(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110913904 A
(43)申请公布日 2020.03.24

(21)申请号 201880029340.3

(22)申请日 2018.05.07

(30)优先权数据
62/502578 2017.05.05 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.11.01

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2018/031347 2018.05.07

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2018/204907 EN 2018.11.08

(71)申请人 美国安进公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 J.阿贝尔 L.崔 D.戈斯瓦米 J.许 B.贾根纳桑 S.卡纳普拉姆 A.麦考利 M.施奈德 A.G.塞图拉曼 M.特罗伊黑特 J.张

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 罗文锋 黄登高

(51)Int.Cl.
A61K 39/395(2006.01)
C07K 16/28(2006.01)
A61K 47/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书92页
序列表140页 附图16页

(54)发明名称

用于改善的储存和施用的包含双特异性抗体构建体的药物组合物

(57)摘要

本发明提供一种改善的用于储存和施用的药物组合物，其包含(a)双特异性抗体构建体，所述双特异性抗体构建体包含与靶细胞表面抗原结合的第一结构域和与第二抗原结合的第二结构域，其中所述双特异性抗体构建体以约0.5μg/ml至20mg/ml的浓度范围存在，(b)防腐剂，其浓度有效抑制微生物的生长，以及(c)稀释剂，双特异性抗体构建体在其中是稳定的并可回收的。

CN 110913904 A

1.一种药物组合物,其包含

i)双特异性抗体构建体,其通过第一结合结构域与靶细胞表面抗原结合,并通过第二结合结构域与T细胞表面抗原CD3结合,其中链抗体构建体以0.5μg/ml至20mg/ml,优选地0.5μg/ml至10或5mg/ml的范围内的浓度存在;

ii)选自苯甲醇、氯丁醇、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、苯氧乙醇、对羟基苯甲酸丙酯和硫柳汞的至少一种防腐剂,其浓度有效抑制微生物的生长,以及

iii)稀释剂,所述双特异性抗体构建体在其中是稳定的。

2.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述双特异性抗体构建体以选自由以下组成的组的范围内的浓度存在:

(a)0.5μg/ml至200μg/ml,pH为6.5至7.5,或

(b)0.5μg/ml至1000μg/ml,pH为4.0至6.0,或

(c)0.5μg至2mg,在CD3结合结构域稳定剂,优选地柠檬酸盐存在下,pH为4.0至7.5,或

(d)0.5μg至20mg,优选地0.05μg/ml至10或5mg/ml,pH为4.0至7.5,优选地4.0至6.0,其中所述双特异性抗体包含第三结合结构域,所述第三结合结构域包含两个多肽单体,每个多肽单体包含铰链、CH2和CH3结构域,其中所述两个多肽单体通过肽接头彼此融合,并且其中所述第三结合结构域按氨基至羧基顺序包含:

铰链-CH2-CH3-接头-铰链-CH2-CH3。

3.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述双特异性抗体构建体是双特异性单链抗体构建体。

4.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述至少一种防腐剂以0.001至1.0%(w/v)的范围内的浓度存在。

5.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述防腐剂以0.009至0.9%(w/v),优选地0.11至0.9%或0.5至0.75%(w/v)的范围内的浓度存在。

6.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述稀释剂是包含选自由以下组成的组的盐的缓冲剂:磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐和酒石酸盐,和/或其中所述缓冲剂包含组氨酸、甘氨酸、TRIS甘氨酸、Tris、或其混合物。

7.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述稀释剂是选自由以下组成的组的缓冲剂:磷酸钾、乙酸/乙酸钠、柠檬酸/柠檬酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠、酒石酸/酒石酸钠、和组氨酸/组氨酸HCl或其混合物。

8.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述稀释剂是缓冲剂,其以0.1至150mM的范围内,优选地以0.25至50mM的范围内的浓度存在。

9.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述稀释剂是包含柠檬酸盐的缓冲剂。

10.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述稀释剂是包含0.25至50mM的范围内的浓度的柠檬酸盐的缓冲剂。

11.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述组合物的pH在4.0至8.0的范围内,优选地在pH 4.0至5.0或6.0至7.5的范围内,优选地pH 7.0。

12.如权利要求1所述的药物组合物,其中所述药物组合物还包含一种或多种选自由以下组成的组的赋形剂:蔗糖、海藻糖、甘露醇、山梨糖醇、精氨酸、赖氨酸、聚山梨酸酯20、聚山梨酸酯80、泊洛沙姆188、普朗尼克及其组合。

13.如权利要求12所述的药物组合物，其进一步包含聚山梨酸酯，优选地聚山梨酸酯80，和/或赖氨酸HCL。

14.如权利要求12所述的药物组合物，其中如果双特异性抗体构建体的浓度为至少10、15或20μg/ml，优选地15μg/ml，则所述组合物不包含聚山梨酸酯，优选地聚山梨酸酯80和/或赖氨酸HCL。

15.如权利要求1所述的药物组合物，其中所述双特异性抗体构建体的所述第一结合结构域与至少一种选自由以下组成的组的靶细胞表面抗原结合：CD19、CD33、EGFRvIII、MSLN、CDH19、FLT3、DLL3、CDH3、BCMA和PSMA。

16.如权利要求1所述的药物组合物，其中所述第一结合结构域包含含有选自由以下组成的组的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的VH区和含有选自由以下组成的组的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的VL区：

(a)如SEQ ID NO:1中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:2中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:3中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:4中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:5中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:6中所描绘的CDR-L3，

(b)如SEQ ID NO:29中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:30中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:31中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:34中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:35中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:36中所描绘的CDR-L3，

(c)如SEQ ID NO:42中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:43中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:44中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:45中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:46中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:47中所描绘的CDR-L3，

(d)如SEQ ID NO:53中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:54中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:55中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:56中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:57中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:58中所描绘的CDR-L3，

(e)如SEQ ID NO:65中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:66中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:67中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:68中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:69中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:70中所描绘的CDR-L3；

(f)如SEQ ID NO:83中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:84中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:85中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:86中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:87中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:88中所描绘的CDR-L3，

(g)如SEQ ID NO:94中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:95中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:96中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:97中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:98中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:99中所描绘的CDR-L3，

(h)如SEQ ID NO:105中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:106中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:107中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:109中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:110中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:111中所描绘的CDR-L3，

(i)如SEQ ID NO:115中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:116中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:117中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:118中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:119中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:120中所描绘的CDR-L3，

(j)如SEQ ID NO:126中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:127中所描绘的CDR-H2、如SEQ

ID NO:128中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:129中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:130中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:131中所描绘的CDR-L3，

(k)如SEQ ID NO:137中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:138中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:139中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:140中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:141中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:142中所描绘的CDR-L3，

(l)如SEQ ID NO:152中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:153中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:154中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:155中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:156中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:157中所描绘的CDR-L3，以及

(m)如SEQ ID NO:167中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:168中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:169中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:170中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:171中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:172中所描绘的CDR-L3。

17.如权利要求1所述的药物组合物，其中所述药物组合物为液体。

18.如权利要求1所述的药物组合物，其中所述组合物包含<5％的所述双特异性抗体构建体的多聚体，优选地<1％。

19.如权利要求18所述的药物组合物，其中所述多聚体是二聚体。

20.如权利要求17所述的药物组合物，其中所述组合物包含<5％的所述双特异性抗体构建体的多聚体，优选地<1％，在室温下持续至少4天，优选地至少10天，更优选地至少14天的时段。

21.如权利要求1所述的药物组合物，其中将所述药物组合物填充在优选地由EVA、聚烯烃和/或PVC制成的塑料施用容器中。

22.如权利要求21所述的药物组合物，其中所述双特异性单链抗体构建体从包含根据权利要求6至13所述的缓冲剂和/或赋形剂中的至少一种的塑料施用容器中的稀释液中回收至少90％，优选地至少95、96、97、98或甚至至少99％。

23.如权利要求21所述的药物组合物，其中所述双特异性单链抗体构建体从包含聚山梨酸酯80的塑料施用容器中的稀释液中回收至少90％，优选地至少95、96、97、98或甚至至少99％。

24.如权利要求21所述的药物组合物，其中所述药物组合物包含至少0.25mM柠檬酸盐、至少0.0125mM赖氨酸和/或至少0.001％聚山梨酸酯80，pH为6.5至7.5。

25.如权利要求1所述的药物组合物，其中所述组合物是在-50℃，优选地-40℃、-30℃或-20℃下储存的储存溶液。

26.如权利要求25所述的药物组合物，其中所述组合物包含含有第三结合结构域的所述双特异性抗体，所述第三结合结构域包含两个多肽单体，每个多肽单体包含铰链、CH2和CH3结构域，其中所述两个多肽单体通过肽接头彼此融合，并且其中所述第三结合结构域按氨基至羧基顺序包含：

铰链-CH2-CH3-接头-铰链-CH2-CH3。

27.如权利要求1所述的药物组合物，其中所述组合物以用于储存的冻干物形式提供。

28.如权利要求1所述的药物组合物，其中将所述组合物作为溶液、作为冷冻状态的溶液或作为冻干物储存直至使用，并且然后任选地在稀释或重构后施用，而无需添加选自防腐剂、稳定剂或表面活性剂的其他赋形剂。

29.一种制备如权利要求1所述的药物组合物的方法,其中所述双特异性抗体构建体以冻干物的形式提供,所述冻干物优选地包含冻干保护剂、缓冲剂和/或表面活性剂,并且其中所述冻干物通过包含防腐剂并且优选地包含根据权利要求6至13中任一项所述的缓冲剂和/或赋形剂的稀释剂进行重构。

30.如权利要求1所述的药物组合物,其用于治疗恶性疾病。

31.一种用于治疗或缓解恶性疾病的方法,其包括以下步骤:向有需要的受试者施用如权利要求1所述的药物组合物,或如权利要求29所述的方法产生的药物组合物。

32.如权利要求1所述的药物组合物,将其连续地静脉内施用1至24小时,优选地1至10或2至5小时。

33.如权利要求1所述的药物组合物,将其连续地静脉内施用2至14天,优选地2至10天,最优选地4至7天。

34.一种试剂盒,其包含作为冻干物的所述双特异性抗体构建体以及稀释剂,所述冻干物优选地包含冻干保护剂、缓冲剂和/或表面活性剂,所述稀释剂包含防腐剂并且优选地包含根据权利要求6至13中任一项所述的缓冲剂和/或赋形剂。

用于改善的储存和施用的包含双特异性抗体构建体的药物组合物

背景技术

[0001] 包括基于蛋白质的药物的蛋白质治疗剂已在几乎每个医学领域中发挥重要作用，并且是临床(前)开发中和作为商业产品增长最快的治疗剂之一(Leader,Nature Reviews Drug Discovery[自然综述:药物发现]2008年1月7日,21-39)。与小化学药物相比，蛋白质药物在相对低的浓度下具有高特异性和活性，并且典型地提供对高影响疾病的治疗，这些高影响疾病是例如各种癌症、自身免疫疾病、和代谢障碍(Roberts,Trends Biotechnol.[生物技术趋势]2014年7月;32(7):372-80,Wang,Int J Pharm.[国际药学杂志]1999年8月20日;185(2):129-88)。

[0002] 由于商业规模纯化方法的进步，因此现在可以在首次制造时以高纯度获得基于蛋白质的药物，例如重组蛋白质。然而，蛋白质仅临界稳定(marginally stable)并且极易受到化学和物理降解二者的影响。化学降解是指涉及共价键的修饰，例如脱酰胺化、氧化、裂解或形成新的二硫桥键、水解、异构化或去糖基化。物理降解包括蛋白质去折叠、对表面的不希望的吸附、和聚集。处理这些物理和化学不稳定性是蛋白质药物开发中最具挑战性的任务之一(Chi等人,Pharm Res[药物研究],第20卷,第9期,2003年9月,第1325-1336页,Roberts,Trends Biotechnol.[生物技术趋势]2014年7月;32(7):372-80)。

[0003] 有趣的基于蛋白质的药物包括双特异性抗体构建体，例如BiTE®(双特异性T细胞接合物)抗体构建体，其是由两个柔性连接的抗体衍生的结合结构域制备的重组蛋白质构建体。BiTE®抗体构建体的一个结合结构域对靶细胞上选择的肿瘤相关表面抗原是特异性的;第二结合结构域对CD3(T细胞上T细胞受体复合物的亚基)是特异性的。通过其特殊设计，BiTE®抗体构建体独特地适合于将T细胞与靶细胞瞬时连接，并且同时强有力地激活T细胞对靶细胞的固有细胞溶解潜力。对作为AMG 103和AMG 110开发到临床中的第一代BiTE®抗体构建体(参见WO 99/54440和WO 2005/040220)的重要的进一步开发是提供与CD3ε链的N末端处的背景独立表位结合的双特异性抗体构建体(WO 2008/119567)。与该选择的表位结合的BiTE®抗体构建体不仅显示出对人和绒毛猴(Callithrixjacchus)、绒顶柽柳猴(Saguinus oedipus)或松鼠猴(Saimiri sciureus)CD3ε链的跨物种特异性，而且由于识别该特异性表位(而不是先前描述的双特异性T细胞接合分子中CD3结合物的表位)而不会非特异性地激活T细胞至与对于前一代T细胞接合抗体所观察到的程度相同的程度。T细胞激活的这种减少与患者中较少或减少的T细胞再分布相关，这被鉴定为副作用的风险。

[0004] WO 2008/119567中描述的抗体构建体可能苦于从体内快速清除;因此，虽然它们能够快速到达身体的大部分部位，并且快速产生并且更容易处理，但是它们的体内应用可能受限于它们在体内的短暂持久性。因为这种小的单链分子的体内半衰期短，所以通过连续静脉内输注延长施用来实现治疗效果。然而，将这种连续静脉内输注分类为对患者不方便，例如，因为必须频繁地(至少每两天)更换输注袋，以避免微生物污染并因此避免例如败血症的副作用。

[0005] 设想添加防腐剂作为该问题的一种解决方案。其主要功能是抑制微生物生长并确保在药物产品的整个保质期或使用期限内的产品无菌性。常用的防腐剂包括苯甲醇、苯酚和间甲酚。尽管防腐剂与小分子肠胃外药物一起使用有很长的历史，但是开发包括防腐剂的蛋白质配制品具有挑战性。防腐剂几乎总是对蛋白质具有不稳定效应(聚集)，并且这已成为限制其在蛋白质配制品中使用的主要因素。因此，今天大部分蛋白质药物仅配制用于一次性使用。迄今为止，只有少数几种含防腐剂的配制品成为可能，例如人类生长激素(hGH)，其中防腐配制品的开发已经导致了更方便、多用途的注射笔展示形式的商业化。至少四种含有hGH的防腐配制品的此类笔装置目前可在市场上获得。Norditropin(液体，诺和诺德公司(Novo Nordisk))、Nutropin AQ(液体，基因泰克公司(Genentech))和Genotropin(冻干的--双室药筒，法玛西亚普强公司(Pharmacia&Upjohn))含有苯酚，而Somatrope(礼来公司(Eli Lilly))用间-甲酚进行配制。在防腐剂型的配制和开发期间需要考虑若干个方面。必须优化药物产品中有效的防腐剂浓度。这需要以赋予抗微生物有效性而不损害蛋白质稳定性的浓度范围测试剂型中给定的防腐剂。要指出的重要点是，防腐剂有效性应在含有活性药物和所有赋形剂组分的最终配制品中得到证实。

[0006] 因此，本发明的目的是提供改善的包含双特异性抗体构建体的药物组合物，其优选地以如下方式防腐：可以以更长的间隔进行连续输注，即提高患者舒适度，同时在储存和施用期间是稳定的。然而，适合的防腐的包含双特异性抗体构建体的药物组合物对于这种双特异性抗体构建体也是有利的，该双特异性抗体构建体不需要在几天内连续输注而仅需要几个小时，因为输注这些半衰期延长的(HLE)双特异性抗体构建体可能需要数小时，在这段时间应减少微生物污染和因此感染的风险。同时，回收药物组合物和其中包含的双特异性抗体构建体也是本发明的目的。

[0007] 增加的半衰期通常可用于免疫球蛋白，尤其是抗体以及最尤其是小尺寸的抗体片段的体内应用。本领域中描述的用以实现这种效果的方法包括将小双特异性抗体构建体与较大蛋白质融合，其优选不干扰BiTE®抗体构建体的治疗效果。双特异性T细胞接合物的这种进一步开发的实例包括双特异性Fc-分子，例如US 2014/0302037、US 2014/0308285、WO 2014/144722、WO 2014/151910和WO 2015/048272中所述。

[0008] 但是，在用于防腐时，避免蛋白质聚集是主要障碍。蛋白质聚集代表蛋白质物理不稳定性的主要事件，并且其发生归因于使溶剂和疏水蛋白质残基之间的热力学上不利的相互作用最小化的固有倾向。这是特别有问题的，因为在重折叠、纯化、灭菌、运输和储存过程中经常遇到。即使在蛋白质天然状态在热力学上高度有利(例如，中性pH和37℃)并且没有应激的溶液条件下也会发生聚集(Chi等人，Pharm Res[药物研究]，第20卷，第9期，2003年9月，第1325-1336页，Roberts，Trends Biotechnol.[生物技术趋势]2014年7月;32(7):372-80，Wang，Int J Pharm.[国际药学杂志]1999年8月20日;185(2):129-88，Mahler J Pharm Sci.[药物科学杂志]2009年9月;98(9):2909-34)。

[0009] 此外，还必须保护半衰期延长的抗体构建体，例如包含半衰期延长模式(例如Fc分子)的双特异性T细胞接合物，以防止蛋白质聚集和/或其他降解事件。蛋白质聚集是有问题的，因为它会损害治疗性蛋白质的生物活性。此外，蛋白质的聚集导致不期望的药物产品外观，并且由于从最终产物中去除聚集体所需的复杂的纯化步骤而降低了产物产率。最近，人们还越来越关注并且有越来越多的证据证明聚集蛋白(甚至是人源化或全人源蛋白质)的

存在可以显著增加患者对活性蛋白质单体产生免疫应答的风险，导致形成中和抗体和抗药性，或其他不良副作用(Mahler J Pharm Sci.[药物科学杂志]2009年9月;98(9):2909-34)。

[0010] 总的来说，文献中已经报道了通过若干种机制使蛋白质聚集最小化的若干努力。通过修饰蛋白质的一级结构，可以稳定蛋白质并且因此防止聚集体形成和其他化学变化，从而增加内部疏水性并且降低外部疏水性。然而，蛋白质的基因工程化可以导致功能受损和/或免疫原性增加。另一种方法集中于聚集体的解离(称为“解聚”)，以通过使用多种机制(如温度、压力、pH和盐)来恢复功能性天然单体。目前，蛋白质聚集体主要在下游加工的精制步骤中作为杂质被去除。然而，在高水平的高分子量(HMW)的情况下，去除大量的HMW不仅导致显著的产量损失，而且使得设计稳健的下游工艺具有挑战性(Chi等人，PharmRes[药物研究]，第20卷，第9期，2003年9月，第1325-1336页)。

[0011] 在宽浓度范围内将双特异性抗体构建体配制品防腐，同时保持其稳定性并确保其从施用容器中定量回收提出了严峻的挑战。在本领域中需要优化的药物组合物，其提供防腐的治疗性蛋白质配制品的增强的稳定性。本发明的目的是在非半衰期延长的双特异性抗体构建体和半衰期延长的双特异性抗体构建体(例如包括半衰期延长模式(例如Fc分子)的双特异性T细胞接合物)方面均满足该需求。

发明内容

[0012] 典型地通过静脉内途径来安全，定量和任选地延长施用基于蛋白质的药物(例如包括双特异性T细胞接合抗体构建体的双特异性抗体构建体)具有挑战性。为此，在本发明的上下文中，提供了一种药物组合物，其包含

[0013] i.双特异性抗体构建体，其通过第一结合结构域与靶细胞表面抗原结合，并通过第二结合结构域与T细胞表面抗原CD3结合，其中链抗体构建体以0.5μg/ml至20mg/ml，优选地0.5μg/ml至10或5mg/ml的范围内的浓度存在。

[0014] ii.选自苯甲醇、氯丁醇、苯酚、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、苯氧乙醇、对羟基苯甲酸丙酯和硫柳汞的至少一种防腐剂，其浓度有效抑制微生物的生长，

[0015] iii.稀释剂，所述双特异性抗体构建体在其中是稳定的。

[0016] 在本发明的上下文中，设想双特异性抗体构建体以选自由以下组成的列表的范围内的浓度存在：

[0017] (a)0.5μg/ml至200μg/ml，pH为6.5至7.5，或

[0018] (b)0.5μg/ml至1000μg/ml，pH为4.0至6.0，或

[0019] (c)0.5μg至2mg，在CD3结合结构域稳定剂，优选地柠檬酸盐存在下，pH为4.0至7.5，或

[0020] (d)0.5μg至20mg，优选地0.5μg至10或5mg/ml，pH为4.0至7.5，其中双特异性抗体包含第三结合结构域，该第三结合结构域包含两个多肽单体，每个多肽单体包含铰链、CH2和CH3结构域，其中所述两个多肽单体通过肽接头彼此融合，并且其中所述第三结合结构域按氨基至羧基顺序包含：

