), Powell等人「Compendium of excipients for parenteral formulations」 PDA J Pharm Sci Technol. 52:238-311 (1998)及其中之引用。

【0301】在一些實施例中，多重特異性多肽構築體、偶聯之多重特異性多肽構築體及其組合物(本文中統稱為治療劑及衍生物、其片段、類似物及同系物)可納入適於投與之醫藥組合物中。製備該等組合物所涉及之原理及考慮因素以及組分之選擇指南提供於以下中：例如，Remington's Pharmaceutical Sciences: The Science And Practice Of

Pharmacy，第19版(Alfonso R. Gennaro等人編輯) Mack Pub. Co., Easton, Pa.: 1995；Drug Absorption Enhancement : Concepts, Possibilities, Limitations, And Trends, Harwood Academic Publishers, Langhorne, Pa., 1994；及Peptide And Protein Drug Delivery (Advances In Parenteral Sciences，第4卷), 1991, M. Dekker, New York。

【0302】該等組合物通常包含多重特異性多肽構築體或其偶聯物及醫藥上可接受之載劑。若多重特異性多肽構築體包括抗體之片段，則可使用特異性結合至靶蛋白之抗體之最小片段。舉例而言，基於抗體之可變區序列，可設計保留抗體結合靶蛋白序列之能力之肽分子。該等肽可以化學方式合成及/或藉由重組DNA技術產生。(例如，參見Marasco等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 7889-7893 (1993))。

【0303】如本文所用術語「醫藥上可接受之載劑」意欲包括任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌及抗真菌劑、等滲劑及吸收延遲劑及醫藥投與相容之類似試劑。適宜載劑闡述於Remington's Pharmaceutical Sciences之最近版本中，該文獻係業內之標準參考文本，其係以引用方式併入本文中。該等載劑或稀釋劑之適宜實例包括(但不限於)水、鹽水、林格氏溶液(ringer's solution)、右旋糖溶液及5%人類血清白蛋白。亦可使用脂質體及非水性媒劑(例如不揮發油)。業內熟知用於醫藥活性物質之該等介質及試劑之使用。除任何與活性化合物不相容之習用介質或試劑外，亦涵蓋其於治療組合物中之使用。

【0304】用於活體內投與之調配物必須無菌。此易於藉由過濾經由無菌過濾膜達成。

【0305】本揭示內容之醫藥組合物經調配以與其預期投與途徑相

容。投與途徑之實例包括非經腸(例如靜脈內)、真皮內、皮下、經口(例如吸入)、經皮(即局部)、經黏膜及直腸投與。用於非經腸、真皮內或皮下應用之溶液或懸浮液可包括以下組分：無菌稀釋劑，例如注射用水、鹽水溶液、不揮發油、聚乙二醇、甘油、丙二醇或其他合成溶劑；抗細菌劑，例如苄醇或對羥苯甲酸甲酯；抗氧化劑，例如抗壞血酸或亞硫酸氫鈉；螯合劑，例如乙二胺四乙酸；緩衝液，例如乙酸鹽、檸檬酸鹽或磷酸鹽，及用於調節張力之試劑(例如氯化鈉或右旋糖)。可利用酸或鹼(例如鹽酸或氫氧化鈉)調節pH。非經腸製劑可包封於由玻璃或塑膠製得之安瓿、拋棄式注射器或多劑量小瓶中。

【0306】 適宜注射使用之醫藥組合物包括無菌水溶液(若水溶性)或分散液及用於臨時製備無菌注射溶液或分散液之無菌粉末。對於靜脈內投與，適宜載劑包括生理鹽水、抑菌水、克列莫佛(Cremophor) EL™ (BASF、Parsippany、N.J.)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。在所有情形下，組合物均應為無菌且其流動性程度應使其具有易注射性。其在製造及儲存條件下必須穩定，且必須防止受到諸如細菌及真菌等微生物之污染作用。載劑可為溶劑或分散介質，其含有(例如)水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體聚乙二醇及諸如此類)及其適宜混合物。可(例如)藉由使用包衣(例如卵磷脂)、藉由維持所需粒徑(在分散液情形下)且藉由使用表面活性劑來維持適當流動性。可藉由各種抗細菌劑及抗真菌劑(例如，對羥基苯甲酸、氯丁醇、苯酚、抗壞血酸、硫柳汞及諸如此類)來達成對微生物之作用的預防。在許多情形下，適宜地將等滲劑(例如糖、多元醇(例如，甘露醇、山梨醇)或氯化鈉)納入組合物中。可藉由向組合物中納入延遲吸收劑(例如，單硬脂酸鹽及明膠)實現可注射組合物之長效吸收。

【0307】 無菌可注射溶液可藉由以下步驟來製備：將所需量之活性化合物納入含有上文所列舉成分中之一者或組合(視需要)之適當溶劑中，隨後進行過濾滅菌。通常，藉由將活性化合物納入含有基本分散介質及來自上文所列舉之彼等之所需其他成分之無菌媒劑中來製備分散液。在用於製備無菌可注射溶液之無菌粉末之情形下，製備方法係真空乾燥及冷凍乾燥，其可產生由活性成分及任一期望額外成分(來自其先前經無菌過濾之溶液)構成之粉末。若組合物經凍乾，使用此方法之滅菌可在凍乾及重構之前或之後執行。非經腸投與之組合物可以凍乾形式或於溶液中儲存。另外，通常將非經腸組合物置入具有輸液埠之容器中，例如具有可藉由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈注射溶液袋或小瓶。

【0308】 在一些實施例中，經由任何途徑向個體投與醫藥組合物，該途徑包括經口、經皮、藉由吸入、靜脈內、動脈內、肌內、直接施加至傷口位點、施加至手術位點、腹膜內、藉由栓劑、皮下、真皮內、透皮、藉由霧化、胸膜內、室內、關節內、眼內或脊椎內。

【0309】 經口組合物通常包括惰性稀釋劑或可食用載劑。其可包封於明膠膠囊中或壓製至錠劑中。出於經口治療性投與之目的，活性化合物可與賦形劑一起納入並以錠劑、糖錠劑或膠囊形式使用。經口組合物亦可使用流體載劑製備以用作漱口劑，其中流體載劑中之化合物經口施加且漱口及吐出或吞嚥。可包括醫藥上相容之結合劑及/或佐劑材料作為組合物之一部分。錠劑、丸劑、膠囊、糖錠劑及諸如此類可含有以下成分或具有類似形狀之化合物中之任一者：黏合劑，例如微晶纖維素、黃著膠或明膠；賦形劑，例如澱粉或乳糖；崩解劑，例如海藻酸、Primogel或玉米澱粉；潤滑劑，例如硬脂酸鎂或Sterotes；助流劑，例如膠狀二氧化矽；甜

味劑，例如蔗糖或糖精；或矯味劑，例如薄荷、柳酸甲酯或橙味調味劑。

【0310】 對於藉由吸入之投與，多重特異性多肽構築體以來自含有適宜推進劑(例如氣體，例如二氧化碳)之壓力容器或分配器或霧化器之氣溶膠噴霧形式遞送。

【0311】 全身投與亦可以藉由經黏膜或經皮方式進行。對於經黏膜或經皮投與，在調配物中使用適合滲透屏障之滲透劑。該等滲透劑在業內通常係已知的，且例如對於經黏膜投與，包括清潔劑、膽汁鹽及夫西地酸衍生物。經黏膜投與可經由使用鼻噴霧或栓劑來完成。對於經皮投與，將活性化合物調配成如業內通常已知之軟膏劑、藥膏、凝膠或乳霜。

【0312】 化合物亦可以栓劑(例如具有習用栓劑基質，例如可可脂及其他甘油酯)或保留灌腸劑之形式製備用於直腸遞送。

【0313】 在一個實施例中，用可保護化合物免於自體內快速消除之載劑製備治療劑，例如持續/控制釋放調配物，包括植入體及微囊封遞送系統。可使用生物可降解之生物相容性聚合物，例如乙烯基乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原、聚原酸酯及聚乳酸。該等調配物之製備方法對於熟習此項技術者係顯而易見的。

【0314】 舉例而言，治療劑可裝入分別藉由(例如)凝聚技術或界面聚合製備之微膠囊(例如，羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊)中、膠質藥物遞送系統(例如，脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)或粗滴乳液中。

【0315】 在一些實施例中，醫藥組合物包含醫藥上可接受之賦形劑，例如填充劑、黏合劑、包衣、防腐劑、潤滑劑、矯味劑、甜味劑、著色劑、溶劑、緩衝劑、螯合劑或穩定劑。醫藥上可接受之填充劑之實例包

括纖維素、磷酸氫鈣、碳酸鈣、微晶纖維素、蔗糖、乳糖、葡萄糖、甘露醇、山梨醇、麥芽醇、預明膠化澱粉、玉米澱粉或馬鈴薯澱粉。醫藥上可接受之黏合劑之實例包括聚乙烯基吡咯啶酮、澱粉、乳糖、木糖醇、山梨醇、麥芽糖醇、明膠、蔗糖、聚乙二醇、甲基纖維素或纖維素。醫藥上可接受之包衣之實例包括羥丙基甲基纖維素(HPMC)、蟲膠、玉米蛋白或明膠。醫藥上可接受之崩解劑之實例包括聚乙烯基吡咯啶酮、羧甲纖維素或澱粉羥乙酸鈉。醫藥上可接受之潤滑劑之實例包括聚乙二醇、硬脂酸鎂或硬脂酸。醫藥上可接受之防腐劑之實例包括對羥苯甲酸甲酯、對羥苯甲酸乙酯、對羥苯甲酸丙酯、苯甲酸或山梨酸。醫藥上可接受之甜味劑之實例包括蔗糖、糖精、阿斯巴甜或山梨醇。醫藥上可接受之緩衝劑之實例包括碳酸鹽、檸檬酸鹽、葡萄糖酸鹽、乙酸鹽、磷酸鹽或酒石酸鹽。

【0316】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適宜實例包含含有抗體之固態疏水性聚合物之半滲透性基質，該等基質呈成形物件形式，例如膜或微膠囊。在一些實施例中，醫藥組合物進一步包含用於控制或持續釋放產物之試劑，例如可注射微球體、生物蝕解性粒子、聚合化合物(聚乳酸、聚乙醇酸)、珠粒或脂質體。持續釋放基質之實例包括聚酯、水凝膠(例如聚(甲基丙烯酸-2-羥乙基酯)或聚(乙烯基醇))、聚交酯(美國專利第3,773,919號)、L-麩胺酸與γ L-麩胺酸乙基酯之共聚物、不可降解之乙烯-乙酸乙烯酯、可降解之乳酸-乙醇酸共聚物(例如LUPRON DEPOT ™ (由乳酸-乙醇酸共聚物及乙酸柳培林(leuprolide acetate)構成之可注射微球體))及聚-D-(-)-3-羥基丁酸。儘管諸如乙烯-乙酸乙烯酯及乳酸-乙醇酸等聚合物使得能夠釋放分子100天以上，但某些水凝膠釋放蛋白質較短時間段。

【0317】材料亦可自Alza Corporation及Nova Pharmaceuticals, Inc.商業獲得。脂質體懸浮液(包括利用針對病毒抗原之單株抗體靶向受感染細胞之脂質體)亦可用作醫藥上可接受之載劑。該等材料可根據熟習此項技術者已知之方法、例如如美國專利第4,522,811號中所述來製備。

【0318】尤其有利地將經口或非經腸組合物調配成劑量單位形式以便於投與及劑量均勻性。如本文所用之劑量單位形式係指適於作為單位劑量供欲治療個體使用之物理離散單元；各單元含有預定量之活性化合物，此預定量經計算與所需醫藥載劑一起產生期望治療效應。本揭示內容之劑量單位形式之規格取決於且直接依賴於下列因素：活性化合物之獨特特性及欲達成之特定治療效應，及複合此一活性化合物以治療個體之技術中固有限制條件。

【0319】進一步提供包含本文所述醫藥組合物(或製品)之套組。該等醫藥組合物可與投與說明書一起納入容器、包裝或分配器中。本文所述套組亦可包括自商業及使用者角度所期望之其他材料，包括其他緩衝液、稀釋劑、過濾器、針、注射器及具有實施本文所述任何方法之說明之包裝插頁。

【0320】調配物亦可含有所治療特定適應症所需之一種以上多重特異性多肽構築體，例如為彼此不會產生不利影響之具有互補活性之彼等。在一些實施例中，或另外，組合物可包含增強其功能之試劑，例如細胞毒性劑、細胞介素、化學治療劑或生長抑制劑。該等分子適於以對預期目的有效之量以組合形式存在。

【0321】在一些實施例中，醫藥組合物之劑量係單一劑量或重複劑量。在一些實施例中，劑量係每天一次、每天兩次、每天三次或每天四次

或更多次給予個體。在一些實施例中，在一週內給予約1個或更多個(例如約2個或更多個、約3個或更多個、約4個或更多個、約5個或更多個、約6個或更多個或約7個或更多個)劑量。在一些實施例中，在數天、數週、數月或數年之過程中給予多個劑量。在一些實施例中，療程係約1個或更多個劑量(例如約2個或更多個劑量、約3個或更多個劑量、約4個或更多個劑量、約5個或更多個劑量、約7個或更多個劑量、約10個或更多個劑量、約15個或更多個劑量、約25個或更多個劑量、約40個或更多個劑量、約50個或更多個劑量或約100個或更多個劑量)。

【0322】 在一些實施例中，向個體投與醫藥組合物。通常，根據個體之尺寸及條件、根據標準醫藥實踐確定醫藥組合物之劑量及投與途徑。舉例而言，可最初在細胞培養分析中或在動物模型(例如小鼠、大鼠、兔、狗、豬或猴)中估計治療有效劑量。動物模型亦可用於測定適當濃度範圍及投與途徑。隨後可使用此等資訊來確定人類中之可用投與劑量及途徑。將根據與需要治療之個體相關之因素來確定精確劑量。調節劑量及投與以提供足夠含量之活性化合物或維持期望效應。可考慮之因素包括疾病狀態之嚴重程度、個體之一般健康狀況、個體之年齡、體重及性別、投與時間及頻率、藥物組合、反應敏感性及對療法之反應。熟習醫藥技術者藉由監測患者之疾病之體徵並相應地調節治療可容易地確定特定患者之最佳劑量及治療方案。

Ⅳ. 使用方法及治療性投與

【0323】 在一個實施例中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體可用作治療劑。該等藥劑通常將用於診斷、預後、監測、治療、緩和及/或預防個體之疾病或病狀。治療方案係藉由使用標準方法鑑別患有病症(或

處於發展病症之風險下)之個體(例如人類患者或其他哺乳動物)來實施。向個體投與多重特異性多肽構築體。將多重特異性多肽構築體投與個體且通常會因其與靶標結合而具有效應。

【0324】 在一些實施例中，本文提供藉由投與治療有效量之所提供多重特異性偶聯物或醫藥組合物中之任一者來調節個體之免疫反應的方法。在一些實施例中，調節免疫反應之方法增加或增強個體之免疫反應。舉例而言，增加或增強之反應可為細胞介導之免疫性之增加。在一些實例中，該方法增加T細胞活性，例如細胞溶解T細胞(CTL)活性。在一些實施例中，調節(例如增加)之免疫反應係針對腫瘤或癌症。

【0325】 投與多重特異性多肽構築體可經由Fc γ R通過多重特異性多肽構築體之Fc-區之接合而活化先天免疫細胞。投與多重特異性多肽構築體可激動、刺激、活化及/或增大先天免疫細胞效應物功能，包括ADCC、細胞介素釋放、脫粒化及/或ADCP。一旦連接第一及第二組分之連接體由蛋白酶裂解，從而容許抗CD3結合部分結合T細胞上之CD3 ε，則投與多重特異性多肽構築體可活化T細胞。投與多重特異性多肽構築體可激動、刺激、活化及/或增大CD3介導之T細胞活化、細胞毒性、細胞介素釋放及/或增殖。

【0326】 在一些實施例中，所提供之方法用於藉由投與治療有效量之所提供多重特異性偶聯物或醫藥組合物中之任一者來治療個體之疾病或病況。在一些實施例中，疾病或病況係腫瘤或癌症。通常，緩和或治療疾病或病症涉及減輕一或多種與疾病或病症相關之症狀或醫學問題。舉例而言，在癌症之情形下，治療有效量之藥物可完成以下中一者或組合：減少癌細胞之數目；減少腫瘤大小；抑制(即，減少至一定程度/或停止)癌細胞

浸潤至外周器官中；抑制腫瘤轉移；抑制腫瘤生長至一定程度；及/或減輕與癌症相關之一或多種症狀至一定程度。在一些實施例中，本揭示內容之組合物可用於預防個體(例如人類或其他哺乳動物，例如非人類靈長類動物、伴侶動物(例如貓、狗、馬)、農場動物、工作動物或動物園動物)之疾病或病症之發作或復發。術語個體及患者在本文中可互換使用。

【0327】 一些實施例中，醫藥組合物可用於抑制哺乳動物癌細胞(例如人類癌細胞)之生長。治療癌症之方法可包括向患有癌症之個體投與有效量之本文所述醫藥組合物中之任一者。可投與有效量之醫藥組合物以抑制、阻止或逆轉癌症之進展。可在活體內或離體處理人類癌細胞。在人類患者之離體治療中，在體外處理含有癌細胞之組織或流體，且然後將組織或流體重新導回患者中。在一些實施例中，在一些實施例中，癌症在人類患者活體內藉由向患者投與治療性組合物來治療癌症。

【0328】 疾病之非限制性實例包括：所有類型之癌症(乳癌、肺癌、結腸直腸癌、前列腺癌、黑色素瘤、頭頸癌及胰臟癌等)、類風濕性關節炎、克隆氏病(Crohn's disuse)、SLE、心血管損傷、缺血等。舉例而言，適應症將包括白血病(包括T細胞急性淋巴母細胞性白血病(T-ALL))、淋巴母細胞性疾病(包括多發性骨髓瘤)及實體腫瘤(包括肺腫瘤、結腸直腸腫瘤、前列腺腫瘤、胰臟腫瘤及乳房腫瘤(包括三陰性乳癌))。舉例而言，適應症包括骨疾病或癌症轉移，其與原發性腫瘤來源無關；乳癌，包括(藉助非限制性實例) ER/PR+ 乳癌、Her2+ 乳癌、三陰性乳癌；結腸直腸癌；子宮內膜癌；胃癌；神經膠母細胞瘤；頭頸癌，例如食管癌；肺癌，例如藉助非限制性實例，非小細胞肺癌；多發性骨髓瘤、卵巢癌；胰臟癌；前列腺癌；肉瘤，例如骨肉瘤；腎癌，例如藉助非限制性實例，腎

細胞癌；及/或皮膚癌，例如藉助非限制性實例，鱗狀細胞癌、基底細胞癌或黑色素瘤。在一些實施例中，癌症係鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係皮膚鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係食管鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係頭頸部鱗狀細胞癌。在一些實施例中，癌症係肺鱗狀細胞癌。

【0329】 本揭示內容之多重特異性多肽構築體之治療有效量通常涉及實現治療目標所需之量。如上所述，此可為多重特異性多肽構築體與其靶抗原之間之結合相互作用，在某些情形下，其激動、刺激、活化及/或增大Fc γ R介導之先天免疫細胞活化或CD3介導之T細胞活化。所需投與量將進一步取決於多重特異性多肽構築體對其特異性抗原之結合親和性，且亦取決於所投與多重特異性多肽構築體自其所投與之其他個體之自由體積耗盡的速率。多重特異性多肽構築體之治療有效劑量之常見範圍可為(藉助非限制性實例)約0.01 μg/kg體重至約10 mg/kg體重。在一些實施例中，本揭示內容之多重特異性多肽構築體之治療有效劑量可為(藉助非限制性實例)約0.01 mg/kg體重至約5-10 mg/kg體重。常見之投藥頻率可在例如每日兩次至每週一次之範圍內。

【0330】 治療之有效性與用於診斷或治療特定病症之任何已知方法聯合確定。用於篩選具有期望特異性之多重特異性多肽構築體的方法包括(但不限於)酶聯免疫吸附分析(ELISA)及業內已知之其他免疫介導之技術。已知多種方式用於藉由以下方式確定所提供多重特異性多肽構築體之投與是否足夠調節免疫活性：誘導、生成或開啟介導或能介導保護性免疫反應之免疫細胞；改變免疫細胞之物理或功能性質；或該等效應之組合。免疫活性之調節之量測的實例包括(但不限於)檢查免疫細胞群體之存在或

不存在(使用流式細胞術、免疫組織化學、組織學、電子顯微鏡、聚合酶鏈式反應(PCR))；量測免疫細胞之功能能力，包括因應信號增殖或分裂之能力或對其之抗性(例如，用抗CD3抗體、抗T細胞受體抗體、抗CD28抗體、鈣離子載體、裝載有肽或蛋白質抗原之PMA(佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯)抗原呈遞細胞刺激後使用T-細胞增殖分析及基於3H-胸苷摻入之肽掃描分析；B細胞增殖分析)；量測殺死或溶解其他細胞能力(例如細胞毒性T細胞分析)；量測細胞介素、趨化介素、細胞表面分子、抗體及其他細胞產物(例如藉由流式細胞術、酶聯免疫吸附分析、西方墨點分析、蛋白質微陣列分析、免疫沉分析)；量測免疫細胞或免疫細胞內信號傳導路徑活化之生化標記(例如西方墨點及免疫沈澱分析酪胺酸、絲胺酸或蘇胺酸磷酸化、多肽裂解及形成或解離蛋白質複合物；蛋白陣列分析；DNA轉錄、使用DNA陣列或減法雜交分型)；藉由細胞凋亡、壞死或其他機制量測細胞死亡(例如膜聯蛋白V染色、TUNEL分析、用以量測DNA梯之凝膠電泳、組織學；螢光探針半胱天冬酶分析、西方墨點分析半胱天冬酶受質；量測免疫細胞產生之基因、蛋白質及其他分子(例如北方墨點分析、聚合酶鏈反應、DNA微陣列、蛋白質微陣列、二維凝膠電泳、西方墨點分析、酶聯免疫吸附分析、流式細胞術)；量測臨床症狀或結果，例如藉由量測復發率或疾病嚴重程度，例如自體免疫、神經退化及涉及自我蛋白或自我多肽之其他疾病之改良(臨床評分、需要使用額外療法、功能狀態、成像研究)。

【0331】 多重特異性多肽構築體亦可用於各種診斷及預防性調配物。在一個實施例中，向處於發生上文所提及之病症中之一或多者之風險之患者投與多重特異性多肽構築體。患者或器官對一或多種病症之傾向可

使用基因型、血清學或生化標記來確定。

【0332】 在本發明之另一實施例中，向經診斷具有與上文所提及之病症中之一或多者相關之臨床適應症的人類個體投與多重特異性多肽構築體。在診斷時，投與多重特異性多肽構築體以減輕或逆轉臨床適應症之效應。

組合療法

【0333】 在一些實施例中，投與多重特異性多肽構築體、偶聯之多重特異性多肽構築體及其組合物(在本文中共同稱為治療劑)連同一或更多額外試劑或額外試劑之組合。適宜額外試劑包括用於預期應用之目前醫藥及/或手術療法。舉例而言，治療劑可連同額外化學治療劑或抗腫瘤劑使用。舉例而言，將治療劑及額外試劑調配成單一治療性組合物，且同時投與治療劑及額外試劑。在一些實施例中，治療劑及額外試劑彼此分開，例如，各自調配成單獨的治療性組合物，且同時投與治療劑及額外試劑，或治療劑及額外試劑在治療方案期間在不同時間投與。舉例而言，治療劑在投與額外試劑前投與，治療劑在投與額外試劑後投與，或治療劑及額外試劑以交替方式投與。如本文所述，治療劑及額外試劑以單一劑量或多個劑量投與。在一些實施例中，額外試劑偶合或以其他方式附接至治療劑。根據預期應用之目的(即殺死、預防細胞增殖、激素療法或基因療法)選擇適宜額外試劑。該等試劑可包括(但不限於，例如)醫藥劑、毒素、毒素之片段、烷基化劑、酶、抗生素、抗代謝物、抗增殖劑、激素、神經傳遞質、DNA、RNA、siRNA、寡核苷酸、反義RNA、適配體、診斷劑、不透射線染料、放射性同位素、螢光探針化合物、磁性標記、納米粒子、標記化合物、凝集素、改變細胞膜滲透性之化合物、光化學化合物、小分子、脂

質體、膠束、基因治療載體、病毒載體及諸如此類。最後，可使用試劑之組合或不同類別之試劑之組合。

【0334】 在一個實施例中，多重特異性多肽構築體係以組合療法、亦即與可用於治療病理狀況或病症(例如自體免疫病症及發炎性疾病)之其他試劑(例如治療劑)組合投與。本上下文中之術語「組合」意指實質上同時、同時或依序給予該等試劑。若依序給予，則在第二化合物投與開始時，兩種化合物之第一者仍然可在治療位點以有效濃度檢測到。

【0335】 舉例而言，組合療法可包括本揭示內容之一或多種多重特異性多肽構築體與一或多種額外治療劑(例如一或多種細胞介素及生長因子抑制劑、免疫抑制劑、抗發炎劑、代謝抑制劑、酶抑制劑及/或細胞毒性或細胞生長抑制劑，如下文更詳細闡述)共調配及/或共投與。此外，本文所述之一或多種多重特異性多肽構築體可與本文所述之兩種或更多種治療劑組合使用。該等組合療法可有利地利用較低劑量之所投與治療劑，由此避免與各種單一療法相關之可能毒性或併發症。

【0336】 在其他實施例中，本揭示內容之一或多種多重特異性多肽構築體與一或多種消炎藥、免疫抑制劑或代謝或酶抑制劑共調配及/或共投與。可與本文所述抗體組合使用之藥物或抑制劑之非限制性實例包括(但不限於)以下中之一或多者：非類固醇消炎藥(NSAID)，例如布洛芬(ibuprofen)、替尼達普(tenidap)、萘普生(naproxen)、美洛西卡(meloxicam)、吡羅昔康(piroxicam)、雙氯芬酸(diclofenac)及吲哚美辛(indomethacin)；磺胺塞拉金(sulfasalazine)；皮質類固醇，例如普賴蘇濃(prednisolone)；細胞介素抑制性消炎藥(CSAID)；核苷酸生物合成之抑制劑，例如,嘌呤生物合成之抑制劑、葉酸鹽拮抗劑(例如胺甲喋呤

(methotrexate) (N-[4-[[(2,4-二胺基-6-蝶啶基)甲基]甲基胺基]苯甲醯基]-L-麩胺酸)；及嘧啶生物合成之抑制劑，例如二氫乳清酸去氫酶(DHODH)抑制劑。與本揭示內容之抗體組合使用之適宜治療劑包括NSAID、CSAID、(DHODH)抑制劑(例如來氟米特)及葉酸鹽拮抗劑(例如胺甲喋呤)。

【0337】 額外抑制劑之實例包括以下中之一或多者：皮質類固醇(經口、吸入及局部注射)；免疫抑制劑，例如環孢素(cyclosporin)、他克莫司(tacrolimus) (FK-506)；及mTOR抑制劑，例如西羅莫司(sirolimus) (雷帕黴素(rapamycin) - RAPAMUNE™或雷帕黴素衍生物，例如可溶性雷帕黴素衍生物(例如酯雷帕黴素衍生物，例如CCI-779)；干擾由促炎性細胞介素信號傳導之試劑，例如TNFα或IL-1 (例如IRAK、NIK、IKK、p38或MAP激酶抑制劑)；COX2抑制劑，例如塞來昔布、羅非昔布及其變體；磷酸二酯酶抑制劑，例如R973401 (磷酸二酯酶IV型抑制劑)；磷脂酶抑制劑，例如胞質磷脂酶2之抑制劑(cPLA2) (例如三氟甲基酮類似物)；血管內皮細胞生長因子或生長因子受體之抑制劑，例如VEGF抑制劑及/或VEGF-R抑制劑；及血管生成之抑制劑。適於與本揭示內容抗體組合使用之治療劑係免疫抑制劑，例如環孢素、他克莫司(FK-506)；mTOR抑制劑，例如西羅莫司(雷帕黴素)或雷帕黴素衍生物，例如可溶性雷帕黴素衍生物(例如酯雷帕黴素衍生物，例如CCI-779)；COX2抑制劑，例如塞來昔布及其變體；及磷脂酶抑制劑，例如胞質磷脂酶2 (cPLA2)之抑制劑，例如三氟甲基酮類似物。可與多重特異性多肽構築體組合之治療劑之額外實例包括以下中之一或多者：6-巰嘌呤(6-MP)；硫唑嘌呤柳氮磺吡啶；美沙拉嗪(mesalazine)；奧沙拉秦(olsalazine)；氯喹/羥基氯喹

(PLAQUENIL®)；青黴胺；金硫代蘋果酸鹽(肌內及經口)；硫唑嘌呤；秋水仙鹼；β-2腎上腺受體激動劑(沙丁胺醇(salbutamol)、特布他林(terbutaline)、沙美特羅(salmeteral))；黃嘌呤(茶鹼、胺茶鹼)；色甘酸鹽；奈多羅米(nedocromil)；酮替芬(ketotifen)；異丙托銨(ipratropium)及氧托品(oxitropium)；嗎替麥考酚酯(mycophenolate mofetil)；腺苷激動劑；抗血栓劑；補體抑制劑；及腎上腺素性試劑。