[0021] 铰链-CH2-CH3-接头-铰链-CH2-CH3。

[0022] 在本发明的上下文中还设想，药物组合物包含双特异性抗体构建体，该双特异性

抗体构建体是双特异性单链抗体构建体。

[0023] 在本发明的上下文中进一步设想，双特异性抗体构建体以1.0至20mg/ml、或1.0至10mg/ml、或1.0μg/ml至5mg/ml或1.0μg/ml至4mg/ml或1.0μg/ml至3mg/ml、或1.0μg/ml至2mg/ml或1.0μg/ml至1mg/ml或1.5至5mg/ml或1.5μg/ml至4mg/ml或1.5μg/ml至3mg/ml、或1.5μg/ml至2mg/ml或1.5μg/ml至1mg/ml或1.5至200μg/ml的范围内的浓度存在。

[0024] 在本发明的上下文中还设想，至少一种防腐剂以0.001至1.0％(w/v)的范围内的浓度存在。

[0025] 在本发明的上下文中甚至更设想，防腐剂以0.009至0.9％(w/v)，优选地0.11至0.9％、或0.5至0.75％(w/v)或0.6至0.74％(w/v)的范围内的浓度存在。

[0026] 在本发明的上下文中设想，稀释剂是包含选自由以下组成的组的盐的缓冲剂：磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐和酒石酸盐，和/或其中该缓冲剂包含组氨酸、甘氨酸、TRIS甘氨酸、Tris、或其混合物。

[0027] 在本发明的上下文中进一步设想，稀释剂是选自由以下组成的组的缓冲剂：磷酸钾、乙酸/乙酸钠、柠檬酸/柠檬酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠、酒石酸/酒石酸钠、和组氨酸/组氨酸HCl或其混合物。

[0028] 在本发明的上下文中还设想，稀释剂是缓冲剂，其以0.1至150mM的范围内，优选地以0.25至50mM的范围内的浓度存在。

[0029] 在本发明的上下文中甚至更设想，稀释剂是包含0.25至50mM的范围内的浓度的柠檬酸盐的缓冲剂。

[0030] 在本发明的上下文中设想，组合物的pH在4.0至8.0的范围内，优选在pH 4.0至5.0或pH 6.5至7.5的范围内，或优选地pH 7.0。

[0031] 在本发明的上下文中进一步设想，药物组合物还包含一种或多种选自由以下组成的组的赋形剂：蔗糖、海藻糖、甘露醇、山梨糖醇、精氨酸、赖氨酸、聚山梨酸酯20、聚山梨酸酯80、泊洛沙姆188、普朗尼克及其组合。

[0032] 在本发明的上下文中还设想，药物组合物还包含聚山梨酸酯，优选地聚山梨酸酯80，和/或赖氨酸HCL。

[0033] 在本发明的上下文中进一步设想，如果双特异性抗体构建体的浓度为至少10μg/ml，优选地15μg/ml或20μg/ml，则药物组合物不包含聚山梨酸酯，优选地聚山梨酸酯80和/或赖氨酸HCL。

[0034] 在本发明的上下文中甚至更设想，双特异性抗体构建体的第一结合结构域与至少一种选自由以下组成的组的靶细胞表面抗原结合：CD19、CD33、EGFRvIII、MSLN、CDH19、FLT3、DLL3、CDH3、BCMA和PSMA。

[0035] 在本发明的上下文中设想，第一结合结构域包含含有选自由以下组成的组的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的VH区和含有选自由以下组成的组的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的VL区：

[0036] (a)如SEQ ID NO:1中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:2中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:3中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:4中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:5中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:6中所描绘的CDR-L3，

[0037] (b)如SEQ ID NO:29中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:30中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:31中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:34中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:35中

所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:36中所描绘的CDR-L3，

[0038] (c)如SEQ ID NO:42中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:43中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:44中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:45中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:46中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:47中所描绘的CDR-L3，

[0039] (d)如SEQ ID NO:53中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:54中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:55中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:56中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:57中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:58中所描绘的CDR-L3，

[0040] (e)如SEQ ID NO:65中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:66中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:67中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:68中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:69中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:70中所描绘的CDR-L3；

[0041] (f)如SEQ ID NO:83中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:84中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:85中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:86中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:87中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:88中所描绘的CDR-L3，

[0042] (g)如SEQ ID NO:94中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:95中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:96中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:97中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:98中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:99中所描绘的CDR-L3，

[0043] (h)如SEQ ID NO:105中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:106中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:107中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:109中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:110中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:111中所描绘的CDR-L3，

[0044] (i)如SEQ ID NO:115中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:116中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:117中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:118中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:119中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:120中所描绘的CDR-L3，

[0045] (j)如SEQ ID NO:126中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:127中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:128中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:129中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:130中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:131中所描绘的CDR-L3，

[0046] (k)如SEQ ID NO:137中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:138中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:139中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:140中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:141中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:142中所描绘的CDR-L3，

[0047] (l)如SEQ ID NO:152中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:153中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:154中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:155中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:156中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:157中所描绘的CDR-L3，以及

[0048] (m)如SEQ ID NO:167中所描绘的CDR-H1、如SEQ ID NO:168中所描绘的CDR-H2、如SEQ ID NO:169中所描绘的CDR-H3、如SEQ ID NO:107中所描绘的CDR-L1、如SEQ ID NO:171中所描绘的CDR-L2和如SEQ ID NO:172中所描绘的CDR-L3。

[0049] 在本发明的上下文中进一步设想，双特异性抗体构建体具有半衰期延长(HLE)部分，优选地scFc结构域。

[0050] 在本发明的上下文中还设想，药物组合物是液体、冻干的或冷冻的液体。

[0051] 在本发明的上下文中甚至更设想，组合物包含<5％的双特异性抗体构建体的多聚体，优选地<1％。

[0052] 在本发明的上下文中设想,多聚体是二聚体。

[0053] 在本发明的上下文中进一步设想,该组合物包含<5%的双特异性抗体构建体的多聚体,优选地<1%,在室温下持续至少4天,优选地至少10天,更优选地至少14天的时段。

[0054] 在本发明的上下文中还设想,将药物组合物填充在优选由EVA、聚烯烃和/或PVC制成的塑料施用容器中。

[0055] 在本发明的上下文中甚至更设想,双特异性单链抗体构建体从包含根据权利要求6至13所述的缓冲剂和/或赋形剂中的至少一种的塑料施用容器中的稀释液中回收至少90%,优选至少95、96、97、98或甚至至少99%。

[0056] 在本发明的上下文中设想,药物组合物包含至少0.25mM柠檬酸盐、至少0.0125mM赖氨酸和/或至少0.001%聚山梨酸酯80,pH为6.5至7.5。

[0057] 在本发明的上下文中进一步设想,药物组合物是在-50℃,优选地-40℃、-30℃或-20℃下储存的储存溶液。

[0058] 在本发明的上下文中还设想,作为在-50℃,优选地-40℃、-30℃或-20℃下储存的储存溶液提供的药物组合物包含含有第三结合结构域的双特异性抗体,该第三结合结构域包含两个多肽单体,每个多肽单体包含铰链、CH2和CH3结构域,其中所述两个多肽单体通过肽接头彼此融合,并且其中所述第三结合结构域按氨基至羧基顺序包含:

[0059] 铰链-CH2-CH3-接头-铰链-CH2-CH3。

[0060] 在本发明的上下文中进一步设想,双特异性抗体构建体以冻干物的形式提供,该冻干物优选地包含冻干保护剂、缓冲剂和/或表面活性剂,并且其中冻干物通过包含防腐剂并且优选包含缓冲剂和/或赋形剂的稀释剂进行重构。

[0061] 在本发明的上下文中特别设想,将药物组合物作为溶液、作为冷冻状态的溶液或作为冻干物储存直至使用,并且然后任选地在稀释或重构后施用,而无需添加选自防腐剂、稳定剂或表面活性剂的其他赋形剂。

[0062] 在本发明的上下文中还设想,该药物组合物用于治疗恶性疾病。

[0063] 在本发明的上下文中甚至更设想一种用于治疗或缓解恶性疾病的方法,该方法包括以下步骤:向有需要的受试者施用根据本发明的药物组合物,或根据本发明的方法产生的药物组合物。

[0064] 在本发明的上下文中设想,将根据本发明的药物组合物静脉内,优选连续地施用1至24小时,优选地1至10或2至5小时。

[0065] 在本发明的上下文中进一步设想,将根据本发明的药物组合物连续地静脉内施用2至14天,优选地2至10天,最优选地4至7天。

[0066] 在本发明的上下文中还设想一种试剂盒,其包含作为冻干物的双特异性抗体构建体以及稀释剂,所述冻干物优选地包含冻干保护剂、缓冲剂和/或表面活性剂,所述稀释剂包含防腐剂并且优选地包含根据本发明的缓冲剂和/或赋形剂。

附图说明

[0067] 图1:通过SEC-HPLC测定的CD19xCD3双特异性抗体构建体的百分位数高分子量(HMW)物质在25℃和pH 4下对防腐剂氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯、苯酚和硫柳汞的稳定性图。

[0068] 图2:通过SEC-HPLC测定的CD19xCD3双特异性抗体构建体的百分位数高分子量(HMW)物质在25℃和pH 7下对防腐剂苯甲醇的取决于CD19xCD3双特异性抗体构建体浓度的稳定性图。

[0069] 图3:通过SEC-HPLC测定的CD19xCD3双特异性抗体构建体的百分位数主峰(A)和高分子量(HMW)物质在25℃下对防腐剂苯甲醇的取决于防腐剂浓度(B)和取决于施用容器材料(C)的稳定性图。通过SEC-HPLC测定的CD19xCD3双特异性抗体构建体的百分位数主峰(单体)在25℃下对防腐剂苯甲醇的取决于防腐剂浓度的取决于施用容器材料的稳定性图(D)。

[0070] 图4:在pH 4下通过荧光光谱法测定的在浓度1mg/mlin的防腐剂苯甲醇的存在或不存在下的CD19xCD3双特异性抗体构建体的变性图。

[0071] 图5:大肠杆菌(A)、金黄色假单胞菌(B)、阴沟肠杆菌(C)、金黄色葡萄球菌(D)、藤黄微球菌(E)和白色念珠菌(F)在包含CD19xCD3双特异性抗体构建体和0、0.5、0.6或0.7％苯甲醇的配制品中的微生物生长图。

[0072] 图6:柠檬酸盐(在存在苯甲醇的情况下适用)对FAPα(A)、其中抗CD3结构域中的肽108-112(YISYW)对应于FAPα中的肽367-370的抗CD3结构域(B)、其中CD33xCD3双特异性抗体构建体中的肽364-368(YISYW)对应于FAPα中的肽366-370的CD33xCD3双特异性抗体构建体(C)、和其中EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体中的肽365-369(YISYW)对应于FAPα中的肽366-370的EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体(D)的稳定作用。图6E和F单独显示了柠檬酸盐和苯甲醇的作用,图6G和H显示了组合,各自在双特异性抗体构建体或单个结构域浓度各自为600μg/ml的情况下。抗CD3结构域、CD33xCD3双特异性抗体构建体、FAPα和EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体的结果是相同的。

[0073] 图7:含0至10％IVSS的分别在0.9％盐水中稀释至1μg/mL的50μL EGFRvIII x CD3非HLE双特异性抗体构建体注射液在C8柱上后的反相色谱(A)。将每种洗脱的EGFRvIIIxCD3非HLE双特异性抗体构建体样品的峰面积绘制成稀释溶液中所含百分位数IVSS浓度[％IVSS]的函数(B)。

[0074] 图8:评估了赋形剂对百分位数回收率的影响和必要性。如果构建体浓度为至少15μg/ml,在不添加柠檬酸盐、赖氨酸和聚山梨酸酯80的组合(本文将组合简称为IVSS)下,需要在25℃下观察24小时,以确保定量的CD19xCD3双特异性抗体构建体回收(8A)。促进定量回收的试剂是聚山梨酸酯80,而对于此作用不需要非表面活性剂赋形剂(8B)。0.002％聚山梨酸酯80确保在IV袋中CD19xCD3双特异性抗体构建体回收,即使在1和0,05μg/ml的极低浓度下也如此(8C)。0.02％聚山梨酸酯80对应于IVSS中的典型浓度。

[0075] 图9:防腐剂苯甲醇改善pH 4下1mg/ml浓度的包含含有第三结构域(HLE结构域)的CD19xCD3、CD33xCD3、BCMAxCD3和DLL3xCD3双特异性抗体构建体的药物组合物在-20℃下储存4周后所显示的冷冻稳定性。

[0076] 图10:防腐剂苯甲醇对冷冻稳定性的稳定效果在高于0.1％的浓度下是最佳的,并确保HMW物质的减少,即使在5mg/ml的高浓度双特异性抗体构建体下也如此,如DLL3xCD3在pH 4下在-20℃下储存4周后所例示。

具体实施方式

[0077] 本发明基于的总体概念是令人惊讶的发现,即根据本发明的包含双特异性抗体构

建体的液体和冷冻状态的药物组合物的稳定性通过向液体药物组合物中添加防腐剂来改善,这典型地取决于双特异性抗体构建体和防腐剂的浓度。令人惊奇地发现,如果以约0.5μg/ml至5mg/ml的特定浓度存在,包含双特异性抗体构建体的药物组合物不仅在存在防腐剂的情况下稳定,甚至可以通过该防腐剂稳定,该双特异性抗体构建体优选地为(在包含如本文所定义的第三结构域时,即是半衰期延长(HLE)双特异性抗体构建体或不是两种情况下)单链抗体构建体例如BiTE®抗体构建体。这是特别令人惊奇的,因为本领域已知防腐剂例如苯甲醇、间甲酚和苯氧基乙醇促进蛋白质例如抗体的聚集。但是,取决于例如双特异性抗体的浓度类型,以及任选地pH和其他补充稳定剂的存在,根据本发明的药物组合物是稳定的。其中,本文所述的第一结合结构域(靶向结构域)不太重要,因为防腐剂和任选的其他稳定补充赋形剂例如柠檬酸盐的稳定作用主要和与第二结合结构域(CD3结合结构域)的相互作用有关。有利地,防腐剂可以在储存期间(例如冷冻状态下)、以及-任选pH调节和/或稀释后(施用时)在物理和微生物学上稳定药物组合物。因此,可以方便地使用相同的药物组合物,但可任选地调节pH,例如从低pH(例如4.0至6.5)调节至中性pH(6.5至7.5),并出于静脉内施用目的进行稀释。全文中,但是,双特异性抗体构建体的浓度在0.5μg/ml至5mg/ml的范围内,或者在某些情况下,在0.3μg/ml至10、20或甚至30mg/ml的范围内。因此,包含药物组合物的容器例如静脉内输注袋由于减少了微生物污染而可能只需要更长时间间隔(例如3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或甚至14天)来更换,这显著增加患者舒适度。

[0078] 稳定和微生物有效的防腐剂包括但不限于苯甲醇、氯丁醇、对羟基苯甲酸甲酯、苯酚和硫柳汞。用于配制药物组合物的有用的防腐剂通常包括抗微生物剂(例如抗细菌剂或抗真菌剂)、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等;实例是:苯扎氯铵、苯甲酸、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸或过氧化氢。抗微生物防腐剂是用来通过减少微生物繁殖来延长药物保质期的物质。特别适用于配制本发明药物组合物的防腐剂包括苯甲醇、氯丁醇、苯酚、间甲酚、对羟基苯甲酸甲酯、苯氧基乙醇、对羟基苯甲酸丙酯硫柳汞。这些防腐剂的结构和典型使用浓度描述于Meyer等人J Pharm Sci.[药物科学杂志]96(12),3155的表1中。

[0079] 上述防腐剂能以不同的浓度存在于药物组合物中。例如,苯甲醇可能以0.2与1.1%(w/v)之间的浓度范围存在,优选地0.5至0.9%(v/v),氯丁醇的浓度范围为0.3-0.5%(v/v),苯酚的浓度范围为0.07与0.5%(w/v)之间,间甲酚的浓度范围为0.17与0.32%(w/v)之间或硫柳汞的浓度范围为0.003与0.01%(w/v)之间。对羟基苯甲酸甲酯的优选浓度在0.05至0.5%(w/v)的范围内,苯氧基乙醇在0.1至3%(w/v)的范围内,并且对羟基苯甲酸丙酯在0.05至0.5%(w/v)的范围内。

[0080] 不希望受理论的束缚,例如苯甲醇的防腐剂以适当的浓度结合至双特异性抗体构建体(例如CD19xCD3双特异性抗体构建体)的二聚化位点,并因此降低了形成二聚体或其他多聚体的可能性。因此,例如在CD19xCD3、BCMAxCD3、PSAMxCD3、CD33xCD3或EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体中,聚集风险显著降低。这尤其令人惊讶,因为几个展开区域表明防腐剂(例如苯甲醇)使双特异性抗体构建体的单体不稳定,这将导致二聚体/聚集体形成增加。然而,这些区域中的一些与可能涉及二聚体形成的区域重叠。只要双特异性抗体的浓度保持在一定限度内,这种区域性的展开可能通过转化回单体破坏二聚体的形成,以及整体稳定作用。

[0081] 在某些实施例中，可以在防腐剂存在下，在根据本发明的用于静脉内施用的药物组合物中使用缓冲剂和/或赋形剂来增加双特异性抗体构建体的稳定性。这种赋形剂在本文中称为与CD3结合结构域相互作用的互补稳定剂。在具体的实施例中，例如在中性pH下和/或双特异性抗体构建体不具有本文所述的第三结合结构域并以更高浓度存在于药物组合物中，例如，高于50、100、150、200、250、300、350、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或1000μg/ml，典型地至少50μg/ml或200μg/ml，这种补充稳定剂可能是优选地，用以在防腐剂存在下确保双特异性抗体构建体的稳定性。例如，对于不具有本文所述的第三结合结构域的双特异性抗体构建体，例如CD33xCD3双特异性抗体构建体，可能是这种情况。设想如果双特异性抗体构建体的浓度为例如200、150、100或50μg/ml或更低，则不需要这种补充稳定剂如柠檬酸盐。但是，其他缓冲剂/赋形剂如聚山梨酸酯，例如聚山梨酸酯80在20、15或10μg/ml双特异性抗体构建体的浓度下可能是优选的，用以允许定量回收，即例如由于对施用容器的吸附的损失是低的并且百分位数回收量对应于至少90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％或甚至99.5％。这是特别有利的，因为出于实用(处理)和医学原因(过敏、副作用)节省了过量的赋形剂。

[0082] 与中性pH相比，低pH补助双特异性抗体构建体通过防腐剂也在较高浓度下的稳定化，这就是为什么包含更高浓度(例如至少200、300、400、500、600、700、800、900或1000μg/ml)的医药组合物是稳定的，即优选地显示出低于5、4、3、2、1或甚至0.5％的低百分位数HMW浓度。

[0083] 在某些实施例中用于在防腐剂存在下稳定双特异性抗体构建体的缓冲剂和/或赋形剂可包括但不限于柠檬酸盐、赖氨酸和聚山梨酸酯80。在根据本发明的防腐剂存在下，这些化合物中的任一种单独或以任何组合或者就其功能或结构而言相当化合物均可用于获得双特异性抗体构建体的稳定作用和/或提高回收率，同样在没有防腐剂的情况下，其中后者不需要稳定性或微生物稳定性。

[0084] 在防腐剂存在下，在某些实施例中用于稳定双特异性抗体构建体的缓冲剂和/或赋形剂也可以和/或同时令人惊奇地用于改善双特异性抗体构建体从用于向患者施用药物组合物的(塑料)容器中的回收。由于根据本发明的药物典型地以非常低的浓度给药，因此例如吸附到施用容器如静脉内输注袋可能会对有效给药产生重大影响。因此，非常有利的是添加这样的缓冲剂和/或赋形剂可以增加药物从容器中的回收率。例如，与在不存在这些化合物的情况下的药物浓度相比，向患者施用的药物组合物中添加柠檬酸盐，赖氨酸和/或聚山梨酸酯80的组合可以使回收率提高多达250％。相对较低的量，例如至少0.25至1mM柠檬酸盐，0.0125M赖氨酸和/或0.001％聚山梨酸酯80对此目的会是足够的。这转化为要施用给患者的1％IVSS溶液，这可能就足够了。使用更高的量(例如2％、3％、4％、5％、6％、7％、8％、9％或10％IVSS)可以获得甚至更好的结果。4％IVSS可能是优选的。但是，可能不需要IVSS的所有组分才能获得改善的回收效果。例如，单独的聚山梨酸酯可以充分减少药物对施用容器的吸附。本发明的所述方面有助于提高非常有效的药物如双特异性抗体构建体的剂量可靠性。因此，本发明也提高了患者的安全性。

[0085] 然而，超过一定阈值，可能不再需要这种缓冲剂和/或赋形剂以提高回收率。该阈值例如为10μg/ml、15μg/ml或20μg/ml，优选地为15μg/ml。但是，一般而言，包含至少一种表面活性剂作为就回收而言的赋形剂，例如聚山梨酸酯，尤其是聚山梨酸酯80的药物组合物

是优选的。

[0086] 在本发明的另一方面，基于HDX的发现，如果该双特异性抗体构建体以超出一定阈值存在，该阈值取决于根据本发明的第三结合结构域的不存在或存在和/或药物组合物的pH，防腐剂例如苯甲醇可以通过(疏水)相互作用特异性地使本发明的双特异性抗体构建体的第二结合结构域(抗CD3结构域)去稳定。典型地，如果存在本文所述的第三结合结构域和/或pH为酸性例如pH 4.0至6.5，则阈值较高。不希望受理论的束缚，这种双特异性抗体构建体的去稳定作用可能与构象动力学增加有关，这继而通常会与分子稳定性降低有关。然而，在本文中令人惊讶地发现，缓冲剂和/或赋形剂例如包含柠檬酸盐的缓冲剂或赋形剂可以抵消去稳定作用。此类缓冲剂和/或赋形剂与防腐剂之间的抵消作用可以应用于具有以SEQ ID No 18至23所示的CDRS为特征的抗CD3结构域的所有双特异性抗体构建体(就构象而言)。对于这种双特异性抗体构建体已经可看到，在更低浓度(例如低于50μg/ml)下，在防腐剂例如苯甲醇存在下不需要稳定赋形剂，此时防腐剂例如苯甲醇可令人惊讶地由于抑制或减少二聚体而本身具有稳定性质。典型地，在更高浓度下(例如在高于200μg/ml的浓度下)并非如此，条件是药物组合物的pH值高于6.5和/或双特异性抗体构建体包含本文所述的第三结构域。如果防腐剂的去稳定化作用大于其基于双特异性抗体构建体浓度的稳定作用，则可以使用赋形剂(例如柠檬酸盐)作为另外和补充的稳定化赋形剂。因此，在防腐剂例如苯甲醇的存在下，另外的稳定剂例如柠檬酸盐的添加允许双特异性抗体构建体的更通用的用途(浓度范围)。

[0087] 在本发明的上下文中可替代地设想，该药物组合物例如使用抑菌0.9％氯化钠USP(含有0.9％苯甲醇)用以输注7天。特别设想到出于安全原因，该选项可用于体重大于或等于某个阈值的患者。该阈值可以是20、22或25kg。

[0088] 在本发明上下文中的一个具体实施例中设想，根据本发明的双特异性抗体构建体以无菌，无防腐剂的白色至灰白色冻干粉剂提供在单剂量小瓶中，用于静脉内施用。CD19xCD3抗体构建体的每个单剂量小瓶均含有35mcg根据本发明的双特异性抗体构建体、柠檬酸一水合物(3.35mg)、赖氨酸盐酸盐(23.23mg)、聚山梨酸酯80(0.64mg)、海藻糖二水合物(95.5mg)，和将pH调节至7.0的氢氧化钠。用3mL 0.9％氯化钠USP(含有0.9％苯甲醇)重构后，所得浓度为12.5mcg/mL的根据本发明的双特异性抗体构建体。静脉内溶液稳定剂(IVSS)以无菌，无防腐剂的无色至浅黄色澄清溶液提供在单剂量小瓶中。每个静脉溶液稳定剂的单剂量小瓶均含有柠檬酸一水合物(52.5mg)、赖氨酸盐酸盐(2283.8mg)、聚山梨酸酯80(10mg)、将pH调节至7.0的氢氧化钠和注射用水。

[0089] 在本发明中，术语“稳定性”或“稳定化”涉及药物组合物的整体稳定性，并特别地涉及活性成分(即双特异性单链抗体构建体)本身的稳定性，特别是在配制、填充、运输、储存和施用期间。在本发明的药物组合物和双特异性单链抗体构建体的上下文中，术语“稳定性”或“稳定的”特别是指减少或防止蛋白质聚集体(HMWS)的形成。具体地，术语“稳定性”还涉及包含在本文所述药物组合物中的双特异性(单链)抗体构建体的胶体稳定性。“胶体稳定性”是胶体颗粒(例如蛋白质)长时间(数天至数年)保持分散在液体中的能力。当涉及到防腐的稳定性时，使用术语微生物稳定性。

[0090] 本文使用的术语“(蛋白质)聚集体”通常涵盖较高分子量的蛋白质种类，如“低聚物”或“多聚体”，而不是所需的确定种类(例如单体)。该术语在本文中可与术语“高分子量

物质”和“HMWS”互换使用。蛋白质聚集体的大小(从小(二聚体)到大组件(亚可见或甚至可见颗粒)以及直径范围从纳米到微米)、形态(近似球形到针状)、蛋白质结构(天然相比于非天然/变性)、分子间键合的类型(共价相比于非共价)、可逆性和溶解性通常不同。可溶性聚集体覆盖约1至100nm的大小范围,并且蛋白质颗粒覆盖亚可见(约0.1-100.m)和可见(>100.m)范围。所有上述类型的蛋白质聚集体通常涵盖在该术语中。因此,术语“(蛋白质)聚集体”是指两种或更多种蛋白质单体的所有种类物理缔合或化学连接的非天然种类。

[0091] 因此,术语“蛋白质聚集”或“非天然聚集”表示蛋白质分子组装成由两种或更多种蛋白质组成的复合物的一个或多个过程,其中各个蛋白质表示为单体。存在多种导致蛋白质聚集的途径,其可以由多种条件诱导,这些条件包括温度、机械应力如振荡和搅拌、泵送、冷冻和/或解冻和配制。

[0092] 温度的升高加速了化学反应,如蛋白质的氧化和脱酰胺,这继而可促进聚集。较高的温度也直接影响蛋白质在四级、三级和二级结构水平上的构象,并且可以导致温度诱导的展开,其可以促进聚集。本申请中提到的温度典型地是用于长期储存基于精细蛋白质的药物的深度冷冻温度(-70℃)、常规冷冻温度(-20℃)、冷藏温度(4℃)、室温(25℃)和生理温度(37℃)。

[0093] 因此,令人惊讶地发现,对于本发明的双特异性抗体构建体,向本发明的药物组合物中添加防腐剂可以抑制冷冻状态聚集。因此,这样的双特异性抗体构建体可以在-50℃、-40℃或优选地甚至在-30℃或-20℃而不是-70℃下储存,而不显示冷冻状态聚集,即聚集体例如高分子量(HMW)物质的存在经至少1个月的储存时间(例如1、2、3、4、5、6、12或24个月)保持低于1%或甚至低于0.8%、0.6%、0.4%或甚至低于0.3%。有利地,当可以将-70℃储存替换为在更高冷冻储存温度下的储存时,或者可以将-70℃储存容量分配给其他更精细的储存项目时,可以节省能量。同时,如果仅需要在常规冷冻而不是深度冷冻范围内的储存温度来储存根据本发明的药物组合物,则降低了运输挑战。不希望受理论的束缚,冷冻状态的聚集体可能由于双特异性抗体构建体的第一结合结构域和第二结合结构域的特定区域之间的疏水相互作用而形成。添加防腐剂例如苯甲醇可以通过与根据本发明的双特异性抗体构建体的第二结合结构域中的疏水性补丁结合,使冷冻状态的聚集保持较低,例如HMW物质相对于(冷冻)溶液中双特异性抗体构建体的总量而言低于1%。对于包含根据本发明的第三结构域(例如scFc HLE结构域)的双特异性抗体构建体尤其如此。

[0094] 优选地,冷冻状态储存药物组合物的pH在pH 4.0至6.5,优选地4.2至4.8的范围内。在向患者施用之前,为了更好地静脉内相容性,可以提高pH。然而,典型地,可以在施用前使用药物组合物而无需去除特定组分如赋形剂。因此,在例如冷冻状态储存过程中充当物理稳定剂的防腐剂随后可以任选地在稀释和/或pH调节之后在液体施用的药物组合物中充当稳定剂,并且还可以充当防腐剂以确保根据本发明的药物组合物的微生物稳定性。

[0095] 由于复杂的物理和化学变化,如新的冰/溶液界面的产生、对容器表面的吸附、蛋白质和溶质的低温浓缩,以及由于缓冲剂组分的结晶导致的pH变化,因此蛋白质变性和聚集可在冷冻/解冻期间发生。

[0096] 蛋白质浓度的增加也可以增强蛋白质聚集体的形成。在高蛋白质浓度下,发生大分子拥挤,该术语用于描述大分子溶质的高总体积占有率对每个大分子种类在该溶液中的行为的影响。根据这种排除体积理论,可能有利于自组装以及因此的潜在聚集。

[0097] 已知液体配制品中的抗微生物防腐剂(如苯甲醇和苯酚)可确保其保质期内的无菌性,并且此外,在多剂量配制品和某些药物递送系统中也需要这种防腐剂,例如注射笔、微型泵和局部应用。据报道,许多防腐剂可诱导蛋白质聚集,尽管其潜在机制尚不清楚。已经提出防腐剂结合并填充易于聚集的展开蛋白质状态。

[0098] 有利地,设想本发明的药物组合物是稳定的,即,即使在经受应力(特别是热应力、储存、表面诱导的应力(如冷冻/解冻循环、发泡))、浓缩(通过超滤和渗滤)或与有机化合物(如抗微生物防腐剂)混合时保持不含或基本上不含蛋白质聚集体。优选地,与已经在所附实例中评估的具有低pH的组合物相比,药物组合物可具有类似或甚至改善的特征。本发明的药物组合物优选地是基于蛋白质的药物的均相溶液,例如具有延长的半衰期的分散的单体双特异性单链抗体构建体。

[0099] 技术人员将理解,即使药物组合物有效地提供活性成分的稳定化(即减少或抑制双特异性单链抗体构建体的蛋白质聚集体的形成),也偶尔可形成一些聚集体或构象异构体,然而基本上不会损害药物组合物的总体可用性。在此上下文中,“基本上不含”聚集体意指聚集体的量保持低于10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%或1%(w/v),特别是在经受环境应力时,例如在所附实例中所评估的。

[0100] 用于测定可溶性和不溶性蛋白质聚集体的存在的方法尤其已经由Mahler等人,JPharm Sci.[药物科学杂志]2009年9月;98(9):2909-34综述。可溶性蛋白质聚集体的形成可通过如所附实例中所述的尺寸排阻超高效液相色谱(SE-UPLC)来评估。SEC是用于检测和定量蛋白质聚集体的最常用的分析方法之一。SEC分析允许对聚集体分大小及其量化两者。SEQ-UPLC允许在约5-1000kDa的分子量范围内基于其形状和大小(流体动力学半径)选择性和快速分离大分子。

[0101] 蛋白质溶液显示出光学特性,称为乳白色或浊度。溶液的光学特性是存在的颗粒散射和吸收光的函数。蛋白质是天然胶体,并且含水配制品的浊度取决于蛋白质浓度、非溶解颗粒的存在、颗粒大小和每体积单位的颗粒数。浊度可以通过UV-Vis光谱测量为340-360nm范围内的光密度,并用于检测可溶性和不溶性聚集体;

[0102] 此外,通过视觉手段检查样品仍然是评估蛋白质聚集体的重要方面。优选地根据Deutscher Arzneimittel Codex(DAC)测试5进行对可见聚集体的存在或不存在的视觉评估。

[0103] 如本文其他地方所述,设想本发明的药物组合物-最可能通过低pH的作用和任选地包含在其中的其它稳定剂-有利于增加双特异性单链抗体构建体的胶体稳定性,并且因此表现出降低或甚至没有液-液相分离(LLPS)。LLPS是以热力学方式驱动的事件,其中均相蛋白质溶液随温度降低分离成蛋白质不足的相(通常是顶层)和富含蛋白质的相(通常是底层)。LLPS典型地仅通过混合两相并升高溶液的温度就完全可逆。LLPS的发生已经归因于短程吸引的蛋白质-蛋白质相互作用-使其成为蛋白质-蛋白质吸引力的量度。已发现,与不含β-环糊精的药物组合物相比,根据本发明的包含β-环糊精的药物组合物在LLPS蛋白质不足的相中包含更高浓度的双特异性单链抗体构建体。因此,与对照相比,设想本发明的药物组合物表现出降低的LLPS或完全没有LLPS,并且因此促进了本发明的双特异性单链抗体构建体的增加的胶体稳定性。可以诱导LLPS,并且可以如所附实例中所述检查不同相的蛋白质含量。

[0104] 环境应力也可特别是由于热和/或化学变性而导致构象变化，这继而可以有利于聚集。令人惊讶的是，发明人发现，通过测量芳香族氨基酸的固有荧光发射强度来评估，双特异性单链抗体构建体在构象变化方面也是稳定的。因此，本发明的药物组合物优选地还减少或抑制构象异构体(即非天然的、异常折叠的蛋白质种类)的形成。

[0105] 如前所述，本发明的稳定药物组合物包含双特异性单链抗体构建体，其经由第一结合结构域与靶细胞表面抗原结合，并经由第二结合结构域与T细胞表面抗原CD3结合。

[0106] 术语“抗体构建体”是指其中结构和/或功能基于抗体(例如全长或完整免疫球蛋白分子)的结构和/或功能和/或从抗体或其片段的可变重链(VH)和/或可变轻链(VL)结构域中提取的分子。因此，抗体构建体能够与其特异性靶或抗原结合。此外，根据本发明的抗体构建体的结合结构域包含允许靶结合的抗体的最小结构要求。这种最小要求可以例如通过至少三个轻链CDR(即VL区的CDR1、CDR2和CDR3)和/或三个重链CDR(即VH区的CDR1、CDR2和CDR3)，优选全部六个CDR的存在来定义。定义抗体的最小结构要求的可替代方法是分别定义特异性靶结构内的抗体表位、构成表位区(表位簇)的靶蛋白的蛋白结构域或通过参考与所定义抗体的表位竞争的特异性抗体。根据本发明的构建体所基于的抗体包括例如单克隆抗体、重组抗体、嵌合抗体、去免疫抗体、人源化抗体和人抗体。

[0107] 根据本发明的抗体构建体的结合结构域可以例如包含上文提及的CDR组。优选地，那些CDR包含在抗体轻链可变区(VL)和抗体重链可变区(VH)的框架中；然而，它不一定包含两者。例如，Fd片段具有两个VH区并且通常保留完整抗原结合结构域的一些抗原结合功能。抗体片段、抗体变体或结合结构域的形式的另外实例包括(1)Fab片段，一种具有VL、VH、CL和CH1结构域的单价片段；(2)F(ab')$_2$片段，一种具有由二硫桥在铰链区连接的两个Fab片段的二价片段；(3)具有两个VH和CH1结构域的Fd片段；(4)具有抗体单臂的VL和VH结构域的Fv片段；(5)具有VH结构域的dAb片段(Ward等人，(1989)Nature[自然]341:544-546)；(6)分离的互补决定区(CDR)；和(7)单链Fv(scFv)，后者是优选的(例如，衍生自scFV文库)。根据本发明的抗体构建体的实施例的实例例如描述于以下中：WO 00/006605、WO 2005/040220、WO 2008/119567、WO 2010/037838、WO 2013/026837、WO 2013/026833、US 2014/0308285、US 2014/0302037、WO 2014/144722、WO 2014/151910和WO 2015/048272。

[0108] 另外，在“结合结构域”或“结合的结构域”的定义内是全长抗体的片段，如VH、VHH、VL、(s)dAb、Fv、Fd、Fab、Fab'、F(ab')2或“r IgG”(“半抗体”)。根据本发明的抗体构建体还可以包含抗体的修饰片段(也称为抗体变体)，如scFv、二-scFv或二(s)-scFv、scFv-Fc、scFv-拉链、scFab、Fab$_2$、Fab$_3$、双抗体、单链双抗体、串联双抗体(Tandab's)、串联二-scFv、串联三-scFv、“多抗体”(如三抗体或四抗体)、以及单结构域抗体如纳米抗体或仅包含一个可变结构域的单可变结构域抗体，该可变结构域可以是独立于其他V区或结构域而特异性结合抗原或表位的VHH、VH或VL。

[0109] 如本文使用的，术语“单链Fv”、“单链抗体”或“scFv”是指单多肽链抗体片段，这些抗体片段包含来自重链和轻链的可变区，但缺乏恒定区。一般来讲，单链抗体在VH与VL结构域之间进一步包含多肽接头，该多肽接头使得其形成所希望的将允许抗原结合的结构。单链抗体详细论述于以下中：Pluckthun，The Pharmacology of Monoclonal Antibodies[单克隆抗体的药理学]中，第113卷，Rosenburg和Moore编辑Springer-Verlag[施普林格出版社]，纽约，第269-315页(1994)。产生单链抗体的各种方法是已知的，这些方法包括以下中

所描述的那些:美国专利号4,694,778和5,260,203;国际专利申请公开号WO 88/01649;Bird(1988)Science[科学]242:423-442;Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883;Ward等人(1989)Nature[自然]334:54454;Skerra等人(1988)Science[科学]242:1038-1041。在具体的实施例中,单链抗体还可以是双特异性的、多特异性的、人和/或人源化的和/或合成的。

[0110] 此外,术语“抗体构建体”的定义包括单价、二价和多价(polyvalent/multivalent)构建体,并且因此包括仅与两个抗原结构特异性结合的双特异性构建体,以及通过不同的结合结构域特异性结合超过两个(例如三个、四个或更多个)抗原结构的多特异性(polyspecific/multispecific)构建体。此外,术语“抗体构建体”的定义包括仅由一条多肽链组成的分子以及由超过一条多肽链组成的分子,这些链可以是相同的(同源二聚体、同源三聚体或同源寡聚物)或不同的(异源二聚体、异源三聚体或异源寡聚物)。上文鉴定的抗体及其变体或衍生物的实例尤其描述于以下中:Harlow和Lane,Antibodies a laboratory manual[抗体:实验室手册],CSHL Press[冷泉港实验室出版社](1988)和Using Antibodies:a laboratory manual[使用抗体:实验室手册],CSHL Press[冷泉港实验室出版社](1999);Kontermann和Dübel,Antibody Engineering[抗体工程],Springer[施普林格],第2版2010和Little,Recombinant Antibodies for Immunotherapy[用于免疫疗法的重组抗体],Cambridge University Press[剑桥大学出版社]2009。

[0111] 如本文使用的,术语“双特异性”是指“至少双特异性”的抗体构建体,即其至少包含第一结合结构域和第二结合结构域,其中第一结合结构域与一种抗原或靶(此处:靶细胞表面抗原)结合,并且第二结合结构域与另一抗原或靶(此处:CD3)结合。因此,根据本发明的抗体构建体包含针对至少两种不同抗原或靶的特异性。例如,第一结构域优选不与本文所述的物种中的一种或多种的CD3ε的细胞外表位结合。术语“靶细胞表面抗原”是指由细胞表达并且存在于细胞表面以使得为如本文所述的抗体构建体所接近的抗原结构。其可以是蛋白质,优选地蛋白质的细胞外部分,或碳水化合物结构,优选地蛋白质的碳水化合物结构,如糖蛋白。其优选地是肿瘤抗原。本发明的术语“双特异性抗体构建体”还涵盖多特异性抗体构建体,如三特异性抗体构建体,后者包括三个结合结构域,或具有超过三种(例如四种、五种……)特异性的构建体。

[0112] 鉴于根据本发明的抗体构建体是(至少)双特异性的,它们不是天然存在的并且与天然存在的产物明显不同。因此,“双特异性”抗体构建体或免疫球蛋白是具有至少两个具有不同特异性的不同结合侧端的人工杂交抗体或免疫球蛋白。双特异性抗体构建体可以通过多种方法产生,这些方法包括杂交瘤的融合或Fab'片段的连接。参见,例如Songsivilai和Lachmann,Clin.Exp.Immunol.[临床实验免疫学]79:315-321(1990)。

[0113] 本发明的抗体构建体的至少两个结合结构域和可变结构域(VH/VL)可以包含或可以不包含肽接头(间隔肽)。根据本发明,术语“肽接头”包含这样的氨基酸序列:通过该氨基酸序列,本发明的抗体构建体的一个(可变和/或结合)结构域和另一(可变和/或结合)结构域的氨基酸序列彼此连接。肽接头也可以用于将第三结构域与本发明的抗体构建体的其他结构域融合。这种肽接头的基本技术特征在于它不包含任何聚合活性。适合的肽接头是在美国专利4,751,180和4,935,233或WO 88/09344中描述的那些。肽接头也可用于将其他结构域或模块或区(如半衰期延长结构域)连接到本发明的抗体构建体。

[0114] 本发明的抗体构建体优选地为“体外产生的抗体构建体”。这个术语是指根据上述定义的抗体构建体，其中在非免疫细胞选择，例如体外噬菌体展示、蛋白质芯片或其中可以测试候选序列与抗原结合的能力的任何其他方法中产生可变区(例如，至少一个CDR)的全部或一部分。因此，这个术语优选地排除仅由动物免疫细胞中的基因组重排产生的序列。“重组抗体”是通过使用重组DNA技术或基因工程制得的抗体。

[0115] 如本文使用的，术语“单克隆抗体”(mAb)或单克隆抗体构建体是指获自实质上均质的抗体群体的抗体，即除了可能少量存在的可能天然存在的突变和/或翻译后修饰(例如，异构化、酰胺化)外，包含该群体的单独抗体是相同的。与典型地包括针对不同决定簇(或表位)的不同抗体的常规(多克隆)抗体制剂相比，单克隆抗体针对抗原上的单一抗原侧或决定簇具有高度特异性。除了它们的特异性之外，单克隆抗体还在它们通过杂交瘤培养合成，因此不被其他免疫球蛋白污染方面是有优势的。修饰语“单克隆”指示获自实质上均质的抗体群体的抗体的特征，并且不应理解为要求通过任何特定方法产生抗体。