V. 實例性實施例

【0338】 其中所提供實施例係：

1.一種多重特異性多肽構築體，該多重特異性多肽構築體包含含有免疫球蛋白Fc區之第一組分及包含CD3結合區之第二組分，其中：

該第一組分及該第二組分由連接體偶合，其中該Fc區位於該CD3結合區之N-末端；且

該第一組分及該第二組分中之一者或二者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。

2.如實施例1之多重特異性多肽構築體，其中該CD3結合區結合CD3(CD3ε)。

3.如實施例1或實施例2之多重特異性構築體，其中該抗原結合結構域位於相對於該多重特異性多肽構築體之該Fc區的胺基末端及/或位於相對於該CD3結合區的羧基末端。

4.如實施例1至3中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該第一組分包含第一抗原結合結構域且該第二組分包含第二抗原結合結構域，其中該等抗原結合結構域中之每一者結合腫瘤相關抗原(TAA)。

5.如實施例4之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域

位於相對於該多重特異性構築體之該Fc區的胺基末端且該第二抗原結合結構域位於相對於該多重特異性構築體之該CD3結合區的羧基末端。

6.一種多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性構築體自N-末端至C-末端依序包含：

結合至腫瘤相關抗原(TAA)之第一抗原結合結構域；

免疫球蛋白Fc區；

連接體；

結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區；及

結合腫瘤相關抗原(TAA)之第二抗原結合結構域。

7.一種多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性構築體自N-末端至C-末端依序包含：

免疫球蛋白Fc區；

連接體；

結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區；及

結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。

8.一種多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性構築體自N-末端至C-末端依序包含：

結合至腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域；

免疫球蛋白Fc區；

連接體；及

結合CD3 (CD3ε)之CD3結合區。

9.如實施例1至8中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區係同二聚體Fc區。

10. 如實施例1至9中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區係人類IgG1、人類IgG2、人類IgG3或人類IgG4之Fc區，或係其免疫活性片段。

11. 如實施例1至10中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有SEQ ID NO: 1中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:1具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。

12. 如實施例1至10中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有SEQ ID NO: 2中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:2具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽；

該Fc區包含含有SEQ ID NO: 4中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:4具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽；或

該Fc區包含含有SEQ ID NO: 5中所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO:5具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%序列一致性之胺基酸序列的多肽。

13. 如實施例1至6、9及12中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區係異二聚體Fc區。

14. 如實施例13之多重特異性多肽構築體，其中與同二聚體Fc區之多肽相比，視情況與SEQ ID NO:1中所述之該Fc多肽或其免疫活性片段相比，該異二聚體Fc區之一個或兩個Fc多肽包含至少一個修飾以誘導異二聚化。

15. 如實施例14之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc之該等Fc多肽中之每一者獨立地包含至少一個胺基酸修飾。

16. 如實施例15之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc之該等Fc多肽中之每一者包含杵臼結構修飾或包含電荷突變以增加該等多肽之靜電互補。

17. 如實施例16之多重特異性多肽構築體，其中該胺基酸修飾係杵臼結構修飾。

18. 如實施例13至17中任一實施例之多重特異性融合多肽，其中該異二聚體Fc之該第一Fc多肽包含選自Thr366Ser、Leu368Ala、Tyr407Val及其組合之修飾且該異二聚體Fc之該第二Fc多肽包含修飾T366W。

19. 如實施例18之多重特異性融合多肽，其中該第一Fc多肽及該第二Fc多肽進一步包含非半胱胺酸殘基至半胱胺酸殘基之修飾，其中該第一多肽之該修飾在位置Ser354及Y349中之一者且該第二Fc多肽之該修飾在位置Ser354及Y349中之另一者。

20. 如實施例16之多重特異性多肽構築體，其中該胺基酸修飾係電荷突變以增加該等多肽之靜電互補。

21. 如實施例13至16及20中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該第一Fc多肽及/或該第二Fc多肽或該第一Fc多肽及該第二Fc多肽中之每一者包含互補位置之修飾，其中該修飾係用具有與該另一多肽之互補胺基酸相反之電荷的胺基酸置換。

22. 如實施例14至21中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc之該第一Fc多肽或該第二Fc多肽中之一者進一步包含殘基

Ile253之修飾。

23. 如實施例22之多重特異性多肽構築體，其中該修飾係Ile253Arg。

24. 如實施例14至23中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc之該第一Fc多肽或該第二Fc多肽中之一者進一步包含殘基His435之修飾。

25. 如實施例24之多重特異性多肽構築體，其中該修飾係His435Arg。

26. 如實施例1至25中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含無Lys447之多肽。

27. 如實施例1至26中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有至少一個修飾以增強FcRn結合之多肽。

28. 如實施例27之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在選自由以下組成之群之位置：Met252、Ser254、Thr256、Met428、Asn434及其組合。

29. 如實施例28之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在選自由以下組成之群之位置：Met252Y、Ser254T、Thr256E、Met428L、Met428V、Asn434S及其組合。

30. 如實施例28之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在位置Met252及位置Met428。

31. 如實施例30之多重特異性融合多肽，其中該修飾係Met252Y及Met428L。

32. 如實施例30之多重特異性融合多肽，其中該修飾係Met252Y及

Met428V。

33. 如實施例13至32中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc之該第一多肽包含SEQ ID NO:82、86、94或96中之任一者中所述之胺基酸序列，且該異二聚體Fc之該第二多肽包含SEQ ID NO:83、87、90、92、98或100中之任一者中所述之胺基酸序列。

34. 如實施例1至33中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有至少一個胺基酸修飾之多肽，該至少一個胺基酸修飾降低效應物功能及/或降低與選自Fc γ受體或C1q之效應物分子之結合。

35. 如實施例34之多重特異性多肽構築體，其中該一或多個胺基酸修飾係缺失Glu233、Leu234或Leu235中之一或多者。

36. 如實施例13至32、34及35中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc之該第一多肽包含SEQ ID NO: 84、88、95或97中之任一者中所述之胺基酸序列且該異二聚體Fc之該第二多肽包含SEQ ID NO: 85、89、93、99或100中之任一者中所述之胺基酸序列。

37. 如實施例1至32中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有至少一個修飾以增強FcγR結合之多肽。

38. 如實施例37之多重特異性多肽構築體，其中該修飾係Ser239或Ile332之修飾。

39. 如實施例1至32及37中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中與未經修飾之Fc區相比，該Fc區之醣基化經修飾以增強FcγR結合。

40. 如實施例39之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區無或具有減少之岩藻糖含量。

41. 如實施例1至40中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中

該CD3結合區係抗CD3抗體或抗原結合片段。

42. 如實施例41之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3抗體或抗原結合片段包含可變重鏈區(VH)及可變輕鏈區(VL)。

43. 如實施例1至42中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該CD3結合區係單價的。

44. 如實施例41至43中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3抗體或抗原結合片段並非單鏈抗體，視情況並非單鏈可變片段(scFv)。

45. 如實施例42或實施例44之多重特異性多肽構築體，其中該Fc係異二聚體Fc，且構成該抗CD3抗體或抗原結合片段之該VH及該VL連接至該異二聚體Fc之相反多肽。

46. 如實施例1至45中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中除非該抗原結合結構域中之至少一者結合至其TAA，否則該CD3結合區不能或實質上不能結合或接合CD3。

47. 如實施例1至46中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中除非該抗原結合結構域中之至少二者結合至其TAA，否則該CD3結合區不能或實質上不能結合或接合CD3。

48. 如實施例1至47中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該連接體係多肽連接體。

49. 如實施例48之多重特異性多肽構築體，其中該連接體係最多25個胺基酸長之多肽。

50. 如實施例48或實施例49之多重特異性多肽構築體，其中該連接體係約2至24個胺基酸、2至20個胺基酸、2至18個胺基酸、2至14個胺基

酸、2至12個胺基酸、2至10個胺基酸、2至8個胺基酸、2至6個胺基酸、6至24個胺基酸、6至20個胺基酸、6至18個胺基酸、6至14個胺基酸、6至12個胺基酸、6至10個胺基酸、6至8個胺基酸、8至24個胺基酸、8至20個胺基酸、8至18個胺基酸、8至14個胺基酸、8至12個胺基酸、8至10個胺基酸、10至24個胺基酸、10至20個胺基酸、10至18個胺基酸、10至14個胺基酸、10至12個胺基酸、12至24個胺基酸、12至20個胺基酸、12至18個胺基酸、12至14個胺基酸、14至24個胺基酸、14至20個胺基酸、14至18個胺基酸、18至24個胺基酸、18至20個胺基酸或20至24個胺基酸之多肽。

51. 如實施例48至50中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該連接體係3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20個胺基酸長之多肽。

52. 如實施例1至51中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該連接體係可裂解連接體。

53. 一種多重特異性多肽構築體，該多重特異性多肽構築體包含含有異二聚體Fc區之第一組分及包含含有可變重鏈區(VH)及可變輕鏈區(VL)之抗CD3抗體或抗原結合片段之第二組分，其中：

構成該抗CD3抗體或抗原結合片段之該VH及該VL連接至該異二聚體Fc之相反多肽；

該第一組分及該第二組分由可裂解連接體偶合，其中該異二聚體Fc區位於該抗CD3抗體之N-末端；且

該第一組分及該第二組分中之一者或二者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。

54. 如實施例52或實施例53之多重特異性多肽構築體，其中當該多重特異性多肽構築體與裂解狀態相比呈未裂解狀態時，該CD3結合區與CD3之結合實質上降低。

55. 如實施例52至54中任一實施例之多重特異性多肽，其中在裂解狀態下，該第一組分及該第二組分未連接。

56. 如實施例52至55中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體係用作蛋白酶之受質之多肽。

57. 如實施例54之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係由免疫效應細胞、由腫瘤或由腫瘤微環境中存在之細胞產生。

58. 如實施例57之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係由免疫效應細胞產生，且該免疫效應細胞係活化之T細胞、天然殺手(NK)細胞或NK T細胞。

59. 如實施例56至58中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係選自間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)、顆粒酶B及其組合。

60. 如實施例59之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係顆粒酶B。

61. 如實施例52至60中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含通式P4 P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 150)之胺基酸序列，其中P4係胺基酸I、L、Y、M、F、V或A；P3係胺基酸A、G、S、V、E、D、Q、N或Y；P2係胺基酸H、P、A、V、G、S或T；P1係胺基酸D或E；且P1’係胺基酸I、L、Y、M、F、V、T、S、G或A。

62. 如實施例52至61中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中

該可裂解連接體包含通式P4 P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 151)之胺基酸序列，其中P4係胺基酸I或L；P3係胺基酸E；P2係胺基酸P或A；P1係胺基酸D；且P1’係胺基酸I、V、T、S或G。

63. 如實施例52至62中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含胺基酸序列IEPDI (SEQ ID NO:136)、LEPDG (SEQ ID NO:152)、LEADT (SEQ ID NO:137)、IEPDG (SEQ ID NO:138)、IEPDV (SEQ ID NO:139)、IEPDS (SEQ ID NO:140)、IEPDT (SEQ ID NO:141)或LEADG (SEQ ID NO:153)。

64. 如實施例52至63中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含選自由SEQ ID NO:22、105-112、136-141、148、150-153組成之群之胺基酸序列。

65. 如實施例59之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係間質蛋白酶。

66. 如實施例52至65中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中：

該可裂解連接體包含序列P1QAR↓(A/V) (SEQ ID NO: 154)，其中P1係任何胺基酸；或

該可裂解連接體包含序列RQAR(A/V) (SEQ ID NO: 155)。

67. 如實施例52至66中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含序列RQARV (SEQ ID NO: 156)。

68. 如實施例52至67中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含選自由SEQ ID NO: 23、154-156組成之群之胺基酸序列。

69. 如實施例59之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係MMP。

70. 如實施例69之多重特異性多肽構築體，其中該MMP係MMP-2。

71. 如實施例52至70中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含通式P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 157)，其中P3係P、V或A；P2係Q或D；P1係A或N；且P1’係L、I或M。

72. 如實施例52至71中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含通式P3 P2 P1 ↓ P1’ (SEQ ID NO: 158)，其中P3係P；P2係Q或D；P1係A或N；且P1’係L或I。

73. 如實施例52至72中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含序列PAGL (SEQ ID NO:24)。

74. 如實施例52至73中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含選自由SEQ ID NO:22-31、104-114、117-118、136-144、148、150-158組成之群之胺基酸序列。

75. 如實施例45至74中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體至少包含(i) 第一多肽，其包含該異二聚體Fc區之該第一Fc多肽、該連接體及該抗CD3抗體或抗原結合片段之該VH結構域；及(ii) 第二多肽，其包含該異二聚體Fc區之該第二Fc多肽、該連接體及該抗CD3抗體或抗原結合片段之該VL結構域，其中該第一多肽及該第二多肽中之一者或二者包含至少一個結合至腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域。

76. 如實施例1至75中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中

一或多個結合TAA之抗原結合結構域與該TAA產生單價、二價、三價或四價結合。

77. 如實施例75之多重特異性多肽構築體，其中該第一多肽或該第二多肽中僅一者包含該至少一個結合TAA之抗原結合結構域。

78. 如實施例75或實施例77之多重特異性多肽構築體，其中該至少一個抗原結合結構域位於該多重特異性多肽構築體之該第一多肽或該第二多肽中之一者之相對於該Fc區的胺基末端及/或位於相對於該CD3結合區的羧基末端。

79. 如實施例75或實施例77之多重特異性多肽構築體，其中該至少一個抗原結合結構域位於相對於該多重特異性構築體之該Fc區的胺基末端且該第二抗原結合結構域位於相對於該多重特異性構築體之該CD3結合區的羧基末端。

80. 如實施例1至79中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗原結合結構域或獨立地該等抗原結合結構域中之每一者包含該TAA之天然同源結合配偶體或展現與該TAA之結合活性之其變體的細胞外結構域或其結合片段。

81. 如實施例1至79中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗原結合結構域或獨立地該等抗原結合結構域中之每一者係選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段：Fab片段、F(ab')2片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。

82. 如實施例81之多重特異性多肽構築體，其中該抗體或其抗原結合片段係Fv、scFv、Fab、單一結構域抗體(sdAb)、V_{NAR}或V_HH。

83. 如實施例81或實施例82之多重特異性多肽構築體，其中該抗體

或抗原結合片段係sdAb。

84. 如實施例83之多重特異性多肽構築體，其中該sdAb係人類或人類化sdAb。

85. 如實施例83或實施例84之多重特異性多肽構築體，其中該sdAb係V_HH、V_{NAR}、經改造之VH結構域或經改造之VK結構域。

86. 如實施例81或實施例82之多重特異性多肽構築體，其中該抗體或其抗原結合片段係scFv。

87. 如實施例81或實施例82之多重特異性多肽構築體，其中該抗體或其抗原結合片段係Fab。

88. 如實施例87之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體包含：

(i) 第一多肽，其包含該異二聚體Fc區之該第一Fc多肽、該連接體及該抗CD3抗體或抗原結合片段之該VH結構域；

(ii) 第二多肽，其包含該異二聚體Fc區之該第二Fc多肽、該連接體及該抗CD3抗體或抗原結合片段之該VL結構域，及 (iii) 第三多肽，其包含結合至腫瘤相關抗原之Fab抗體片段之VH-CH1 (Fd)或VL-CL，其中該第一多肽及/或該第二多肽進一步包含該Fab抗體片段之該VH-CH1 (Fd)或該VL-CL中之另一者。

89. 如實施例88之多重特異性多肽構築體，其中該第一多肽或該第二多肽中僅一者包含該Fab抗體片段之該VH-CH1 (Fd)或該VL-CL中之另一者。

90. 如實施例89之多重特異性多肽構築體，其中該第一多肽或該第二多肽二者皆包含該Fab抗體片段之該VH-CH1 (Fd)或該VL-CL中之另一

者。

91. 如實施例89或實施例90之多重特異性多肽構築體，其中該Fab抗體片段之該VH-CH1 (Fd)或該VL-CL中之另一者位於該多重特異性多肽構築體之該第一多肽或該第二多肽中之一者之相對於該Fc區的胺基末端及/或位於相對於該CD3結合區的羧基末端。

92. 如實施例89至91中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該Fab抗體片段之該VH-CH1 (Fd)或該VL-CL中之另一者位於相對於該第一多肽或該第二多肽之該Fc區的胺基末端及位於相對於該第一多肽或該第二多肽中之另一者之該CD3結合區的羧基末端。

93. 如實施例1至92中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗原結合結構域或獨立地該等抗原結合結構域中之每一者結合至選自以下之腫瘤抗原：1-92-LFA-3、5T4、α-4整聯蛋白、α-V整聯蛋白、α4β1整聯蛋白、α4β7整聯蛋白、AGR2、抗路易斯-Y、艾普林J受體、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補體、C-242、CA9、CA19-9 (路易斯a)、碳酸酐酶9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、密連蛋白-3、密連蛋白-4、cMet、膠原、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、

DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、內皮素B受體(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV之F蛋白、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸鹽受體α (FRα)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受體、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、玻尿酸酶、ICOS、IFNα、IFNβ、IFNγ、IgE、IgE受體(FceRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rβ1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、胰島素受體、鋸齒狀配體、鋸齒狀1、鋸齒狀2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、路易斯X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、間皮素、MRP4、MUC1、Mucin-16(MUC16、CA-125)、Na/K ATP酶、NGF、納卡斯楚因蛋白、Notch受體、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、PDGFRα、PDGFRβ、PD-1、PD-L1、PD-L2、磷脂醯基-絲胺酸、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、磷酸神經鞘胺醇1、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFβ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFα、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、運鐵蛋白、運鐵蛋白受體、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2

及WISP-3。

94. 如實施例1至93中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中多重特異性抗原結合結構域至少包含第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域，其中該第一抗原結合結構域及該第二抗原結合結構域結合至相同TAA。

95. 如實施例94之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域及該第二抗原結合結構域結合相同TAA上之不同表位。

96. 如實施例94之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域及該第二抗原結合結構域結合相同TAA上之相同表位。

97. 如實施例1至96中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中多重特異性抗原結合結構域至少包含第一抗原結合結構域及第二抗原結合結構域，其中該第一抗原結合結構域就該第二抗原結合結構域結合不同TAA。

98. 如實施例5至97中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體包含該第一抗原結合結構域與該Fc區之間之第一連接肽(LP1)。

99. 如實施例5至98中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體包含該CD3結合區與該該第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。

100. 如實施例5至99中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體包含該第一抗原結合結構域與該Fc區之間之第一連接肽(LP1)以及該CD3結合區與該第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)，且其中該多重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端具有如下結

構配置：第一抗原結合結構域 - LP1- Fc區 -連接體 -CD3結合區 - LP2 - 第二抗原結合結構域。

101. 如實施例100之多重特異性多肽構築體，其中該連接體係可裂解連接體。

102. 如實施例100及實施例101之多重特異性多肽構築體，其中該兩個連接肽彼此不同。

103. 如實施例98至102中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中LP1或LP2獨立地係約1至20個胺基酸長之肽。

104. 如實施例103之多重特異性多肽，其中LP1或LP2獨立地包含係或包含如SEQ ID NO: 10-13、119、135、147、149或GGS中所述之任何Gly-Ser連接體的肽。

105. 如實施例41至104中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3抗體或抗原結合片段係Fv抗體片段。

106. 如實施例105之多重特異性多肽構築體，其中該Fv抗體片段包含經雙硫鍵穩定之抗CD3結合Fv片段(dsFv)。

107. 如實施例41至106中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3抗體或抗原結合片段包含VH CDR1，其包含胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)；VH CD2，其包含胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)；VH CDR3，其包含胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)；VL CDR1，其包含胺基酸序列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)；VL CDR2，其包含胺基酸序列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)；及VL CDR3，其包含胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)。

108. 如實施例106或實施例107之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3 dsFv包含：

VH，其具有SEQ ID NO: 14及32-62中之任一者之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 14及32-62中之任一者展現至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之序列；及

VL，其具有SEQ ID NO: 15及63-81中之任一者之胺基酸序列或與SEQ ID NO:15及63-81中之任一者展現至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之序列。

109. 如實施例106至108中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列及SEQ ID NO: 15之胺基酸序列。

110. 如實施例102至104中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列及SEQ ID NO: 72之胺基酸序列。

111. 如實施例1至109中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體偶聯至試劑。

112. 如實施例111之多重特異性多肽構築體，其中該試劑係治療劑、抗瘤劑、毒素或其片段、可檢測部分或診斷劑。

113. 如實施例112之多重特異性多肽構築體，其中該試劑經由連接體偶聯至該多重特異性多肽構築體。

114. 一種編碼如實施例1至113中任一實施例之多重特異性多肽構築體的多核苷酸。

115. 一種編碼如實施例1至113中任一實施例之多重特異性多肽構築

體中之任一者之多肽鏈的多核苷酸。

116. 一種多核苷酸，其包含編碼如實施例1至115中任一實施例之多重特異性構築體之第一多肽的第一核酸序列及編碼該多重特異性構築體之第二多肽的第二核酸序列，其中該第一核酸序列及該第二核酸序列係藉由內部核糖體進入位點(IRES)或編碼自我裂解肽或會造成核糖體跳躍之肽的核酸分開。

117. 如實施例116之多核苷酸，其中該第一核酸序列及該第二核酸序列可操作連接至相同啟動子。

118. 如實施例116或實施例117之多核苷酸，其中該多重特異性多肽構築體包含第三多肽鏈，且該多核苷酸進一步包含編碼該多重特異性構築體之該第三多肽的第三核酸。

119. 如實施例118之多核苷酸，其中該第三核酸係藉由內部核糖體進入位點(IRES)或編碼自我裂解肽或會造成核糖體跳躍之肽的核酸與該第一核酸及/或該第二核酸分開，及/或該第三核酸序列與該第一核酸序列及/或該第二核酸序列可操作連接至相同啟動子。

120. 如實施例116至119中任一實施例之多核苷酸，其中編碼自我裂解肽或會造成核糖體跳躍之肽的該核酸係選自T2A、P2A、E2A或F2A。

121. 一種載體，其包含如實施例114至120中任一實施例之多核苷酸。

122. 如實施例121之載體，其係表現載體。

123. 如實施例121或122之載體，其係病毒載體或真核載體，視情況其中該真核載體係哺乳動物載體。

124. 一種細胞，其包含一或多種如實施例114至120中任一實施例之

多核苷酸或一或多種如實施例121至123中任一實施例之載體。

125. 如實施例124之細胞，其中該細胞係重組或分離的。

126. 如實施例125之細胞，其中該細胞係哺乳動物細胞。

127. 如實施例126之細胞，其中該細胞係HEK293或CHO細胞。

128. 一種產生多重特異性多肽構築體之方法，該方法包含向細胞中引入一或多種如實施例114至120中任一實施例之多核苷酸或一或多種如實施例121至123中任一實施例之載體，以及在條件下培養該等細胞以產生該多重特異性多肽構築體。

129. 一種產生多重特異性多肽構築體之方法，該方法包含在由如實施例124至127中任一實施例之細胞產生該多重特異性多肽之條件下培養該細胞。

130. 如實施例128或129之細胞，其中該細胞係哺乳動物細胞。

131. 如實施例130之細胞，其中該細胞係HEK293或CHO細胞。

132. 如實施例128或實施例129之方法，其進一步包含自該細胞分離或純化該多重特異性多肽構築體。

133. 如實施例128至132中任一實施例之方法，其中該多重特異性多肽構築體係異二聚體。

134. 一種藉由如實施例128至133中任一實施例之方法產生的多重特異性多肽構築體。

135. 一種醫藥組合物，其包含如實施例1至113或實施例134中任一實施例之多重特異性多肽構築體及醫藥上可接受之載劑。

136. 如實施例135之醫藥組合物，其係無菌的。

137. 一種刺激或誘導免疫反應之方法，該方法包含使靶細胞及T細

胞與如實施例1至113或實施例134中任一實施例之多重特異性多肽構築體或如實施例109或實施例110之醫藥組合物接觸，該靶細胞表現由該多重特異性多肽構築體識別之腫瘤相關抗原。

138. 如實施例137之方法，其中該靶細胞係表現該腫瘤相關抗原(TAA)之腫瘤細胞。

139. 如實施例137或實施例138之方法，其中該多重特異性多肽構築體包含用作蛋白酶之受質之裂解連接體且在該蛋白酶存在下對該免疫反應之該誘導或刺激增加。

140. 如實施例139之方法，其中該蛋白酶係由免疫效應細胞、由腫瘤或由腫瘤微環境中存在之細胞產生。

141. 如實施例139或實施例140之方法，其中該蛋白酶係由免疫效應細胞產生，且該免疫效應細胞係活化之T細胞、天然殺手(NK)細胞或NKT細胞。

142. 如實施例141之方法，其中該免疫效應細胞靠近表現該抗原之細胞。

143. 如實施例137至142中任一實施例之方法，其中該蛋白酶係由靠近表現組織中之該TAA之細胞的腫瘤產生及/或係由與組織中之TAA共定位之腫瘤產生，且其中在該多重特異性多肽構築體暴露於該蛋白酶時，該蛋白酶使該多重特異性多肽構築體中之該可裂解連接體裂解。

144. 如實施例137至143中任一實施例之方法，其中該蛋白酶係選自間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)、顆粒酶B及其組合。

145. 如實施例144之方法，其中該蛋白酶係顆粒酶B。

146. 如實施例137至145中任一實施例之方法，其中該接觸係離體或

活體外實施。

147. 如實施例137至145中任一實施例之方法，其中該接觸係在個體活體內實施。

148. 一種刺激或誘導個體之免疫反應之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之如實施例1至113或實施例134中任一實施例之多重特異性偶聯物或如實施例109或實施例110之醫藥組合物。

149. 如實施例137至147及148之方法，其增加細胞介導之免疫性。

150. 如實施例137至147、148及149中任一實施例之方法，其增加T細胞活性。

151. 如實施例137至147、148至150中任一實施例之方法，其增加細胞溶解T細胞(CTL)活性。

152. 如實施例137至147、148至151中任一實施例之方法，其中該免疫反應針對腫瘤或癌症增加。

153. 如實施例137至147、148至152中任一實施例之方法，其中該方法治療個體之疾病或病況。

154. 一種治療個體之疾病或病況之方法，該方法包含向有需要之個體投與治療有效量之如實施例1至113中任一實施例之多重特異性偶聯物或如實施例135或實施例136之醫藥組合物。

155. 如實施例153或實施例154之方法，其中該疾病或病況係腫瘤或癌症。

156. 如實施例147、148至155中任一實施例之方法，其中該個體係人類。

157. 一種多重特異性多肽構築體，其在無活性狀態下包含第一組分

及第二組分，其中該第一組分及該第二組分可操作連接，其中該第一組分及該第二組分中之每一者包含結合腫瘤相關抗原(TAA)之抗原結合結構域，其中該第一組分包含Fc區，其中該第二組分包含CD3結合區，且其中該第一組分及該第二組分由可裂解連接體偶合。

158. 如實施例157之多重特異性多肽，其中在無活性狀態下，該CD3結合區與CD3之結合被抑制或實質上減少。

159. 如實施例157之多重特異性多肽，其中在活化狀態下，該第一組分及該第二組分不可操作連接。

160. 如實施例157之多重特異性多肽，其中在活化狀態下，該第二組分結合CD3之ε鏈(CD3ε)及腫瘤相關抗原(TAA)。

161. 一種多重特異性多肽構築體，其在活化狀態下結合CD3之ε鏈(CD3ε)及腫瘤相關抗原(TAA)，該多重特異性多肽構築體包含：

結合該TAA上之第一表位之第一抗原結合結構域；

結合至CD3ε之抗體或其抗原結合片段；

免疫球蛋白Fc多肽區；

結合該TAA上之第二表位之第二抗原結合結構域；及

偶合至該免疫球蛋白Fc多肽區及該第二抗原結合結構域之可裂解連接體，其中該可裂解連接體係用作蛋白酶之受質之多肽。

162. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係由免疫效應細胞產生。

163. 如實施例162之多重特異性多肽構築體，其中該免疫效應細胞靠近表現該TAA之細胞。

164. 如實施例161至163中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其

中當該多重特異性多肽構築體暴露於該蛋白酶時，該蛋白酶使該多重特異性多肽構築體中之該可裂解連接體裂解。

165. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係由靠近表現組織中之該TAA之細胞的腫瘤產生及/或係由與組織中之TAA共定位之腫瘤產生，且其中在該多重特異性多肽構築體暴露於該蛋白酶時，該蛋白酶使該多重特異性多肽構築體中之該可裂解連接體裂解。

166. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體係最多25個胺基酸長之多肽。

167. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體係間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(MMP)、顆粒酶B及其組合之受質。

168. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體包含選自由SEQ ID NO: 24-31組成之群之胺基酸序列。

169. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域及該第二抗原結合結構域中之每一者係選自由以下組成之群之抗體或其抗原結合片段：Fab片段、$F(ab')_2$片段、Fv片段、scFv、scAb、dAb、單一結構域重鏈抗體及單一結構域輕鏈抗體。

170. 如實施例169之多重特異性融合多肽，其中該抗體或其抗原結合片段係Fv、scFv、Fab、單一結構域抗體(sdAb)、V_{NAR}或V_HH。

171. 如實施例169之多重特異性融合多肽，其中該抗體或抗原結合片段係sdAb。

172. 如實施例171之多重特異性融合多肽，其中該sdAb係人類或人類化sdAb。

173. 如實施例171之多重特異性融合多肽，其中該sdAb係V_HH、

V_{NAR}、經改造之VH結構域或經改造之VK結構域。

174. 如實施例161之多重特異性融合多肽，其中該免疫球蛋白Fc區多肽包含選自由SEQ ID NO: 1-2組成之群之胺基酸序列。

175. 如實施例174之多重特異性融合多肽，其中該免疫球蛋白Fc區多肽包含至少一個修飾以增強FcγR結合。

176. 如實施例175之多重特異性融合多肽，其中該修飾係Ser239或Ile332之修飾。

177. 如實施例174之多重特異性融合多肽，其中與未經修飾之Fc區相比，該免疫球蛋白Fc醣基化經修飾以增強FcγR結合。

178. 如實施例177之多重特異性融合多肽，其中該免疫球蛋白Fc醣基化無或具有減少之岩藻糖含量。

179. 如實施例174之多重特異性融合多肽，其中該免疫球蛋白Fc區多肽包含至少一個修飾以誘導異二聚化。

180. 如實施例179之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在選自由以下組成之群之位置：Thr366、Leu368及Tyr407及其組合。