[0116] 对于单克隆抗体的制备，可以使用提供由连续细胞系培养物产生的抗体的任何技术。例如，将要使用的单克隆抗体可以通过Koehler等人，Nature[自然]，256:495(1975)首次描述的杂交瘤方法，或可以通过重组DNA方法(参见，例如美国专利号4,816,567)制备。用于产生人单克隆抗体的另外技术的实例包括三源杂交瘤技术、人B细胞杂交瘤技术(Kozbor,Immunology Today[今日免疫学]4(1983),72)和EBV-杂交瘤技术(Cole等人，Monoclonal Antibodies and CancerTherapy[单克隆抗体和癌症治疗]，Alan R.Liss公司(1985),77-96)。

[0117] 然后可以使用标准方法(如酶联免疫吸附测定(ELISA)和表面等离子体共振(BIACORE™)分析)筛选杂交瘤，以鉴定一种或多种产生与指定抗原特异性结合的抗体的杂交瘤。任何形式的相关抗原均可以用作免疫原，例如重组抗原、天然存在形式、其任何变体或片段以及其抗原肽。如在BIAcore系统中使用的表面等离子体共振可以用于增加与靶细胞表面抗原的表位结合的噬菌体抗体的效率(Schier,Human Antibodies Hybridomas[人抗体杂交瘤]7(1996),97-105;Malmborg,J.Immunol.Methods[免疫学方法杂志]183(1995),7-13)。

[0118] 另一种制备单克隆抗体的示例性方法包括筛选蛋白质表达文库，例如噬菌体展示或核糖体展示文库。噬菌体展示例如描述于以下中：Ladner等人，美国专利号5,223,409；Smith(1985)Science[科学]228:1315-1317、Clackson等人，Nature[自然]，352:624-628(1991)和Marks等人，J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]，222:581-597(1991)。

[0119] 除了使用展示文库之外，还可以使用相关抗原来免疫非人动物，例如啮齿动物(如小鼠、仓鼠、兔或大鼠)。在一个实施例中，非人动物包括人免疫球蛋白基因的至少一部分。例如，可能利用人Ig(免疫球蛋白)基因座的大片段来工程化小鼠抗体产生缺陷的小鼠品系。使用杂交瘤技术，可以产生并选择衍生自具有所希望的特异性的基因的抗原特异性单克隆抗体。参见，例如，XENOMOUSE™、Green等人(1994)Nature Genetics[自然遗传学]7:13-21、US 2003-0070185、WO 96/34096和WO 96/33735。

[0120] 单克隆抗体也可以获自非人动物，并且然后使用本领域中已知的重组DNA技术进行修饰，例如人源化、去免疫、呈现嵌合等。修饰的抗体构建体的实例包括非人抗体的人源化变体、“亲和力成熟”抗体(参见，例如Hawkins等人J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]254,

889-896(1992)和Lowman等人,Biochemistry[生物化学]30,10832-10837(1991))和具有改变的一种或多种效应子功能的抗体突变体(参见,例如美国专利5,648,260、Kontermann和Dübel(2010),上述引文和Little(2009),上述引文)。

[0121] 在免疫学中,亲和力成熟是这样的过程:通过该过程,在免疫应答的过程中B细胞产生对抗原的亲和力增加的抗体。反复暴露于相同的抗原后,宿主会产生亲和力依次更大的抗体。如天然原型一样,体外亲和力成熟基于突变和选择的原理。体外亲和力成熟已经成功地用于优化抗体、抗体构建体和抗体片段。使用辐射、化学诱变剂或易错PCR在CDR内引入随机突变。此外,遗传多样性可以通过链改组来增加。使用展示方法(如噬菌体展示)进行两轮或三轮突变和选择通常产生具有在低纳摩尔范围内的亲和力的抗体片段。

[0122] 抗体构建体的氨基酸取代变化的优选类型涉及取代亲本抗体(例如人源化或人抗体)的一个或多个高变区残基。一般来讲,选择用于进一步开发的一种或多种所得变体相对于产生它们的亲本抗体将具有改善的生物特性。用于产生此类取代变体的便利方式涉及使用噬菌体展示的亲和力成熟。简而言之,将若干个高变区侧端(例如6-7个侧端)突变以在每个侧端产生所有可能的氨基酸取代。由此产生的抗体变体以单价方式从丝状噬菌体颗粒展示为与每个颗粒内包装的M13的基因III产物的融合物。然后如本文所披露那样筛选噬菌体展示的变体的生物活性(例如结合亲和力)。为了鉴定用于修饰的候选高变区侧端,可以进行丙氨酸扫描诱变以鉴定对抗原结合有显著贡献的高变区残基。可替代地或另外,分析抗原-抗体复合物的晶体结构以鉴定结合结构域与例如人靶细胞表面抗原之间的接触点可能是有利的。根据本文阐述的技术,此类接触残基和相邻残基是用于取代的候选者。一旦产生了此类变体,就如本文所述对这组变体进行筛选,并且可以选择在一种或多种相关测定中具有优异特性的抗体用于进一步的开发。

[0123] 本发明的单克隆抗体和抗体构建体具体地包括“嵌合”抗体(免疫球蛋白),其中重链和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列一致或同源,而一个或多个链的其余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列一致或同源,以及此类抗体的片段,只要它们展现出所希望的生物活性即可(美国专利号4,816,567;Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],81:6851-6855(1984))。本文感兴趣的嵌合抗体包括“灵长类化”抗体,这些抗体包含衍生自非人灵长类动物(例如,旧大陆猴、猿等)的可变结构域抗原结合序列和人恒定区序列。已经描述了多种用于制备嵌合抗体的方法。参见,例如,Morrison等人,Proc.Natl.Acad.Sci U.S.A.[美国国家科学院院刊]81:6851,1985;Takeda等人,Nature[自然]314:452,1985;Cabilly等人,美国专利号4,816,567;Boss等人,美国专利号4,816,397;Tanaguchi等人,EP 0171496;EP 0173494;和GB 2177096。

[0124] 抗体、抗体构建体、抗体片段或抗体变体还可以通过例如WO 98/52976或WO 00/34317中披露的方法特定地缺失人T细胞表位(称为“去免疫”的方法)来进行修饰。简而言之,可以对与MHC II类结合的肽分析抗体的重链和轻链可变结构域;这些肽代表潜在的T细胞表位(如WO 98/52976和WO 00/34317中所定义)。为了检测潜在T细胞表位,可以应用称为“肽穿线”的计算机建模方法,并且此外可以搜索人MHC II类结合肽的数据库以查找VH和VL序列中存在的基序,如WO 98/52976和WO 00/34317中所述。这些基序与18种主要的MHC II类DR同种异型中的任一种结合,并且因此构成潜在T细胞表位。检测到的潜在T细胞表位可

以通过取代可变结构域中的少量氨基酸残基，或者优选地通过单个氨基酸取代来消除。典型地，进行保守取代。通常但不排他地，可以使用与人种系抗体序列中的位置共有的氨基酸。人种系序列例如披露于以下中：Tomlinson等人(1992)J.MoI.Biol.[分子生物学杂志]227:776-798；Cook,G.P.等人(1995)Immunol.Today[当代免疫]第16(5)卷:237-242；和Tomlinson等人(1995)EMBO J.[欧洲分子生物学学会杂志]14:14:4628-4638。VBASE目录提供了人免疫球蛋白可变区序列的综合目录(由Tomlinson,LA.等人编辑MRC Centre for Protein Engineering[医学研究理事会蛋白质工程中心],Cambridge,UK[英国剑桥])。这些序列可以用作人序列的来源，例如用于框架区和CDR。也可以使用共有的人框架区，例如如美国专利号6,300,064中所述。

[0125] “人源化”抗体、抗体构建体、其变体或片段(如Fv、Fab、Fab’、F(ab’)2或抗体的其他抗原结合子序列)是主要人序列的抗体或免疫球蛋白，其含有一种或多种衍生自非人免疫球蛋白的最小序列。对于大部分来说，人源化抗体是人免疫球蛋白(受体抗体)，其中来自受体的高变区(也称为CDR)的残基被来自非人(例如啮齿动物)物种(供体抗体)(如小鼠、大鼠、仓鼠或兔)的具有所希望的特异性、亲和力和能力的高变区的残基替换。在一些情况下，人免疫球蛋白的Fv框架区(FR)残基被相应的非人类残基替换。此外，如本文使用的，“人源化抗体”还可以包括在受体抗体或供体抗体中均未发现的残基。进行这些修饰以进一步改善和优化抗体性能。人源化抗体还可以包含典型地是人免疫球蛋白的免疫球蛋白恒定区(Fc)的至少一部分。关于进一步的细节，参见Jones等人,Nature[自然],321:522-525(1986)；Reichmann等人,Nature[自然],332:323-329(1988)；和Presta,Curr.Op.Struct.Biol.[结构生物学新见],2:593-596(1992)。

[0126] 人源化抗体或其片段可以通过用人Fv可变结构域的等效序列替换不直接参与抗原结合的Fv可变结构域的序列来产生。用于产生人源化抗体或其片段的示例性方法由以下提供：Morrison(1985)Science[科学]229:1202-1207；Oi等人(1986)BioTechniques[生物技术]4:214；以及US 5,585,089；US 5,693,761；US 5,693,762；US 5,859,205；和US 6,407,213。那些方法包括分离、操纵和表达编码来自重链或轻链中的至少一者的全部或部分免疫球蛋白Fv可变结构域的核酸序列。此类核酸可以获自如上所述的产生针对预定靶的抗体的杂交瘤，以及其他来源。然后可以将编码人源化抗体分子的重组DNA克隆到适当的表达载体中。

[0127] 人源化抗体还可以使用转基因动物(如表达人重链和轻链基因但不能表达内源性小鼠免疫球蛋白重链和轻链基因的小鼠)产生。Winter描述了可用于制备本文所述的人源化抗体的示例性CDR移植方法(美国专利号5,225,539)。特定人抗体的全部CDR可以用至少一部分非人CDR替换，或者仅一些CDR可以用非人CDR替换。仅需要替换用于将人源化抗体与预定抗原结合所需的CDR数量。

[0128] 可以通过引入保守取代、共有序列取代、种系取代和/或回复突变来优化人源化抗体。此类改变的免疫球蛋白分子可以通过本领域已知的几种技术中的任何一种来制备(例如，Teng等人,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊],80:7308-7312,1983；Kozbor等人,Immunology Today[今日免疫学],4:7279,1983；Olsson等人,Meth.Enzymol.[酶学方法],92:3-16,1982，以及EP 239 400)。

[0129] 术语“人抗体”、“人抗体构建体”和“人结合结构域”包括具有抗体区的抗体、抗体

构建体和结合结构域，这些抗体区如实质上对应于本领域中已知的人种系免疫球蛋白序列的可变和恒定区或结构域，包括例如由Kabat等人(1991)(上述引文)描述的那些。本发明的人抗体、抗体构建体或结合结构域可以在例如CDR中且特别是CDR3中包含不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基(例如通过体外随机或侧端特异性诱变或通过体内体细胞突变引入的突变)。人抗体、抗体构建体或结合结构域可以具有至少1个、2个、3个、4个、5个或更多个被不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基替换的位置。然而，如本文使用的人抗体、抗体构建体和结合结构域的定义还涵盖“完全人抗体”，这些完全人抗体仅包含非人工和/或遗传改变的人抗体序列，如可通过使用如Xenomouse技术或系统衍生的那些。优选地，“完全人抗体”不包含不由人种系免疫球蛋白序列编码的氨基酸残基。

[0130] 在一些实施例中，本发明的抗体构建体是“分离的”或“实质上纯的”抗体构建体。当用于描述本文披露的抗体构建体时，“分离的”或“实质上纯的”意指抗体构建体已从其产生环境的组分中鉴定、分离和/或回收。优选地，抗体构建体不与或实质上不与来自其产生环境的所有其他组分缔合。其产生环境的污染组分，如由重组转染细胞产生的污染组分，是典型地干扰多肽的诊断或治疗用途的物质，并且可以包括酶、激素和其他蛋白质或非蛋白质溶质。抗体构建体可以例如占给定样品中总蛋白质的至少约5重量％或至少约50重量％。应理解，根据情况，分离的蛋白质可以占总蛋白质含量的5重量％至99.9重量％。通过使用诱导型启动子或高表达启动子，能以显著更高的浓度制备多肽，以使得它以增加的浓度水平制备。该定义包括在本领域中已知的多种生物体和/或宿主细胞中产生抗体构建体。在优选的实施例中，抗体构建体(1)通过使用旋杯式序列分析仪纯化至足以获得至少15个N末端或内部氨基酸序列的残基的程度，或(2)通过SDS-PAGE在非还原或还原条件下使用考马斯蓝或优选银染色纯化至均质。然而，通常通过至少一个纯化步骤来制备分离的抗体构建体。

[0131] 术语“结合结构域”关于本发明表征了(特异性地)结合/相互作用/识别靶分子(抗原)(例如分别为CD33和CD3)上的给定靶表位或给定靶侧端的结构域。第一结合结构域(识别例如CD33)的结构和功能以及优选还有第二结合结构域(识别CD3)的结构和/或功能是基于抗体，例如全长或完整免疫球蛋白分子的结构和/或功能，和/或是从抗体或其片段的可变重链(VH)和/或可变轻链(VL)结构域中提取。优选地，第一结合结构域的特征在于存在三个轻链CDR(即VL区的CDR1、CDR2和CDR3)和/或三个重链CDR(即VH区的CDR1、CDR2和CDR3)。第二结合结构域优选还包含允许靶结合的抗体的最小结构要求。更优选地，第二结合结构域包含至少三个轻链CDR(即VL区的CDR1、CDR2和CDR3)和/或三个重链CDR(即VH区的CDR1、CDR2和CDR3)。设想第一结合结构域和/或第二结合结构域是通过噬菌体展示或文库筛选方法产生或可获得的，而不是通过将CDR序列从预先存在的(单克隆)抗体移植到支架中产生或可获得的。

[0132] 根据本发明，结合结构域呈一种或多种多肽的形式。此类多肽可以包括蛋白质部分和非蛋白质部分(例如化学接头或化学交联剂，如戊二醛)。蛋白质(包括其片段、优选生物活性片段和通常具有少于30个氨基酸的肽)包含经由共价肽键彼此偶联的两个或更多个氨基酸(产生氨基酸链)。

[0133] 如本文使用的，术语“多肽”描述了一组分子，这些分子通常由超过30个氨基酸组成。多肽可以进一步形成多聚体，如二聚体、三聚体和更高级的寡聚物，即由多于一个多肽分子组成。形成此类二聚体、三聚体等的多肽分子可以是相同的或不相同的。因此，此类多

聚体的相应的更高级结构称为同源二聚体或异源二聚体、同源三聚体或异源三聚体等。异源多聚体的实例是在其天然形式下由两条相同的轻链多肽链和两条相同的重链多肽链组成的抗体分子。术语“肽”、“多肽”和“蛋白质”还是指天然修饰的肽/多肽/蛋白质，其中该修饰是通过例如翻译后修饰(如糖基化、乙酰化、磷酸化等)来实现。当在本文中提及时，“肽”、“多肽”或“蛋白质”也可以是化学修饰的，如聚乙二醇化。此类修饰在本领域中是熟知的并且在下文描述。

[0134] 优选地，结合靶细胞表面抗原的结合结构域和/或结合CD3ε的结合结构域是人结合结构域。包含至少一个人结合结构域的抗体和抗体构建体避免了与具有非人(如啮齿动物(例如鼠、大鼠、仓鼠或兔))可变区和/或恒定区的抗体或抗体构建体相关的一些问题。此类啮齿动物衍生的蛋白质的存在可以导致抗体或抗体构建体的快速清除或可以导致患者产生针对抗体或抗体构建体的免疫应答。为了避免使用啮齿动物衍生的抗体或抗体构建体，可以通过将人抗体功能引入到啮齿动物中以使啮齿动物产生完全人抗体来产生人或完全人抗体/抗体构建体。

[0135] 在YAC中克隆和重组兆碱基大小的人基因座并将它们引入到小鼠种系中的能力为阐明非常大或粗略定位的基因座的功能组分以及产生有用的人疾病模型提供了强有力的方法。此外，使用这种技术将小鼠基因座取代为其人等效物可以提供关于人基因产物在发育过程中的表达和调控、其与其他系统的通信以及其参与疾病诱导和进展的独特见解。

[0136] 这种策略的重要实际应用是小鼠体液免疫系统的“人源化”。将人免疫球蛋白(Ig)基因座引入到其中内源性Ig基因已经失活的小鼠中提供了研究抗体的程序化表达和组装的根本机制以及其在B细胞发育中的作用的机会。此外，这种策略可以为完全人单克隆抗体(mAb)的产生提供理想来源-这是有助于实现抗体疗法在人疾病中的前景的重要里程碑。预期完全人抗体或抗体构建体将小鼠或小鼠衍生的mAb所固有的免疫原性和变应性应答最小化，并且由此增加施用的抗体/抗体构建体的功效和安全性。可以预期使用完全人抗体或抗体构建体在治疗需要重复施用化合物的慢性和复发性人疾病(如炎症、自体免疫和癌症)中提供显著的优势。

[0137] 实现这一目标的一种方法是用人Ig基因座的大片段工程化小鼠抗体产生缺陷的小鼠品系，预期这种小鼠在不存在小鼠抗体的情况下将产生大的人抗体组库。大的人Ig片段将保持大的可变基因多样性以及对抗体产生和表达的适当调控。通过利用小鼠机构实现抗体多样化和选择以及缺乏对人蛋白质的免疫耐受性，在这些小鼠品系中再生的人抗体组库应产生针对任何感兴趣的抗原(包括人抗原)的高亲和力抗体。使用杂交瘤技术，可以容易地产生和选择具有所希望特异性的抗原特异性人mAb。结合第一种XenoMouse小鼠品系的产生证明了这个一般策略(参见Green等人Nature Genetics[自然遗传学]7:13-21(1994))。XenoMouse品系用分别含有人重链基因座和κ轻链基因座的245kb和190kb大小的种系构型片段的酵母人工染色体(YAC)工程化，这些种系构型片段含有核心可变区和恒定区序列。证明含有人Ig的YAC与小鼠系统相容以重排和表达抗体，并且能够取代失活的小鼠Ig基因。这通过其诱导B细胞发育、产生完全人抗体的成人样人组库和产生抗原特异性人mAb的能力来证明。这些结果还表明，引入含有更多数量的V基因、另外的调控元件和人Ig恒定区的更大部分的人Ig基因座可以实质上再现作为对感染和免疫的人体液应答的特征的完整组库。Green等人的工作最近扩展到通过分别引入兆碱基大小的人重链基因座和κ轻链

基因座的种系构型YAC片段来引入大于大约80％的人抗体组库。参见Mendez等人Nature Genetics[自然遗传学]15:146-156(1997)和美国专利申请序列号08/759,620。

[0138] XenoMouse小鼠的产生进一步论述和描绘于以下中:美国专利申请序列号07/466,008、序列号07/610,515、序列号07/919,297、序列号07/922,649、序列号08/031,801、序列号08/112,848、序列号08/234,145、序列号08/376,279、序列号08/430,938、序列号08/464,584、序列号08/464,582、序列号08/463,191、序列号08/462,837、序列号08/486,853、序列号08/486,857、序列号08/486,859、序列号08/462,513、序列号08/724,752和序列号08/759,620;和美国专利号6,162,963;6,150,584;6,114,598;6,075,181和5,939,598以及日本专利号3068180B2、3068506B2、和3068507B2。还参见Mendez等人Nature Genetics[自然遗传学]15:146-156(1997)以及Green和Jakobovits J.Exp.Med.[实验医学杂志]188:483-495(1998)、EP 0 463 151 B1、WO 94/02602、WO 96/34096、WO 98/24893、WO 00/76310和WO 03/47336。

[0139] 在一个可替代的方法中,包括真药物国际公司(GenPharm International,Inc.)的其他公司利用了“微基因座”方法。在微基因座方法中,通过包含来自Ig基因座的碎片(单独的基因)来模拟外源性Ig基因座。因此,将一个或多个VH基因、一个或多个DH基因、一个或多个JH基因、mu恒定区和第二恒定区(优选γ恒定区)形成为用于插入到动物中的构建体。该方法描述于以下中:Surani等人的美国专利号5,545,807和美国专利号5,545,806;5,625,825;5,625,126;5,633,425;5,661,016;5,770,429;5,789,650;5,814,318;5,877,397;5,874,299;和6,255,458(各自为Lonberg和Kay)、Krimpenfort和Berns的美国专利号5,591,669和6,023.010、Berns等人的美国专利号5,612,205;5,721,367;和5,789,215、以及Choi和Dunn的美国专利号5,643,763、以及真药物(GenPharm)国际美国专利申请序列号07/574,748、序列号07/575,962、序列号07/810,279、序列号07/853,408、序列号07/904,068、序列号07/990,860、序列号08/053,131、序列号08/096,762、序列号08/155,301、序列号08/161,739、序列号08/165,699、序列号08/209,741。还参见EP 0 546 073 B1、WO 92/03918、WO 92/22645、WO 92/22647、WO 92/22670、WO 93/12227、WO 94/00569、WO 94/25585、WO 96/14436、WO 97/13852和WO 98/24884以及美国专利号5,981,175。进一步参见Taylor等人(1992)、Chen等人(1993)、Tuaillon等人(1993)、Choi等人(1993)、Lonberg等人(1994)、Taylor等人(1994)、和Tuaillon等人(1995)、Fishwild等人(1996)。

[0140] Kirin也展示了从通过微细胞融合引入大段染色体或整个染色体的小鼠产生人抗体。参见欧洲专利申请号773288和843961。Xenerex Biosciences正在开发用于人抗体的潜在产生的技术。在这种技术中,用人淋巴细胞(例如B和/或T细胞)重组SCID小鼠。然后将小鼠用抗原免疫并且可产生针对抗原的免疫应答。参见美国专利号5,476,996;5,698,767;和5,958,765。

[0141] 人抗小鼠抗体(HAMA)应答已经导致该行业制备嵌合或其他人源化抗体。然而,预期特别是在抗体的长期或多剂量利用中会观察到某些人抗嵌合抗体(HACA)应答。因此,期望提供包含针对靶细胞表面抗原的人结合结构域和针对CD3ε的人结合结构域的抗体构建体,以消除HAMA或HACA应答的问题和/或效应。

[0142] 术语“与……(特异性)结合”、“(特异性)识别”、“(特异性)针对”和“与……(特异性)反应”意指根据本发明,结合结构域与靶分子(抗原)(此处:分别为靶细胞表面抗原和

CD3ε)上的给定表位或给定靶侧端相互作用或特异性相互作用。

[0143] 术语“表位”是指结合结构域(如抗体或免疫球蛋白,或抗体或免疫球蛋白的衍生物、片段或变体)特异性结合的抗原上的一侧。“表位”是抗原性的,并且因此术语表位在本文中有时也称为“抗原结构”或“抗原决定簇”。因此,结合结构域是“抗原相互作用侧”。所述结合/相互作用也被理解为定义“特异性识别”。

[0144] “表位”可以通过连续的氨基酸或通过蛋白质的三级折叠并置的非连续氨基酸形成。“线性表位”是这样的表位,其中氨基酸一级序列包含所识别表位。线性表位典型地在独特的序列中包括至少3个或至少4个、且更通常地至少5个或至少6个或至少7个,例如约8个至约10个氨基酸。

[0145] 与线性表位相反,“构象表位”是这样的表位,其中构成表位的氨基酸的一级序列不是所识别表位的唯一限定组分(例如,其中氨基酸的一级序列不一定被结合结构域识别的表位)。典型地,构象表位包含相对于线性表位增加数量的氨基酸。关于构象表位的识别,结合结构域识别抗原、优选肽或蛋白质或其片段的三维结构(在本发明的上下文下,一个结合结构域的抗原结构包括于靶细胞表面抗原蛋白质内)。例如,当蛋白质分子折叠以形成三维结构时,形成构象表位的某些氨基酸和/或多肽骨架并置,使得抗体能够识别表位。确定表位构象的方法包括但不限于x射线晶体学、二维核磁共振(2D-NMR)光谱学和定点自旋标记和电子顺磁共振(EPR)光谱学。

[0146] 以下描述了用于表位定位的方法:当人靶细胞表面抗原蛋白中的区(连续氨基酸拉伸物)用非人和非灵长类动物靶细胞表面抗原(例如,小鼠靶细胞表面抗原,但是其他如鸡、大鼠、仓鼠、兔等也是可能的)的其相应区交换/替换时,预期发生结合结构域结合的降低,除非结合结构域对于所用的非人、非灵长类动物靶细胞表面抗原具有交叉反应性。相比于与人靶细胞表面抗原蛋白中的相应区的结合,所述降低优选地为至少10%、20%、30%、40%或50%;更优选地至少60%、70%或80%,并且最优选地90%、95%或甚至100%,由此将与人靶细胞表面抗原蛋白中相应区的结合设定为100%。设想上述人靶细胞表面抗原/非人靶细胞表面抗原嵌合体在CHO细胞中表达。还设想人靶细胞表面抗原/非人靶细胞表面抗原嵌合体与不同膜结合蛋白(如EpCAM)的跨膜结构域和/或细胞质结构域融合。

[0147] 在用于表位定位的可替代或另外的方法中,可以产生若干种截短形式的人靶细胞表面抗原细胞外结构域,以确定由结合结构域识别的特定区域。在这些截短形式中,从N末端开始逐步缺失不同的细胞外靶细胞表面抗原结构域/亚结构域或区域。设想截短的靶细胞表面抗原形式可以在CHO细胞中表达。还设想截短的靶细胞表面抗原形式可以与不同膜结合蛋白(如EpCAM)的跨膜结构域和/或细胞质结构域融合。还设想截短的靶细胞表面抗原形式可在其N末端涵盖信号肽结构域,例如衍生自小鼠IgG重链信号肽的信号肽。进一步设想,截短的靶细胞表面抗原形式可以在其N末端(在信号肽后)涵盖v5结构域,其允许验证它们在细胞表面上的正确表达。预期不再涵盖由结合结构域识别的靶细胞表面抗原区域的那些截短的靶细胞表面抗原形式发生结合的降低或丧失。结合降低优选地为至少10%、20%、30%、40%、50%;更优选地至少60%、70%、80%,并且最优选地90%、95%或甚至100%,由此将与整个人靶细胞表面抗原蛋白(或其细胞外区域或结构域)的结合设定为100。

[0148] 确定靶细胞表面抗原的特定残基对抗体构建体或结合结构域的识别的贡献的另一种方法是丙氨酸扫描(参见,例如MorrisonKL和Weiss GA.Cur Opin ChemBiol.[化学生

物学新见]2001年6月;5(3):302-7),其中待分析的每个残基例如经由定点诱变被丙氨酸替换。丙氨酸的使用是因为其具有非巨大的、化学惰性的甲基官能团,但仍然模仿许多其他氨基酸所具有的二级结构参考。在需要保守突变残基的大小的情形下,有时可以使用巨大的氨基酸(如缬氨酸或亮氨酸)。丙氨酸扫描是一项已经使用了很长一段时间的成熟技术。

[0149] 结合结构域与表位或包含表位的区域之间的相互作用意味着结合结构域对特定蛋白或抗原(此处:分别为靶细胞表面抗原和CD3)上的表位/包含表位的区域表现出可观的亲和力,并且通常与靶细胞表面抗原或CD3以外的蛋白质或抗原不表现出显著反应性。"可观的亲和力"包括以约10^{-6}M(KD)或更强的亲和力结合。优选地,当结合亲和力为约10^{-12}至10^{-8}M、10^{-12}至10^{-9}M、10^{-12}至10^{-10}M、10^{-11}至10^{-8}M,优选地约10^{-11}至10^{-9}M时,认为结合是特异性的。尤其通过将所述结合结构域与靶蛋白或抗原的反应与所述结合结构域与除靶细胞表面抗原或CD3以外的蛋白质或抗原的反应进行比较,可以容易地测试结合结构域是否与靶特异性反应或结合。优选地,本发明的结合结构域基本上或实质上不结合除靶细胞表面抗原或CD3以外的蛋白质或抗原(即,第一结合结构域不能结合除靶细胞表面抗原以外的蛋白质,并且第二结合结构域不能结合除CD3以外的蛋白质)。设想根据本发明的抗体构建体的特征为与其他HLE形式相比具有优异的亲和力特征。因此,这种优异的亲和力表明体内半衰期延长。根据本发明的抗体构建体的更长的半衰期可以减少典型地有助于改善患者顺应性的施用的持续时间和频率。这是特别重要的,因为本发明的抗体构建体对高度虚弱的或甚至多重性癌症患者特别有益。

[0150] 术语"基本上/实质上不结合"或"不能结合"意指本发明的结合结构域不结合除靶细胞表面抗原或CD3以外的蛋白质或抗原,即与除靶细胞表面抗原或CD3以外的蛋白质或抗原不显示超过30%,优选不超过20%,更优选不超过10%,特别优选不超过9%、8%、7%、6%或5%的反应性,由此将与靶细胞表面抗原或CD3的结合分别设定为100%。

[0151] 据信特异性结合是通过结合结构域和抗原的氨基酸序列中的特定基序实现的。因此,由于其一级、二级和/或三级结构以及所述结构的二次修饰,因此实现了结合。抗原相互作用侧端与其特异性抗原的特异性相互作用可以导致所述侧端与抗原的简单结合。此外,抗原相互作用侧端与其特异性抗原的特异性相互作用可以可替代地或另外地导致信号的引发,例如由于诱导抗原构象的变化、抗原的寡聚化等。

[0152] 术语"可变"是指抗体或免疫球蛋白结构域表现出其序列可变性并且参与确定特定抗体的特异性和结合亲和力的部分(即"一个或多个可变结构域")。可变重链(VH)和可变轻链(VL)的配对一起形成单个抗原结合侧端。

[0153] 可变性在整个抗体的可变结构域中并不均匀分布;它集中在重链可变区和轻链可变区中的每一个的子结构域中。这些子结构域被称为"高变区"或"互补决定区"(CDR)。可变结构域的更保守的(即非高变)部分被称为"框架"区(FRM或FR),并且为三维空间中的六个CDR提供支架以形成抗原结合表面。天然存在的重链和轻链的可变结构域各自包含四个FRM区域(FR1、FR2、FR3和FR4),这四个FRM区域主要使用β-折叠构型,通过三个高变区连接,这三个高变区形成连接β-折叠结构的环,并且在一些情况下形成β-折叠结构的一部分。每条链中的高变区通过FRM紧密靠近在一起,并与来自另一条链的高变区一起有助于抗原结合侧端的形成(参见Kabat等人,上述引文)。

[0154] 术语"CDR"及其复数"CDR"是指其中三个构成轻链可变区的结合特征(CDR-L1、

CDR-L2和CDR-L3)并且三个构成重链可变区的结合特征(CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3)的互补决定区。CDR含有大部分负责抗体与抗原特异性相互作用的残基,并且因此有助于抗体分子的功能活性:它们是抗原特异性的主要决定簇。

[0155] 准确定义的CDR边界和长度受制于不同的分类和编号系统。因此,CDR可以通过Kabat、Chothia、contact或任何其他边界定义(包括本文所述的编号系统)来引用。尽管有不同的边界,但这些系统中的每一者在构成可变序列内所谓的"高变区"的方面具有一定程度的重叠。因此,根据这些系统的CDR定义可以相对于相邻框架区在长度和边界区域方面不同。参见例如Kabat(基于跨物种序列变异性的方法)、Chothia(基于抗原-抗体复合物的晶体学研究的方法)、和/或MacCallum(Kabat等人,上述引文;Chothia等人,J.MoI.Biol[分子生物学杂志],1987,196:901-917;和MacCallum等人,J.MoI.Biol[分子生物学杂志],1996,262:732)。表征抗原结合侧端的又另一标准是由牛津大学分子公司(Oxfbrd Molecular)的AbM抗体建模软件使用的AbM定义。参见例如,Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains[抗体可变结构域的蛋白质序列和结构分析]在:Antibody Engineering Lab Manual[抗体工程实验室手册](编辑:Duebel,S.和Kontermann,R.,施普林格出版社(Springer-Verlag),海德尔堡)。就两种残基鉴定技术定义重叠区而非相同区而言,可以将它们组合以定义杂合CDR。然而,根据所谓的Kabat系统进行编号是优选的。

[0156] 典型地,CDR形成可以分类为规范结构的环结构。术语"规范结构"是指由抗原结合(CDR)环所使用的主链构象。从比较结构研究中,已经发现六个抗原结合环中的五个仅具有有限的可用构象组库。每个规范结构可以通过多肽骨架的扭转角来表征。因此,抗体之间的对应环可具有非常类似的三维结构,但环中大部分具有高氨基酸序列变异性(Chothia和Lesk,J.MoI.Biol.[分子生物学杂志],1987,196:901;Chothia等人,Nature[自然],1989,342:877;Martin和Thornton,J.MoI.Biol[分子生物学杂志],1996,263:800)。此外,所使用的环结构与其周围的氨基酸序列之间存在关系。特定规范类别的构象由环的长度和位于环内以及保守框架内(即,环外)关键位置的氨基酸残基决定。因此,可以基于这些关键氨基酸残基的存在来进行对特定规范类别的分配。

[0157] 术语"规范结构"还可以包括关于抗体的线性序列的考虑因素,例如,如通过Kabat(Kabat等人,上述引文)编目的。Kabat编号方案(系统)是以一致方式对抗体可变结构域的氨基酸残基进行编号的广泛使用的标准,并且是本发明应用的优选方案,也如本文其他地方所提及。另外的结构考虑因素也可以用于确定抗体的规范结构。例如,Kabat编号未完全反映的那些差异可以通过Chothia等人的编号系统来描述,和/或通过其他技术(例如结晶学和二维或三维计算建模)来揭示。因此,可以将给定的抗体序列置于规范类别中,该类别尤其允许鉴定适当的基础结构(chassis)序列(例如,基于在文库中包括多种规范结构的期望)。文献中描述了抗体氨基酸序列的Kabat编号和如由Chothia等人,上述引文所述的结构考虑因素以及其对解释抗体结构的规范方面的意义。不同类别的免疫球蛋白的亚单位结构和三维构型在本领域中是熟知的。有关抗体结构的综述,参见Antibodies:A LaboratoryManual[抗体:实验室手册],Cold Spring Harbor Laboratory[冷泉港实验室],Harlow等人编辑,1988。

[0158] 轻链的CDR3以及特别是重链的CDR3可以构成轻链可变区和重链可变区内抗原结合中最重要的决定簇。在一些抗体构建体中,重链CDR3似乎构成抗原与抗体之间主要的接

触区域。其中单独改变CDR3的体外选择方案可以用于改变抗体的结合特性或确定哪些残基有助于抗原的结合。因此,CDR3典型地是抗体结合侧端内分子多样性的最大来源。例如,H3可以短至两个氨基酸残基或多于26个氨基酸。

[0159] 在经典的全长抗体或免疫球蛋白中,每条轻(L)链通过一个共价二硫键与重(H)链连接,而两条H链通过一个或多个二硫键彼此连接,这取决于H链同种型。最靠近VH的CH结构域通常命名为CH1。恒定("C")结构域不直接参与抗原结合,但表现出各种效应子功能,如抗体依赖性、细胞介导的细胞毒性和补体激活。抗体的Fc区包括在重链恒定结构域内,并且例如能够与位于细胞表面的Fc受体相互作用。

[0160] 组装和体细胞突变后的抗体基因的序列高度改变,并且估计这些改变的基因编码10^{10}种不同抗体分子(Immunoglobulin Genes[免疫球蛋白基因],第2版,Jonio等人编辑,Academic Press[学术出版社],San Diego,CA[加利福尼亚州圣地亚哥],1995)。因此,免疫系统提供了免疫球蛋白组库。术语"组库"是指完全或部分衍生自至少一种编码至少一种免疫球蛋白的序列的至少一种核苷酸序列。一种或多种序列可以通过重链的V、D和J区段以及轻链的V和J区段的体内重排来产生。可替代地,一种或多种序列可以响应于发生重排,例如体外刺激而从细胞产生。可替代地,一种或多种序列的一部分或全部可以通过DNA剪接、核苷酸合成、诱变和其他方法获得,参见例如美国专利5,565,332。组库可以仅包括一种序列或可以包括多种序列,包括遗传多样性集合中的序列。

[0161] 术语"Fc部分"或"Fc单体"关于本发明意指包含至少一个具有CH2结构域功能的结构域和至少一个具有免疫球蛋白分子的CH3结构域功能的结构域的多肽。从术语"Fc单体"显而易见,包含那些CH结构域的多肽是"多肽单体"。Fc单体可以是至少包含排除重链的第一恒定区免疫球蛋白结构域(CH1)的免疫球蛋白恒定区的片段,但至少保持一个CH2结构域的功能部分和一个CH3结构域的功能部分的多肽,其中CH2结构域在CH3结构域的氨基末端。在这个定义的优选方面中,Fc单体可以是包含Ig-Fc铰链区、CH2区和CH3区的一部分的多肽恒定区,其中铰链区在CH2结构域的氨基末端。设想本发明的铰链区促进二聚化。例如但不限于,此类Fc多肽分子可以通过木瓜蛋白酶消化免疫球蛋白区(当然产生两个Fc多肽的二聚体)获得。在这个定义的另一方面中,Fc单体可以是包含CH2区和CH3区的一部分的多肽区。例如但不限于,此类Fc多肽分子可以通过胃蛋白酶消化免疫球蛋白分子获得。在一个实施例中,Fc单体的多肽序列基本上类似于以下的Fc多肽序列:IgG_1 Fc区、IgG_2 Fc区、IgG_3 Fc区、IgG_4 Fc区、IgM Fc区、IgA Fc区、IgD Fc区和IgE Fc区。(参见,例如Padlan,Molecular Immunology[分子免疫学],31(3),169-217(1993))。因为免疫球蛋白之间存在一些变化,并且仅为了清楚起见,所以Fc单体是指IgA、IgD和IgG的最后两个重链恒定区免疫球蛋白结构域,以及IgE和IgM的最后三个重链恒定区免疫球蛋白结构域。如上所提及,Fc单体还可以包括在这些结构域的N末端的柔性铰链。对于IgA和IgM,Fc单体可以包括J链。对于IgG,Fc部分包含免疫球蛋白结构域CH2和CH3以及前两个结构域与CH2之间的铰链。尽管Fc部分的边界可以改变,但包含功能铰链、CH2和CH3结构域的人IgG重链Fc部分的实例可以定义为例如包含残基D231(铰链结构域的残基-对应于下表1中的D234)至CH3结构域的羧基末端的P476,分别地L476(对于IgG_4),其中根据Kabat编号。经由肽接头彼此融合的两个Fc部分或Fc单体定义本发明的抗体构建体的第三结构域,该第三结构域也可以被定义为scFc结构域。

[0162] 在本发明的一个实施例中，设想如本文披露的scFc结构域，分别地彼此融合的Fc单体仅包括在抗体构建体的第三结构域中。

[0163] 根据本发明，可以使用表1中列出的Kabat编号通过类推来鉴定IgG铰链区。根据上述，设想本发明的铰链结构域/区域包含根据Kabat编号的对应于D234至P243的IgG_1序列拉伸物的氨基酸残基。同样设想，本发明的铰链结构域/区域包含或由IgG1铰链序列DKTHTCPPCP(SEQ ID NO:1449)组成(对应于如下表1所示的拉伸物D234至P243-也设想所述序列的变异，只要铰链区仍然促进二聚化)。在本发明的优选的实施例中，通过N314X取代去除抗体构建体的第三结构域中CH2结构域的Kabat位置314处的糖基化位点，其中X是除Q之外的任何氨基酸。所述取代优选为N314G取代。在更优选的实施例中，所述CH2结构域另外包含以下取代(根据Kabat的位置)：V321C和R309C(这些取代在Kabat位置309和321处引入结构域内半胱氨酸二硫桥)。

[0164] 还设想本发明的抗体构建体的第三结构域按氨基至羧基顺序包含或由以下组成：DKTHTCPPCP(SEQ ID NO:1449)(即铰链)-CH2-CH3-接头-DKTHTCPPCP(SEQ ID NO:1449)(即铰链)-CH2-CH3。在优选的实施例中，上述抗体构建体的肽接头的特征在于氨基酸序列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser，即Gly_4Ser(SEQ ID NO:1)，或其聚合物，即$(Gly_4Ser)x$，其中x为5或更大的整数(例如5、6、7、8等或更大)，优选为6((Gly4Ser)6)。所述构建体可以进一步包含上述取代N314X，优选地N314G和/或另外的取代V321C和R309C。在如前文定义的本发明抗体构建体的优选的实施例中，设想第二结构域与人和/或猕猴CD3ε链的细胞外表位结合。

[0165] 表1：铰链区的氨基酸残基的Kabat编号

[0166]

铰链的 IMGT 编号	IgG_1 氨基酸翻译	Kabat 编号
1	(E)	226
2	P	227
3	K	228
4	S	232
5	C	233
6	D	234
7	K	235
8	T	236
9	H	237
10	T	238
11	C	239
12	P	240
13	P	241
14	C	242
15	P	243

[0167] 在本发明的另外实施例中，铰链结构域/区域包含或由以下组成：IgG2亚型铰链序列ERKCCVECPPCP(SEQ ID NO:1450)、IgG3亚型铰链序列ELKTPLDTTHTCPRCP(SEQ ID NO:1451)或ELKTPLGDTTHTCPRCP(SEQ ID NO:1458)和/或IgG4亚型铰链序列ESKYGPPCPSCP(SEQ

ID NO:1452)。IgG1亚型铰链序列可以是以下一种EPKSCDKTHTCPPCP(如表1和SEQ ID NO:1459中所示)。因此,在本发明的上下文中也设想了这些核心铰链区。

[0168] IgG CH2和IgG CD3结构域的位置和序列可以使用表2中列出的Kabat编号通过类推来鉴定:

[0169] 表2:IgG CH2和CH3区域的氨基酸残基的Kabat编号

[0170]