181. 如實施例180之多重特異性融合多肽，其中該修飾係選自由以下組成之群：Thr366Ser、Leu368Ala、Tyr407Val及其組合。

182. 如實施例181之多重特異性融合多肽，其進一步包含在選自由Ser354、Y349及其組合組成之群之位置非半胱胺酸殘基修飾為半胱胺酸殘基。

183. 如實施例181之多重特異性融合多肽，其進一步包含殘基Ile235之修飾。

184. 如實施例183之多重特異性融合多肽，其中該修飾係

Ile235Arg。

185. 如實施例174之多重特異性融合多肽，其中該免疫球蛋白Fc區多肽包含殘基Ile235之修飾。

186. 如實施例185之多重特異性融合多肽，其中該修飾係Ile235Arg。

187. 如實施例174之多重特異性融合多肽，其中該免疫球蛋白Fc區多肽包含至少一個修飾以增強FcRn結合。

188. 如實施例187之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在選自由以下組成之群之位置：Met252、Ser254、Thr256、Met428、Asn434及其組合。

189. 如實施例188之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在選自由以下組成之群之位置：Met252Y、Ser254T、Thr256E、Met428L、Met428V、Asn434S及其組合。

190. 如實施例187之多重特異性融合多肽，其中該修飾係在位置Met252及位置Met428。

191. 如實施例190之多重特異性融合多肽，其中該修飾係Met252Y及M428L。

192. 如實施例190之多重特異性融合多肽，其中該修飾係Met252Y及M428V。

193. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體包含該第一抗原結合結構域與該免疫球蛋白Fc多肽區之間之第一連接肽(LP1)。

194. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多

肽構築體包含該抗CD3結合結構域與該第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。

195. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體包含該第一抗原結合結構域與該免疫球蛋白Fc多肽區之間之第一連接肽(LP1)以及該抗CD3結合結構域與該第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)，且其中該多重特異性多肽構築體在未裂解狀態下自N-末端至C-末端具有如下結構配置：第一抗原結合結構域 - LP1-免疫球蛋白Fc多肽連接體區 - 可裂解連接體 - 抗CD3結合結構域 - LP2 - 第二抗原結合結構域。

196. 如實施例195之多重特異性多肽構築體，其中該兩個連接肽彼此不同。

197. 如實施例195之多重特異性多肽構築體，其中LP1及LP2中之每一者係約1至20個胺基酸長之肽。

198. 如實施例161之多重特異性多肽構築體，其中結合至CD3ε之該抗體或其抗原結合片段係Fv抗體片段。

199. 如實施例198之多重特異性多肽構築體，其中該Fv抗體片段包含經雙硫鍵穩定之抗CD3結合Fv片段(dsFv)。

200. 如實施例199之多重特異性多肽構築體，其中抗CD3 dsFv包含VH CDR1，其包含胺基酸序列TYAMN (SEQ ID NO: 16)；VH CD2，其包含胺基酸序列RIRSKYNNYATYYADSVKD (SEQ ID NO: 17)；VH CDR3，其包含胺基酸序列HGNFGNSYVSWFAY (SEQ ID NO: 18)；VL CDR1，其包含胺基酸序列RSSTGAVTTSNYAN (SEQ ID NO: 19)；VL CDR2，其包含胺基酸序列GTNKRAP (SEQ ID NO: 20)；及VL CDR3，

其包含胺基酸序列ALWYSNLWV (SEQ ID NO: 21)。

201. 如實施例198之多重特異性多肽構築體，其中構成該抗CD3結合Fv之該VH及該VL連接至異二聚體Fc之相反側。

202. 如實施例200之多重特異性多肽構築體，其中抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列。

203. 如實施例200之多重特異性多肽構築體，其中抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列。

204. 如實施例200之多重特異性多肽構築體，其中抗CD3 dsFv包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列及SEQ ID NO: 15之胺基酸序列。

205. 如實施例204之多重特異性多肽構築體，其中抗CD3 dsFv包含選自由SEQ ID NO: 32-81組成之群之胺基酸序列。

206. 如實施例204之多重特異性多肽構築體，其中抗CD3 dsFv包含選自由SEQ ID NO: 32-62組成之群之胺基酸序列與選自由SEQ ID NO: 63-81組成之群之胺基酸序列的組合。

207. 如實施例1至206中任一實施例之多重特異性多肽構築體，其中該多重特異性多肽構築體偶聯至試劑。

208. 如實施例207之多重特異性多肽構築體，其中該試劑係治療劑、抗瘤劑、毒素或其片段、可檢測部分或診斷劑。

209. 如實施例207之多重特異性多肽構築體，其中該試劑經由連接體偶聯至該多重特異性多肽構築體。

210. 一種醫藥組合物，其包含如實施例1至209中任一實施例之多重特異性多肽構築體及載劑。

211. 一種治療或緩和個體中與病症相關之臨床適應症之症狀的方

法，該方法包含向有需要之個體投與足以緩和與該病症相關之該臨床適應症之該症狀的量之如實施例157至209中任一實施例之多重特異性多肽構築體或如實施例210之醫藥組合物。

212. 如實施例211之方法，其中該個體係人類。

213. 如實施例211之方法，其中該病症係癌症。

VI. 實例

【0339】 提出以下實例僅用於闡釋性目的且並不意欲限制本發明之範疇。

【0340】 實例1.

實例1. 產生經受限CD3結合蛋白之方法

【0341】 實例1闡述含有展現經受限CD3結合之CD3結合區的多重特異性多肽構築體之生成及表現。多重特異性構築體係以各種構形生成，如**圖1**、**圖2**、**圖3**、**圖4A-4C**、**圖5A-5E**、**圖6A-6B**、**圖7**、**圖8**及**圖9**中所示，以含有由連接體(例如可裂解連接體)偶合至該CD3結合區之免疫球蛋白的異二聚體Fc區，及一或多個結合腫瘤相關抗原(TAA)且相對於多重特異性多肽構築體之Fc區胺基末端及/或相對於CD3結合區羧基末端定位的抗原結合結構域。生成具有不同TAA抗原結合結構域及連接體之實例性代表性構築體。

【0342】 生成至少編碼異二聚體多重特異性多肽構築體之第一多肽鏈及第二多肽鏈的多核苷酸並將其選殖至質體中用於表現。第一多肽鏈通常自N-末端至C-末端依序包括Fc臼多肽(例如SEQ ID NO:83中所述)；可裂解連接體，例如含有一或多個蛋白酶之受質識別位點者；及dsFv抗CD3抗體之可變輕(VL)結構域(例如SEQ ID NO:72中所述)。第二多肽鏈同此

自N-末端至C-末端依序包括Fc杵多肽(例如SEQ ID NO: 82中所述)；與第一多肽鏈相同之可裂解連接體；及dsFv抗CD3抗體之可變重結構域(例如SEQ ID NO:44中所述)。除非另有說明，否則在實例性構築體中使用含有顆粒酶B之受質識別位點之實例性可裂解連接體GGSGGGGIEPDIGGSGGS (SEQ ID NO:105)。在含有FRα之實例性構築體cx1547中使用類似連接體TGGSGGGGIEPDIGGSGGS (SEQ ID NO:148)。對於實例性構築體cx309，使用實例性可裂解連接體GSPAGLEADGSRQARVGS (SEQ ID NO: 166)。類似構築體可使用其他異二聚體Fc構形，包括其他杵臼結構構形，例如如所述之任一者；其他連接體，包括其他可裂解連接體，具體而言包括諸如顆粒酶B、間質蛋白酶及/或MMP等蛋白酶之受質識別位點的多肽連接體；及其他CD3結合區，包括其他抗CD3抗體，包括dsFv或其他單價片段；或其他TAA抗原結合片段，例如scFv、sdAb或Fab格式來生成。

【0343】在一些情形下，生成類似構築體，只是含有不可裂解連接體。不可裂解連接體包括介於3-18個胺基酸大小範圍內之連接體。實例性生成分子中所用之不可裂解連接體之實例係GGS (例如包含於實例性構築體cx1356中)、GGSGGS (SEQ ID NO:10，包含於實例性構築體cx1357中)、GGSGGSGGS (SEQ ID NO:11，包含於實例性構築體cx1358中)、GGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO:12，包含於實例性構築體cx1359中)、GGSGGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO:13，包含於實例性構築體cx1360中)及GGGGGSGGGGGSGGGGGS或GGSGGGGSGGGGSGGGGS (分別SEQ ID NO:119或147；包含於實例性構築體cx681中)。

【0344】多肽鏈中之一者或二者另外編碼一或多個在Fc結構域之胺

基末端及/或在CD3結合區之羧基末端呈各種構形之TAA抗原結合結構域。在TAA提供為單鏈片段(例如sdAb或scFv)時，TAA抗原結合結構域在Fc異二聚體(例如臼及/或杵)之一條或兩條多肽鏈之N-末端由肽連接體(例如PGGGG (SEQ ID NO:102))連接，及/或在CD3結合區之一個或兩個結構域(例如VH及/或VL)之C-末端由肽連接體(例如GGGG (SEQ ID NO:103))連接。可採用其他類似肽連接體。當TAA在例如命名為cx3313或cx3315之實例性構築體中提供為Fab時，將編碼Fab之輕鏈之額外多核苷酸選殖至質體中。在此實例中，編碼之多肽包括一或多條多肽鏈，其中Fab之VH-CH1 (Fd)在Fc異二聚體之一條或兩條多肽鏈之N-末端連接，及/或在CD3結合區之一個或兩個結構域之C-末端連接，類似於上文。第三多核苷酸編碼Fab之VL-CL。所提供多重特異性多肽構築體中可採用結合至TAA之任何抗原結合結構域。

【0345】 實例性生成之蛋白質含有結合以下腫瘤相關抗原中之一者之抗原結合結構域：葉酸鹽受體α (FRα)、B7H3、EGFR、5T4、CD20及DLL3。生成之蛋白質係由組裝為Fab或scFv之VH及VL序列組成或係生成以含有結合結構域作為單一結構域抗體(sdAb)。各種TAA結合結構域在本文中使用時包括sdAb、scFv及Fab，包括來自以下來源：如SEQ ID NO: 123中所述之cMet sdAb (美國專利第US9,346,884號)；如SEQ ID NO: 127及128中所述之B7H3 Fab及scFv及如SEQ ID NO: 124中所述之scFv (美國公開案第WO2017030926號)；如SEQ ID NO: 129、130、167及168中所述之5T4 scFv (美國專利第US8,044,178號)；如SEQ ID NO: 189中所述之DLL3 scFv (美國公開案第US 2017/0037130號)；如SEQ ID NO: 125、189及190中所述之CD20 GA101 (美國公開案第US 2005/0123546

號)。生成含有1、2、3或4個TAA抗原結合結構域以例如提供單價、二價、三價或四價結合之多重特異性多肽構築體。在一些情形下，TAA抗原結合結構域相同。在一些情形下，TAA抗原結合結構域不同，使得生成之多重特異性多肽構築體對至少兩種不同TAA、或對於相同TAA之不同表位或相同TAA之相同表位展現特異性。舉例而言，生成含有對EGFR及cMet (例如，參見**圖5C**及命名為cx2973、cx2979及cx2977之實例性構築體)具有特異性之抗原結合結構域的實例性雙重靶向多重特異性多肽構築體。此外，生成含有對B7H3之相同表位或B7H3之兩個不同表位(例如**圖6A**及分別命名為cx2846及cx3094之實例性構築體)或5T4之相同表位(例如**圖7**，實例性構築體cx3252)具有特異性之不同TAA抗原結合結構域的實例性多重特異性多肽構築體。

【0346】 生成多核苷酸以編碼命名為以下之實例性多重特異性多肽構築體的多肽鏈：cx1547、cx309、cx1356、cx1357、cx1358、cx1359、cx1360、cx681及cx1762 (各自靶向FRα)；cx2513及cx3030 (各自靶向EGFR)；cx2973、cx2979、cx2977 (各自靶向cMET及EGFR)；cx3095、cx2846、cx3094、cx3314及cx3313 (各自靶向B7H3)；cx3315、cx3265及cx3262 (各自靶向5T4)；cx3309 (靶向CD20)；及cx3308 (靶向DLL3)，包括如**圖3、4A(上圖)-4C、5A-5E、6A-6B、7、8**及**9**中繪示之構築體。生成構築體以含有可裂解或不可裂解連接體。

【0347】 使用聚乙烯亞胺將編碼異二聚體經受限CD3結合蛋白之每一鏈之單獨質體以等莫耳比率瞬時轉染至哺乳動物細胞(HEK293或CHO)中。3-7天後收集分泌至上清液中之重組蛋白，並藉由蛋白A層析、之後藉由製備型粒徑篩析層析(SEC)或流通疏水相互作用層析(HIC)純化。由

於突變被設計成位置I253R或H435R之異二聚體Fc之一條鏈(通常臼-Fc)使得其不結合蛋白A，選擇性純化異二聚體蛋白。使用SEC (具有Superdex-200樹脂之AKTA)或FT-HIC (具有丁基/苯基瓊脂糖凝膠之AKTA)上之第二層分析步驟去除含有兩個異二聚體Fc之不期望之交叉配對物質，其疏水性更大且係預計分子量之兩倍。

【0348】 該方法傾向於產生異二聚體多重特異性多肽構築體，其含有如所述異二聚體Fc及經雙硫鍵穩定之抗CD3 Fv (具有如SEQ ID NO: 44中所述之突變G44C的抗CD3 VH及具有如SEQ ID NO: 72中所述之突變G100C的VL)之適當配對的物質。在4℃或增加之蛋白質濃度下延長培育時，純化之異二聚體經受限CD3結合蛋白係穩定的且不累積交叉配對的物質。

【0349】 **圖10A**顯示還原(R)及非還原(NR)條件下FRα靶向經受限CD3接合構築體cx1547 (預計分子量135kDa)之SDS-PAGE的影像。**圖10B**及**10C**顯示cx1547之尺寸排除分析之層析圖，其展現觀察到具有137.9kDa之測定分子量之單一物質。

實例2. 藉由流式細胞術之與癌細胞及原代T細胞的結合

【0350】 此實例闡述評價實例性構築體與T細胞或癌細胞之結合的研究。該等研究係在僅含有彼此分離之T細胞或僅癌細胞之單一培養物中實施。

1. **裂解及未裂解狀態下與原代T細胞之結合**

【0351】在蛋白水解裂解其可裂解連接體GSPAGLEADGSRQARVGS (SEQ ID NO:27)後，評價本揭示內容之實例性多重特異性多肽構築體(本文中稱作cx309)與原代T細胞表面上之CD3的

結合，該連接體含有間質蛋白酶、顆粒酶B及MMP-2之受質識別位點。cx309之腫瘤抗原結合結構域結合葉酸鹽受體α (FRα)，其在原代T細胞上不表現。

【0352】 原代T細胞係自分離自健康人類供體leukopak之PBMC負性富集。若說明，則在添加至細胞前使cx309預裂解，其中藉由SDS-PAGE確認裂解。具體而言，將cx309暴露於間質蛋白酶(**圖11A**)或基質金屬蛋白酶2 (MMP-2) (**圖11B**) (裂解)或未暴露於蛋白酶(未裂解)。將裂解或未裂解之cx309構築體滴定至細胞上或以單一飽和濃度添加。利用對人類Fc或人類化vhh具有特異性之螢光團偶聯之二級抗體檢測結合之cx309，且藉由流式細胞術量測結合。與二級抗體一起培育之細胞僅用作陰性對照。

【0353】 如**圖11A**及**11B**中所示，在構築體由Fc與CD3結合結構域之間之連接體內的間質蛋白酶或MMP-2裂解之後，在開始結合分析之前，cx309結合至T細胞。利用未裂解構築體未觀察到與T細胞結合，此顯示cx309能夠在裂解、亦即活性狀態下與T細胞結合，但在未裂解形式下展現不可檢測之T細胞結合。

2. **與T細胞對抗原表現癌細胞之結合之比較**

【0354】 評價在Fc與CD3結合結構域之組分之間具有各種連接體之額外代表性FRα靶向經受限CD3接合構築體與上述T細胞及與FRα表現細胞(Ovcar-5)的結合。對於該等研究，使用100nM每一構築體cx1356、cx681或cx1547。發現在Fc與CD3結合結構域之組分之間具有各種連接體之額外代表性FRα靶向經受限CD3接合構築體結合FRα表現細胞(Ovcar-5) (**圖12A**及**12C**)，但沒有結合T細胞之能力(**圖12B**及**12D**)。

【0355】 在類似研究中，發現實質上如實例1中所述產生之代表性EGFR靶向經受限CD3接合構築體cx3030結合EGFR表現細胞(Colo-205)(**圖13A**)，但沒有結合T細胞之能力(**圖13B**)。使用400nM每一構築體。此觀察進一步展現，經受限CD3接合構築體展示減弱之單獨的T細胞結合。

【0356】 如**圖14A-14D**中所示，針對代表性B7H3靶向經受限CD3接合體cx3313、cx3314及cx3095觀察到類似之結果。Cx3313及cx3314係如實例1中實質上闡述產生，且係由如實例1中所述之分別組裝為Fab或scFv之相同B7H3 VH及VL序列組成。cx3095含有係單一結構域抗體之B7H3結合結構域。如**圖14A**及**14B**中所示，發現代表性B7H3靶向經受限CD3接合體結合表現B7H3之A375細胞。然而，如**圖14C**及**14D**中所示，相同構築體不能單獨地結合至T細胞。在該等研究中，比較代表性B7H3靶向經受限CD3接合體cx3313、cx3314及cx3095之結合與靶向B7H3及CD3之雙重親和性重新靶向抗體(DART)-單體Fc格式(DART-Fc B7H3xCD3；參見例如WO2017030926A1)。DART-Fc B7H3xCD3含有如SEQ ID NO：169、145或146所示之B7H3序列。值得注意的是，觀察到僅DART-Fc格式容許在不存在B7H3接合下T細胞結合(**圖14C及14D**)，而所有格式皆展示與B7H3表現細胞結合(**圖14A及14B**)。

【0357】 在又一研究中，針對實質上如實例1中所述產生之代表性5T4靶向經受限CD3接合構築體cx3262及cx3315觀察到類似受限結合。cx3262之5T4結合結構域以單一結構域抗體形式生成，而cx3315之5T4結合結構域係利用如SEQ ID NO: 167及168中所述衍生之scFv生成(參見美國專利第US8,044,178號)。發現兩種代表性5T4靶向經受限CD3接合構築

體皆結合5T4表現細胞(Ovcar-5)(**圖15A**)，但沒有T細胞結合能力(**圖15B**)。使用400nM每一構築體。此觀察進一步展現，本文所述經受限CD3接合構築體展示減弱之單獨的T細胞結合。

【0358】 如**圖16A-16D**中所示，發現代表性CD20靶向經受限CD3接合構築體cx3490結合CD20表現細胞(Ramos)，但沒有T細胞結合能力。使用100nM cx3490構築體。cx3490之CD20結合結構域係源自如實例1中所述之CD20抗體GA101之VH及VL的scFv。

實例3. 使用報導基因分析之CD3報導基因T細胞活化的評價

【0359】 此實例闡述評價各種構築體活化與靶抗原表現細胞之共培養物中CD3 NFAT報告基因Jurkat細胞系的能力。該等分析用於展現，儘管經由CD3結合結構域之T細胞結合在分離之T細胞上受到限制或抑制(如實例2中所示)，但一旦本文提供之多重特異性多肽結合至同源抗原，其即能接合T細胞並介導T細胞活化。

1. **螢光素酶報導基因分析**

【0360】 將抗原靶向經受限CD3接合構築體滴定至靶細胞與表現NFAT驅動之螢光素酶報導基因(Promega, USA)之遺傳工程Jurkat細胞的共培養物上。在此分析中，CD3之接合導致NFAT信號傳導及細胞內螢光素酶之產生。將分析板於37℃下培育約6小時且隨後平衡至室溫。向樣品孔中添加Bio-Glo試劑且使用SpectraMax L微讀板儀量測上清液之發光。

【0361】 如**圖17**中所示，當在Fc與CD3結合結構域之間之連接體處裂解時，代表性FRα靶向經受限CD3接合構築體cx309展示顯著增強之活化T細胞的能力。此處，在分析開始前用間質蛋白酶預裂解cx309。值得注意的是，僅在FRα陽性Ovcar-5細胞系存在下觀察到T細胞活化。利用未

裂解之cx309觀察到一些T細胞活化。此結果與經受限CD3接合構築體在結合至其抗原時展現CD3結合之能力一致，且蛋白水解裂解後CD3接合增加。

2. **GFP報導基因分析**

【0362】 將抗原靶向經受限CD3接合構築體滴定至靶細胞與表現NFAT驅動之綠色螢光蛋白(GFP)之改造之Jurkat細胞的共培養物上。CD3之接合導致NFAT信號傳導及綠色螢光之產生。對於利用黏附性靶細胞之報導基因分析，接種靶細胞，使其在室溫下沉降均勻分佈，並於37℃下培育幾個小時以允許在添加報導基因細胞及抗原靶向經受限CD3接合構築體之前黏附。使用IncuCyte ZOOM系統對分析板進行連續成像，並藉由量測總綠色物體積分強度來確定CD3報導基因細胞活化。

【0363】 **圖18**及**19A-19D**顯示靶向葉酸鹽受體(FR α)之構築體；**圖20A-20D**顯示靶向EGFR或EGFR及cMET之構築體；**圖21A-21B**及**22A-22F**顯示靶向B7H3之構築體；**圖23A-23B**及**24**顯示靶向5T4之構築體；**圖25**顯示靶向CD20之構築體；且**圖26**顯示靶向DLL3之構築體。如所有圖中所示，所測試代表性構築體中之每一者能夠在靶表現細胞存在下誘導抗原依賴性T細胞活化，如增加之GFP信號所示。**圖22A-F**顯示活化程度與實例2中闡述之比較分子DART-Fc:B7H3xCD3類似或在一些情形下更大。

【0364】 值得注意的是，**圖19A-19D**展現當去除經受限CD3接合構築體之Fc部分從而容許不受限制之T細胞接合時，實現增強之dT細胞活化能力。若Fc與CD3結合結構域之間包括蛋白水解可裂解連接體，則可經由蛋白分解去除該等經受限CD3接合構築體之Fc。cx3238代表完全裂解之C-末端部分且經由共表現編碼以下之兩種質體產生：1) 連接至FRα結合

sdAb之C-末端之抗CD3 VH及2) 連接至FRα結合sdAb之C-末端之抗CD3 VL。此結果與Fc結構域之定位一致，此乃因限制CD3結合區結合CD3之能力。

實例4. 連接體長度對活性之評價

【0365】 使用實例3中所述之Jurkat報導基因分析測試Fc與包含CD3結合區之組分結構域(VH及VL)之間各種長度之連接體對T細胞活化能力的效應。該等分析中使用如實例1中所述生成之含有如**表E1**中所列舉之不同長度之基於GlySer之連接體的FRα靶向經受限CD3接合構築體。

表E1：測試之連接體長度	
SEQ ID NO	**連接體**
-	gs3：GGS
10	gs6：GGSGGS
11	gs9：GGSGGSGGS
12	gs12：GGSGGSGGSGGS
13	gs15：GGSGGSGGSGGSGGS
119	gs18：GGGGGSGGGGGSGGGGGS
147	gs18：GGSGGGGSGGGGSGGGGS

【0366】 如**圖27A-27F**中所示，連接體長度及T細胞活化能力呈正相關。顯示T細胞活化能力與連接體長度直接相關，從而指示較短之連接體更大程度地限制CD3結合。重要的是，構築體之T細胞接合依賴於TAA結合，此乃因該等構築體如實例2中所示未展現單獨的T細胞結合能力(例如，未結合靶TAA時之溶液形式) (**圖12A-12D**)。總之，該等構築體展現受限或抑制之與CD3之結合，但能夠以靶依賴性方式活化T細胞。

實例5. 功能活性之評價

【0367】 此實例闡述人類原代T細胞活體外分析中所測試之經受限

CD3接合構築體的評價及表徵。

1. **T細胞介導之細胞毒性**

【0368】 用CytoID紅螢光標記靶細胞。對於利用黏附性靶細胞之細胞毒性分析，接種靶細胞，使其在室溫下沉降均勻分佈，並於37℃下培育幾個小時以允許在添加其他分析組分之前黏附。原代T細胞自分離自健康人類供體leukopak之PBMC負向富集並以10:1-40:1 T細胞-對-靶細胞比率添加。添加綠色半胱天冬酶-3/7試劑，其螢光標記經歷細胞凋亡之細胞之核DNA。將抗體滴定至共培養物上並使用IncuCyte ZOOM系統對分析板進行連續成像。基於量測總的紅色/綠色重疊物體面積來確定靶細胞死亡。

【0369】 如**圖28A-28C**中所示，FR α 靶向經受限CD3接合構築體cx1547誘導抗原陽性而非抗原陰性細胞系之強效T細胞介導之細胞毒性，此與強效地誘導抗原依賴性T細胞活化之能力一致。類似地，B7H3靶向經受限CD3接合構築體誘導抗原陽性而非抗原陰性細胞系之強效T細胞介導之細胞毒性，如圖**29A-29F**及**30**中所示。該等構築體展示與替代格式DART-Fc B7H3xCD3類似之效力。該等觀察支持，與業內已知之其他CD3接合格式相比，本文提供之抗原靶向經受限CD3格式未展現或展現降低之單獨的T細胞結合，同時維持強效抗原依賴性T細胞細胞毒性誘導能力。

【0370】 如圖**31A-31F**中所示，與未裂解之FR α 靶向經受限CD3接合構築體(命名為cx1762 (參見圖4A))相比，僅含有可操作連接至TAA結合結構域之CD3結合結構域的代表C-末端蛋白水解產物之構築體(命名為cx2190 (參見圖4C))展示增強之抗原依賴性T細胞毒性誘導能力。

【0371】 如**圖32**中所示，代表性5T4靶向經受限CD3接合構築體cx3315誘導對表現5t4之細胞系Ovcar-5而非對5T4陰性細胞系CCRF-CEM的特異性T細胞毒性。

2. **T細胞活化**

【0372】 為評價T細胞活化，收集T細胞介導之細胞毒性分析之懸浮細胞並用活/死的染料及螢光團偶聯之抗CD4、抗CD8、抗CD25及/或抗CD71抗體染色。使用SONY SA3800光譜分析儀分析細胞並藉由量測CD25或CD71之表現程度或CD25或CD71陽性百分比確定CD4+或CD8+ T細胞活化。

【0373】 **圖33**顯示T細胞活化，如藉由在T細胞與Ovcar5細胞之共培養物中將裂解之cx309及未裂解、亦即無活性之cx309構築體培育20小時所量測。如所示，僅裂解之cx309能夠經由CD3結合介導FR α 依賴性T細胞活化。藉由CD25%之CD4及CD8群體之流式細胞分析監測T細胞活化。

【0374】 另外，亦測試含有B7H3 TAA之構築體。如**圖34A-34H**中所示，B7H3靶向經受限CD3接合構築體亦經由CD3結合介導B7H3依賴性T細胞活化。觀察到由經受限CD3接合構築體及DART-Fc格式之T細胞活化的類似效力，但由該兩個格式之T細胞結合的差異顯著(圖14A-14D)。

【0375】 因此，結果展現，所測試之抗原-靶標經受限CD3接合構築體誘導CD4及CD8 T細胞之強效抗原依賴性活化。

3. **T細胞細胞介素產生(ELISA)**

【0376】 藉由夾心式ELISA (BioLegend, USA)分析來自T細胞介導之細胞毒性分析之上清液的IFN γ 含量。遵循製造商之說明書並產生上清

液樣品之細胞介素濃度值插入之標準曲線。向吸光度值低於檢測下限之樣品分配等於最低標準濃度之一半的細胞介素濃度。**圖35**顯示，觀察到代表性B7H3靶向經受限CD3接合構築體以抗原依賴性方式引發T細胞產生IFNγ。

4. **T細胞細胞介素產生(FluoroSpot)**

【0377】 於4℃下將FluoroSpot膜用IFNγ及IL-2捕獲抗體塗佈過夜。用PBS洗滌膜，並添加抗體滴定物、靶細胞及PBMC或自PBMC負向富集之T細胞。對於靶細胞:PBMC共培養，以1:20比率接種細胞。對於靶細胞:T細胞共培養，以1:10比率接種細胞。將分析板於37℃下培育約24 h，並根據製造商(C.T.L.)說明書製備膜。使用CTL-ImmunoSpot S6通用分析儀對膜進行成像。在分析孔間使用均一暴露時間及強度設置量測細胞介素斑點計數。**圖36A-36B**及**37**分別繪示抗原靶向經受限CD3接合構築體以FRα或B7H3依賴性方式引發自T細胞產生細胞介素之能力。

5. **解離之腫瘤細胞殺死**

【0378】 使用Zombie紅及螢光團偶聯之抗CD45及抗EpCAM抗體對卵巢癌解離之腫瘤細胞樣品(Conversant)染色以藉由流式細胞術鑑別腫瘤細胞(CD45-/EpCAM+)及腫瘤浸潤免疫細胞(CD45+/EpCAM-)。將未染色之細胞接種於96孔組織培養板中，並以20 nM及10 ng/mL最終濃度添加代表性FRα-經受限CD3接合構築體及重組人類IL-2。於37℃下培養6天後，收集上清液等分試樣以藉由夾心式ELISA (上述)分析IFNγ含量，並去除含有非黏附細胞之其餘上清液。用PBS輕輕洗滌黏附細胞以去除殘餘之懸浮細胞及碎片，將培養基添加至細胞中，並使用IncuCyte ZOOM系統使分析孔成像以使腫瘤細胞鋪滿可視化。向樣品孔中添加等體積之

CellTiter-Glo存活率試劑，並使用SpectraMax L微讀板儀量測發光。**圖38A-38D**繪示抗原靶向經受限CD3接合構築體活化先前浸潤腫瘤樣品之T細胞及介導細胞毒性及腫瘤細胞消除的能力。

其他實施例

【0379】 儘管已結合本發明之詳細說明闡述本發明，但前述說明意欲闡釋而非限制本揭示內容之範疇，其係由隨附申請專利範圍之範疇來界定。其他態樣、優點及修改在以下申請專利範圍之範疇內。

序列表

SEQ ID NO	**序列**	**說明**
1	PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK	IgG1 Fc
2	PAPGGPSVFL FPPKPKDTLM ISRTPEVTCV VVDVSHEDPE VKFNWYVDGV EVHNAKTKPR EEQYNSTYRV VSVLTVLHQD WLNGKEYKCK VSNKALPAPI EKTISKAKGQ PREPQVYTLP PSRDELTKNQ VSLTCLVKGF YPSDIAVEWE SNGQPENNYK TTPPVLDSDG SFFLYSKLTV DKSRWQQGNV FSCSVMHEAL HNHYTQKSLS LSPGK	IgG2 Fc
3	PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK	IgG2 Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPA PIEKTISKTK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDISVE WESNGQPENN YKTTPPMLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK	
4	PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVQFKWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST FRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKT KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESSGQPEN NYNTTPPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNIFSCSVMH EALHNRFTQK SLSLSPGK	IgG3 Fc
5	PAPEFLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK	IgG4 Fc
6	PAPELLGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD SDGSFFLYSR	IgG4 Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK	
7	EPKSSDKTHTCPPC	鉸鏈
8	DKTHTCPPC	鉸鏈
9	ESKYGPPCPPC	鉸鏈
10	GGSGGS	(GGS)2
11	GGSGGSGGS	(GGS)3
12	GGSGGSGGSGGS	(GGS)4
13	GGSGGSGGSGGSGGS	(GGS)5
14	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSA	抗CD3 Hv
15	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNLWVFGGGTKLT VL	抗CD3 Lv
16	TYAMN	抗CD3 VH CDR1
17	RIRSKYNNYATYYADSVKD	抗CD3 VH CDR2
18	HGNFGNSYVSWFAY	抗CD3 VH CDR3
19	RSSTGAVTTSNYAN	抗CD3 VL CDR1
20	GTNKRAP	抗CD3 VL CDR2
21	ALWYSNLWV	抗CD3 VL CDR3
22	LEAD	顆粒酶B受質
23	RQAR	顆粒酶B受質
24	PAGL	MMP受質
25	TGLEADGSPAGLGRQARVG	連接體
26	TGLEADGSRQARVGPAGLG	連接體

SEQ ID NO	序列	說明
27	TGSPAGLEADGSRQARVGS	連接體
28	TGPAGLGLEADGSRQARVG	連接體
29	TGRQARVGLEADGSPAGLG	連接體
30	TGSRQARVGPAGLEADGS	連接體
31	TGPAGLGSRQARVGLEADGS	連接體
32	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH1
33	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSSLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH2
34	EVKLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH3
35	EVKLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDTAMYYCVRHGNFG NSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH4
36	EVKLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDTAMYYCVRHGNFG NSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH5
37	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF	抗CD3 VH6

SEQ ID NO	序列	說明
	GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	
38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH7
39	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTLVTVS	抗CD3 VH8
40	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTTVTVSS	抗CD3 VH9
41	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSYFAYWGQGTTVTVSS	抗CD3 VH10
42	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH11
43	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVKP	抗CD3 VH12
44	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF	抗CD3 VH13

SEQ ID NO	序列	說明
	GNSYVSWFAYWGQGTLVTVKP	
45	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGCGTLVTVKP	抗CD3 VH14
46	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH15
47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH16
48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKGLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH17
49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH18
50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH19
51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKCLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDAKNTLYLQMSSLRAEDTAVYYCVRHGNF	抗CD3 VH20

SEQ ID NO	序列	說明
	GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	
52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKCLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH21
53	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSSLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH22
54	EVKLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH23
55	EVKLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDTAMYYCVRHGNFG NSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH24
56	EVKLVESGGGLVKPGRSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKSILYLQMNSLKTEDTAMYYCVRHGNFG NSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH25
57	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMN WVRQAPGKCLEWVSRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH26
58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMS WVRQAPGKCLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF	抗CD3 VH27

SEQ ID NO	序列	說明
	GDSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	
59	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNF GNSYISYWAYWGQGTLVTVS	抗CD3 VH28
60	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTTVTVSS	抗CD3 VH29
61	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKGR FTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNF GNSYVSYFAYWGQGTTVTVSS	抗CD3 VH30
62	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKCLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDR FTISRDDSQSILYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNF GNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS	抗CD3 VH31
63	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNLWVFGGGTKLT VL	抗CD3 VL1
64	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGG KAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGCGTKL EIK	抗CD3 VL2
65	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGG KAALTITGAQAEDEADYYCALWYSNLWVFGGGTK	抗CD3 VL3

SEQ ID NO	序列	說明
	LTVL	
66	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLT VL	抗CD3 VL4
67	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSILGNK AALTITGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLT VL	抗CD3 VL5
68	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSILGNK AALTITGAQADDESDYYCALWYSNLWVFGGGTKLT VL	抗CD3 VL6
69	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTK LTVL	抗CD3 VL7
70	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKL TVL	抗CD3 VL8
71	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGG KAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTK LEIK	抗CD3 VL9
72	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGG KAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGCGTKL	抗CD3 VL10

SEQ ID NO	序列	說明
	EIK	
73	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGQCFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGG KAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGEGTKL EIK	抗CD3 VL11
74	QAVVTQESALTTSPGETVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQEKPDHLFTGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQTEDEAIYFCALWYSNLWVFGCGTKLT VL	抗CD3 VL12
75	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGG KAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTK LEIK	抗CD3 VL13
76	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGG KAALTITGAQAEDEADYYCALWYSNLWVFGCGTK LTVL	抗CD3 VL14
77	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDK AALTITGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLT VL	抗CD3 VL15
78	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSILGNK AALTITGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGCGTKLT VL	抗CD3 VL16
79	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSILGNK AALTITGAQADDESDYYCALWYSNLWVFGCGTKLT	抗CD3 VL17

SEQ ID NO	序列	說明
	VL	
80	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYAN WVQEKPGQAFRGLIGGTNKRAPGTPARFSGSLLGG KAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGCGTK LTVL	抗CD3 VL18
81	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGK AALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGCGTKLT VL	抗CD3 VL19
82	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPT	杵Fc
83	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMRSRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPT	臼Fc
84	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS	杵Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPT	
85	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMRSRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPT	臼Fc
86	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG	杵Fc
87	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMRSRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG	臼Fc
88	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS	杵Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG	
89	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMRSRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPG	臼Fc
90	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NRYTQKSLSLSPT	臼Fc
91	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRY TQKSLSLSPT	臼Fc
92	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL	臼Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NRYTQKSLSLSPG	
93	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNRY TQKSLSLSPG	臼Fc
94	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEAL HNHYTQKSLSLSPT	杵Fc
95	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNH YTQKSLSLSPT	杵Fc
96	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQ VSLWCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV	杵Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEAL HNHYTQKSLSLSPG	
97	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPCRDELTKNQVSL WCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNH YTQKSLSLSPG	杵Fc
98	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALH NRYTQKSLSLSPT	臼Fc
99	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNRY TQKSLSLSPT	臼Fc
100	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQ VSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL	臼Fc

SEQ ID NO	序列	說明
	DSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALH NRYTQKSLSLSPG	
101	DKTHTCPPCPAPGGPSVFLFPPKPKDTLYISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVCTLPPSRDELTKNQVSL SCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSD GSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVVHEALHNRY TQKSLSLSPG	臼Fc
102	PGGGG	肽連接體
103	GGGG	肽連接體
104	GPAGLGLEPDGSRQARVG	連接體
105	GGSGGGGIEPDIGGSGGS	連接體
106	GGSGGGGLEADTGGSGGS	連接體
107	GSIEPDIGS	連接體
108	GSLEADTGS	連接體
109	GGSGGGGIEPDGGGSGGS	連接體
110	GGSGGGGIEPDVGGSGGS	連接體
111	GGSGGGGIEPDSGGSGGS	連接體
112	GGSGGGGIEPDTGGSGGS	連接體
113	GGGSLEPDGSGS	連接體
114	GPAGLGLEADGSRQARVG	連接體
115	GGEGGGGSGGSGGGS	連接體
116	GSSAGSEAGGSGQAGVGS	連接體
117	GGSGGGGLEAEGSGGGGS	連接體
118	GGSGGGGIEPDPGGSGGS	連接體
119	GGGGGSGGGGGSGGGGGS	連接體
120	QLQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDNYAIG	FR α sdAb

SEQ ID NO	序列	說明
	WFRQAPGKEREGVSCISSSDGSTYYADSVKGRFTIS RNNAKGTVYLLMNSLKPEDTAVYYCATELVPACTY SNGRGPLDGMDYWGKGTQVTVKP	
121	EVQLLESGGGEVQPGGSLRLSCAASGSIFSIDATAW YRQAPGKQRELVAIITSSGSTNYPESVKGRFTISRDN AKNTVYLQMSSLRAEDTAVYYCNAITRYGGSTYDF WGQGTLVTVKP	FR α sdAb
122	EVQPGGSLRLSCAASETFGVVFTLGWYRQAPGKGR EFVARVTGTDTVDYAESVKGRFTISSDFARNTVYLQ MNSLRAEDTAVYYCNTGAYWGQGTLVTVKP	FR α sdAb
123	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFILDYYAIGW FRQAPGKEREGVLCIDASDDITYYADSVKGRFTISR DNAKNTVYLQMNSLKPEDTGVYYCATPIGLSSSCLL EYDYDYWGQGTLVTVKP	cMET sdAb
124	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMH WVRQAPGKGLEWVAYISSDSSAIYYADTVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCGRGRENIYYG SRLDYWGQGTTVTVSSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQ LTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQ KPGKAPKALIYSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQYNNYPFTFGQGTKLEIK	B7H3 scFv
125	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFSYSWIN WVRQAPGQGLEWMGRIFPGDGDTDYNGKFKGRVT ITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARNVFDGY WLVYWGQGTLVTVSGSGGGGSGGGGTGGGGSDIV MTQTPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLVSGVPDRFSGSGSGTDF TLKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGGGTKVEIK	CD20 scFv

SEQ ID NO	序列	說明
126	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSW IRQPPGKGLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVD TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEIVLTQSPG TLSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRPGQA PRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPE DFAVYYCQQYDRSPLTFGGGTKLEIK	DLL3 scFv
127	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMH WVRQAPGKGLEWVAYISSDSSAIYYADTVKGRFTIS RDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCGRGRENIYYG SRLDYWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSC	B7H3 Fd
128	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWY QQKPGKAPKALIYSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQYNNYPFTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	B7H3 LC
129	EVQLVESGGGLVQPKGSLKLSCAASGFTFNTYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKSNNYATYYADSVKDR FTISRDDSQSMLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRQWD YDVRAMNYWGQGTSVTVSSASTKGPSVFPLAPSSK STSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK PSNTKVDKKVEPKSC	5T4 Fd
130	DIVMTQSHIFMSTSVGDRVSITCKASQDVDTAVAW	5T4 LC

SEQ ID NO	序列	說明
	YQQKPGQSPKLLIYWASTRLTGVPDRFTGSGSGTDF TLTISNVQSEDLADYFCQQYSSYPYTFGGGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
131	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSFNYYW SWIRHHPGKGLEWIGYIYYSGSTYSNPSLKSRVTISV DTSKNQFSLTLSSVTAADTAVYYCARGYNWNYFDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSC	gpNMB Fd
132	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVDNNLVWY QQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTL TISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	gpNMB LC
133	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMN WVKQAPGKGLKWMAWINTYTGEPTYADDFKGRFA FSLETSASTASLQIINLKNEDTATYFCARIGDSSPSDY WGQGTTLTVSSSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSC	DLL3 Fd
134	SIVMTQTPKFLLVSAGDRVTITCKASQSVSNDVVWY QQKPGQSPKLLIYYASNRYTGVPDRFAGSGYGTDFS FTISTVQAEDLAVYFCQQDYTSPWTFGGGTKLEIRR	DLL3 LC

SEQ ID NO	序列	說明
	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	
135	GGGGGS	肽連接體
136	IEPDI	連接體
137	LEADT	連接體
138	IEPDG	連接體
139	IEPDV	連接體
140	IEPDS	連接體
141	IEPDT	連接體
142	LEPD	連接體
143	LEAE	連接體
144	IEPDP	連接體
145	QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYAN WVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPWTPARFSGSLLGG KAALTITGAQAEDEADYYCALWYSNLWVFGGGTK LTVLGGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSC AASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAYISSDSSAI YYADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRDEDTAV YYCGRGRENIYYGSRLDYWGQGTTVTVSSGGCGGG KVAALKEKVAALKEKVAALKEKVAALKE	B7-H3 x CD3雙特異性DART-A雙價抗體之第二多肽鏈
146	DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN QVSLSCAVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNRYTQKSLSLSPGK	B7-H3 x CD3雙特異性DART-A雙價抗體之第三多肽鏈

SEQ ID NO	序列	說明
147	GGSGGGGSGGGGSGGGGS	連接體
148	TGGSGGGGIEPDIGGSGGS	連接體
149	GGGGS	連接體
150	X_1 X_2 X_3 X_4 X_5(P4 P3 P2 P1 ↓ P1’) X1= I、L、Y、M、F、V或A；(P4 = I、L、Y、M、F、V或A) X2 = A、G、S、V、E、D、Q、N或Y；(P3 = A、G、S、V、E、D、Q、N或Y) X3 = H、P、A、V、G、S或T；(P2 = H、P、A、V、G、S或T) X4 = D或E；(P1 = D或E) X5 = I、L、Y、M、F、V、T、S、G或A (P1’ = I、L、Y、M、F、V、T、S、G或A)	共有連接體
151	X1 E X3 D X5 (P4 P3 P2 P1 ↓ P1’) X1 = I或L；(P4 = I或L) (P3 = E) X3 = P或A；(P2 = P或A) X5 = I、V、T、S或G (P1’ = I、V、T、S或G)	共有連接體
152	LEPDG	連接體
153	LEADG	連接體
154	X_1QARX$_5$(P1QAR↓(A/V)) X1 = 任何胺基酸；(P1係任何胺基酸) X5 = A或V	共有連接體
155	RQARX$_5$(RQAR(A/V)) X5 = A或V	共有連接體
156	RQARV	連接體
157	X1X2 X3 X4 (P3 P2 P1 ↓ P1’) X1 = P、V或A；(P3 = P、V或A)	共有連接體

SEQ ID NO	序列	說明
	X2 = Q或D；(P2 = Q或D) X3 = A或N；(P1 = A或N) X4 = L、I或M (P1' = L、I或M)	
158	PX2X3X4 (P3 P2 P1 ↓ P1') (P3 = P) X2 = Q或D；(P2 = Q或D) X3 = A或N；(P1係A或N) X4 = L或I (P1'係L或I)	共有連接體
159	GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
160	ATNFSLLKQAGDVEENPGP	P2A
161	QCTNYALLKLAGDVESNPGP	E2A
162	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP	F2A
163	EGRGSLLTCGDVEENPGP	T2A
164	LEGGGEGRGSLLTCGDVEENPGPR	T2A
165	GGATCTGGAGCAACAAACTTCTCACTACTCAAAC AAGCAGGTGACGTGGAGGAGAATCCCGGACCC	P2A DNA
166	GSPAGLEADGSRQARVGS	連接體
167	MLLGLKWVFF VVFYQGVHCE VQLVESGGGL VQPKGSLKLS CAASGFTFNT YAMNWVRQAP GKGLEWVARI RSKSNNYATY YADSVKDRFT ISRDDSQSML YLQMNNLKTE DTAMYXCVRQ WDYDVRAMNY WGQGTSVTVS S	抗5T4 VH
168	METHSQVFVY MLLWLSGVEG DIVMTQSHIF MSTSVGDRVS ITCKASQDVD TAVAWYQQKP GQSPKLLIYW ASTRLTGVPD RFTGSGSGTD FTLTISNVQS EDLADYFCQQ YSSYPYTFGG GTKLEIK	抗5T4 VL
169	DIQLTQSPSF LSASVGDRVT ITCKASQNVD	B7-H3 x CD3雙特

SEQ ID NO	序列	說明
	TNVAWYQQKP GKAPKALIYS ASYRYSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNNYPFTFGQ GTKLEIKGGG SGGGGEVQLV ESGGGLVQPG GSLRLSCAAS GFTFSTYAMN WVRQAPGKGL EWVGRIRSKY NNYATYYADS VKDRFTISRD DSKNSLYLQM NSLKTEDTAV YYCVRHGNFG NSYVSWFAYW GQGTLVTVSS GGCGGGEVAA LEKEVAALEK EVAALEKEVA ALEKGGGDKT HTCPPCPAPE AAGGPSVFLF PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQYNSTYRVV SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SREEMTKNQV SLWCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPGK	異性DART-A雙價抗體之第一多肽鏈
170	GGGGSGGGGSGGGGS	連接體
171	GGS(GGS)n 其中n係0至10	連接體
172	(GGGGGS)n 其中n係1至4	連接體
173	(GGGGS)n 其中n係1至5	連接體
174	$Gly_xXaa\text{-}Gly_y\text{-}Xaa\text{-}Gly_z$ Xaa獨立地選自A、V、L、I、M、F、W、P、G、S、	連接體

SEQ ID NO	序列	說明
	T、C、Y、N、Q、K、R、H、D或E x、y及z各自係介於1-5範圍內之整數	
175	Gly-Gly-Gly-Xaa-Gly-Gly-Gly-Xaa-Gly-Gly-Gly Xaa獨立地選自A、V、L、I、M、F、W、P、G、S、T、C、Y、N、Q、K、R、H、D或E	連接體
176	ATTTGSSPGPT	連接體
177	GGGGG-C-GGGGG	連接體
178	(EAAAK)n n=2-20	連接體
179	AS-(AP)n-GT n=2-20	連接體
180	AS-(EAAAK)n-GT n=2-20	連接體
181	(GGGGA)n n=2-20	連接體
182	(PGGGS)n n=2-20	連接體
183	(AGGGS)n n=2-20	連接體
184	GGS-(EGKSSGSGSESKST)n-GGS n=2-20	連接體
185	(SSSSG)n n=1-9	連接體
186	SSSASASSA	連接體
187	GSPGSPG	連接體
188	QVQLQESGPG LVKPSETLSL TCTVSGGSIS SYYWSWIRQP PGKGLEWIGY VYYSGTTNYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL	DLL3 scFv

SEQ ID NO	序列	說明
	KLSSVTAADT AVYYCASIAV TGFYFDYWGQ GTLVTVSSGG GGSGGGGSGG GGSEIVLTQS PGTLSLSPGE RVTLSCRASQ RVNNNYLAWY QQRPGQAPRL LIYGASSRAT GIPDRFSGSG SGTDFTLTIS RLEPEDFAVY YCQQYDRSPL TFGGGTKLEI K	
189	QVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYAFS YSWINWVRQA PGQGLEWMGR IFPGDGDTDY NGKFKGRVTI TADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCARNV FDGYWLVYWG QGTLVTVSS	CD20 VH
190	DIVMTQTPLS LPVTPGEPAS ISCRSSKSLL HSNGITYLYW YLQKPGQSPQ LLIYQMSNLV SGVPDRFSGS GSGTDFTLKI SRVEAEDVGV YYCAQNLELP YTFGGGTKVE IKRTV	CD20 VL

【序列表】

<110> 美商英伊布里克斯公司(INHIBRX, INC.)

<120> 具有經受限CD3結合的多重特異性多肽構築體及使用其之方法

<130> 744952000141

<140> TW 107112430
<141> 2018-04-11

<150> US 62/484,217
<151> 2017-04-11

<160> 190

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1 Fc

<400> 1

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
1 5 10 15

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
20 25 30

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
35 40 45

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
50 55 60

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
65 70 75 80

```
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
                85                  90                  95

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
            100                 105                 110

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
        115                 120                 125

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
    130                 135                 140

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
145                 150                 155                 160

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
                165                 170                 175

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
            180                 185                 190

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
        195                 200                 205

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    210                 215
```

<210> 2
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG2 Fc

<400> 2

```
Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
1               5                   10                  15
```

```
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
            20                  25                  30

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
        35                  40                  45

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
    50                  55                  60

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
65                  70                  75                  80

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
                85                  90                  95

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
            100                 105                 110

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
        115                 120                 125

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
    130                 135                 140

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
145                 150                 155                 160

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
                165                 170                 175

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
            180                 185                 190

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
        195                 200                 205

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
    210                 215
```

<210> 3
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG2 Fc

<400> 3

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
20 25 30

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
35 40 45

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
50 55 60

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
65 70 75 80

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
85 90 95

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
100 105 110

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
115 120 125

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
130 135 140

Ser Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
145 150 155 160

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
165 170 175

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
180 185 190

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 4
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG3 Fc

<400> 4

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
1 5 10 15

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
20 25 30

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp
35 40 45

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
50 55 60

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
65 70 75 80

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
85 90 95

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
100 105 110

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
115 120 125

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
130 135 140

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn
145 150 155 160

Asn Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
165 170 175

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
180 185 190

Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr
195 200 205

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 5
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4 Fc

<400> 5

Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
1 5 10 15

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
20 25 30

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
35 40 45

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
50 55 60

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
65 70 75 80

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
85 90 95

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
100 105 110

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
115 120 125

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
130 135 140

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
145 150 155 160

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
165 170 175

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
180 185 190

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
195 200 205

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 6
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4 Fc

<400> 6

```
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
1               5                  10                  15

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
            20                  25                  30

Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
        35                  40                  45

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
    50                  55                  60

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
65                  70                  75                  80

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
                85                  90                  95

Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
            100                 105                 110

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
        115                 120                 125

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
    130                 135                 140

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
145                 150                 155                 160
```

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
165 170 175

Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
180 185 190

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
195 200 205

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 7
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈

<400> 7

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10

<210> 8
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈

<400> 8

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈

<400> 9

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
1 5 10

<210> 10
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (GGS)2

<400> 10

Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 11
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (GGS)3

<400> 11

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (GGS)4

<400> 12

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> (GGS)5

<400> 13

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 14
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 Hv

<400> 14

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala
115 120 125

<210> 15
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 Lv

<400> 15

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-CD3 VH CDR1

<400> 16

Thr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 17
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH CDR2

<400> 17

Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 18
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH CDR3

<400> 18

His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 19
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL CDR1

<400> 19

Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser Asn Tyr Ala Asn
1 5 10

<210> 20
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL CDR2

<400> 20

Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL CDR3

<400> 21

Ala Leu Trp Tyr Ser Asn Leu Trp Val
1 5

<210> 22
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 顆粒酶B受質

<400> 22

Leu Glu Ala Asp
1

<210> 23
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 顆粒酶B受質

<400> 23

Arg Gln Ala Arg
1

<210> 24
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> MMP受質

<400> 24

Pro Ala Gly Leu
1

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 25

Thr Gly Leu Glu Ala Asp Gly Ser Pro Ala Gly Leu Gly Arg Gln Ala
1 5 10 15

Arg Val Gly

<210> 26
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 26

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

Gly Leu Gly

<210> 27
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 27

Thr Gly Ser Pro Ala Gly Leu Glu Ala Asp Gly Ser Arg Gln Ala Arg
1 5 10 15

Val Gly Ser

<210> 28
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 28

Thr Gly Pro Ala Gly Leu Gly Leu Glu Ala Asp Gly Ser Arg Gln Ala
1 5 10 15

Arg Val Gly

<210> 29
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 29

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

Gly Leu Gly

<210> 30
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 30

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

Gly Ser

<210> 31
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 31

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

Ala Asp Gly Ser
20

<210> 32
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH1

<400> 32

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 33
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH2

<400> 33

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 34
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH3

<400> 34

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 35
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH4

<400> 35

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 36
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH5

<400> 36

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 37
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH6

<400> 37

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 38
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH7

<400> 38

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 39
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-CD3 VH8

<400> 39

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120

<210> 40
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH9

<400> 40

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 41
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH10

<400> 41

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 42
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH11

<400> 42

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 43
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH12

<400> 43

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Lys Pro
115 120 125

<210> 44
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH13

<400> 44

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Lys Pro
115 120 125

<210> 45
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH14

<400> 45

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Cys Gly Thr Leu Val Thr Val Lys Pro
115 120 125

<210> 46
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH15

<400> 46

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 47
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH16

<400> 47

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 48
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH17

<400> 48

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 49
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH18

<400> 49

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 50
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH19

<400> 50

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 51
<211> 125

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH20

<400> 51

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 52
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH21

<400> 52

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 53
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH22

<400> 53

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 54
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH23

<400> 54

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 55
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH24

<400> 55

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 56
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH25

<400> 56

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 57
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH26

<400> 57

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

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

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

Ser Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 58
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH27

<400> 58

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asp Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 59
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH28

<400> 59

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120

<210> 60
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH29

<400> 60

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 61
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH30

<400> 61

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Tyr Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 62
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VH31

<400> 62

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

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

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

Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val Ser Trp Phe
100 105 110

Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 63
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL1

<400> 63

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 64
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL2

<400> 64

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 65
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL3

<400> 65

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 66
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL4

<400> 66

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 67
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL5

<400> 67

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 68
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL6

<400> 68

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 69
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL7

<400> 69

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 70
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL8

<400> 70

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 71
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL9

<400> 71

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 72
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 抗-CD3 VL10

<400> 72

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 73
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL11

<400> 73

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Cys Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Glu Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 74
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL12

<400> 74

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Ser Ala Leu Thr Thr Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Asp His Leu Phe Thr Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Thr Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 75
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL13

<400> 75

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 76
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL14

<400> 76

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 77
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL15

<400> 77

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Ile Gly Asp Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 78
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL16

<400> 78

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Ile Tyr Phe Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 79
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL17

<400> 79

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Val Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 80
<211> 109

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL18

<400> 80

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Glu Lys Pro Gly Gln Ala Phe Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Ala
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 81
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗-CD3 VL19

<400> 81

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

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
20 25 30

Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Arg Trp Val Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 82
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 82

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Thr
225

<210> 83
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 白Fc

<400> 83

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Arg Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Thr
225

<210> 84
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 84

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Thr
210 215 220

<210> 85
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 85

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Arg Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
130 135 140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Thr
210 215 220

<210> 86
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 86

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175
```

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 87
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 87

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Arg Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 88
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 88

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

<210> 89
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 89

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1               5                  10                  15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Arg Ser Arg
            20                  25                  30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
        35                  40                  45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
    50                  55                  60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65                  70                  75                  80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
                85                  90                  95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
            100                 105                 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
        115                 120                 125

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
    130                 135                 140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145                 150                 155                 160
```

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

<210> 90
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白Fc

<400> 90

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Thr
225

<210> 91
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 91

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
130 135 140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Thr
210 215 220

<210> 92
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白Fc

<400> 92

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 93
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 93

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

```
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65                  70                  75                  80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
                85                  90                  95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
            100                 105                 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
        115                 120                 125

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
    130                 135                 140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145                 150                 155                 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
                165                 170                 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
            180                 185                 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
        195                 200                 205

Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
    210                 215                 220
```

<210> 94
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 94

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1               5                  10                  15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
            20                  25                  30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
        35                  40                  45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
    50                  55                  60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65                  70                  75                  80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
                85                  90                  95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
            100                 105                 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
        115                 120                 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
    130                 135                 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145                 150                 155                 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
                165                 170                 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
            180                 185                 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val
        195                 200                 205
```

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Thr
225

<210> 95
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 95

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
130 135 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Thr
210 215 220

<210> 96
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 96

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 97
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 杵Fc

<400> 97

```
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1               5                  10                  15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
            20                  25                  30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
        35                  40                  45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
    50                  55                  60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65                  70                  75                  80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
                85                  90                  95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
            100                 105                 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
        115                 120                 125

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
    130                 135                 140