IgG 亚型	CH2 aa 翻译	CH2 Kabat 编号	CH3 aa 翻译	CH3 Kabat 编号
IgG_1	AP*E*... ...*KA*K	244... ...360	GQP.....*P*GK	361... ...478
IgG_2	AP*P*... ...*KT*K	244... ...360	GQP.....*P*GK	361... ...478
IgG_3	AP*E*... ...*KT*K	244... ...360	GQP.....*P*GK	361... ...478
IgG_4	AP*E*... ...*KA*K	244... ...360	GQP.....*L*GK	361... ...478

[0171] 在本发明的一个实施例中,使第一或两个Fc单体的CH3结构域中粗体强调的氨基酸残基缺失。

[0172] 第三结构域的多肽单体("Fc部分"或"Fc单体")彼此融合的肽接头优选包含至少25个氨基酸残基(25、26、27、28、29、30等)。更优选地,这个肽接头包含至少30个氨基酸残基(30、31、32、33、34、35等)。还优选地,接头包含至多40个氨基酸残基、更优选地至多35个氨基酸残基、最优选地恰好30个氨基酸残基。该肽接头的优选的实施例的特征在于氨基酸序列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser,即Gly_4Ser(SEQ ID NO:1),或其聚合物,即$(Gly_4Ser)x$,其中x为5或更大的整数(例如6、7或8)。优选地,整数为6或7,更优选地整数为6。

[0173] 在使用接头来将第一结构域与第二结构域融合或将第一结构域或第二结构域与第三结构域融合的情况下,该接头优选地具有足以确保第一结构域和第二结构域中的每一者均可以彼此独立地保留其差异结合特异性的长度和序列。对于连接本发明的抗体构建体中的至少两个结合结构域(或两个可变结构域)的肽接头,仅包含少数量的氨基酸残基(例如12个氨基酸残基或更少)的那些肽接头是优选的。因此,12、11、10、9、8、7、6或5个氨基酸残基的肽接头是优选的。设想的具有少于5个氨基酸的肽接头包含4、3、2或1个氨基酸,其中富含Gly的接头是优选的。用于融合第一结构域和第二结构域的肽接头的优选的实施例在SEQ ID NO:1中描绘。用于融合第二结构域和第三结构域的肽接头的优选接头实施例是$(Gly)_4$-接头,分别为G_4-接头。

[0174] 在上述一种"肽接头"的上下文中特别优选的"单一"氨基酸是Gly。因此,所述肽接头可以由单一氨基酸Gly组成。在本发明的优选的实施例中,肽接头的特征在于氨基酸序列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser,即Gly_4Ser(SEQ ID NO:1),或其聚合物,即$(Gly_4Ser)x$,其中x为1或更大的整数(例如2或3)。优选的接头在SEQ ID NO:1至12中描绘。包括不促进二级结构的所述肽接头的特征是本领域中已知的并且描述于例如Dall'Acqua等人(Biochem.[生物化学](1998)37,9266-9273)、Cheadle等人(Mol Immunol[分子免疫学](1992)29,21-30)以及Raag和Whitlow(FASEB[美国实验生物学联合会会志](1995)9(1),73-80)中。此外不促进任何二级结构的肽接头是优选的。所述结构域彼此的连接可以例如通过基因工程提供,如实例中所述。用于制备融合的且可操作地连接的双特异性单链构建体并在哺乳动物细胞或细菌中表达它们的方法是本领域中熟知的(例如WO 99/54440或Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual[分子克隆:实验室手册],Cold Spring Harbor

LaboratoryPress[冷泉港实验室出版社],Cold Spring Harbor[冷泉港],纽约,2001)。

[0175] 在本发明的抗体构建体的优选的实施例中,第一结构域和第二结构域以选自由以下组成的组的形式形成抗体构建体:$(scFv)_2$、scFv-单结构域mAb、双抗体和这些形式中的任一种的寡聚物。

[0176] 根据特别优选的实施例,并如所附实例所记载,本发明抗体构建体的第一结构域和第二结构域是"双特异性单链抗体构建体"、更优选地双特异性"单链Fv"(scFv)。尽管Fv片段的两个结构域VL和VH由独立的基因编码,但使用重组方法可以将他们通过合成接头接合,如上文所述,该合成接头使它们能够制得为单条蛋白质链,其中VL和VH区配对以形成单价分子;参见,例如Huston等人(1988)Proc.Natl.Acad.Sci USA[美国国家科学院院刊]85:5879-5883。使用本领域技术人员已知的常规技术获得这些抗体片段,并且按照与完整或全长抗体相同的方式评价片段的功能。因此,单链可变片段(scFv)是免疫球蛋白的重链(VH)和轻链(VL)可变区的融合蛋白,通常利用约10至约25个氨基酸,优选地约15至20个氨基酸的短接头肽连接。接头通常富含甘氨酸以获得柔韧性,以及富含丝氨酸或苏氨酸以获得溶解性,并且可以连接VH的N末端和VL的C-末端,或反之亦然。尽管去除了恒定区并引入了接头,但该蛋白质保留了原始免疫球蛋白的特异性。

[0177] 双特异性单链抗体构建体在本领域中是已知的并描述于以下中:WO 99/54440、Mack,J.Immunol.[免疫学杂志](1997),158,3965-3970、Mack,PNAS[美国国家科学院院刊],(1995),92,7021-7025、Kufer,Cancer Immunol.Immunother.[癌症免疫学免疫治疗],(1997),45,193-197、Löffler,Blood[血液],(2000),95,6,2098-2103、Brühl,Immunol.[免疫学],(2001),166,2420-2426、Kipriyanov,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志],(1999),293,41-56。描述的用于产生单链抗体的技术(尤其参见美国专利4,946,778;Kontermann和Dübel(2010),上述引文和Little(2009),上述引文)可以适用于产生特异性识别一种或多种所选择的靶的单链抗体构建体。

[0178] 二价(bivalent)(也称为双价(divalent))或双特异性单链可变片段(具有形式$(scFv)_2$的二-scFv或双-scFv)可以通过连接两个scFv分子(例如利用如上文所述的接头)来工程化。如果这两个scFv分子具有相同的结合特异性,则所得$(scFv)_2$分子将优选称为二价的(即,对于相同的靶表位具有两个价)。如果两个scFv分子具有不同的结合特异性,则所得$(scFv)_2$分子将优选称为双特异性的。连接可以通过产生具有两个VH区和两个VL区的单一肽链从而产生串联scFv来进行(参见,例如Kufer P.等人,(2004)Trends in Biotechnology[生物技术趋势]22(5):238-244)。另一种可能性是产生具有接头肽的scFv分子,这些接头肽对于两个可变区来说太短以致于不能折叠在一起(例如约五个氨基酸),从而迫使scFv二聚化。这物种型被称为双抗体(参见,例如Hollinger,Philipp等人,(1993年7月)Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America[美国国家科学院院刊]90(14):6444-8)。

[0179] 根据本发明,第一结构域、第二结构域或第一结构域和第二结构域可以包含单结构域抗体,分别地单结构域抗体的可变结构域或至少CDR。单结构域抗体仅包含一个(单体)抗体可变结构域,该抗体可变结构域能够独立于其他V区或结构域而选择性结合特定抗原。第一单结构域抗体是从骆驼中发现的重链抗体工程化而来,并且这些被称为V_HH片段。软骨鱼类也具有重链抗体(IgNAR),可以从这些重链抗体中获得称为V_{NAR}片段的单结构域抗体。

可替代的方法是将来自常见免疫球蛋白，例如来自人或啮齿动物的二聚体可变结构域分裂成单体，因此获得作为单结构域Ab的VH或VL。尽管对单结构域抗体的大多数研究目前都是基于重链可变结构域，但是也已经显示衍生自轻链的纳米抗体特异性结合靶表位。单结构域抗体的实例是所谓的sdAb、纳米抗体或单可变结构域抗体。

[0180] 因此，(单结构域mAb)$_2$是由(至少)两个单结构域单克隆抗体构成的单克隆抗体构建体，该两个单结构域单克隆抗体单独地选自下组，该组由以下组成：V_H、V_L、V_HH和V_{NAR}。接头优选呈肽接头的形式。类似地，“scFv-单结构域mAb”是由至少一个如上所述的单结构域抗体和一个如上所述的scFv分子构成的单克隆抗体构建体。同样，接头优选呈肽接头的形式。

[0181] 抗体构建体是否与另一给定抗体构建体竞争结合可以在竞争测定(如竞争性ELISA或基于细胞的竞争测定)中测量。也可以使用抗生物素蛋白偶联的微粒(珠粒)。与抗生物素蛋白涂覆的ELISA板类似，当与生物素化蛋白质反应时，这些珠粒中的每一个都可用作可在其上进行测定的底物。将抗原涂覆在珠粒上，并且然后用第一抗体预涂覆。添加第二抗体并且确定任何另外的结合。用于读出的可能手段包括流式细胞术。

[0182] T细胞或T淋巴细胞是在细胞介导的免疫中发挥核心作用的一类淋巴细胞(其本身是一类白细胞)。存在若干个T细胞亚组，每个亚组具有不同的功能。T细胞可以因细胞表面上存在T细胞受体(TCR)而与其他淋巴细胞(如B细胞和NK细胞)区分开。TCR负责识别与主要组织相容性复合物(MHC)分子结合的抗原，并且由两种不同的蛋白质链构成。在95％的T细胞中，TCR由阿尔法(α)和贝塔(β)链组成。当TCR与抗原肽和MHC(肽/MHC复合物)接合时，T淋巴细胞通过一系列由相关酶、共受体、专门化衔接子分子和激活或释放的转录因子介导的生物化学事件而被激活。

[0183] CD3受体复合物是一种蛋白质复合物，并且由四条链构成。在哺乳动物中，复合物含有CD3γ(伽马)链、CD3δ(德尔塔)链和两条CD3ε(伊普西龙)链。这些链与T细胞受体(TCR)和所谓的ζ(截塔)链缔合以形成T细胞受体CD3复合物并在T淋巴细胞中生成激活信号。CD3γ(伽马)、CD3δ(德尔塔)和CD3ε(伊普西龙)链是含有单一细胞外免疫球蛋白结构域的免疫球蛋白超家族的高度相关的细胞表面蛋白。CD3分子的细胞内尾含有对于TCR的信号传导能力所必需的单一保守基序，称为基于免疫受体酪氨酸的激活基序或简称ITAM。CD3ε分子是一种多肽，该多肽在人中由位于染色体11上的CD3E基因编码。CD3ε的最优选的表位包括在人CD3ε细胞外结构域的氨基酸残基1-27内。设想根据本发明的抗体构建体典型地并且有利地显示出更少的非特异性T细胞激活，这在特异性免疫疗法中是不需要的。这意味着副作用的风险降低。

[0184] 经由多特异性(至少双特异性)抗体构建体募集T细胞对靶细胞的再定向溶解涉及溶细胞突触形成以及穿孔素和颗粒酶的递送。所接合的T细胞能够连续靶细胞溶解，并且不受干扰肽抗原加工和呈递或克隆T细胞分化的免疫逃逸机制的影响；参见，例如WO 2007/042261。

[0185] 能以各种方式测量由本发明的抗体构建体介导的细胞毒性。效应细胞可以是例如刺激的富集的(人)CD8阳性T细胞或未刺激的(人)外周血单核细胞(PBMC)。如果靶细胞是猕猴起源的或表达的或用第一结构域结合的猕猴靶细胞表面抗原转染，则效应细胞也应是猕猴起源的，如猕猴T细胞系，例如4119LnPx。靶细胞应表达靶细胞表面抗原(至少细胞外结构域)，例如人或猕猴靶细胞表面抗原。靶细胞可以是用靶细胞表面抗原(例如人或猕猴靶细

胞表面抗原)稳定或瞬时转染的细胞系(如CHO)。可替代地,靶细胞可以是靶细胞表面抗原阳性天然表达细胞系。对于在细胞表面上表达较高水平的靶细胞表面抗原的靶细胞系,预期EC_{50}值通常较低。效应细胞与靶细胞(E:T)比率通常为约10:1,但也可以改变。靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的细胞毒活性可以在^{51}Cr-释放测定(约18小时的孵育时间)或在基于FACS的细胞毒性测定(约48小时的孵育时间)中测量。也可能对测定孵育时间(细胞毒性反应)进行修改。其他测量细胞毒性的方法对本领域技术人员来说是熟知的,并且包括MTT或MTS测定、基于ATP的测定(包括生物发光测定)、磺基罗丹明B(SRB)测定、WST测定、克隆生成测定和ECIS技术。

[0186] 优选在基于细胞的细胞毒性测定中测量由本发明的靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体介导的细胞毒活性。其也可以在^{51}Cr-释放测定中测量。其由EC_{50}值表示,该值对应于半数最大有效浓度(诱导在基线与最大值之间的中途的细胞毒性应答的抗体构建体的浓度)。优选地,靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的EC_{50}值≤5000pM或≤4000pM、更优选≤3000pM或≤2000pM、甚至更优选≤1000pM或≤500pM、甚至更优选≤400pM或≤300pM、甚至更优选≤200pM、甚至更优选≤100pM、甚至更优选≤50pM、甚至更优选≤20pM或≤10pM、并且最优选≤5pM。

[0187] 上述给定的EC_{50}值可以在不同的测定中测量。本领域技术人员知道,当使用刺激/富集的$CD8^+$T细胞作为效应细胞时,与未刺激的PBMC相比,可以预期EC_{50}值较低。此外可以预期,与低靶表达大鼠相比,当靶细胞表达大量靶细胞表面抗原时,EC_{50}值较低。例如,当使用刺激/富集的人$CD8^+$T细胞作为效应细胞(并且使用靶细胞表面抗原转染的细胞如CHO细胞或靶细胞表面抗原阳性人细胞系作为靶细胞)时,靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的EC_{50}值优选≤1000pM、更优选≤500pM、甚至更优选≤250pM、甚至更优选≤100pM、甚至更优选≤50pM、甚至更优选≤10pM、并且最优选≤5pM。当使用人PBMC作为效应细胞时,靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的EC_{50}值优选≤5000pM或≤4000pM(特别是当靶细胞是靶细胞表面抗原阳性人细胞系时)、更优选≤2000pM(特别是当靶细胞是靶细胞表面抗原转染的细胞如CHO细胞时)、更优选≤1000pM或≤500pM、甚至更优选≤200pM、甚至更优选≤150pM、甚至更优选≤100pM、并且最优选≤50pM或更低。当使用猕猴T细胞系如LnPx4119作为效应细胞并且使用猕猴靶细胞表面抗原转染的细胞系如CHO细胞作为靶细胞系时,靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的EC_{50}值优选≤2000pM或≤1500pM、更优选≤1000pM或≤500pM、甚至更优选≤300pM或≤250pM、甚至更优选≤100pM、并且最优选≤50pM。

[0188] 优选地,本发明的靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体不诱导/介导溶解或基本上不诱导/介导靶细胞表面抗原阴性细胞如CHO细胞的溶解。术语“不诱导溶解”、“基本上不诱导溶解”、“不介导溶解”或“基本不介导溶解”意指本发明的抗体构建体不诱导或介导超过30%,优选不超过20%,更优选不超过10%,特别优选不超过9%、8%、7%、6%或5%的靶细胞表面抗原阴性细胞的溶解,由此将靶细胞表面抗原阳性人细胞系的溶解设定为100%。这通常适用于浓度高达500nM的抗体构建体。本领域技术人员知道如何毫不费力地测量细胞溶解。此外,本说明书教导了如何测量细胞溶解的具体说明。

[0189] 单个的靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的单体与二聚体同种型之间细胞毒活性的差异称为“效能间隙”。该效能间隙可以例如计算为分子的单体与二聚体形式的EC_{50}值之间的比率。本发明的靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体的效能间隙优选≤

5、更优选≤4、甚至更优选≤3、甚至更优选≤2、并且最优选≤1。

[0190] 本发明的抗体构建体的第一结合结构域和/或第二(或任何其他)结合结构域优选对于灵长类哺乳动物目的成员具有跨物种特异性。跨物种特异性CD3结合结构域例如描述于WO 2008/119567中。根据一个实施例,除了分别与人靶细胞表面抗原和人CD3结合之外,第一结合结构域和/或第二结合结构域还将与灵长类动物的靶细胞表面抗原/CD3结合,这些灵长类动物包括(但不限于)新大陆灵长类动物(如狨毛猴、绒顶柽柳猴或松鼠猴)、旧大陆灵长类动物(如狒狒和猕猴)、长臂猿和非人类人亚科。

[0191] 在本发明的抗体构建体的一个实施例中,第一结构域结合人靶细胞表面抗原并进一步结合猕猴靶细胞表面抗原(如食蟹猕猴的靶细胞表面抗原),并且更优选地,结合在表面猕猴细胞上表达的猕猴靶细胞表面抗原。第一结合结构域对猕猴靶细胞表面抗原的亲和力优选≤15nM、更优选≤10nM、甚至更优选≤5nM,甚至更优选≤1nM、甚至更优选≤0.5nM、甚至更优选≤0.1nM、并且最优选≤0.05nM或甚至≤0.01nM。

[0192] 优选地,根据本发明的抗体构建体对结合猕猴靶细胞表面抗原对人靶细胞表面抗原[ma靶细胞表面抗原:hu靶细胞表面抗原]的亲和力间隙(如例如通过BiaCore或通过Scatchard分析确定)<100、优选<20、更优选<15、进一步优选<10、甚至更优选<8、更优选<6并且最优选<2。根据本发明的抗体构建体对结合猕猴靶细胞表面抗原对人靶细胞表面抗原的亲和性间隙的优选范围在0.1与20之间、更优选在0.2与10之间、甚至更优选在0.3与6之间、甚至更优选在0.5与3之间或在0.5与2.5之间、并且最优选在0.5与2之间或在0.6与2之间。

[0193] 本发明的抗体构建体的第二(结合)结构域与人CD3ε和/或猕猴CD3ε结合。在优选的实施例中,第二结构域进一步与绒毛猴、绒顶柽柳猴或松鼠猴CD3ε结合。狨毛猴和绒顶柽柳猴两者均是属于狨亚科(Callitrichidae)的新大陆灵长类动物,而松鼠猴是属于悬猴科(Cebidae)的新大陆灵长类动物。

[0194] 对于本发明的抗体构建体优选的是,与人和/或猕猴CD3的细胞外表位结合的第二结构域包含含有选自以下的CDR-L1、CDR-L2和CDR-L3的VL区:

[0195] (a)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:27中所描绘的CDR-L1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:28中所描绘的CDR-L2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:29中所描绘的CDR-L3;

[0196] (b)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:117中所描绘的CDR-L1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:118中所描绘的CDR-L2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:119中所描绘的CDR-L3;以及

[0197] (c)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:153中所描绘的CDR-L1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:154中所描绘的CDR-L2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:155中所描绘的CDR-L3。

[0198] 在本发明的抗体构建体的同样优选的实施例中,与人和/或猕猴CD3ε链的细胞外表位结合的第二结构域包含含有选自以下的CDR-H1、CDR-H2和CDR-H3的VH区:

[0199] (a)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:12中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:13中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:14中所描绘的CDR-H3;

[0200] (b)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:30中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:31中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:32中所描绘的CDR-H3;

[0201] (c)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:48中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:49中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:50中所描绘的CDR-H3;

[0202] (d)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:66中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:67中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:68中所描绘的CDR-H3;

[0203] (e)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:84中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:85中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:86中所描绘的CDR-H3;

[0204] (f)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:102中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:103中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:104中所描绘的CDR-H3;

[0205] (g)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:120中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:121中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:122中所描绘的CDR-H3;

[0206] (h)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:138中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:139中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:140中所描绘的CDR-H3;

[0207] (i)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:156中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:157中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:158中所描绘的CDR-H3;以及

[0208] (j)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:174中所描绘的CDR-H1,如WO 2008/119567的SEQ ID NO:175中所描绘的CDR-H2以及如WO 2008/119567的SEQ ID NO:176中所描绘的CDR-H3。

[0209] 在本发明的抗体构建体的优选的实施例中,将上述三组VL CDR与上述十组VH CDR在第二结合结构域内组合以形成(30)组,每组包含CDR-L 1-3和CDR-H 1-3。

[0210] 对于本发明的抗体构建体优选的是,与CD3结合的第二结构域包含选自由以下组成的组的VL区:如WO 2008/119567的SEQ ID NO:17、21、35、39、53、57、71、75、89、93、107、111、125、129、143、147、161、165、179或183中所描绘的或在本序列表中如SEQ ID NO:16或25所描绘的VL区。

[0211] 同样优选的是,与CD3结合的第二结构域包含选自由以下组成的组的VH区:如WO 2008/119567的SEQ ID NO:15、19、33、37、51、55、69、73、87、91、105、109、123、127、141、145、159、163、177或181中所描绘的或在本序列表中如SEQ ID NO:15或24所描绘的VH区。

[0212] 最优选地,本发明的抗体构建体的特征在于与CD3结合的第二结构域包含选自由以下组成的组的VL区和VH区:

[0213] (a)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:17或21中所描绘的VL区和如WO 2008/119567

的SEQ ID NO:15或19中所描绘的VH区；

[0214] (b)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:35或39中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:33或37中所描绘的VH区；

[0215] (c)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:53或57中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:51或55中所描绘的VH区；