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145                 150                 155                 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
                165                 170                 175
```

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

<210> 98
<211> 226
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白Fc

<400> 98

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Thr
225

<210> 99
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 99

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
130 135 140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Thr
210 215 220

<210> 100
<211> 226

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 臼Fc

<400> 100

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly
225

<210> 101
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 白Fc

<400> 101

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Gly Gly Pro Ser
1 5 10 15

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Ser Arg
20 25 30

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
35 40 45

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
50 55 60

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
65 70 75 80

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
85 90 95

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
100 105 110

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
115 120 125

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
130 135 140

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
145 150 155 160

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
165 170 175

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
180 185 190

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Val His Glu Ala
195 200 205

Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接體

<400> 102

Pro Gly Gly Gly Gly
1 5

<210> 103
<211> 4

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 肽連接體

<400> 103

Gly Gly Gly Gly
1

<210> 104
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 104

Gly Pro Ala Gly Leu Gly Leu Glu Pro Asp Gly Ser Arg Gln Ala Arg
1 5 10 15

Val Gly

<210> 105
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 105

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Ile Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 106
<211> 18

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 106

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Leu Glu Ala Asp Thr Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 107
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 107

Gly Ser Ile Glu Pro Asp Ile Gly Ser
1 5

<210> 108
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 108

Gly Ser Leu Glu Ala Asp Thr Gly Ser
1 5

<210> 109
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 連接體

<400> 109

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 110
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Val Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 111
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 111

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 112
<211> 18

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 112

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Thr Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 113
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 113

Gly Gly Gly Ser Leu Glu Pro Asp Gly Ser Gly Ser
1 5 10

<210> 114
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 114

Gly Pro Ala Gly Leu Gly Leu Glu Ala Asp Gly Ser Arg Gln Ala Arg
1 5 10 15

Val Gly

<210> 115
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 115

Gly Gly Glu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 116
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 116

Gly Ser Ser Ala Gly Ser Glu Ala Gly Gly Ser Gly Gln Ala Gly Val
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 117
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 117

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Leu Glu Ala Glu Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 118
<211> 18

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 118

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Pro Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 119
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 119

Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 120
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FR alpha sdAb

<400> 120

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

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

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

Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Leu Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Glu Leu Val Pro Ala Cys Thr Tyr Ser Asn Gly Arg Gly Pro
100 105 110

Leu Asp Gly Met Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Lys
115 120 125

Pro

<210> 121
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FR alpha sdAb

<400> 121

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asp
20 25 30

Ala Thr Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Ile Ile Thr Ser Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Pro Glu Ser Val Lys
50 55 60

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

Gln Met Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Ile Thr Arg Tyr Gly Gly Ser Thr Tyr Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Lys Pro
115

<210> 122
<211> 101
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> FR alpha sdAb

<400> 122

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

Thr Phe Gly Val Val Phe Thr Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
20 25 30

Lys Gly Arg Glu Phe Val Ala Arg Val Thr Gly Thr Asp Thr Val Asp
35 40 45

Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Phe Ala
50 55 60

Arg Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
65 70 75 80

Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Gly Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
85 90 95

Val Thr Val Lys Pro
100

<210> 123
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> cMET sdAb

<400> 123

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30

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

Leu Cys Ile Asp Ala Ser Asp Asp Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Pro Ile Gly Leu Ser Ser Ser Cys Leu Leu Glu Tyr Asp Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Lys Pro
115 120 125

<210> 124
<211> 245
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B7H3 scFv

<400> 124

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln
130 135 140

Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
145 150 155 160

Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln
165 170 175

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg
180 185 190

Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp
195 200 205

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
210 215 220

Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Lys Leu Glu Ile Lys
245

<210> 125
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD20 scFv

<400> 125

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 Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu
130 135 140

Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser
145 150 155 160

Ser Lys Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Ile Thr Tyr Leu Tyr Trp Tyr
165 170 175

Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser
180 185 190

Asn Leu Val Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser 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 Ala Gln Asn Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
225 230 235 240

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 126
<211> 241
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 scFv

<400> 126

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu
130 135 140

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln
145 150 155 160

Arg Val Asn Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240

Lys

<210> 127
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B7H3 Fd

<400> 127

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

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

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

Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile Tyr Tyr Ala Asp Thr Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly Ser Arg Leu Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys
225

<210> 128
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> B7H3 LC

<400> 128

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys 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> 129
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5T4 Fd

<400> 129

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

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

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

Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Gln Ser Met
65 70 75 80

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

Tyr Cys Val Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met Asn Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys
225

<210> 130
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 5T4 LC

<400> 130

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Ile Phe Met Ser Thr Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Asp Thr Ala
20 25 30

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

```
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Leu Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Val Gln Ser
65                  70                  75                  80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr 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> 131
<211> 222
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> gpNMB Fd

<400> 131

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1               5                  10                  15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Phe
            20                  25                  30

Asn Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg His His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
        35                  40                  45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Ser Asn Pro Ser
    50                  55                  60

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

Ser Leu Thr Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
                85                  90                  95

Cys Ala Arg Gly Tyr Asn Trp Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
```

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

<210> 132
<211> 215
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> gpNMB LC

<400> 132

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Asn Asn
20 25 30

Leu Val Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro Pro
85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 133
<211> 223
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 Fd

<400> 133

Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met
35 40 45

```
Ala Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser Thr Ala Ser
65                  70                  75                  80

Leu Gln Ile Ile Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
                85                  90                  95

Ala Arg Ile Gly Asp Ser Ser Pro Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser 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
    210                 215                 220
```

<210> 134
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> DLL3 LC

<400> 134

```
Ser Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Lys Phe Leu Leu Val Ser Ala Gly
1               5                  10                  15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Ser Asn Asp
            20                  25                  30

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

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Ala Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Ser Phe Thr Ile Ser Thr Val Gln Ala
65                  70                  75                  80

Glu Asp Leu Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Asp Tyr Thr Ser Pro Trp
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Arg 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> 135
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 135

Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 136
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 136

Ile Glu Pro Asp Ile
1 5

<210> 137
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 137

Leu Glu Ala Asp Thr
1 5

<210> 138
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 138

Ile Glu Pro Asp Gly
1 5

<210> 139
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 139

Ile Glu Pro Asp Val
1 5

<210> 140
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 140

Ile Glu Pro Asp Ser
1 5

<210> 141
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 連接體

<400> 141

Ile Glu Pro Asp Thr
1 5

<210> 142
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 142

Leu Glu Pro Asp
1

<210> 143
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 143

Leu Glu Ala Glu
1

<210> 144
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 144

Ile Glu Pro Asp Pro
1 5

<210> 145
<211> 274
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B7-H3 x CD3雙特異性DART-A雙價抗體之第二多肽鏈

<400> 145

Gln Ala Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Arg Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Thr Ser
20 25 30

Asn Tyr Ala Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
35 40 45

Leu Ile Gly Gly Thr Asn Lys Arg Ala Pro Trp Thr Pro Ala Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Trp Tyr Ser Asn
85 90 95

Leu Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
130 135 140

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
145 150 155 160

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Ser Ser Asp Ser Ser Ala Ile
165 170 175

Tyr Tyr Ala Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
180 185 190

Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp
195 200 205

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly Arg Gly Arg Glu Asn Ile Tyr Tyr Gly
210 215 220

Ser Arg Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala
245 250 255

Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu Lys Glu Lys Val Ala Ala Leu
260 265 270

Lys Glu

<210> 146
<211> 227
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B7-H3 x CD3雙特異性DART-A雙價抗體之第三多肽鏈

<400> 146

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
130 135 140

Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
210 215 220

Pro Gly Lys
225

<210> 147
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 147

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 148
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 148

Thr Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ile Glu Pro Asp Ile Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Ser

<210> 149
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 149

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 150
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> X1= I, L, Y, M, F, V, 或 A

<220>
<221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> X2 = A, G, S, V, E, D, Q, N, 或 Y

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> X3 = H, P, A, V, G, S, 或 T

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> X4 = D 或 E

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> X5 = I, L, Y, M, F, V, T, S, G 或 A

<400> 150

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 151
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> X1 = I 或 L

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> X3 = P 或 A

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> X5 = I, V, T, S, 或 G

<400> 151

Xaa Glu Xaa Asp Xaa
1 5

<210> 152
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 152

Leu Glu Pro Asp Gly
1 5

<210> 153
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 153

Leu Glu Ala Asp Gly
1 5

<210> 154
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> X1 = 任何胺基酸

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> X5 = A 或 V

<400> 154

Xaa Gln Ala Arg Xaa
1 5

<210> 155
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> X5 = A 或 V

<400> 155

Arg Gln Ala Arg Xaa
1 5

<210> 156
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 156

Arg Gln Ala Arg Val
1 5

<210> 157
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 共有連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> X1 = P, V 或 A

<220>
<221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> X2 = Q 或 D

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> X3 = A 或 N

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> X4 = L, I 或 M

<400> 157

Xaa Xaa Xaa Xaa
1

<210> 158
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 共有連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> X2 = Q 或 D

<220>
<221> VARIANT
<222> (3)..(3)
<223> X3 = A 或 N

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> X4 = L 或 I

<400> 158

Pro Xaa Xaa Xaa
1

<210> 159
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P2A

<400> 159

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 160
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> P2A

<400> 160

Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val Glu Glu Asn
1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 161
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> E2A

<400> 161

Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val Glu Ser
1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro
20

<210> 162
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> F2A

<400> 162

Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 163
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> T2A

<400> 163

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
1 5 10 15

Gly Pro

<210> 164
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> T2A

<400> 164

Leu Glu Gly Gly Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp
1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Pro Gly Pro Arg
20

<210> 165
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> P2A

<400> 165
ggatctggag caacaaactt ctcactactc aaacaagcag gtgacgtgga ggagaatccc 60

ggaccc 66

<210> 166
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 166

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

Gly Ser

<210> 167
<211> 141
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗-5T4 VH

<220>
<221> misc_feature
<222> (116)..(116)
<223> Xaa可爲任何天然胺基酸

<400> 167

Met Leu Leu Gly Leu Lys Trp Val Phe Phe Val Val Phe Tyr Gln Gly
1 5 10 15

Val His Cys Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Lys Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Ser Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
65 70 75 80

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
85 90 95

Gln Ser Met Leu Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
100 105 110

Ala Met Tyr Xaa Cys Val Arg Gln Trp Asp Tyr Asp Val Arg Ala Met
115 120 125

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 168
<211> 127
<212> PRT
<213> 小家鼠

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 抗-5T4 VL

<400> 168

Met Glu Thr His Ser Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Gly Val Glu Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser His Ile Phe Met Ser
20 25 30

Thr Ser Val Gly Asp Arg Val Ser Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
35 40 45

Val Asp Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Leu Thr Gly Val Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

85 90 95

Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser
100 105 110

Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 169
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> B7-H3 x CD3雙特異性DART-A雙價抗體之第一多肽鏈

<400> 169

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Phe Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30

Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ala Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln

115 120 125

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
130 135 140

Ser Thr Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
145 150 155 160

Glu Trp Val Gly Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
165 170 175

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
180 185 190

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr
195 200 205

Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Val
210 215 220

Ser Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
225 230 235 240

Gly Gly Cys Gly Gly Gly Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala
245 250 255

Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu Glu Lys Glu Val Ala Ala Leu
260 265 270

Glu Lys Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
275 280 285

Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
290 295 300

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
305 310 315 320

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
325 330 335

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
340 345 350

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
355 360 365

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
370 375 380

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
385 390 395 400

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
405 410 415

Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
420 425 430

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
435 440 445

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
450 455 460

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
465 470 475 480

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
485 490 495

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
500

<210> 170

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 170

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 171
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (4)..(6)
<223> 重複0至10次

<400> 171

Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 172
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(6)
<223> 重複1至4次

<400> 172

Gly Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 173
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> 重複1至5次

<400> 173

Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 174
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(1)
<223> 重複1至5次

<220>
<221> VARIANT
<222> (2)..(2)
<223> X2= A, V, L, I, M,F, W, P, G, S, T, C, Y, N,Q, K, R, H, D, 或 E

<220>
<221> REPEAT
<222> (3)..(3)
<223> 重複1至5次

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)

<223> X4 = A, V, L, I, M,F, W, P, G, S, T, C, Y, N,Q, K, R, H, D, 或 E

<220>
<221> REPEAT
<222> (5)..(5)
<223> 重複1至5次

<400> 174

Gly Xaa Gly Xaa Gly
1 5

<210> 175
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> VARIANT
<222> (4)..(4)
<223> X4 = A, V, L, I, M,F, W, P, G, S, T, C, Y, N,Q, K, R, H, D, 或 E

<220>
<221> VARIANT
<222> (8)..(8)
<223> X8 = A, V, L, I, M,F, W, P, G, S, T, C, Y, N,Q, K, R, H, D, 或 E

<400> 175

Gly Gly Gly Xaa Gly Gly Gly Xaa Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 176
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 176

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr
1 5 10

<210> 177
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 177

Gly Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> 重複2至20次

<400> 178

Glu Ala Ala Ala Lys
1 5

<210> 179
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (3)..(4)
<223> 重複2至20次

<400> 179

Ala Ser Ala Pro Gly Thr
1 5

<210> 180
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (3)..(7)
<223> 重複2至20次

<400> 180

Ala Ser Glu Ala Ala Ala Lys Gly Thr
1 5

<210> 181
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> 重複2至20次

<400> 181

Gly Gly Gly Gly Ala
1 5

<210> 182
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> 重複2至20次

<400> 182

Pro Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 183
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> 重複2至20次

<400> 183

Ala Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 184
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (4)..(17)
<223> 重複2至20次

<400> 184

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> 185
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<220>
<221> REPEAT
<222> (1)..(5)
<223> 重複1至9次

<400> 185

Ser Ser Ser Ser Gly
1 5

<210> 186
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接體

<400> 186

Ser Ser Ser Ala Ser Ala Ser Ser Ala
1 5

<210> 187
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 連接體

<400> 187

Gly Ser Pro Gly Ser Pro Gly
1 5

<210> 188
<211> 241
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> DLL3 scFv

<400> 188

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu
130 135 140

Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln
145 150 155 160

Arg Val Asn Asn Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln
165 170 175

Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile
180 185 190

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
195 200 205

Ile Ser Arg Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
210 215 220

Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240

Lys

<210> 189
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD20 VH

<400> 189

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 Tyr Ala Phe Ser Tyr Ser
20 25 30

Trp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asp Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asn Val Phe Asp Gly Tyr Trp Leu Val Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 190
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> CD20 VL

<400> 190

Asp Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Lys Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

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

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Gln Met Ser Asn Leu Val 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 Ala Gln Asn
85 90 95

Leu Glu Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val
115

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種多重特異性多肽構築體，該多重特異性多肽構築體自N-末端至C-末端依序包含：

結合至腫瘤相關抗原(TAA)之第一抗原結合結構域；

異二聚體免疫球蛋白Fc區；

連接體；及

結合CD3之CD3結合區，

其中：

該第一抗原結合結構域為單一結構域抗體(sdAb)；

該CD3結合區為經雙硫鍵穩定之抗CD3 Fv抗體片段(dsFv)，其包含可變重鏈區(VH)及可變輕鏈區(VL)，其中該dsFv之VH連接至該異二聚體Fc區之一多肽，且該dsFv之VL連接至該異二聚體Fc區之另一多肽；及

該CD3結合區不能或實質上不能結合或接合CD3，除非該抗原結合結構域結合至其TAA。

【請求項2】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該連接體為多肽連接體。

【請求項3】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該連接體為可裂解連接體。

【請求項4】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該連接體主要由胺基酸甘胺酸及絲胺酸組成。

【請求項5】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該連接體包含胺基酸序列：GGS或SEQ ID NO:10。

【請求項6】

如請求項3之多重特異性多肽構築體，其中該可裂解連接體係作為蛋白酶之受質之多肽。

【請求項7】

如請求項6之多重特異性多肽構築體，其中該蛋白酶係選自由下列組成之群：間質蛋白酶、基質金屬蛋白酶(matrix metalloprotease；MMP)、顆粒酶B及其組合。

【請求項8】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中多重特異性多肽構築體包含位於該第一抗原結合結構域與異二聚體免疫球蛋白Fc區之間之第一連接肽(LP1)。

【請求項9】

如請求項8之多重特異性多肽構築體，其中LP1包含SEQ ID NO: 10-13、119、135、147或149之胺基酸序列。

【請求項10】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其進一步包含：

位於該CD3結合區之羧基末端的第二抗原結合結構域；及

位於該CD3結合結構域及該第二抗原結合結構域之間之第二連接肽(LP2)。

【請求項11】

如請求項10之多重特異性多肽構築體，其中LP2包含SEQ ID NO: 10-13、119、135、147或149之胺基酸序列。

【請求項12】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該CD3結合區結合CD3(CD3ε)。

【請求項13】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該抗CD3 dsFv包含：

VH，其具有SEQ ID NO: 40、80或81之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 40、80或81具有至少90%序列一致性之序列；及

VL，其具有SEQ ID NO: 72之胺基酸序列，或與SEQ ID NO: 72具有至少90%序列一致性之序列。

【請求項14】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區係人類IgG1、人類IgG2、人類IgG3或人類IgG4之Fc區，或係其免疫活性片段。

【請求項15】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含多肽，該多肽包含SEQ ID NO: 1至6任一者所述之胺基酸序列或與SEQ ID NO: 1至6任一者具有至少90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%序列一致性之胺基酸序列。

【請求項16】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中與同二聚體Fc區之多肽相比，該異二聚體Fc區之一個或兩個Fc多肽包含至少一個胺基酸修飾以促進異二聚化。

【請求項17】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc區之該等Fc多肽中之每一者包含杵臼結構修飾(knob-into-hole modification)或包含電荷突變以增加該等多肽之靜電互補。

【請求項18】

如請求項17之多重特異性多肽構築體，其中該異二聚體Fc區之一Fc多肽包含T366W/S354C/H435R修飾且該異二聚體Fc區之另一多肽包含T366S/L368A/Y407V/Y349C。

【請求項19】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有至少一個胺基酸修飾以增強FcRn結合之多肽。

【請求項20】

如請求項17之多重特異性多肽構築體，其中該Fc區包含含有至少一個胺基酸修飾之多肽，該至少一個胺基酸修飾降低效應物功能或降低與Fcγ受體或C1q之結合。

【請求項21】

如請求項1之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域或該第一及第二抗原結合結構域中之各者獨立地結合至選自以下之腫瘤抗原：1-92-LFA-3、5T4、α-4整聯蛋白、α-V整聯蛋白、α4β1整聯蛋白、α4β7整聯蛋白、AGR2、抗路易斯-Y (Anti-Lewis-Y)、艾普林J受體(Apelin J receptor)、APRIL、B7-H3、B7-H4、BAFF、BTLA、C5補體、C-242、CA9、CA19-9 (路易斯a)、碳酸酐酶9、CD2、CD3、CD6、CD9、CD11a、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD27、CD28、

CD30、CD33、CD38、CD40、CD40L、CD41、CD44、CD44v6、CD47、CD51、CD52、CD56、CD64、CD70、CD71、CD74、CD80、CD81、CD86、CD95、CD117、CD123、CD125、CD132、(IL-2RG)、CD133、CD137、CD138、CD166、CD172A、CD248、CDH6、CEACAM5 (CEA)、CEACAM6 (NCA-90)、密連蛋白-3、密連蛋白-4、cMet、膠原、Cripto、CSFR、CSFR-1、CTLA-4、CTGF、CXCL10、CXCL13、CXCR1、CXCR2、CXCR4、CYR61、DL44、DLK1、DLL3、DLL4、DPP-4、DSG1、EDA、EDB、EGFR、EGFRviii、內皮素B受體(ETBR)、ENPP3、EpCAM、EPHA2、EPHB2、ERBB3、RSV之F蛋白、FAP、FGF-2、FGF8、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FLT-3、葉酸鹽受體α (FRα)、GAL3ST1、G-CSF、G-CSFR、GD2、GITR、GLUT1、GLUT4、GM-CSF、GM-CSFR、GP IIb/IIIa受體、Gp130、GPIIB/IIIA、GPNMB、GRP78、HER2/neu、HER3、HER4、HGF、hGH、HVEM、玻尿酸酶、ICOS、IFNα、IFNβ、IFNγ、IgE、IgE受體(FceRI)、IGF、IGF1R、IL1B、IL1R、IL2、IL11、IL12、IL12p40、IL-12R、IL-12Rβ1、IL13、IL13R、IL15、IL17、IL18、IL21、IL23、IL23R、IL27/IL27R (wsx1)、IL29、IL-31R、IL31/IL31R、IL2R、IL4、IL4R、IL6、IL6R、胰島素受體、鋸齒狀配體鋸齒狀1、鋸齒狀2、KISS1-R、LAG-3、LIF-R、路易斯X、LIGHT、LRP4、LRRC26、Ly6G6D、LyPD1、MCSP、間皮素、MRP4、MUC1、Mucin-16 (MUC16、CA-125)、Na/K ATP酶、NGF、納卡斯楚因蛋白(Nicastrin)、Notch受體、Notch 1、Notch 2、Notch 3、Notch 4、NOV、OSM-R、OX-40、PAR2、PDGF-AA、PDGF-BB、

PDGFRα、PDGFRβ、PD-1、PD-L1、PD-L2、磷脂醯基-絲胺酸、P1GF、PSCA、PSMA、PSGR、RAAG12、RAGE、SLC44A4、磷酸神經鞘胺醇1、STEAP1、STEAP2、TAG-72、TAPA1、TEM-8、TGFβ、TIGIT、TIM-3、TLR2、TLR4、TLR6、TLR7、TLR8、TLR9、TMEM31、TNFα、TNFR、TNFRS12A、TRAIL-R1、TRAIL-R2、運鐵蛋白、運鐵蛋白受體、TRK-A、TRK-B、uPAR、VAP1、VCAM-1、VEGF、VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C、VEGF-D、VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、VISTA、WISP-1、WISP-2及WISP-3。

【請求項22】

如請求項8之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域及該第二抗原結合結構域結合至相同TAA。

【請求項23】

如請求項8之多重特異性多肽構築體，其中該第一抗原結合結構域及該第二抗原結合結構域結合不同TAA。

【請求項24】

一種多核苷酸，其編碼如請求項1至23中任一項之多重特異性多肽構築體。

【請求項25】

一種多核苷酸，其包含編碼如請求項1至23中任一項之多重特異性多肽構築體之第一多肽的第一核酸序列及編碼該多重特異性多肽構築體之第二多肽的第二核酸序列，其中該第一核酸序列及該第二核酸序列係藉由以下隔開：內部核糖體進入位點(internal ribosome entry site；IRES)，或編碼自我裂解肽之核酸，或會造成核糖體跳躍之肽的核酸。

【請求項26】

一種載體，其包含如請求項24之多核苷酸。

【請求項27】

一種細胞，其包含如請求項24之多核苷酸。

【請求項28】

一種產生多重特異性多肽構築體之方法，該方法包含向細胞中引入如請求項24之多核苷酸，及在產生該多重特異性多肽構築體條件下培養該細胞。

【請求項29】

一種多重特異性多肽構築體，其係藉由如請求項28之方法產生。

【請求項30】

一種組合物，其包含如請求項1至23中任一項之多重特異性多肽構築體及醫藥上可接受之載劑。

【請求項31】

一種刺激或誘導免疫反應之方法，該方法包含使靶細胞及T細胞與如請求項1至23中任一項之多重特異性多肽構築體或如請求項30之組合物接觸，該靶細胞表現該多重特異性多肽構築體識別之腫瘤相關抗原，其中該接觸係在離體或活體外實施。

【請求項32】

如請求項30之組合物，其中該組合物係用於刺激或誘發個體免疫反應。

【請求項33】

如請求項30之組合物，其中該組合物係用於治療個體之疾病或病

況。

【請求項34】

如請求項33之組合物，其中該疾病或病況係腫瘤或癌症。

【請求項35】

一種如請求項30之組合物之用途，其係用於製備刺激或誘發個體免疫反應之藥物。

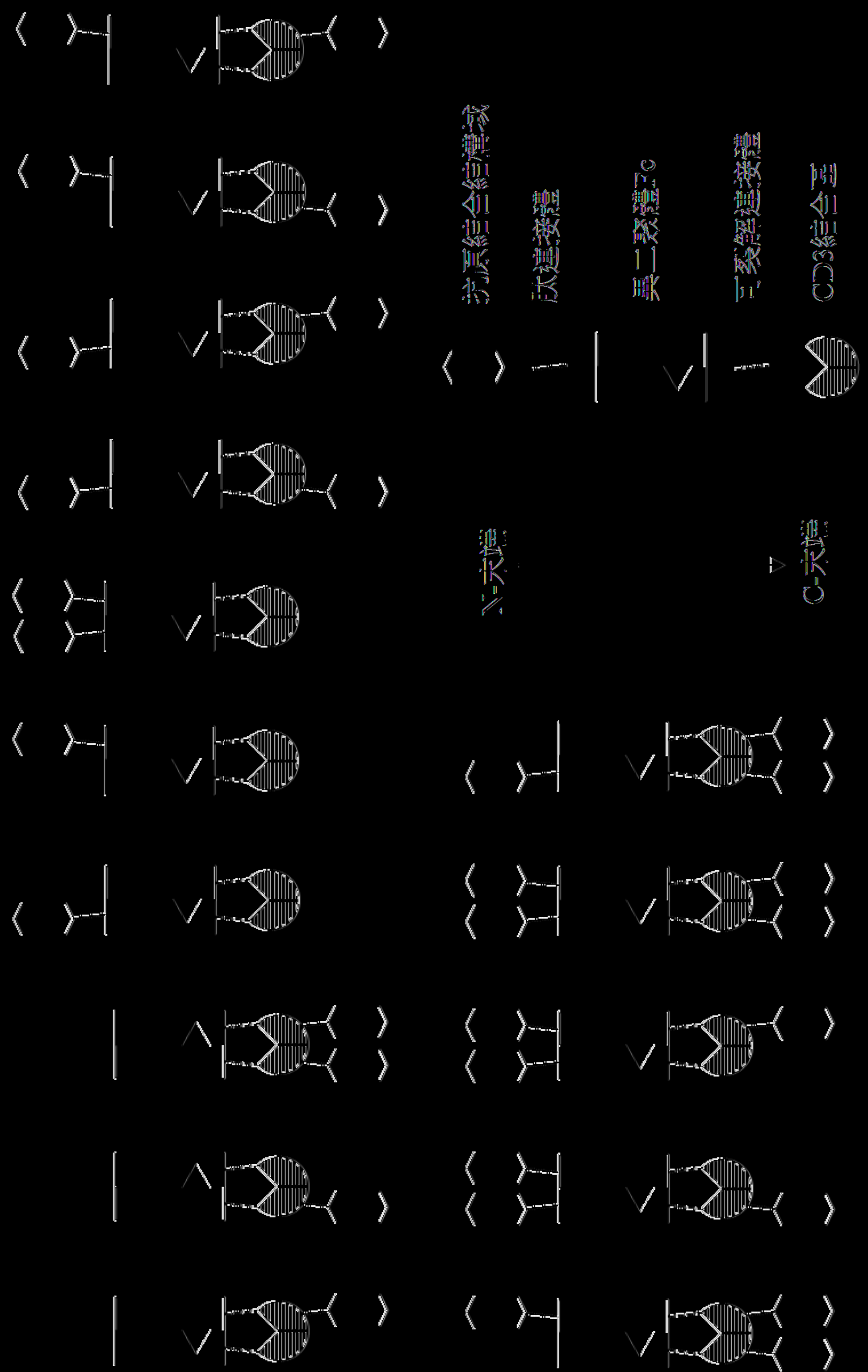
【請求項36】

一種如請求項30之組合物之用途，其係用於製備治療個體之疾病或病況之藥物。

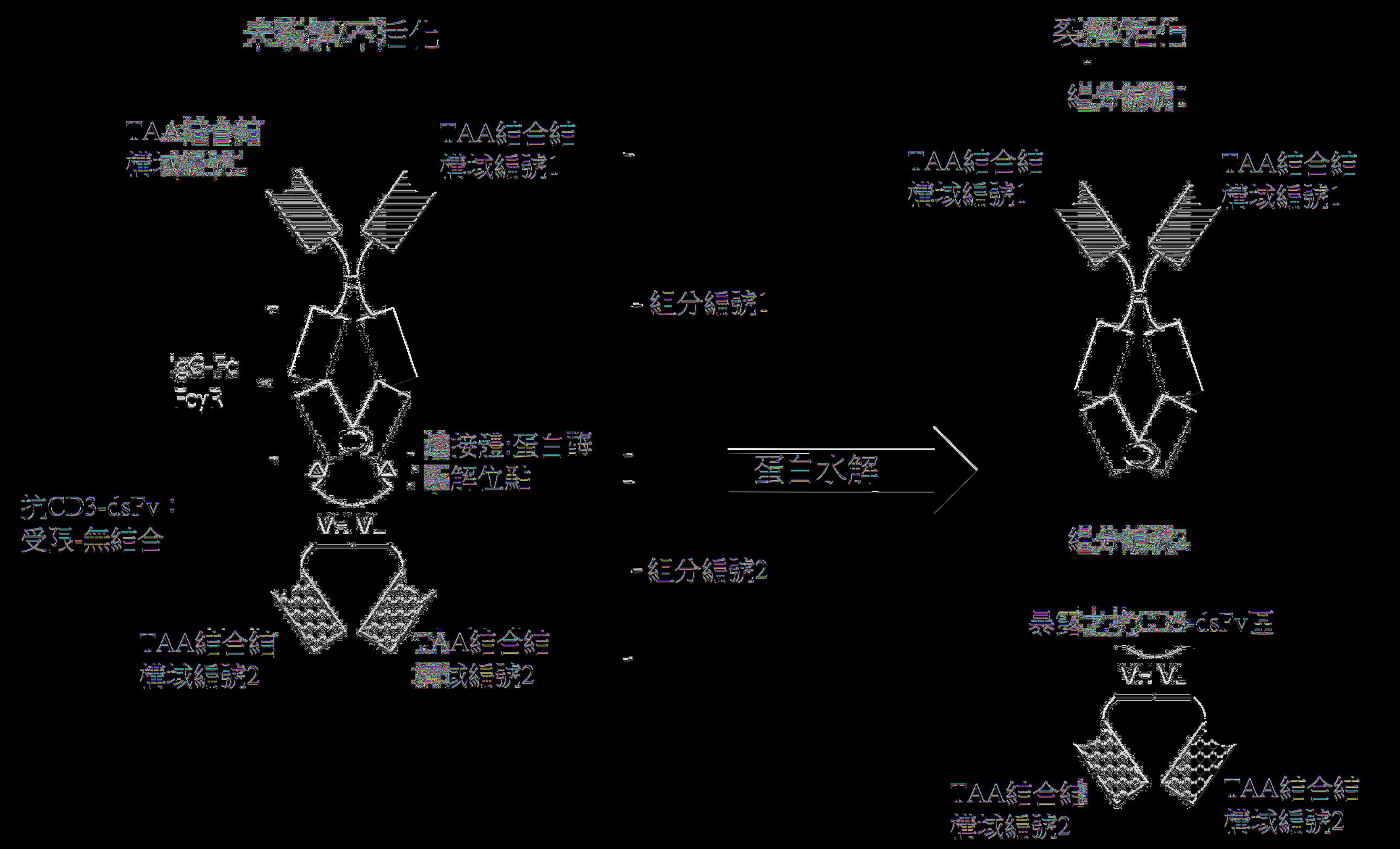
【請求項37】

如請求項36之用途，其中該個體之疾病或病況係腫瘤或癌症。

【發明圖式】

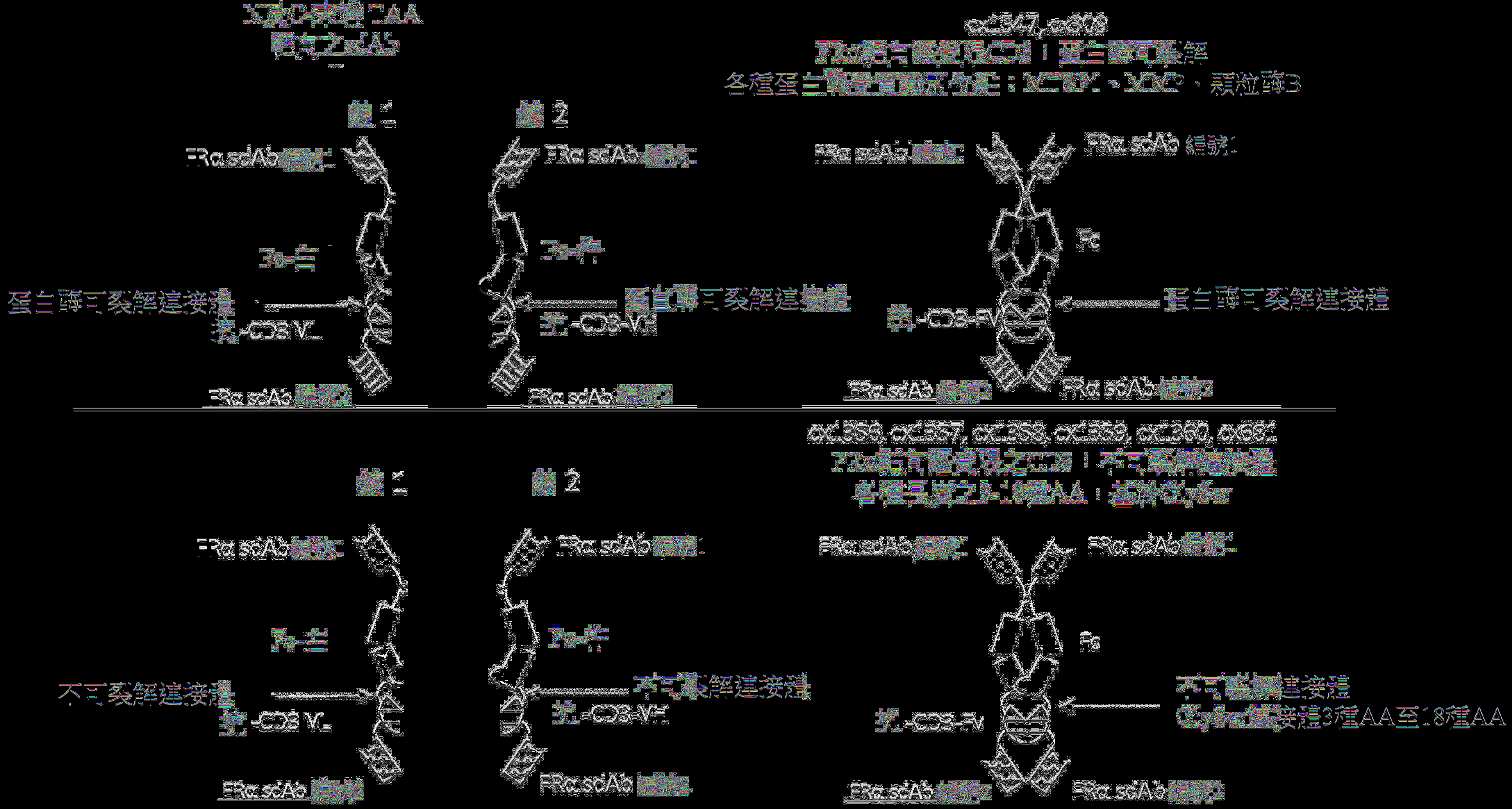


【圖1】



TAA結合結構域編號1
TAA結合結構域編號1
組分編號1
連接體:蛋白酶裂解位點
抗CD3-dsFv：受限-無結合
VH VL
組分編號2
TAA結合結構域編號2
TAA結合結構域編號2
蛋白水解
TAA結合結構域編號1
TAA結合結構域編號1
組分編號2
VH VL
TAA結合結構域編號2
TAA結合結構域編號2

【圖2】



【圖3】

【圖4A】

鏈1
鏈2
蛋白酶可裂解連接子
抗-CD3 VL
抗-CD3-VH
FRα scAb
FRα scAb
抗-CD3-FV

【圖4B】

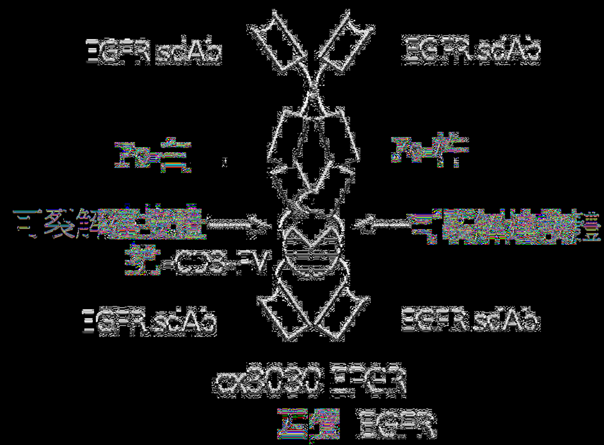
鏈2
鏈3
抗-CD3-VH
FRα scAb
蛋白酶可裂解連接子
抗-CD3 VL
FRα scAb
抗-CD3-FV

【圖4C】

鏈2
抗-CD3 VL
抗-CD3-VH
FRα scAb
FRα scAb
抗-CD3-FV

EGFR sdAb
EGFR sdAb
抗-CD3-Fv

【圖5A】


EGFR sdAb
EGFR sdAb
EGFR sdAb
EGFR sdAb
抗-CD3-Fv

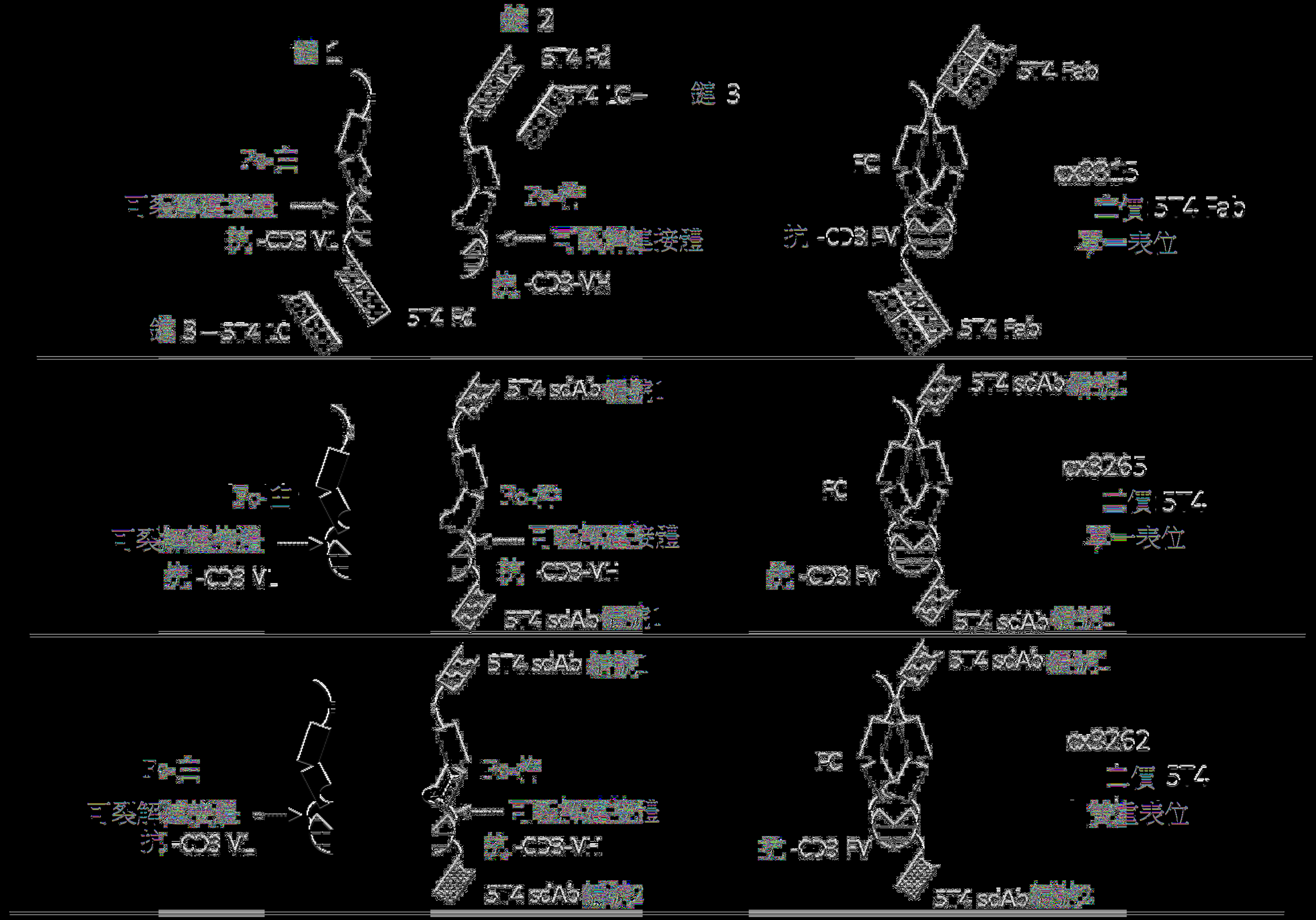
【圖5B】

cMET scAb
EGFR scAb
cMet
EGFR
cMET scAb
EGFR scAb
cMet
EGFR

圖 2
37-3 scAb 第2
37-3 scAb
37-3 scAb 第1
37-3 scAb 第2
37-3 scAb
37-3 scAb 第1
37-3 scAb 第2
37-3 scAb
37-3 scAb 第1

37'3 sc3v
cx33'4
一入 37'3 sc3v
第一表位
Fc
步 -03-3v
37'3 sc3v
37'3 sc3v
cx33'3
一入 37'3 sc3
第一表位
Fc
步 -03-3v
37'3 sc3
37'3 sc3v
步 -03-3v
Fc
37'3 sc3v
37'3 sc3
步 -03-3v
Fc
37'3 sc3

（圖3）


鏈 1
鏈 2
鏈 3
5T4 Fd
5T4 Fab
Fc
抗-CD3 VL
抗-CD3-VH
抗-CD3 Fv
cx3265
cx3262
二價 5T4
5T4 sdAb

【圖7】

A-A
B-B
C-C
D-D
E-E
F-F
G-G
H-H
I-I
J-J
K-K
L-L
M-M
N-N
O-O
P-P
Q-Q
R-R
S-S
T-T
U-U
V-V
W-W
X-X
Y-Y
Z-Z
第1圖
第2圖
第3圖
第4圖
第5圖
第6圖
第7圖
第8圖
第9圖
第10圖
第11圖
第12圖
第13圖
第14圖
第15圖
第16圖
第17圖
第18圖
第19圖
第20圖
第21圖
第22圖
第23圖
第24圖
第25圖
第26圖
第27圖
第28圖
第29圖
第30圖
第31圖
第32圖
第33圖
第34圖
第35圖
第36圖
第37圖
第38圖
第39圖
第40圖
第41圖
第42圖
第43圖
第44圖
第45圖
第46圖
第47圖
第48圖
第49圖
第50圖
第51圖
第52圖
第53圖
第54圖
第55圖
第56圖
第57圖
第58圖
第59圖
第60圖
第61圖
第62圖
第63圖
第64圖
第65圖
第66圖
第67圖
第68圖
第69圖
第70圖
第71圖
第72圖
第73圖
第74圖
第75圖
第76圖
第77圖
第78圖
第79圖
第80圖
第81圖
第82圖
第83圖
第84圖
第85圖
第86圖
第87圖
第88圖
第89圖
第90圖
第91圖
第92圖
第93圖
第94圖
第95圖
第96圖
第97圖
第98圖
第99圖
第100圖
第101圖
第102圖
第103圖
第104圖
第105圖
第106圖
第107圖
第108圖
第109圖
第110圖
第111圖
第112圖
第113圖
第114圖
第115圖
第116圖
第117圖
第118圖
第119圖
第120圖
第121圖
第122圖
第123圖
第124圖
第125圖
第126圖
第127圖
第128圖
第129圖
第130圖
第131圖
第132圖
第133圖
第134圖
第135圖
第136圖
第137圖
第138圖
第139圖
第140圖
第141圖
第142圖
第143圖
第144圖
第145圖
第146圖
第147圖
第148圖
第149圖
第150圖
第151圖
第152圖
第153圖
第154圖
第155圖
第156圖
第157圖
第158圖
第159圖
第160圖
第161圖
第162圖
第163圖
第164圖
第165圖
第166圖
第167圖
第168圖
第169圖
第170圖
第171圖
第172圖
第173圖
第174圖
第175圖
第176圖
第177圖
第178圖
第179圖
第180圖
第181圖
第182圖
第183圖
第184圖
第185圖
第186圖
第187圖
第188圖
第189圖
第190圖
第191圖
第192圖
第193圖
第194圖
第195圖
第196圖
第197圖
第198圖
第199圖
第200圖
第201圖
第202圖
第203圖
第204圖
第205圖
第206圖
第207圖
第208圖
第209圖
第210圖
第211圖
第212圖
第213圖
第214圖
第215圖
第216圖
第217圖
第218圖
第219圖
第220圖
第221圖
第222圖
第223圖
第224圖
第225圖
第226圖
第227圖
第228圖
第229圖
第230圖
第231圖
第232圖
第233圖
第234圖
第235圖
第236圖
第237圖
第238圖
第239圖
第240圖
第241圖
第242圖
第243圖
第244圖
第245圖
第246圖
第247圖
第248圖
第249圖
第250圖
第251圖
第252圖
第253圖
第254圖
第255圖
第256圖
第257圖
第258圖
第259圖
第260圖
第261圖
第262圖
第263圖
第264圖
第265圖
第266圖
第267圖
第268圖
第269圖
第270圖
第271圖
第272圖
第273圖
第274圖
第275圖
第276圖
第277圖
第278圖
第279圖
第280圖
第281圖
第282圖
第283圖
第284圖
第285圖
第286圖
第287圖
第288圖
第289圖
第290圖
第291圖
第292圖
第293圖
第294圖
第295圖
第296圖
第297圖
第298圖
第299圖
第300圖
第301圖
第302圖
第303圖
第304圖
第305圖
第306圖
第307圖
第308圖
第309圖
第310圖
第311圖
第312圖
第313圖
第314圖
第315圖
第316圖
第317圖
第318圖
第319圖
第320圖
第321圖
第322圖
第323圖
第324圖
第325圖
第326圖
第327圖
第328圖
第329圖
第330圖
第331圖
第332圖
第333圖
第334圖
第335圖
第336圖
第337圖
第338圖
第339圖
第340圖
第341圖
第342圖
第343圖
第344圖
第345圖
第346圖
第347圖
第348圖
第349圖
第350圖
第351圖
第352圖
第353圖
第354圖
第355圖
第356圖
第357圖
第358圖
第359圖
第360圖
第361圖
第362圖
第363圖
第364圖
第365圖
第366圖
第367圖
第368圖
第369圖
第370圖
第371圖
第372圖
第373圖
第374圖
第375圖
第376圖
第377圖
第378圖
第379圖
第380圖
第381圖
第382圖
第383圖
第384圖
第385圖
第386圖
第387圖
第388圖
第389圖
第390圖
第391圖
第392圖
第393圖
第394圖
第395圖
第396圖
第397圖
第398圖
第399圖
第400圖
第401圖
第402圖
第403圖
第404圖
第405圖
第406圖
第407圖
第408圖
第409圖
第410圖
第411圖
第412圖
第413圖
第414圖
第415圖
第416圖
第417圖
第418圖
第419圖
第420圖
第421圖
第422圖
第423圖
第424圖
第425圖
第426圖
第427圖
第428圖
第429圖
第430圖
第431圖
第432圖
第433圖
第434圖
第435圖
第436圖
第437圖
第438圖
第439圖
第440圖
第441圖
第442圖
第443圖
第444圖
第445圖
第446圖
第447圖
第448圖
第449圖
第450圖
第451圖
第452圖
第453圖
第454圖
第455圖
第456圖
第457圖
第458圖
第459圖
第460圖
第461圖
第462圖
第463圖
第464圖
第465圖
第466圖
第467圖
第468圖
第469圖
第470圖
第471圖
第472圖
第473圖
第474圖
第475圖
第476圖
第477圖
第478圖
第479圖
第480圖
第481圖
第482圖
第483圖
第484圖
第485圖
第486圖
第487圖
第488圖
第489圖
第490圖
第491圖
第492圖
第493圖
第494圖
第495圖
第496圖
第497圖
第498圖
第499圖
第500圖
第501圖
第502圖
第503圖
第504圖
第505圖
第506圖
第507圖
第508圖
第509圖
第510圖
第511圖
第512圖
第513圖
第514圖
第515圖
第516圖
第517圖
第518圖
第519圖
第520圖
第521圖
第522圖
第523圖
第524圖
第525圖
第526圖
第527圖
第528圖
第529圖
第530圖
第531圖
第532圖
第533圖
第534圖
第535圖
第536圖
第537圖
第538圖
第539圖
第540圖
第541圖
第542圖
第543圖
第544圖
第545圖
第546圖
第547圖
第548圖
第549圖
第550圖
第551圖
第552圖
第553圖
第554圖
第555圖
第556圖
第557圖
第558圖
第559圖
第560圖
第561圖
第562圖
第563圖
第564圖
第565圖
第566圖
第567圖
第568圖
第569圖
第570圖
第571圖
第572圖
第573圖
第574圖
第575圖
第576圖
第577圖
第578圖
第579圖
第580圖
第581圖
第582圖
第583圖
第584圖
第585圖
第586圖
第587圖
第588圖
第589圖
第590圖
第591圖
第592圖
第593圖
第594圖
第595圖
第596圖
第597圖
第598圖
第599圖
第600圖
第601圖
第602圖
第603圖
第604圖
第605圖
第606圖
第607圖
第608圖
第609圖
第610圖
第611圖
第612圖
第613圖
第614圖
第615圖
第616圖
第617圖
第618圖
第619圖
第620圖
第621圖
第622圖
第623圖
第624圖
第625圖
第626圖
第627圖
第628圖
第629圖
第630圖
第631圖
第632圖
第633圖
第634圖
第635圖
第636圖
第637圖
第638圖
第639圖
第640圖
第641圖
第642圖
第643圖
第644圖
第645圖
第646圖
第647圖
第648圖
第649圖
第650圖
第651圖
第652圖
第653圖
第654圖
第655圖
第656圖
第657圖
第658圖
第659圖
第660圖
第661圖
第662圖
第663圖
第664圖
第665圖
第666圖
第667圖
第668圖
第669圖
第670圖
第671圖
第672圖
第673圖
第674圖
第675圖
第676圖
第677圖
第678圖
第679圖
第680圖
第681圖
第682圖
第683圖
第684圖
第685圖
第686圖
第687圖
第688圖
第689圖
第690圖
第691圖
第692圖
第693圖
第694圖
第695圖
第696圖
第697圖
第698圖
第699圖
第700圖
第701圖
第702圖
第703圖
第704圖
第705圖
第706圖
第707圖
第708圖
第709圖
第710圖
第711圖
第712圖
第713圖
第714圖
第715圖
第716圖
第717圖
第718圖
第719圖
第720圖
第721圖
第722圖
第723圖
第724圖
第725圖
第726圖
第727圖
第728圖
第729圖
第730圖
第731圖
第732圖
第733圖
第734圖
第735圖
第736圖
第737圖
第738圖
第739圖
第740圖
第741圖
第742圖
第743圖
第744圖
第745圖
第746圖
第747圖
第748圖
第749圖
第750圖
第751圖
第752圖
第753圖
第754圖
第755圖
第756圖
第757圖
第758圖
第759圖
第760圖
第761圖
第762圖
第763圖
第764圖
第765圖
第766圖
第767圖
第768圖
第769圖
第770圖
第771圖
第772圖
第773圖
第774圖
第775圖
第776圖
第777圖
第778圖
第779圖
第780圖
第781圖
第782圖
第783圖
第784圖
第785圖
第786圖
第787圖
第788圖
第789圖
第790圖
第791圖
第792圖
第793圖
第794圖
第795圖
第796圖
第797圖
第798圖
第799圖
第800圖
第801圖
第802圖
第803圖
第804圖
第805圖
第806圖
第807圖
第808圖
第809圖
第810圖
第811圖
第812圖
第813圖
第814圖
第815圖
第816圖
第817圖
第818圖
第819圖
第820圖
第821圖
第822圖
第823圖
第824圖
第825圖
第826圖
第827圖
第828圖
第829圖
第830圖
第831圖
第832圖
第833圖
第834圖
第835圖
第836圖
第837圖
第838圖
第839圖
第840圖
第841圖
第842圖
第843圖
第844圖
第845圖
第846圖
第847圖
第848圖
第849圖
第850圖
第851圖
第852圖
第853圖
第854圖
第855圖
第856圖
第857圖
第858圖
第859圖
第860圖
第861圖
第862圖
第863圖
第864圖
第865圖
第866圖
第867圖
第868圖
第869圖
第870圖
第871圖
第872圖
第873圖
第874圖
第875圖
第876圖
第877圖
第878圖
第879圖
第880圖
第881圖
第882圖
第883圖
第884圖
第885圖
第886圖
第887圖
第888圖
第889圖
第890圖
第891圖
第892圖
第893圖
第894圖
第895圖
第896圖
第897圖
第898圖
第899圖
第900圖
第901圖
第902圖
第903圖
第904圖
第905圖
第906圖
第907圖
第908圖
第909圖
第910圖
第911圖
第912圖
第913圖
第914圖
第915圖
第916圖
第917圖
第918圖
第919圖
第920圖
第921圖
第922圖
第923圖
第924圖
第925圖
第926圖
第927圖
第928圖
第929圖
第930圖
第931圖
第932圖
第933圖
第934圖
第935圖
第936圖
第937圖
第938圖
第939圖
第940圖
第941圖
第942圖
第943圖
第944圖
第945圖
第946圖
第947圖
第948圖
第949圖
第950圖
第951圖
第952圖
第953圖
第954圖
第955圖
第956圖
第957圖
第958圖
第959圖
第960圖
第961圖
第962圖
第963圖
第964圖
第965圖
第966圖
第967圖
第968圖
第969圖
第970圖
第971圖
第972圖
第973圖
第974圖
第975圖
第976圖
第977圖
第978圖
第979圖
第980圖
第981圖
第982圖
第983圖
第984圖
第985圖
第986圖
第987圖
第988圖
第989圖
第990圖
第991圖
第992圖
第993圖
第994圖
第995圖
第996圖
第997圖
第998圖
第999圖
第1000圖

S10
S20
S30
S40
S50
S60
S70
S80
S90
S100
S110
S120
S130
S140
S150
S160
S170
S180
S190
S200
S210
S220
S230
S240
S250
S260
S270
S280
S290
S300
S310
S320
S330
S340
S350
S360
S370
S380
S390
S400
S410
S420
S430
S440
S450
S460
S470
S480
S490
S500
S510
S520
S530
S540
S550
S560
S570
S580
S590
S600
S610
S620
S630
S640
S650
S660
S670
S680
S690
S700
S710
S720
S730
S740
S750
S760
S770
S780
S790
S800
S810
S820
S830
S840
S850
S860
S870
S880
S890
S900
S910
S920
S930
S940
S950
S960
S970
S980
S990
S1000
S1010
S1020
S1030
S1040
S1050
S1060
S1070
S1080
S1090
S1100
S1110
S1120
S1130
S1140
S1150
S1160
S1170
S1180
S1190
S1200
S1210
S1220
S1230
S1240
S1250
S1260
S1270
S1280
S1290
S1300
S1310
S1320
S1330
S1340
S1350
S1360
S1370
S1380
S1390
S1400
S1410
S1420
S1430
S1440
S1450
S1460
S1470
S1480
S1490
S1500
S1510
S1520
S1530
S1540
S1550
S1560
S1570
S1580
S1590
S1600
S1610
S1620
S1630
S1640
S1650
S1660
S1670
S1680
S1690
S1700
S1710
S1720
S1730
S1740
S1750
S1760
S1770
S1780
S1790
S1800
S1810
S1820
S1830
S1840
S1850
S1860
S1870
S1880
S1890
S1900
S1910
S1920
S1930
S1940
S1950
S1960
S1970
S1980
S1990
S2000
S2010
S2020
S2030
S2040
S2050
S2060
S2070
S2080
S2090
S2100
S2110
S2120
S2130
S2140
S2150
S2160
S2170
S2180
S2190
S2200
S2210
S2220
S2230
S2240
S2250
S2260
S2270
S2280
S2290
S2300
S2310
S2320
S2330
S2340
S2350
S2360
S2370
S2380
S2390
S2400
S2410
S2420
S2430
S2440
S2450
S2460
S2470
S2480
S2490
S2500
S2510
S2520
S2530
S2540
S2550
S2560
S2570
S2580
S2590
S2600
S2610
S2620
S2630
S2640
S2650
S2660
S2670
S2680
S2690
S2700
S2710
S2720
S2730
S2740
S2750
S2760
S2770
S2780
S2790
S2800
S2810
S2820
S2830
S2840
S2850
S2860
S2870
S2880
S2890
S2900
S2910
S2920
S2930
S2940
S2950
S2960
S2970
S2980
S2990
S3000
S3010
S3020
S3030
S3040
S3050
S3060
S3070
S3080
S3090
S3100
S3110
S3120
S3130
S3140
S3150
S3160
S3170
S3180
S3190
S3200
S3210
S3220
S3230
S3240
S3250
S3260
S3270
S3280
S3290
S3300
S3310
S3320
S3330
S3340
S3350
S3360
S3370
S3380
S3390
S3400
S3410
S3420
S3430
S3440
S3450
S3460
S3470
S3480
S3490
S3500
S3510
S3520
S3530
S3540
S3550
S3560
S3570
S3580
S3590
S3600
S3610
S3620
S3630
S3640
S3650
S3660
S3670
S3680
S3690
S3700
S3710
S3720
S3730
S3740
S3750
S3760
S3770
S3780
S3790
S3800
S3810
S3820
S3830
S3840
S3850
S3860
S3870
S3880
S3890
S3900
S3910
S3920
S3930
S3940
S3950
S3960
S3970
S3980
S3990
S4000
S4010
S4020
S4030
S4040
S4050
S4060
S4070
S4080
S4090
S4100
S4110
S4120
S4130
S4140
S4150
S4160
S4170
S4180
S4190
S4200
S4210
S4220
S4230
S4240
S4250
S4260
S4270
S4280
S4290
S4300
S4310
S4320
S4330
S4340
S4350
S4360
S4370
S4380
S4390
S4400
S4410
S4420
S4430
S4440
S4450
S4460
S4470
S4480
S4490
S4500
S4510
S4520
S4530
S4540
S4550
S4560
S4570
S4580
S4590
S4600
S4610
S4620
S4630
S4640
S4650
S4660
S4670
S4680
S4690
S4700
S4710
S4720
S4730
S4740
S4750
S4760
S4770
S4780
S4790
S4800
S4810
S4820
S4830
S4840
S4850
S4860
S4870
S4880
S4890
S4900
S4910
S4920
S4930
S4940
S4950
S4960
S4970
S4980
S4990
S5000
S5010
S5020
S5030
S5040
S5050
S5060
S5070
S5080
S5090
S5100
S5110
S5120
S5130
S5140
S5150
S5160
S5170
S5180
S5190
S5200
S5210
S5220
S5230
S5240
S5250
S5260
S5270
S5280
S5290
S5300
S5310
S5320
S5330
S5340
S5350
S5360
S5370
S5380
S5390
S5400
S5410
S5420
S5430
S5440
S5450
S5460
S5470
S5480
S5490
S5500
S5510
S5520
S5530
S5540
S5550
S5560
S5570
S5580
S5590
S5600
S5610
S5620
S5630
S5640
S5650
S5660
S5670
S5680
S5690
S5700
S5710
S5720
S5730
S5740
S5750
S5760
S5770
S5780
S5790
S5800
S5810
S5820
S5830
S5840
S5850
S5860
S5870
S5880
S5890
S5900
S5910
S5920
S5930
S5940
S5950
S5960
S5970
S5980
S5990
S6000
S6010
S6020
S6030
S6040
S6050
S6060
S6070
S6080
S6090
S6100
S6110
S6120
S6130
S6140
S6150
S6160
S6170
S6180
S6190
S6200
S6210
S6220
S6230
S6240
S6250
S6260
S6270
S6280
S6290
S6300
S6310
S6320
S6330
S6340
S6350
S6360
S6370
S6380
S6390
S6400
S6410
S6420
S6430
S6440
S6450
S6460
S6470
S6480
S6490
S6500
S6510
S6520
S6530
S6540
S6550
S6560
S6570
S6580
S6590
S6600
S6610
S6620
S6630
S6640
S6650
S6660
S6670
S6680
S6690
S6700
S6710
S6720
S6730
S6740
S6750
S6760
S6770
S6780
S6790
S6800
S6810
S6820
S6830
S6840
S6850
S6860
S6870
S6880
S6890
S6900
S6910
S6920
S6930
S6940
S6950
S6960
S6970
S6980
S6990
S7000
S7010
S7020
S7030
S7040
S7050
S7060
S7070
S7080
S7090
S7100
S7110
S7120
S7130
S7140
S7150
S7160
S7170
S7180
S7190
S7200
S7210
S7220
S7230
S7240
S7250
S7260
S7270
S7280
S7290
S7300
S7310
S7320
S7330
S7340
S7350
S7360
S7370
S7380
S7390
S7400
S7410
S7420
S7430
S7440
S7450
S7460
S7470
S7480
S7490
S7500
S7510
S7520
S7530
S7540
S7550
S7560
S7570
S7580
S7590
S7600
S7610
S7620
S7630
S7640
S7650
S7660
S7670
S7680
S7690
S7700
S7710
S7720
S7730
S7740
S7750
S7760
S7770
S7780
S7790
S7800
S7810
S7820
S7830
S7840
S7850
S7860
S7870
S7880
S7890
S7900
S7910
S7920
S7930
S7940
S7950
S7960
S7970
S7980
S7990
S8000
S8010
S8020
S8030
S8040
S8050
S8060
S8070
S8080
S8090
S8100
S8110
S8120
S8130
S8140
S8150
S8160
S8170
S8180
S8190
S8200
S8210
S8220
S8230
S8240
S8250
S8260
S8270
S8280
S8290
S8300
S8310
S8320
S8330
S8340
S8350
S8360
S8370
S8380
S8390
S8400
S8410
S8420
S8430
S8440
S8450
S8460
S8470
S8480
S8490
S8500
S8510
S8520
S8530
S8540
S8550
S8560
S8570
S8580
S8590
S8600
S8610
S8620
S8630
S8640
S8650
S8660
S8670
S8680
S8690
S8700
S8710
S8720
S8730
S8740
S8750
S8760
S8770
S8780
S8790
S8800
S8810
S8820
S8830
S8840
S8850
S8860
S8870
S8880
S8890
S8900
S8910
S8920
S8930
S8940
S8950
S8960
S8970
S8980
S8990
S9000
S9010
S9020
S9030
S9040
S9050
S9060
S9070
S9080
S9090
S9100
S9110
S9120
S9130
S9140
S9150
S9160
S9170
S9180
S9190
S9200
S9210
S9220
S9230
S9240
S9250
S9260
S9270
S9280
S9290
S9300
S9310
S9320
S9330
S9340
S9350
S9360
S9370
S9380
S9390
S9400
S9410
S9420
S9430
S9440
S9450
S9460
S9470
S9480
S9490
S9500
S9510
S9520
S9530
S9540
S9550
S9560
S9570
S9580
S9590
S9600
S9610
S9620
S9630
S9640
S9650
S9660
S9670
S9680
S9690
S9700
S9710
S9720
S9730
S9740
S9750
S9760
S9770
S9780
S9790
S9800
S9810
S9820
S9830
S9840
S9850
S9860
S9870
S9880
S9890
S9900
S9910
S9920
S9930
S9940
S9950
S9960
S9970
S9980
S9990
S10000