[0216] (d)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:71或75中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:69或73中所描绘的VH区；

[0217] (e)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:89或93中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:87或91中所描绘的VH区；

[0218] (f)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:107或111中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:105或109中所描绘的VH区；

[0219] (g)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:125或129中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:123或127中所描绘的VH区；

[0220] (h)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:143或147中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:141或145中所描绘的VH区；

[0221] (i)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:161或165中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:159或163中所描绘的VH区；以及

[0222] (j)如WO 2008/119567的SEQ ID NO:179或183中所描绘的VL区和如WO 2008/119567的SEQ ID NO:177或181中所描绘的VH区。

[0223] 关于本发明的抗体构建体还优选的是，与CD3结合的第二结构域包含如SEQ ID NO:16或25中所描绘的VL区和在本序列表中如SEQ ID NO:15或24中所描绘的VH区。

[0224] 根据本发明的抗体构建体的优选的实施例，第一结构域和/或第二结构域具有以下形式：VH区和VL区的对是呈单链抗体(scFv)的形式。VH和VL区以VH-VL或VL-VH的顺序排列。优选的是，VH区位于接头序列的N末端，并且VL区位于接头序列的C末端。

[0225] 本发明的上述抗体构建体的优选的实施例的特征在于结合CD3的第二结构域包含选自由以下组成的组的氨基酸序列：WO 2008/119567的SEQ ID NO:23、25、41、43、59、61、77、79、95、97、113、115、131、133、149、151、167、169、185或187或在本序列表中如SEQ ID NO:26中所描绘的。

[0226] 抗体构建体的共价修饰也包括在本发明的范围内，并且通常但不总是在翻译后进行。例如，通过使抗体构建体的特定氨基酸残基与能够与选择的侧链或N或C末端残基反应的有机衍生剂反应，将抗体构建体的若干物种型的共价修饰引入到分子中。

[0227] 半胱氨酰残基最常见地与α-卤代乙酸酯(和相应的胺)，如氯乙酸或氯乙酰胺反应，以得到羧甲基或羧酰胺甲基衍生物。半胱氨酰残基还可以通过与溴三氟丙酮、α-溴-β-(5-咪唑基)丙酸、磷酸氯乙酰酯、N-烷基马来酰亚胺、3-硝基-2-吡啶基二硫化物、甲基2-吡啶基二硫化物、对氯汞苯甲酸酯、2-氯汞-4-硝基苯酚或氯-7-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二唑反应来衍生出。

[0228] 组氨酰残基是通过在pH 5.5-7.0下与焦碳酸二乙酯反应衍生出，因为这种制剂对组氨酰侧链具有相对特异性。对溴苯甲酰甲基溴也是有用的；该反应优选在pH 6.0下在0.1M二甲胂酸钠中进行。赖氨酰残基和氨基末端残基与琥珀酸酐或其他羧酸酐反应。用这

些药剂衍生化具有逆转赖氨酰残基的电荷的效应。用于衍生含α-氨基的残基的其他适合试剂包括亚氨酸酯，如甲基吡啶亚胺甲酯；磷酸吡哆醛；吡哆醛；硼氢化氯；三硝基苯磺酸；O-甲基异脲；2,4-戊二酮；以及转氨酶催化的与乙醛酸盐的反应。

[0229] 精氨酰残基通过与一种或若干种常规试剂(其中苯甲酰甲醛、2,3-丁二酮、1,2-环己二酮和茚三酮)反应而被修饰。由于胍官能团的高pKa，因此精氨酸残基的衍生化要求反应在碱性条件下进行。此外，这些试剂可以与赖氨酸基团以及精氨酸ε-氨基基团反应。

[0230] 可以对酪氨酰残基进行特定修饰，特别感兴趣的是通过与芳族重氮化合物或四硝基甲烷反应将光谱标记引入到酪氨酰残基中。最常见地，将N-乙酰基咪唑和四硝基甲烷分别用于形成O-乙酰基酪氨酰物质和3-硝基衍生物。使用^{125}I或^{131}I碘化酪氨酰残基以制备用于放射免疫测定的标记蛋白质，上述氯胺T法是适合的。

[0231] 羧基侧基(天冬氨酰基或谷氨酰基)通过与碳二亚胺(R'—N＝C＝N--R')反应而选择性地修饰，其中R和R'任选为不同的烷基，如1-环己基-3-(2-吗啉基-4-乙基)碳二亚胺或1-乙基-3-(4-氮鎓-4,4-二甲基戊基)碳二亚胺。此外，天冬氨酰残基和谷氨酰残基通过与铵离子反应转化为天冬酰胺酰残基和谷氨酰胺酰残基。

[0232] 用双功能剂衍生化可用于将本发明的抗体构建体交联到水不溶性载体基质或表面以用于多种方法中。常用的交联剂包括例如1,1-双(重氮乙酰基)-2-苯基乙烷、戊二醛、N-羟基琥珀酰亚胺酯(例如与4-叠氮基水杨酸的酯)、同双官能亚氨酸酯，包括二琥珀酰亚胺酯，如3,3'-二硫代双(琥珀酰亚胺基丙酸酯)、和双官能马来酰亚胺，如双-N-马来酰亚胺-1,8-辛烷。衍生剂如3-[(对叠氮基苯基)二硫代]丙酰亚胺酸甲酯产生能够在光存在下形成交联的可光活化中间体。可替代地，反应性水不溶性基质如溴化氰活化的碳水化合物和反应性底物，如美国专利号3,969,287;3,691,016;4,195,128;4,247,642;4,229,537;和4,330,440所述，用于蛋白质固定。

[0233] 谷氨酰胺酰残基和天冬酰胺酰残基通常分别脱酰胺成相应的谷氨酰残基和天冬氨酰残基。可替代地，这些残基在弱酸性条件下脱酰胺。这些残基的任一形式都属于本发明的范围。

[0234] 其他修饰包括对脯氨酸和赖氨酸的羟基化、对丝氨酰或苏氨酰残基的羟基的磷酸化、对赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的α-氨基的甲基化(T.E.Creighton,Proteins:Structure and Molecular Properties[蛋白质:结构和分子特性],W.H.Freeman&Co.[W.H.弗里曼公司],San Francisco[旧金山],1983,第79-86页)、对N末端胺的乙酰化和对任何C末端羧基的酰胺化。

[0235] 包括在本发明范围内的抗体构建体的另一物种型的共价修饰包括改变蛋白质的糖基化模式。如本领域中已知的，糖基化模式可以取决于蛋白质的序列(例如，下文论述的特定糖基化氨基酸残基的存在或不存在)或其中产生蛋白质的宿主细胞或生物体。下面论述特定的表达系统。

[0236] 多肽的糖基化典型地是N-连接或O-连接的。N-连接是指碳水化合物部分连接至天冬酰胺残基的侧链。三肽序列天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X为除脯氨酸以外的任何氨基酸)是将碳水化合物部分酶促连接至天冬酰胺侧链的识别序列。因此，在多肽中这些三肽序列中的任一个的存在产生潜在的糖基化位点。O-连接糖基化是指将糖N-乙酰半乳糖胺、半乳糖或木糖中的一种连接至羟基氨基酸，最常见的是丝氨酸或苏氨酸，尽管

也可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0237] 通过改变氨基酸序列以使得它含有上述三肽序列中的一者或多者(对于N-连接的糖基化位点),而方便地完成向抗体构建体添加糖基化位点。还可以通过向起始序列(对于O-连接的糖基化位点)添加或取代为一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基来作出改变。为了方便起见,抗体构建体的氨基酸序列优选通过DNA水平的变化来改变,特别是通过在预选碱基处突变编码多肽的DNA,以使得产生将翻译成所希望氨基酸的密码子。

[0238] 增加抗体构建体上的碳水化合物部分的数量的另一种手段是通过将糖苷化学或酶促偶联至蛋白质。这些程序的有利之处在于它们不需要在具有用于N-和O-连接的糖基化的糖基化能力的宿主细胞中产生蛋白质。取决于所使用的偶联方式,一种或多种糖可连接至(a)精氨酸和组氨酸,(b)游离羧基,(c)游离巯基,如半胱氨酸的那些,(d)游离羟基,如丝氨酸、苏氨酸或羟基脯氨酸的那些,(e)芳香族残基,如苯丙氨酸、酪氨酸或色氨酸的那些,或(f)谷氨酰胺的酰胺基团。这些方法描述于WO 87/05330以及Aplin和Wriston,1981,CRC Crit.Rev.Biochem.[CRC生物化学关键评论],第259-306页中。

[0239] 存在于起始抗体构建体上的碳水化合物部分的去除可以通过化学或酶促方式完成。化学去糖基化要求将蛋白质暴露于化合物三氟甲磺酸,或等效化合物。该处理导致除连接糖(N-乙酰葡糖胺或N-乙酰半乳糖胺)以外的大多数或所有糖裂解,同时使多肽保持完整。化学去糖基化由Hakimuddin等人,1987,Arch.Biochem.Biophys.[生物化学与生物物理学集刊]259:52和Edge等人,1981,Anal.Biochem.[分析生物化学]118:131描述。多肽上碳水化合物部分的酶促裂解可以通过使用多种内切糖苷酶和外切糖苷酶实现,如由Thotakura等人,1987,Meth.Enzymol.[酶学方法]138:350所述的。可以通过使用化合物衣霉素防止潜在糖基化位点处的糖基化,如由Duskin等人,1982,J.Biol.Chem.[生物化学杂志]257:3105所述的。衣霉素阻断蛋白质-N-糖苷键的形成。

[0240] 本文还考虑抗体构建体的其他修饰。例如,抗体构建体的另一种类型的共价修饰包括以美国专利号4,640,835、4,496,689、4,301,144、4,670,417、4,791,192或4,179,337中示出的方式将抗体构建体连接至各种非蛋白质聚合物,包括但不限于各种多元醇,诸如聚乙二醇、聚丙二醇、聚氧化烯或聚乙二醇和聚丙二醇的共聚物。此外,如本领域中已知的,可以在抗体构建体内的不同位置进行氨基酸取代,例如以有利于添加聚合物如PEG。

[0241] 在一些实施例中,本发明的抗体构建体的共价修饰包括添加一个或多个标记。标记基团可以经由各种长度的间隔臂与抗体构建体偶联以减少潜在的空间位阻。用于标记蛋白质的各种方法在本领域中是已知的并且可以用于进行本发明。术语“标记”或“标记基团”是指任何可检测的标记。一般来讲,标记属于多物种别,这取决于将检测它们的测定-以下实例包括但不限于:

[0242] a)同位素标记,这些同位素标记可以是放射性同位素或重同位素,如放射性同位素或放射性核素(例如^{3}H、^{14}C、^{15}N、^{35}S、^{89}Zr、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I)

[0243] b)磁性标记(例如磁性颗粒)

[0244] c)氧化还原活性部分

[0245] d)光学染料(包括但不限于,生色团、磷光体和荧光团),如荧光基团(例如FITC、罗丹明、镧系元素磷光体)、化学发光基团和荧光团,这些荧光团可以是“小分子”荧光剂或蛋白质荧光剂

[0246] e)酶促基团(例如辣根过氧化物酶、β-半乳糖苷酶、萤光素酶、碱性磷酸酶)

[0247] f)生物素化基团

[0248] g)由第二报道子识别的预定多肽表位(例如,亮氨酸拉链对序列、第二抗体的结合侧、金属结合结构域、表位标签等)

[0249] “荧光标记”意指可以经由其固有的荧光特性检测到的任何分子。适合的荧光标记包括但不限于荧光素、罗丹明、四甲基罗丹明、伊红、赤藓红、香豆素、甲基-香豆素、芘、孔雀石绿、二苯乙烯、荧光黄、瀑布蓝J、德克萨斯红、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC红640、Cy 5、Cy 5.5、LC红705、俄勒冈绿、Alexa-Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor 680)、瀑布蓝、瀑布黄和R-藻红蛋白(PE)(俄勒冈州尤金市的分子探针公司(Molecular Probes,Eugene,OR))、FITC、罗丹明和德克萨斯红(伊利诺伊州罗克福德的皮尔斯公司(Pierce,Rockford,IL))、Cy5、Cy5.5、Cy7(宾夕法尼亚州匹兹堡市的阿默舍姆生命科学公司(Amersham Life Science,Pittsburgh,PA))。适合的光学染料(包括荧光团)描述于Richard P.Haugland的Molecular Probes Handbook[分子探针手册]中。

[0250] 适合的蛋白质荧光标记还包括但不限于绿色荧光蛋白,包括海肾(Renilla)、海笔(Ptilosarcus)或水母(Aequorea)物种的GFP(Chalfie等人,1994,Science[科学]263:802-805);EGFP(克罗泰克实验室有限公司(Clontech Laboratories,Inc.),基因库登录号U55762)、蓝色荧光蛋白(BFP,量子生物科技有限公司(Quantum Biotechnologies,Inc.),加拿大魁北克省蒙特利尔(Montreal,Quebec,Canada)迈松纳夫大道西部(de Maisonneuve Blvd.West)1801,第8层,H3H 1J9);Stauber,1998,Biotechniques[生物技术]24:462-471;Heim等人,1996,Curr.Biol.[当代生物学]6:178-182)、增强型黄色荧光蛋白(EYFP,克罗泰克实验室有限公司)、萤光素酶(Ichiki等人,1993,J.Immunol.[免疫学杂志]150:5408-5417)、β半乳糖苷酶(Nolan等人,1988,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]85:2603-2607)和海肾(WO92/15673、WO95/07463、WO98/14605、WO98/26277、WO99/49019、美国专利号5,292,658、5,418,155、5,683,888、5,741,668、5,777,079、5,804,387、5,874,304、5,876,995、5,925,558)。

[0251] 本发明的抗体构建体还可以包含另外的结构域,这些结构域例如有助于分离分子或涉及分子的适应性药代动力学分布。有助于分离抗体构建体的结构域可以选自肽基序或辅助性地引入的部分,这些部分可以在分离方法(例如分离柱)中捕获。此类另外的结构域的非限制性实施例包括称为Myc-标签、HAT-标签、HA-标签、TAP-标签、GST-标签、几丁质结合结构域(CBD-标签)、麦芽糖结合蛋白(MBP-标签)、Flag-标签、Strep-标签以及其变体(例如StrepII-标签)和His标签的肽基序。以鉴定的CDR为特征的本文披露的所有抗体构建体都可以包含His-标签结构域,该His-标签结构域通常称为分子的氨基酸序列中的连续His残基重复序列、优选5个、且更优选6个His残基(六组氨酸)。His-标签可以位于例如抗体构建体的N或C末端,优选地它位于C末端。最优选地,六组氨酸标签(HHHHHH)(SEQ ID NO:16)经由肽键连接至根据本发明的抗体构建体的C末端。另外,PLGA-PEG-PLGA的缀合物体系可以与聚组氨酸标签组合用于缓释应用和改善的药代动力学分布。

[0252] 还考虑了本文所述的抗体构建体的氨基酸序列修饰。例如,可能需要改善抗体构

建体的结合亲和力和/或其他生物特性。通过将适当核苷酸变化引入到抗体构建体核酸或通过肽合成来制备抗体构建体的氨基酸序列变体。所有下面描述的氨基酸序列修饰均应产生仍然保留未修饰的亲本分子的所希望生物活性(与靶细胞表面抗原和CD3结合)的抗体构建体。

[0253] 术语“氨基酸”或“氨基酸残基”典型地是指具有其本领域公认的定义的氨基酸,如选自由以下组成的组的氨基酸:丙氨酸(Ala或A);精氨酸(Arg或R);天冬酰胺(Asn或N);天冬氨酸(Asp或D);半胱氨酸(Cys或C);谷氨酰胺(Gln或Q);谷氨酸(Glu或E);甘氨酸(Gly或G);组氨酸(His或H);异亮氨酸(He或I);亮氨酸(Leu或L);赖氨酸(Lys或K);蛋氨酸(Met或M);苯丙氨酸(Phe或F);脯氨酸(Pro或P);丝氨酸(Ser或S);苏氨酸(Thr或T);色氨酸(Trp或W);酪氨酸(Tyr或Y);以及缬氨酸(Val或V),尽管可以根据需要使用修饰的、合成的或稀有的氨基酸。一般来讲,氨基酸可以分组为具有非极性侧链(例如Ala、Cys、He、Leu、Met、Phe、Pro、Val);具有带负电的侧链(例如Asp、Glu);具有带正电的侧链(例如Arg、His、Lys);或具有不带电的极性侧链(例如Asn、Cys、Gln、Gly、His、Met、Phe、Ser、Thr、Trp和Tyr)。

[0254] 氨基酸修饰包括例如抗体构建体的氨基酸序列内的残基的缺失和/或插入和/或取代。进行缺失、插入和取代的任何组合以达到最终构建体,条件是最终的构建体具有所希望的特征。氨基酸变化还可以改变抗体构建体的翻译后过程,如改变糖基化位点的数目或位置。

[0255] 例如,可以在每个CDR中插入、取代或缺失1、2、3、4、5或6个氨基酸(当然,取决于其长度),而可以在每个FR中插入、取代或缺失1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或25个氨基酸。优选地,氨基酸序列插入到抗体构建体中包括与含有100个或更多个残基的多肽的长度范围为1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个残基的氨基和/或羧基末端融合物,以及单个或多个氨基酸残基的序列内插入。也可以在本发明的抗体构建体的第三结构域内进行相应的修饰。本发明的抗体构建体的插入变体包括与酶的抗体构建体的N末端或C末端的融合或与多肽的融合。

[0256] 取代诱变最感兴趣的位点包括(但不限于)重链和/或轻链的CDR,特别是高变区,但也考虑重链和/或轻链的FR改变。取代优选地是如本文所述的保守取代。优选地,可以在CDR中取代1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸,而可以在框架区(FR)中取代1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20或25个氨基酸,这取决于CDR或FR的长度。例如,如果CDR序列涵盖6个氨基酸,则设想这些氨基酸中的1个、2个或3个被取代。类似地,如果CDR序列涵盖15个氨基酸,则设想这些氨基酸中的1个、2个、3个、4个、5个或6个被取代。

[0257] 用于鉴定作为优选诱变位置的抗体构建体的某些残基或区域的有用方法称为“丙氨酸扫描诱变”,如Cunningham和Wells于Science[科学],244:1081-1085(1989)中所述的。在此,鉴定了抗体构建体内的残基或靶残基组(例如带电残基,如arg、asp、his、lys和glu)并且用中性或带负电的氨基酸(最优选丙氨酸或聚丙氨酸)替换以影响氨基酸与表位的相互作用。

[0258] 然后通过在取代位点处或为取代位点引入进一步的或其他变体来精炼那些展示对取代具有功能敏感性的氨基酸位置。因此,虽然用于引入氨基酸序列变化的位点或区域是预定的,但突变本身的性质无需预定。例如,为了分析或优化给定位点处突变的性能,可以在靶密码子或区域处进行丙氨酸扫描或随机诱变,并且筛选所表达的抗体构建体变体以

获得所希望活性的最优组合。用于在具有已知序列的DNA中的预定位点进行取代突变的技术是熟知的，例如，M13引物诱变和PCR诱变。使用抗原结合活性(如靶细胞表面抗原或CD3结合)的测定来筛选突变体。

[0259] 一般来讲，如果氨基酸在重链和/或轻链的一个或多个或所有CDR中被取代，则优选的是，之后获得的“取代的”序列与“初始”CDR序列具有至少60％或65％、更优选70％或75％、甚至更优选80％或85％并且特别优选90％或95％同一性。这意指该取代取决于CDR的长度与“取代”序列的相同程度。例如，具有5个氨基酸的CDR优选与其取代序列80％相同，以便取代至少一个氨基酸。因此，抗体构建体的CDR可以与其取代的序列具有不同程度的同一性，例如CDRL1可以具有80％，而CDRL3可以具有90％。

[0260] 优选的取代(或替换)是保守取代。然而，只要抗体构建体保留其经由第一结构域与靶细胞表面抗原结合并且经由第二结构域与CD3，分别地CD3ε结合的能力和/或其CDR与之后取代的序列具有同一性(与“原始”CDR序列具有至少60％或65％，更优选70％或75％，甚至更优选80％或85％并且特别优选90％或95％同一性)，则设想出任何取代(包括非保守取代或来自下表3中列出的“示例性取代”的一个或多个)。

[0261] 保守取代示于表3中“优选取代”标题之下。如果此类取代导致生物活性变化，则可以将在表3中命名为“示例性取代”或如在下文参考氨基酸类别进一步所述的更实质性变化引入，并且筛选产物以获得所希望的特征。

[0262] 表3:氨基酸取代

[0263]

原始的	示例性取代	优选取代
Ala(A)	val、leu、ile	val
Arg(R)	lys、gln、asn	lys
Asn(N)	gln、his、asp、lys、arg	gln
Asp(D)	glu、asn	glu

[0264]

Cys(C)	ser、ala	ser
Gln(Q)	asn、glu	asn
Glu(E)	asp、gln	asp
Gly(G)	Ala	ala
His(H)	asn、gln、lys、arg	arg
Ile(I)	leu、val、met、ala、phe	leu
Leu(L)	正亮氨酸、ile、val、met、ala	ile
Lys(K)	arg、gln、asn	arg
Met(M)	leu、phe、ile	leu
Phe(F)	leu、val、ile、ala、tyr	tyr
Pro(P)	Ala	ala
Ser(S)	Thr	thr
Thr(T)	Ser	ser
Trp(W)	tyr、phe	tyr
Tyr(Y)	trp、phe、thr、ser	phe
Val(V)	ile、leu、met、phe、ala	leu