圖 1

MVP-2
MVP-2之合成
MVP-2之合成
[mV]
[mA/g]
2,000
1,500
1,000
500
0
1.0
0.5
0.0
-0.5
-1.0

CX-356
CX-68'
ABC-A-ABC
ABC-A-ABC

CX-356
CX-68'
ABC-A-ABC
ABC-A-ABC

圖1
圖2

圖3B

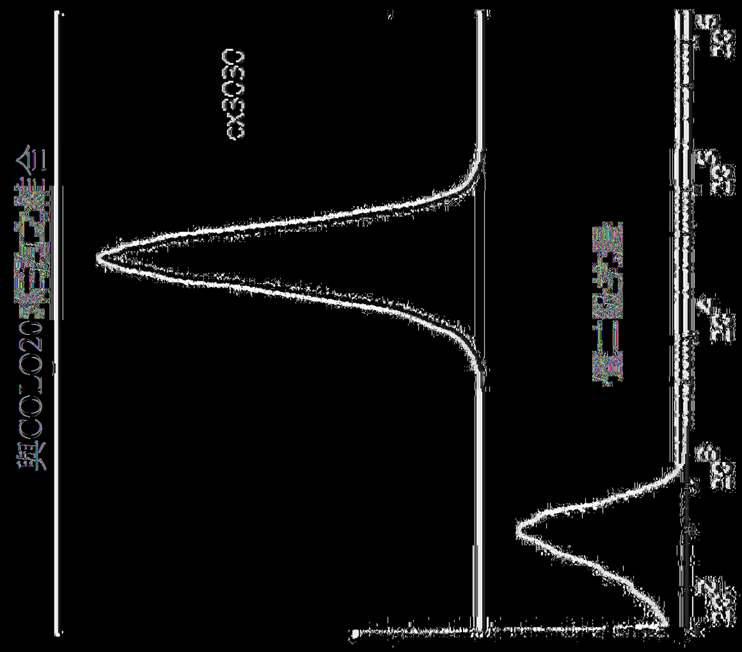
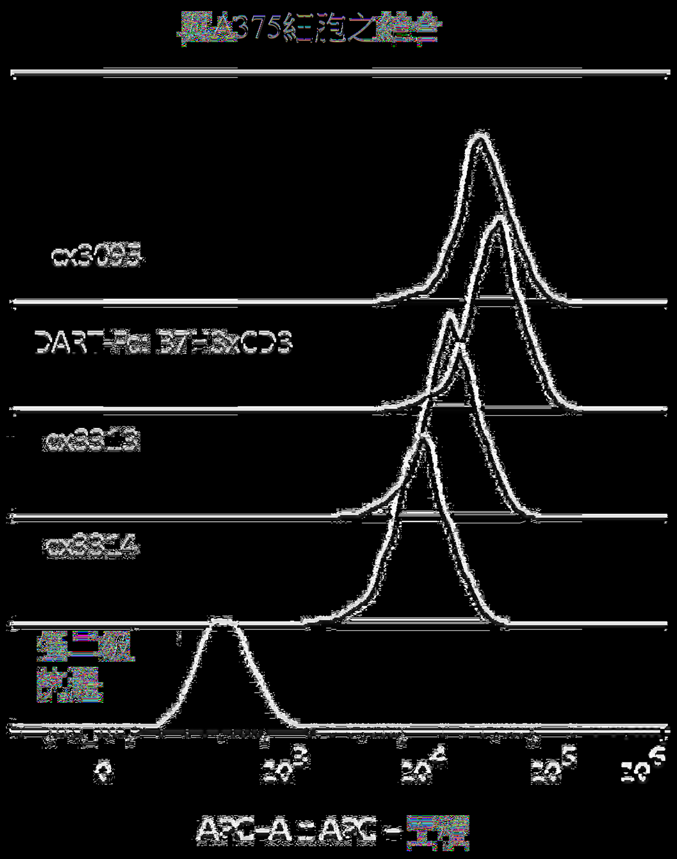
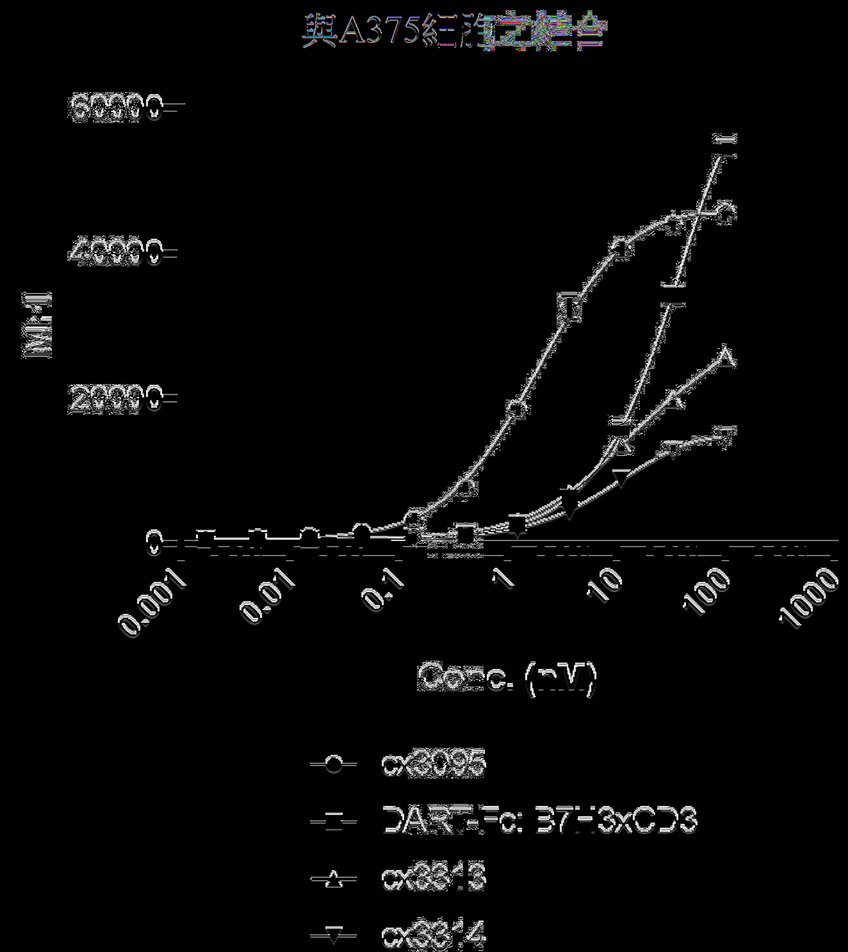


圖3A


與A375細胞之結合
cx3095
DART-Fc: B7H3xCD3
cx3313
cx3314
僅二級抗體
0
10^3
10^4
10^5
10^6
APC-A :: APC - 面積

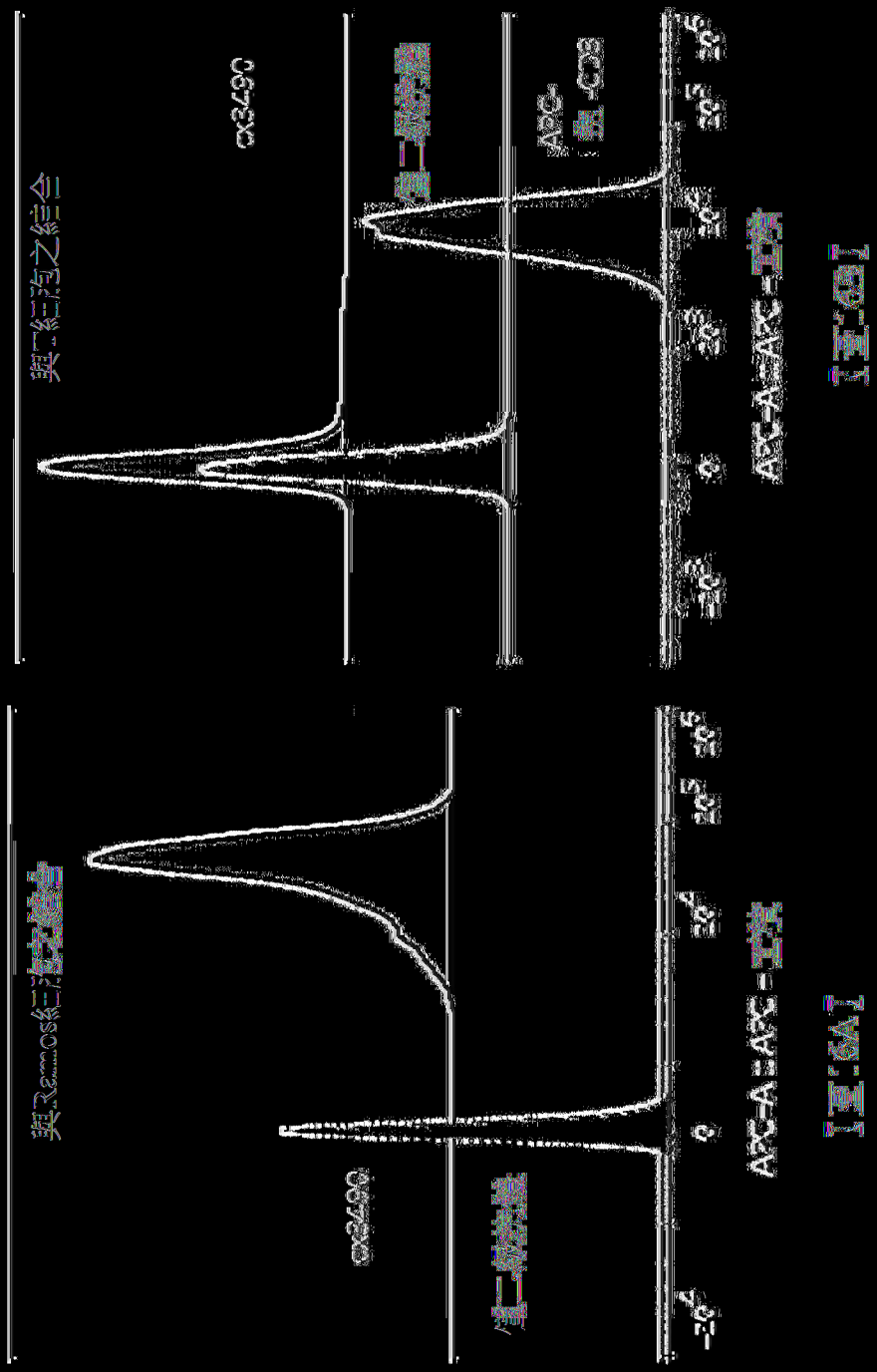
【圖4A】

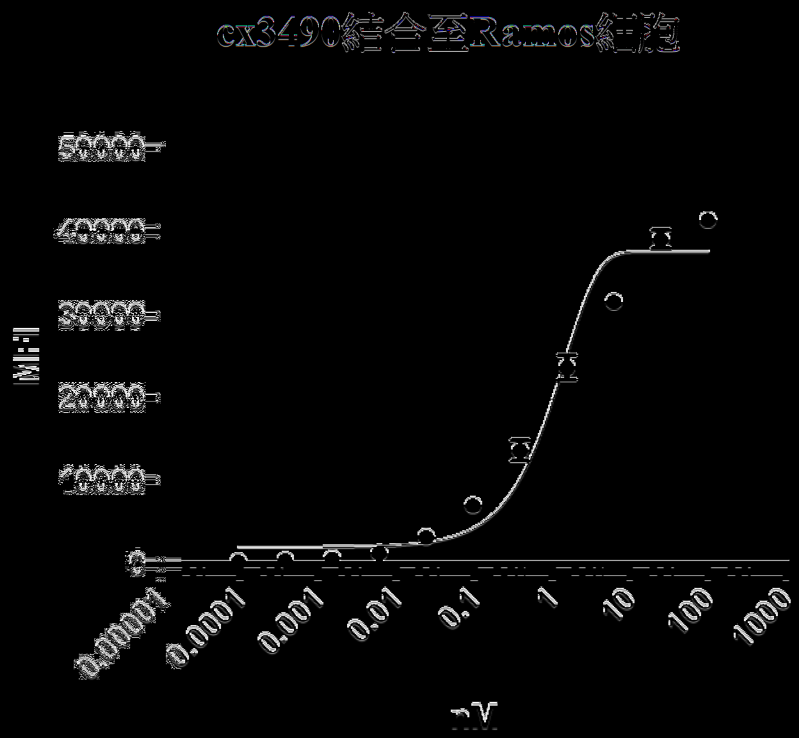

與A375細胞之結合
MFI
60000
40000
20000
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
Conc. (nM)
cx3095
DART-Fc: B7H3xCD3
cx3313
cx3314

【圖4B】

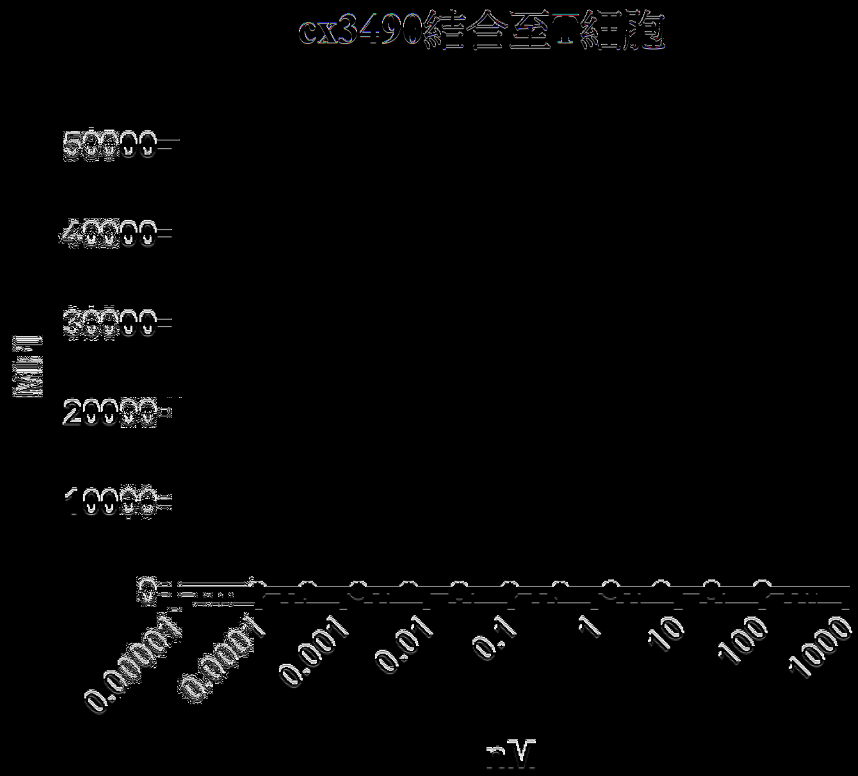
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
CAL-EXC3
CAL-EXC2
CAL-EXC1
CAL-EXC0
CAL-EXC4
CAL-EXC5
CAL-EXC6
CAL-EXC7
CAL-EXC8
CAL-EXC9
CAL-EXC10
CAL-EXC11
CAL-EXC12
CAL-EXC13
CAL-EXC14
CAL-EXC15
CAL-EXC16
CAL-EXC17
CAL-EXC18
CAL-EXC19
CAL-EXC20
CAL-EXC21
CAL-EXC22
CAL-EXC23
CAL-EXC24
CAL-EXC25
CAL-EXC26
CAL-EXC27
CAL-EXC28
CAL-EXC29
CAL-EXC30
CAL-EXC31
CAL-EXC32
CAL-EXC33
CAL-EXC34
CAL-EXC35
CAL-EXC36
CAL-EXC37
CAL-EXC38
CAL-EXC39
CAL-EXC40
CAL-EXC41
CAL-EXC42
CAL-EXC43
CAL-EXC44
CAL-EXC45
CAL-EXC46
CAL-EXC47
CAL-EXC48
CAL-EXC49
CAL-EXC50
CAL-EXC51
CAL-EXC52
CAL-EXC53
CAL-EXC54
CAL-EXC55
CAL-EXC56
CAL-EXC57
CAL-EXC58
CAL-EXC59
CAL-EXC60
CAL-EXC61
CAL-EXC62
CAL-EXC63

實施例1
ApoG2
ApoG3
ApoA2
ApoC3
ApoE
ApoA1
實施例2
ApoG2
ApoG3
ApoA2
ApoC3
ApoE
ApoA1


實施例之組合物
C6Z8X6
ARC-A
ARC-A
實施例之組合物
C6Z8X6
ARC-A
ARC-A

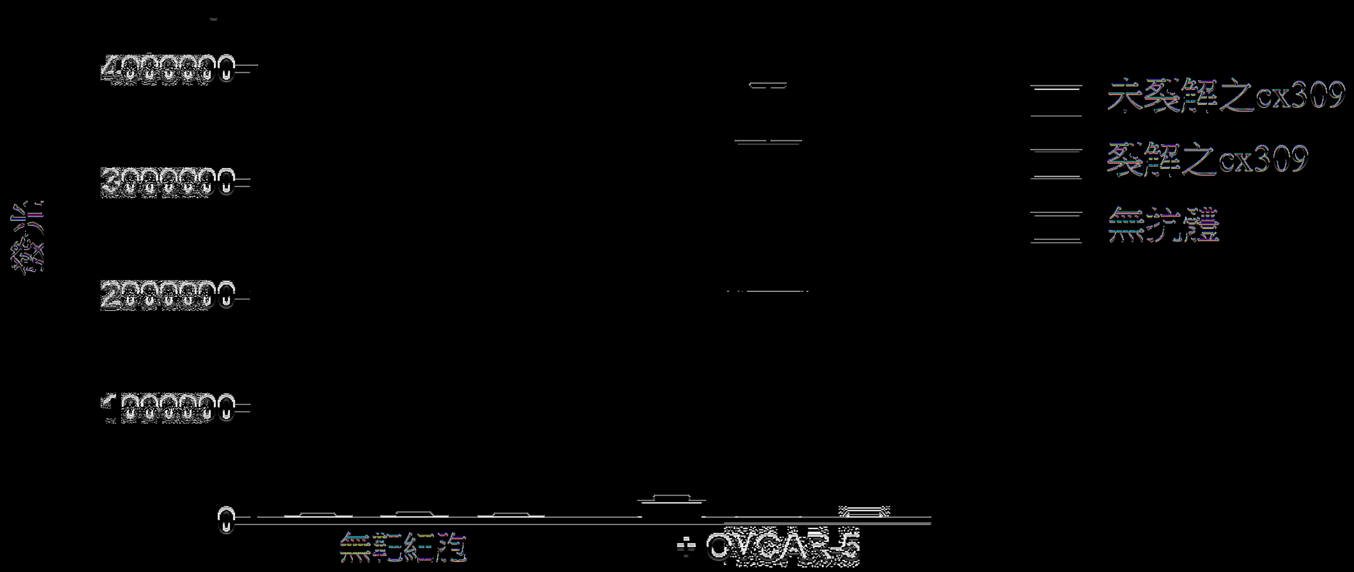

cx3490結合至Ramos細胞
MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM

【圖16C】

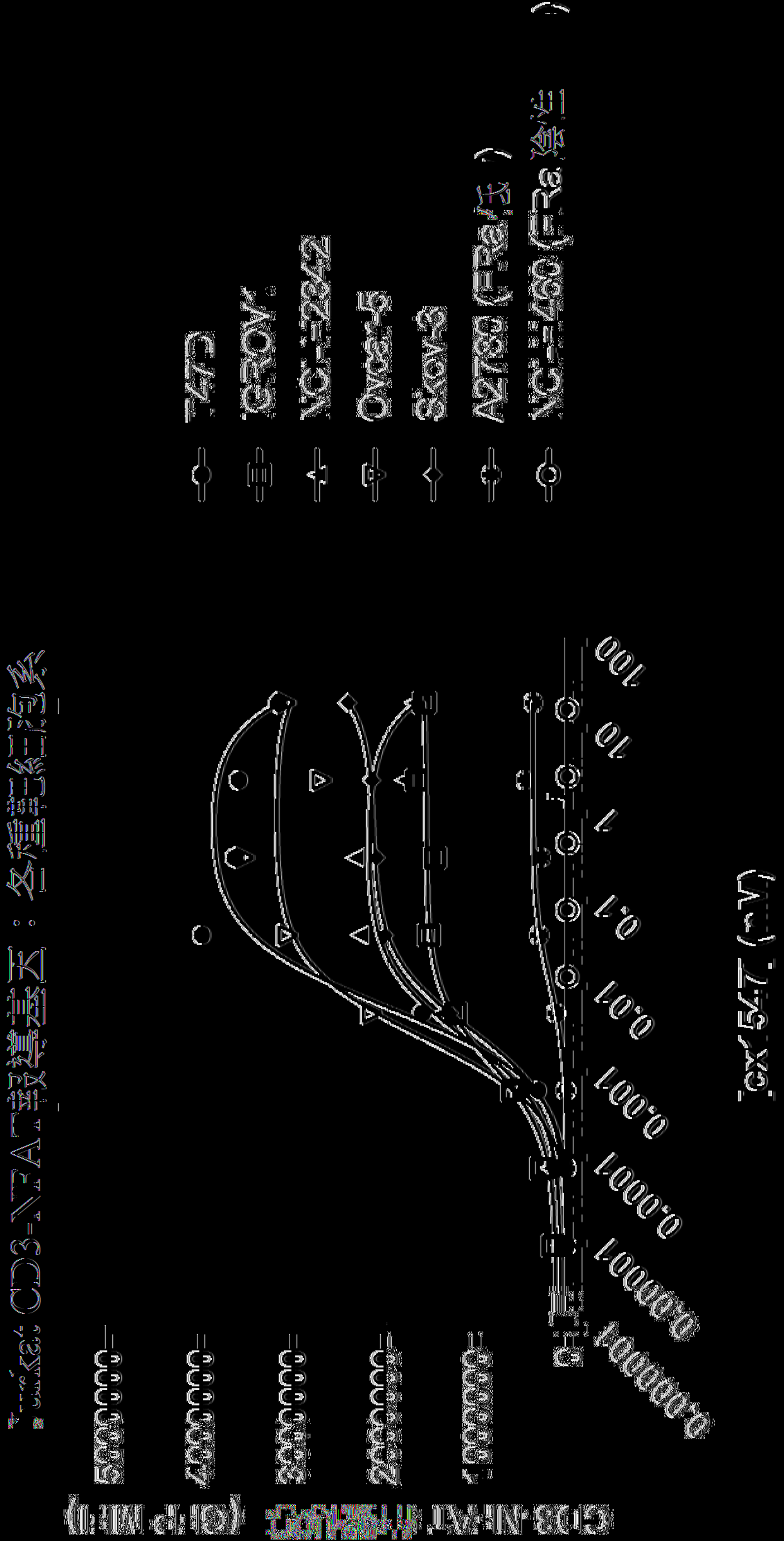

cx3490結合至T細胞
MFI
50000
40000
30000
20000
10000
0
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
nM

【圖16D】

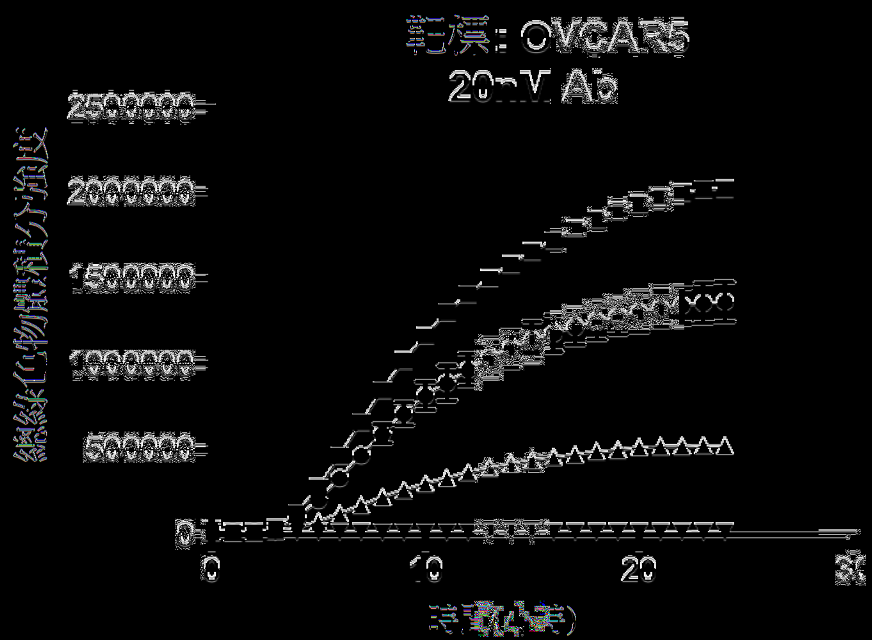
具有裂解或未裂解之+/- Ovcar-5之CD3報導基因



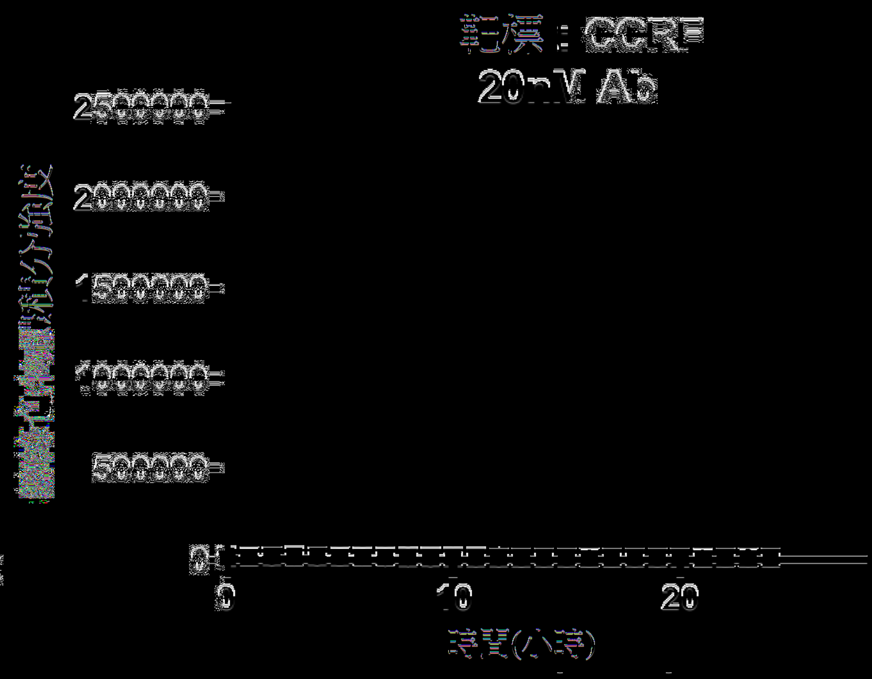
【圖17】


Jurkat CD3-NFAT 報導基因：各種細胞系
5000000
4000000
3000000
2000000
1000000
0
0.000001
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
T47D
IGROV1
Ovcar-5
Skov-3
A2780 (FRa 陰性)

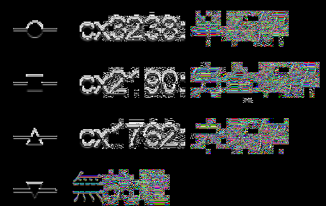
【圖8】


細胞: OVCAR5
20nM Ab
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
0
10
20
30
時間(小時)

【圖19A】


細胞：CCRF
20nM Ab
2500000
2000000
1500000
1000000
500000
0
0
10
20
時間(小時)

【圖19B】


cx3238:
cx2190:
cx1762:
無抗體

100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
1000000
500000
250000
200000
150000
100000
50000
24小時
TG-GA25 酸鹼值
24小時
TG-GA25 氧化還原電位

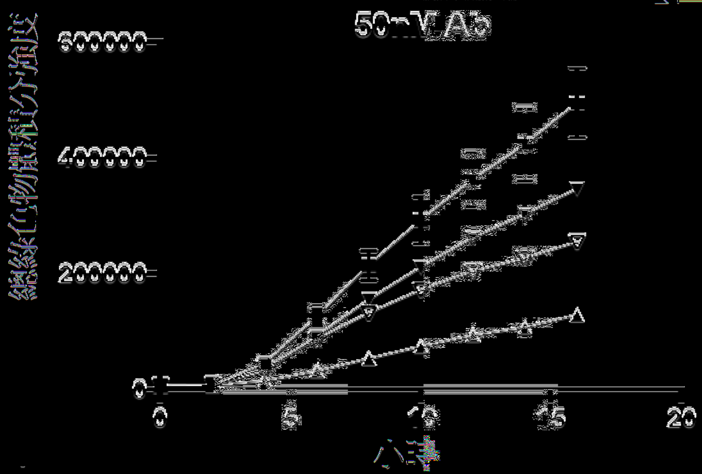
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
1000000
500000
250000
200000
150000
100000
50000
24小時
TG-GA25 酸鹼值
24小時
TG-GA25 氧化還原電位

100
80
60
40
20
0
50mm
40mm
30mm
20mm
10mm

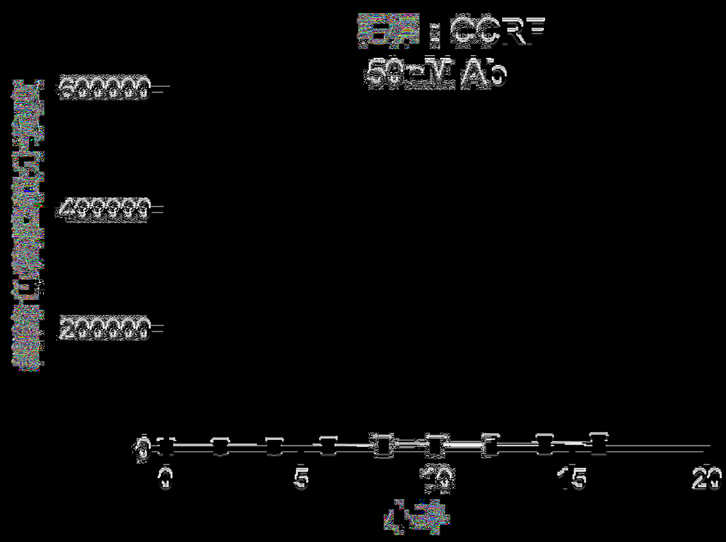
75
50
25
0
50mm
40mm
30mm
20mm
10mm

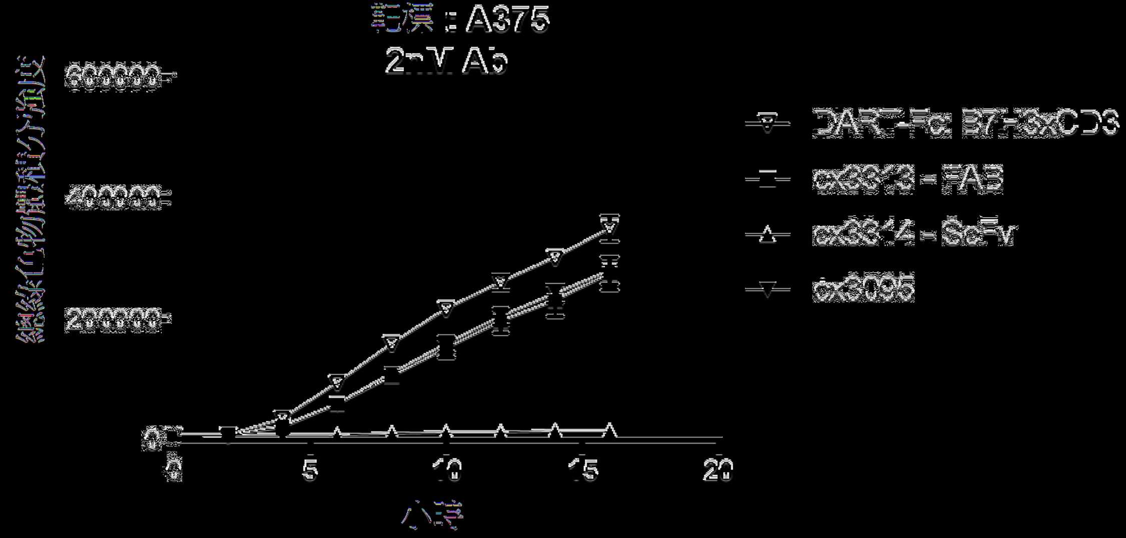
圖 2A
圖 2B
圖 2C
圖 3

【圖22A】



【圖22B】





【圖22C】

100
10
1
0.1
0.01
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
32
34
36
38
40
42
44
46
48
50
52
54
56
58
60
62
64
66
68
70
72
74
76
78
80
82
84
86
88
90
92
94
96
98
100
102
104
106
108
110
112
114
116
118
120
122
124
126
128
130
132
134
136
138
140
142
144
146
148
150
152
154
156
158
160
162
164
166
168
170
172
174
176
178
180
182
184
186
188
190
192
194
196
198
200
202
204
206
208
210
212
214
216
218
220
222
224
226
228
230
232
234
236
238
240
242
244
246
248
250
252
254
256
258
260
262
264
266
268
270
272
274
276
278
280
282
284
286
288
290
292
294
296
298
300
302
304
306
308
310
312
314
316
318
320
322
324
326
328
330
332
334
336
338
340
342
344
346
348
350
352
354
356
358
360
362
364
366
368
370
372
374
376
378
380
382
384
386
388
390
392
394
396
398
400
402
404
406
408
410
412
414
416
418
420
422
424
426
428
430
432
434
436
438
440
442
444
446
448
450
452
454
456
458
460
462
464
466
468
470
472
474
476
478
480
482
484
486
488
490
492
494
496
498
500
502
504
506
508
510
512
514
516
518
520
522
524
526
528
530
532
534
536
538
540
542
544
546
548
550
552
554
556
558
560
562
564
566
568
570
572
574
576
578
580
582
584
586
588
590
592
594
596
598
600
602
604
606
608
610
612
614
616
618
620
622
624
626
628
630
632
634
636
638
640
642
644
646
648
650
652
654
656
658
660
662
664
666
668
670
672
674
676
678
680
682
684
686
688
690
692
694
696
698
700
702
704
706
708
710
712
714
716
718
720
722
724
726
728
730
732
734
736
738
740
742
744
746
748
750
752
754
756
758
760
762
764
766
768
770
772
774
776
778
780
782
784
786
788
790
792
794
796
798
800
802
804
806
808
810
812
814
816
818
820
822
824
826
828
830
832
834
836
838
840
842
844
846
848
850
852
854
856
858
860
862
864
866
868
870
872
874
876
878
880
882
884
886
888
890
892
894
896
898
900
902
904
906
908
910
912
914
916
918
920
922
924
926
928
930
932
934
936
938
940
942
944
946
948
950
952
954
956
958
960
962
964
966
968
970
972
974
976
978
980
982
984
986
988
990
992
994
996
998
1000

24小時之T細胞; CD3 NFAT-GFP報導系統
OVCAR5 (5'4-)共培養
細胞存活率(%)
200000
150000
100000
50000
0
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
效應細胞:標靶細胞比率
24小時之T細胞; CD3 NFAT-GFP報導系統
CCR2表現(5'4-)
細胞存活率(%)
200000
150000
100000
50000
0
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
效應細胞:標靶細胞比率
TA3-W
TA3-M
一表位 5'4
二表位 5'4
三表位 5'4
(F23A)
(F23B)

發光元件驅動方法
第一發光元件
第二發光元件
第三發光元件
第四發光元件
第一電晶體
第二電晶體
第三電晶體
第四電晶體
第一電容
第二電容
第三電容
第四電容
第一掃描線
第二掃描線
第三掃描線
第四掃描線
第一資料線
第二資料線
第三資料線
第四資料線
第一電源線
第二電源線
第三電源線
第四電源線
第一參考線
第二參考線
第三參考線
第四參考線
第一節點
第二節點
第三節點
第四節點
第一電壓
第二電壓
第三電壓
第四電壓
第一參考電壓
第二參考電壓
第三參考電壓
第四參考電壓
第一掃描信號
第二掃描信號
第三掃描信號
第四掃描信號
第一資料信號
第二資料信號
第三資料信號
第四資料信號
第一發光信號
第二發光信號
第三發光信號
第四發光信號
第一參考信號
第二參考信號
第三參考信號
第四參考信號

250000
200000
150000
100000
50000
Ramos
[圖25]

1000
100
10
1
0.1
0.01
A
(26)
圖
5000000
4000000
3000000
2000000
1000000
0
線性化後的壓印力道值
(26)
圖

縱軸代表偏振方向度
橫軸代表時間(小時)
0
5
10
15
1
2
3
2V-3V
3V-2V

圖 27A

縱軸代表偏振方向度
橫軸代表時間(小時)
0
5
10
15
1
2
3
2V-3V
3V-2V

圖 27B

2.7V A5
2.7V A5
(27℃)
(27℃)

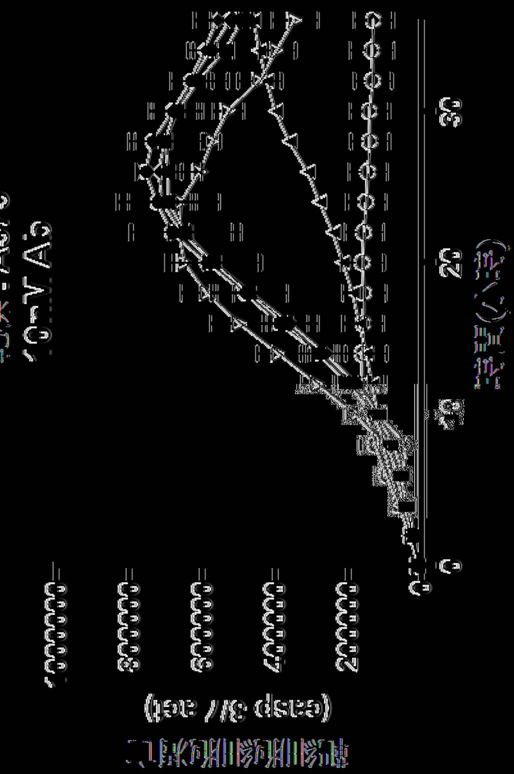
10
1
1.0
10.0
100.0
1,000.0
10,000.0
100,000.0
GROW
GROW

圖28A
圖28B
(微米/μm)
(微米/μm)

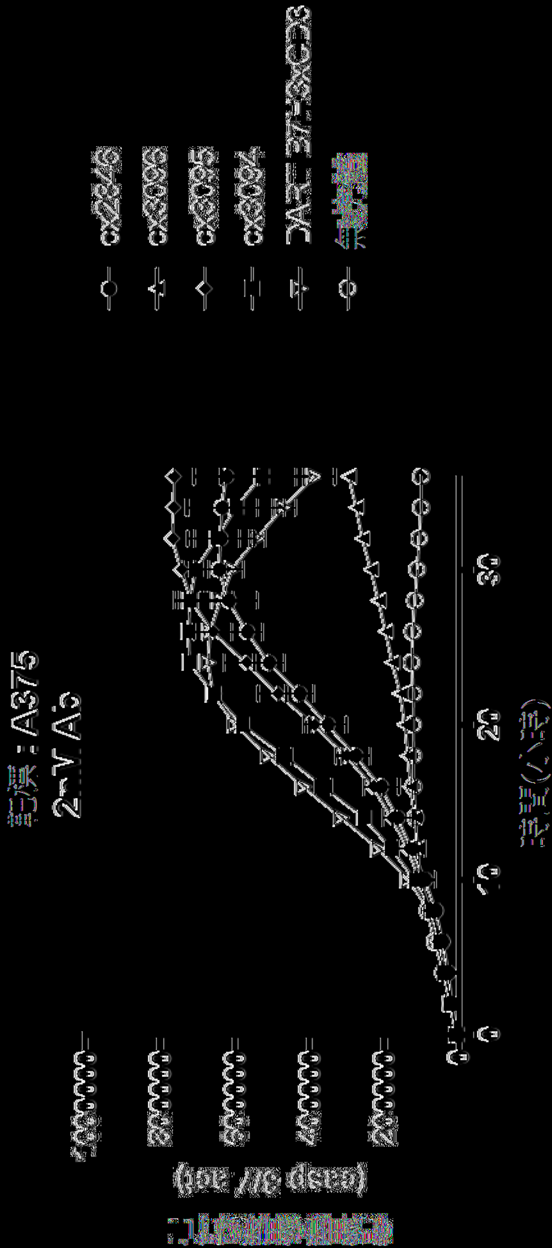
腫瘤體積(mm³)
7000
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
8
16
24
32
40
48
時間(d)
OVCAR5
NCI-H460
給藥入組之OVCAR5荷瘤
3 mV A6
7 (28C)

【圖29A】

【圖29B】



【圖29C】



圖式
(prior art)
習知脈衝調變電路
(prior art)
習知脈衝調變電路
圖式
(prior art)
習知脈衝調變電路
(prior art)
習知脈衝調變電路
圖式

T細胞細胞毒性 2.5nM
800000
600000
400000
200000
0
DART-Fc: B7H3xCD3
cx3313
cx3095
DART-Fc: B7H3xCD3
cx3313
cx3095
DART-Fc: B7H3xCD3
cx3313
cx3095
B7H3+
B7H3-

【圖30】

圖 3B
細胞存活率 (%)
600000
400000
200000
0
10
20
30
40
50
OVCAR5 32 V A/
細胞存活率 (%)
600000
400000
200000
0
10
20
30
40
50
OVCAR5 32 V A/
圖 3A
細胞存活率 (%)
600000
400000
200000
0
10
20
30
40
50
OVCAR5 32 V A/
細胞存活率 (%)
600000
400000
200000
0
10
20
30
40
50
OVCAR5 32 V A/

OVCAR5
OVCAR8
SK-OV-3
NCI/ADR-RES
786-0
A498
ACHN
CAKI-1
RXF 393
SN12C
TK-10
UO-31
PC-3
DU-145
MCF7
MDA-MB-231/ATCC
HS 578T
BT-549
T-47D
MDA-MB-468
SR
HOP-92
NCI-H226
NCI-H23
NCI-H322M
NCI-H460
NCI-H522
COLO 205
HCC-2998
HCT-116
HCT-15
HT29
KM12
SW-620
SF-268
SF-295
SF-539
SNB-19
SNB-75
U251
LOX IMVI
MALME-3M
M14
MDA-MB-435
SK-MEL-2
SK-MEL-28
SK-MEL-5
UACC-257
UACC-62
IC50 (M)
GI50 (M)
TGI (M)
LC50 (M)

Over-5-5-over
5-over-5-5
over-5-5
5-over-5
5-over
5-5
5
5000
10000
15000
20000
25000
總工作物價值(萬元)
非屬公用事業
屬公用事業

圖 331
TAA
CD8
CD4
CD25+ 細胞百分比
59
49
39
29
19
9
表現 cx309 之 CD25+ 細胞百分比
表現 cx309 之 CD25+ 細胞百分比

圖式
圖3A
圖3B
圖3C
圖3D
圖3E
圖3F
圖3G
圖3H
圖3I
圖3J
圖3K
圖3L
圖3M
圖3N
圖3O
圖3P
圖3Q
圖3R
圖3S
圖3T
圖3U
圖3V
圖3W
圖3X
圖3Y
圖3Z
圖3AA
圖3AB
圖3AC
圖3AD
圖3AE
圖3AF
圖3AG
圖3AH
圖3AI
圖3AJ
圖3AK
圖3AL
圖3AM
圖3AN
圖3AO
圖3AP
圖3AQ
圖3AR
圖3AS
圖3AT
圖3AU
圖3AV
圖3AW
圖3AX
圖3AY
圖3AZ
圖3BA
圖3BB
圖3BC
圖3BD
圖3BE
圖3BF
圖3BG
圖3BH
圖3BI
圖3BJ
圖3BK
圖3BL
圖3BM
圖3BN
圖3BO
圖3BP
圖3BQ
圖3BR
圖3BS
圖3BT
圖3BU
圖3BV
圖3BW
圖3BX
圖3BY
圖3BZ
圖3CA
圖3CB
圖3CC
圖3CD
圖3CE
圖3CF
圖3CG
圖3CH
圖3CI
圖3CJ
圖3CK
圖3CL
圖3CM
圖3CN
圖3CO
圖3CP
圖3CQ
圖3CR
圖3CS
圖3CT
圖3CU
圖3CV
圖3CW
圖3CX
圖3CY
圖3CZ
圖3DA
圖3DB
圖3DC
圖3DD
圖3DE
圖3DF
圖3DG
圖3DH
圖3DI
圖3DJ
圖3DK
圖3DL
圖3DM
圖3DN
圖3DO
圖3DP
圖3DQ
圖3DR
圖3DS
圖3DT
圖3DU
圖3DV
圖3DW
圖3DX
圖3DY
圖3DZ
圖3EA
圖3EB
圖3EC
圖3ED
圖3EE
圖3EF
圖3EG
圖3EH
圖3EI
圖3EJ
圖3EK
圖3EL
圖3EM
圖3EN
圖3EO
圖3EP
圖3EQ
圖3ER
圖3ES
圖3ET
圖3EU
圖3EV
圖3EW
圖3EX
圖3EY
圖3EZ
圖3FA
圖3FB
圖3FC
圖3FD
圖3FE
圖3FF
圖3FG
圖3FH
圖3FI
圖3FJ
圖3FK
圖3FL
圖3FM
圖3FN
圖3FO
圖3FP
圖3FQ
圖3FR
圖3FS
圖3FT
圖3FU
圖3FV
圖3FW
圖3FX
圖3FY
圖3FZ
圖3GA
圖3GB
圖3GC
圖3GD
圖3GE
圖3GF
圖3GG
圖3GH
圖3GI
圖3GJ
圖3GK
圖3GL
圖3GM
圖3GN
圖3GO
圖3GP
圖3GQ
圖3GR
圖3GS
圖3GT
圖3GU
圖3GV
圖3GW
圖3GX
圖3GY
圖3GZ
圖3HA
圖3HB
圖3HC
圖3HD
圖3HE
圖3HF
圖3HG
圖3HH
圖3HI
圖3HJ
圖3HK
圖3HL
圖3HM
圖3HN
圖3HO
圖3HP
圖3HQ
圖3HR
圖3HS
圖3HT
圖3HU
圖3HV
圖3HW
圖3HX
圖3HY
圖3HZ
圖3IA
圖3IB
圖3IC
圖3ID
圖3IE
圖3IF
圖3IG
圖3IH
圖3II
圖3IJ
圖3IK
圖3IL
圖3IM
圖3IN
圖3IO
圖3IP
圖3IQ
圖3IR
圖3IS
圖3IT
圖3IU
圖3IV
圖3IW
圖3IX
圖3IY
圖3IZ
圖3JA
圖3JB
圖3JC
圖3JD
圖3JE
圖3JF
圖3JG
圖3JH
圖3JI
圖3JJ
圖3JK
圖3JL
圖3JM
圖3JN
圖3JO
圖3JP
圖3JQ
圖3JR
圖3JS
圖3JT
圖3JU
圖3JV
圖3JW
圖3JX
圖3JY
圖3JZ
圖3KA
圖3KB
圖3KC
圖3KD
圖3KE
圖3KF
圖3KG
圖3KH
圖3KI
圖3KJ
圖3KK
圖3KL
圖3KM
圖3KN
圖3KO
圖3KP
圖3KQ
圖3KR
圖3KS
圖3KT
圖3KU
圖3KV
圖3KW
圖3KX
圖3KY
圖3KZ
圖3LA
圖3LB
圖3LC
圖3LD
圖3LE
圖3LF
圖3LG
圖3LH
圖3LI
圖3LJ
圖3LK
圖3LL
圖3LM
圖3LN
圖3LO
圖3LP
圖3LQ
圖3LR
圖3LS
圖3LT
圖3LU
圖3LV
圖3LW
圖3LX
圖3LY
圖3LZ
圖3MA
圖3MB
圖3MC
圖3MD
圖3ME
圖3MF
圖3MG
圖3MH
圖3MI
圖3MJ
圖3MK
圖3ML
圖3MM
圖3MN
圖3MO
圖3MP
圖3MQ
圖3MR
圖3MS
圖3MT
圖3MU
圖3MV
圖3MW
圖3MX
圖3MY
圖3MZ
圖3NA
圖3NB
圖3NC
圖3ND
圖3NE
圖3NF
圖3NG
圖3NH
圖3NI
圖3NJ
圖3NK
圖3NL
圖3NM
圖3NN
圖3NO
圖3NP
圖3NQ
圖3NR
圖3NS
圖3NT
圖3NU
圖3NV
圖3NW
圖3NX
圖3NY
圖3NZ
圖3OA
圖3OB
圖3OC
圖3OD
圖3OE
圖3OF
圖3OG
圖3OH
圖3OI
圖3OJ
圖3OK
圖3OL
圖3OM
圖3ON
圖3OO
圖3OP
圖3OQ
圖3OR
圖3OS
圖3OT
圖3OU
圖3OV
圖3OW
圖3OX
圖3OY
圖3OZ
圖3PA
圖3PB
圖3PC
圖3PD
圖3PE
圖3PF
圖3PG
圖3PH
圖3PI
圖3PJ
圖3PK
圖3PL
圖3PM
圖3PN
圖3PO
圖3PP
圖3PQ
圖3PR
圖3PS
圖3PT
圖3PU
圖3PV
圖3PW
圖3PX
圖3PY
圖3PZ
圖3QA
圖3QB
圖3QC
圖3QD
圖3QE
圖3QF
圖3QG
圖3QH
圖3QI
圖3QJ
圖3QK
圖3QL
圖3QM
圖3QN
圖3QO
圖3QP
圖3QQ
圖3QR
圖3QS
圖3QT
圖3QU
圖3QV
圖3QW
圖3QX
圖3QY
圖3QZ
圖3RA
圖3RB
圖3RC
圖3RD
圖3RE
圖3RF
圖3RG
圖3RH
圖3RI
圖3RJ
圖3RK
圖3RL
圖3RM
圖3RN
圖3RO
圖3RP
圖3RQ
圖3RR
圖3RS
圖3RT
圖3RU
圖3RV
圖3RW
圖3RX
圖3RY
圖3RZ
圖3SA
圖3SB
圖3SC
圖3SD
圖3SE
圖3SF
圖3SG
圖3SH
圖3SI
圖3SJ
圖3SK
圖3SL
圖3SM
圖3SN
圖3SO
圖3SP
圖3SQ
圖3SR
圖3SS
圖3ST
圖3SU
圖3SV
圖3SW
圖3SX
圖3SY
圖3SZ
圖3TA
圖3TB
圖3TC
圖3TD
圖3TE
圖3TF
圖3TG
圖3TH
圖3TI
圖3TJ
圖3TK
圖3TL
圖3TM
圖3TN
圖3TO
圖3TP
圖3TQ
圖3TR
圖3TS
圖3TT
圖3TU
圖3TV
圖3TW
圖3TX
圖3TY
圖3TZ
圖3UA
圖3UB
圖3UC
圖3UD
圖3UE
圖3UF
圖3UG
圖3UH
圖3UI
圖3UJ
圖3UK
圖3UL
圖3UM
圖3UN
圖3UO
圖3UP
圖3UQ
圖3UR
圖3US
圖3UT
圖3UU
圖3UV
圖3UW
圖3UX
圖3UY
圖3UZ
圖3VA
圖3VB
圖3VC
圖3VD
圖3VE
圖3VF
圖3VG
圖3VH
圖3VI
圖3VJ
圖3VK
圖3VL
圖3VM
圖3VN
圖3VO
圖3VP
圖3VQ
圖3VR
圖3VS
圖3VT
圖3VU
圖3VV
圖3VW
圖3VX
圖3VY
圖3VZ
圖3WA
圖3WB
圖3WC
圖3WD
圖3WE
圖3WF
圖3WG
圖3WH
圖3WI
圖3WJ
圖3WK
圖3WL
圖3WM
圖3WN
圖3WO
圖3WP
圖3WQ
圖3WR
圖3WS
圖3WT
圖3WU
圖3WV
圖3WW
圖3WX
圖3WY
圖3WZ
圖3XA
圖3XB
圖3XC
圖3XD
圖3XE
圖3XF
圖3XG
圖3XH
圖3XI
圖3XJ
圖3XK
圖3XL
圖3XM
圖3XN
圖3XO
圖3XP
圖3XQ
圖3XR
圖3XS
圖3XT
圖3XU
圖3XV
圖3XW
圖3XX
圖3XY
圖3XZ
圖3YA
圖3YB
圖3YC
圖3YD
圖3YE
圖3YF
圖3YG
圖3YH
圖3YI
圖3YJ
圖3YK
圖3YL
圖3YM
圖3YN
圖3YO
圖3YP
圖3YQ
圖3YR
圖3YS
圖3YT
圖3YU
圖3YV
圖3YW
圖3YX
圖3YY
圖3YZ
圖3ZA
圖3ZB
圖3ZC
圖3ZD
圖3ZE
圖3ZF
圖3ZG
圖3ZH
圖3ZI
圖3ZJ
圖3ZK
圖3ZL
圖3ZM
圖3ZN
圖3ZO
圖3ZP
圖3ZQ
圖3ZR
圖3ZS
圖3ZT
圖3ZU
圖3ZV
圖3ZW
圖3ZX
圖3ZY
圖3ZZ

CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞
CD4+ T細胞
CD8+ T細胞

CX3095: A375
CX3095: A549-ΔB7-3
細胞存活率 (%)
CX3095 (μg/mL)
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
11.0
12.0
13.0
14.0
15.0
16.0
17.0
18.0
19.0
20.0
21.0
22.0
23.0
24.0
25.0
26.0
27.0
28.0
29.0
30.0
31.0
32.0
33.0
34.0
35.0
36.0
37.0
38.0
39.0
40.0
41.0
42.0
43.0
44.0
45.0
46.0
47.0
48.0
49.0
50.0
51.0
52.0
53.0
54.0
55.0
56.0
57.0
58.0
59.0
60.0
61.0
62.0
63.0
64.0
65.0
66.0
67.0
68.0
69.0
70.0
71.0
72.0
73.0
74.0
75.0
76.0
77.0
78.0
79.0
80.0
81.0
82.0
83.0
84.0
85.0
86.0
87.0
88.0
89.0
90.0
91.0
92.0
93.0
94.0
95.0
96.0
97.0
98.0
99.0
100.0

250
200
150
100
50
0
預測值
實際值
【圖3B】
250
200
150
100
50
0
預測值
實際值
【圖3A】

A37 (cm)
GORE-TEX
37-3X0038: GORE-TEX (37-3)
37-3X0035: GORE-TEX (37-3)
A375 (37-34)
37-3X0038: A375 (37-34)
37-3X0035: A375 (37-34)

第6圖
第一實施例之動態影像編碼裝置的方塊圖
輸入影像
減法器
預測誤差編碼部
預測誤差解碼部
熵編碼部
編碼資料
第1圖
第一實施例之動態影像編碼裝置的方塊圖
輸入影像
減法器
預測誤差編碼部
預測誤差解碼部
熵編碼部
編碼資料