[0265] 本发明的抗体构建体的生物特性的实质性修饰是通过选择在保持以下的效应方面显著不同的取代来完成:(a)取代区域中的多肽骨架的结构,例如呈折叠或螺旋构象,(b)分子在靶位点的电荷或疏水性,或(c)侧链的大部分。基于共同的侧链特性将天然存在的残基分组:(1)疏水性:正亮氨酸、met、ala、val、leu、ile;(2)中性亲水性:cys、ser、thr、asn、gln;(3)酸性:asp、gln;(4)碱性:his、lys、arg;(5)影响链取向的残基:gly、pro;以及(6)芳香族的:trp、tyr、phe。

[0266] 非保守性取代将需要将这些类别中一类别的成员换成另一类别。任何不参与维持抗体构建体的适当构象的半胱氨酸残基通常可以被丝氨酸取代,以改善分子的氧化稳定性并防止异常交联。相反,可以将一个或多个半胱氨酸键添加至抗体以改善其稳定性(特别是在抗体是抗体片段(如Fv片段)的情况下)。

[0267] 对于氨基酸序列,通过使用本领域已知的标准技术确定序列同一性和/或相似性,包括但不限于,Smith和Waterman,1981,Adv.Appl.Math.[高级应用数学]2:482的局部序列同一性算法、Needleman和Wunsch,1970,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]48:443的序列同一性比对算法、Pearson和Lipman,1988,Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]85:2444的相似性方法的检索、这些算法的计算机化实现(威斯康星遗传学软件包中的GAP、BESTFIT、FASTA和TFASTA,遗传学计算机集团,575科学大道,麦德逊,威斯康星州(Genetics Computer Group,575 Science Drive,Madison,Wis.))、Devereux等人,1984,Nucl.AcidRes.[核酸研究]12:387-395所述的最佳匹配序列程序,优选地使用默认设置,或通过检查。优选地,通过FastDB基于以下参数计算同一性百分比:错配罚分为1;空位罚分为1;空位大小罚分为0.33;以及连接罚分为30,“Current Methods in Sequence Comparison and Analysis[序列比较和分析的当前方法]”,Macromolecule Sequencing and Synthesis[大分子测序与合成],Selected Methods and Applications[所选择的方法与应用],第127-149页(1988),Alan R.Liss公司。

[0268] 有用的算法的实例是PILEUP。PILEUP使用渐进式成对比对从一组相关序列中创建多序列比对。它还可以绘制显示用于创建比对的聚类关系的树形图。PILEUP使用Feng和Doolittle,1987,J.Mol.Evol.[分子进化杂志]35:351-360的渐进式比对方法的简单化;该方法类似于Higgins和Sharp,1989,CABIOS 5:151-153所述的方法。有用的PILEUP参数包括3.00的默认空位权重、0.10的默认空位长度权重和加权末端空位。

[0269] 有用的算法的另一实例是BLAST算法,描述于以下中:Altschul等人,1990,J.Mol.Biol.[分子生物学杂志]215:403-410;Altschul等人,1997,Nucleic Acids Res.[核酸研究]25:3389-3402;和Karin等人,1993,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]90:5873-5787。特别有用的BLAST程序是从Altschul等人,1996,Methods in Enzymology[酶学方法]266:460-480获得的WU-BLAST-2程序。WU-BLAST-2使用若干个搜索参数,其中大部分都设定为默认值。将可调整参数设置为以下值:重叠间隔=1,重叠分数=0.125,字阈值(T)=II。HSP S和HSP S2参数是动态值,并且由程序本身根据特定序列的组成和特定数据库的组成来确立,根据该特定数据库来搜索感兴趣的序列;然而,可以调整这些值以提高灵敏度。

[0270] 另外有用的算法是由Altschul等人,1993,Nucl.Acids Res.[核酸研究]25:3389-3402报道的空位BLAST。空位BLAST使用BLOSUM-62取代评分;阈值T参数设定为9;触发非空

位扩展的双击方法,对k的空位长度收取10+k的成本;Xu设定为16,并且Xg设定为40(用于数据库搜索阶段)以及67(用于算法的输出阶段)。空位比对由对应于约22比特的评分触发。

[0271] 一般来讲,各个变体CDR或VH/VL序列之间的氨基酸同源性、相似性或同一性与本文描绘的序列是至少60%,并且更典型地具有至少65%或70%,更优选至少75%或80%,甚至更优选至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%和几乎100%的优选增加的同源性或同一性。以类似的方式,相对于本文中鉴定的结合蛋白的核酸序列的"百分比(%)核酸序列同一性"被定义为候选序列中与抗体构建体的编码序列中的核苷酸残基相同的核苷酸残基的百分比。具体方法利用设定为默认参数的WU-BLAST-2的BLASTN模块,重叠间隔和重叠分数分别设定为1和0.125。

[0272] 一般来讲,编码各个变体CDR或VH/VL序列的核苷酸序列与本文描绘的核苷酸序列之间的核酸序列同源性、相似性或同一性是至少60%,并且更典型地具有至少65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%和几乎100%的优选增加的同源性或同一性。因此,"变体CDR"或"变体VH/VL区"是与本发明的亲本CDR/VH/VL具有指定的同源性、相似性或同一性,并且共享生物功能,包括但不限于亲本CDR或VH/VL的特异性和/或活性的至少60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%。

[0273] 在一个实施例中,根据本发明的抗体构建体与人种系的同一性百分比为≥70%或≥75%,更优选≥80%或≥85%,甚至更优选≥90%,并且最优选≥91%、≥92%、≥93%、≥94%、≥95%或甚至≥96%。与人抗体种系基因产物的同一性被认为是降低治疗期间治疗性蛋白引发患者中针对药物的免疫应答的风险的重要特征。Hwang和Foote("Immunogenicity of engineered antibodies[工程化抗体的免疫原性]";Methods[方法]36(2005)3-10)证明了药物抗体构建体的非人部分的减少导致治疗期间患者中诱导抗药物抗体的风险降低。通过比较无数临床评价的抗体药物和相应免疫原性数据,显示以下趋势:抗体的V区的人源化使得蛋白质免疫原性(平均5.1%的患者)比携带未改变的非人V区的抗体(平均23.59%的患者)更低。因此,呈抗体构建体形式的基于V区的蛋白质治疗剂需要与人序列具有较高程度的同一性。出于确定种系同一性的目的,可以使用Vector NTI软件将VL的V区与人种系V区段和J区段(http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/)的氨基酸序列进行比对并且通过将相同的氨基酸残基除以VL的氨基酸残基总数计算氨基酸序列(以百分比计)。对于VH区段(http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/)同样适用的,只是由于VH CDR3的高度多样性和缺少现有人种系VH CDR3比对配偶体,因此可以排除VH CDR3。然后可以使用重组技术来增加与人抗体种系基因的序列同一性。

[0274] 在另一实施例中,本发明的双特异性抗体构建体在标准研究规模条件下,例如在标准的两步纯化过程中表现出高单体产率。优选地,根据本发明的抗体构建体的单体产率为≥0.25mg/L上清液、更优选≥0.5mg/L、甚至更优选≥1mg/L、并且最优选≥3mg/L上清液。

[0275] 同样地,可以确定抗体构建体的二聚体抗体构建体同种型的产率,并由此确定单体百分比(即,单体:(单体+二聚体))。单体和二聚体抗体构建体的生产率和计算的单体百分比可以例如在来自在滚瓶中标准化研究规模生产的培养物上清液的SEC纯化步骤中获得。在一个实施例中,抗体构建体的单体百分比为≥80%、更优选≥85%、甚至更优选≥

90％、并且最优选≥95％。

[0276] 在一个实施例中，抗体构建体的优选血浆稳定性(具有血浆的EC50与无血浆的EC50的比率)为≤5或≤4、更优选≤3.5或≤3、甚至更优选≤2.5或≤2、并且最优选≤1.5或≤1。抗体构建体的血浆稳定性可以通过将构建体在37℃下在人血浆中孵育24小时，之后在^{51}铬释放细胞毒性测定中确定EC50来测试。细胞毒性测定中的效应细胞可以为刺激的富集的人CD8阳性T细胞。靶细胞可以是例如用人靶细胞表面抗原转染的CHO细胞。效应细胞与靶细胞(E:T)比率可以选择为10:1。用于此目的的人血浆库来源于由EDTA涂覆的注射器收集的健康供体的血液。通过离心去除细胞组分，并且收集上层血浆相并随后汇集。作为对照，在RPMI-1640培养基中的细胞毒性测定之前立即稀释抗体构建体。血浆稳定性计算为EC50(血浆孵育后)与EC50(对照)的比率。

[0277] 此外优选的是，本发明的抗体构建体的单体到二聚体的转化较低。可以在不同条件下测量转化并且通过高性能尺寸排阻色谱进行分析。例如，抗体构建体的单体同种型的孵育可以在37℃以及例如100μg/ml或250μg/ml的浓度下在孵育箱中进行7天。在这些条件下，优选的是，本发明的抗体构建体显示出≤5％、更优选≤4％、甚至更优选≤3％、甚至更优选≤2.5％、甚至更优选≤2％、甚至更优选≤1.5％并且最优选≤1％或≤0.5％或甚至0％的二聚体百分比。

[0278] 还优选的是，本发明的双特异性抗体构建体在多个冷冻/解冻循环后以非常低的二聚体转化存在。例如，将抗体构建体单体在例如通用配制缓冲剂中调整至浓度为250μg/ml，并且进行三个冷冻/解冻循环(在-80℃下冷冻30min，之后在室温下解冻30min)，之后进行高性能SEC以确定已经转化成二聚体抗体构建体的最初单体抗体构建体的百分比。优选地，例如在三个冷冻/解冻循环之后，双特异性抗体构建体的二聚体百分比为≤5％、更优选≤4％、甚至更优选≤3％、甚至更优选≤2.5％、甚至更优选≤2％、甚至更优选≤1.5％、并且最优选≤1％或甚至≤0.5％。

[0279] 本发明的双特异性抗体构建体优选显示出聚集温度≥45℃或≥50℃、更优选≥52℃或≥54℃、甚至更优选≥56℃或≥57℃、并且最优选≥58℃或≥59℃的有利热稳定性。热稳定性参数可以根据抗体聚集温度如下确定：将浓度为250μg/ml的抗体溶液转移到一次性比色杯中并置于动态光散射(DLS)装置中。将样品以0.5℃/min的加热速率从40℃加热至70℃，恒定获取测量的半径。使用指示蛋白质和聚集物熔融的半径增加来计算抗体的聚集温度。

[0280] 可替代地，可以通过差示扫描量热法(DSC)确定温度熔融曲线以确定抗体构建体的固有生物物理学蛋白质稳定性。这些实验使用微凯尔有限公司(MicroCal LLC)(美国马萨诸塞州的北安普顿(Northampton,MA,U.S.A))VP-DSC装置进行。与仅含有配制缓冲剂的样品相比，从20℃至90℃记录含有抗体构建体的样品的能量摄取。将抗体构建体例如在SEC运行缓冲剂中调整至250μg/ml的终浓度。为了记录相应熔融曲线，逐步升高整个样品温度。在每个温度T下，记录样品和配制缓冲剂参考物的能量摄取。将样品的能量摄取Cp(千卡/摩尔/℃)减去参考物的差针对相应温度作图。熔融温度被定义为第一次最大能量摄取时的温度。

[0281] 还设想本发明的靶细胞表面抗原xCD3双特异性抗体构建体具有≤0.2、优选≤0.15、更优选≤0.12、甚至更优选≤0.1并且最优选≤0.08的浊度(如在将纯化的单体抗体

构建体浓缩至2.5mg/ml并过夜孵育后通过OD340测量的)。

[0282] 在另一实施例中,根据本发明的抗体构建体在酸性pH值下是稳定的。抗体构建体在非生理pH下表现出的耐受性越强,例如pH5.5(运行例如阳离子交换色谱法所需的pH)或更低(如pH4.0至5.5),从离子交换柱洗脱的抗体构建体相对于加载蛋白质的总量的回收率就越高。在pH 5.5下从离子(例如阳离子)交换柱的抗体构建体的回收率优选为≥30%、更优选≥40%、更优选≥50%、甚至更优选≥60%、甚至更优选≥70%、甚至更优选≥80%、甚至更优选≥90%、甚至更优选≥95%、并且最优选≥99%。

[0283] 此外设想,本发明的双特异性抗体构建体表现出治疗功效或抗肿瘤活性。这可以例如在以下晚期人肿瘤异种移植模型的实例中披露的研究中评估:

[0284] 本领域技术人员知道如何修改或调整该研究的某些参数,如注射的肿瘤细胞的数量、注射位点、移植的人T细胞的数量、要施用的双特异性抗体构建体的量以及时间线,同时仍然获得有意义且可再现的结果。优选地,肿瘤生长抑制T/C[%]为≤70或≤60、更优选≤50或≤40、甚至更优选≤30或≤20并且最优选≤10或≤5或甚至≤2.5。

[0285] 在本发明的抗体构建体的优选的实施例中,抗体构建体是单链抗体构建体。

[0286] 同样在优选的实施例中,本发明的抗体构建体在HLE结构域中按氨基至羧基顺序包含:

[0287] 铰链-CH2-CH3-接头-铰链-CH2-CH3。

[0288] 另外,在本发明的一个实施例中,第三结构域的一个或优选每个(两个)多肽单体的CH2结构域包含结构域内半胱氨酸二硫桥。如本领域所知,术语“半胱氨酸二硫桥”是指具有通式结构R-S-S-R的官能团。该键联也称为SS键或二硫桥,并且通过半胱氨酸残基的两个硫醇基团的偶联来衍生。对于本发明的抗体构建体特别优选的是,将成熟抗体构建体中形成半胱氨酸二硫桥的半胱氨酸引入到对应于309和321(Kabat编号)的CH2结构域的氨基酸序列中。

[0289] 在本发明的一个实施例中,去除CH2结构域的Kabat位置314中的糖基化位点。优选的是,通过N314X取代实现糖基化位点的去除,其中X是除Q之外的任何氨基酸。所述取代优选为N314G取代。在更优选的实施例中,所述CH2结构域另外包含以下取代(根据Kabat的位置):V321C和R309C(这些取代在Kabat位置309和321处引入结构域内半胱氨酸二硫桥)。

[0290] 假定与例如本领域中已知的双特异性异源Fc抗体构建体相比(图1b)本发明的抗体构建体的优选特征可以尤其涉及在CH2结构域中引入上述修饰。因此,对于本发明的构建体优选的是,本发明的抗体构建体的第三结构域中的CH2结构域在Kabat位置309和321处包含结构域内半胱氨酸二硫桥和/或Kabat位置314处的糖基化位点通过上述N314X取代去除,优选地通过N314G取代去除。

[0291] 在本发明的另一个优选的实施例中,本发明的抗体构建体的第三结构域中的CH2结构域在Kabat位置309和321处包含结构域内半胱氨酸二硫桥并且Kabat位置314处的糖基化位点通过N314G取代去除。

[0292] 在一个实施例中,本发明提供了抗体构建体,其中:

[0293] (i)该第一结构域包含两个抗体可变结构域,并且该第二结构域包含两个抗体可变结构域;

[0294] (ii)该第一结构域包含一个抗体可变结构域,并且该第二结构域包含两个抗体可

变结构域;

[0295] (iii)该第一结构域包含两个抗体可变结构域,并且该第二结构域包含一个抗体可变结构域;或

[0296] (iv)该第一结构域包含一个抗体可变结构域,并且该第二结构域包含一个抗体可变结构域。

[0297] 因此,第一结构域和第二结构域可以是各自包含两个抗体可变结构域(如VH和VL结构域)的结合结构域。此类包含两个抗体可变结构域的结合结构域的实例在上文进行了描述并且包括例如上文所述的Fv片段、scFv片段或Fab片段。可替代地,这些结合结构域中的一个或两个可以仅包含单一可变结构域。这种单结构域结合结构域的实例在上文进行了描述并且包括例如纳米抗体或仅包含一个可变结构域的单一可变结构域抗体,该一个可变结构域可以是独立于其他V区或结构域特异性结合抗原或表位的VHH、VH或VL。

[0298] 在本发明的抗体构建体的优选的实施例中,第一结构域和第二结构域经由肽接头与第三结构域融合。优选的肽接头已在上文描述并且特征在于氨基酸序列Gly-Gly-Gly-Gly-Ser,即Gly_4Ser,或其聚合物,即$(Gly_4Ser)x$,其中x为1或更大的整数(例如2或3)。

[0299] 在本发明的一个方面中,由第一结构域结合的靶细胞表面抗原是肿瘤抗原、对免疫障碍特异的抗原或病毒抗原。如本文使用的术语"肿瘤抗原"可以理解为呈递在肿瘤细胞上的那些抗原。这些抗原可以呈递在具有细胞外部分的细胞表面上,该细胞外部分通常与分子的跨膜和细胞质部分组合。这些抗原有时只能由肿瘤细胞呈递,而从来不能由正常细胞呈递。与正常细胞相比,肿瘤抗原可以只在肿瘤细胞上表达或者可以代表肿瘤特异性突变。在这种情况下,它们被称为肿瘤特异性抗原。更常见的是由肿瘤细胞和正常细胞呈递的抗原,并且它们被称为肿瘤相关抗原。与正常细胞相比,这些肿瘤相关抗原可以过表达,或者由于肿瘤组织的结构与正常组织相比较不紧密,因此是肿瘤细胞中的抗体结合可接近的。本文使用的肿瘤抗原的非限制性实例是CD19、CD33、EGFRvIII、MSLN、CDH19、FLT3、DLL3、CDH3、BCMA和PSMA。

[0300] 可以设想,在本发明的抗体构建体中,肿瘤抗原选自由以下组成的组:CD19、CD33、EGFRvIII、MSLN、CDH19、FLT3、DLL3、CDH3、BCMA和PSMA。

[0301] 在本发明的上下文中,针对CD19的双特异性抗体构建体的实例是具有如SEQ ID NO:1至6中所描绘的CDR的抗体构建体。CD3结合结构域的特征在于如SEQ ID NO 9至14中所描绘的CDR。在本发明的上下文中,特定实例是CD19xCD3双特异性抗体构建体。在本发明的上下文中,针对CD19的双特异性HLE抗体构建体的实例是具有如SEQ ID NO:102至104和106至108中所描绘的CDR的抗体构建体。在本发明的上下文中,特定实例是BCMAxCD3双特异性抗体构建体。在本发明的上下文中,针对CD33的双特异性抗体构建体的实例是具有如SEQ ID NO:29至31和34至36中所描绘的CDR的抗体构建体。在本发明的上下文中,特定实例是CD33xCD3双特异性抗体构建体。在本发明的上下文中,针对CD33的双特异性HLE抗体构建体的实例是具有如SEQ ID NO:29至31和34至36中所描绘的CDR的抗体构建体。在本发明的上下文中,特定实例是包含HLE的第三结构域的CD33xCD3双特异性抗体构建体。在本发明的上下文中,针对EGFRvIII的双特异性抗体构建体的实例是具有如SEQ ID NO:42至47中所描绘的CDR的抗体构建体。在本发明的上下文中,特定实例是EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体。

[0302] 在一方面，本发明的抗体构建体的特征在于具有选自由以下组成的组的氨基酸序列：

[0303]

(a) SEQ ID NO: 37 至 41；	CD33
(b) SEQ ID NO: 51 和 52；	EGFRvIII
(c) SEQ ID NO: 62、63 和 64；	MSLN
(d) SEQ ID NO: 74 至 82	CDH19
(e) SEQ ID NO: 103 和 103	DLL3
(f) SEQ ID NO: 17、113 和 114	CD19
(g) SEQ ID NO: 92 和 93	FLT3
(h) SEQ ID NO: 124 和 125	CDH3
(i) SEQ ID NO: 135 和 136	BCMA
(j) SEQ ID NO: 146 至 151、161 至 168 和 176 至 181	PSMA

[0304]

[0305] 任何前述双特异性抗体构建体可以或可以不具有第三结构域，该第三结构域是半衰期延长结构域，其优选是scFc结构域或异质Fc结构域或白蛋白结合结构域。

[0306] 本发明进一步提供了编码本发明的抗体构建体的多核苷酸/核酸分子。多核苷酸是由共价键合在链中的13个或更多个核苷酸单体构成的生物聚合物。DNA(如cDNA)和RNA(如mRNA)是具有不同生物功能的多核苷酸的实例。核苷酸是充当核酸分子如DNA或RNA的单体或亚单位的有机分子。核酸分子或多核苷酸可以为双链和单链的、线性的和圆形的。它优选包含在载体中，该载体优选包含在宿主细胞中。所述宿主细胞例如在用本发明的载体或多核苷酸转化或转染后能够表达抗体构建体。出于此目的，多核苷酸或核酸分子与控制序列可操作地连接。

[0307] 遗传密码是将遗传物质(核酸)内编码的信息翻译成蛋白质的一组规则。活细胞中的生物解码是通过以由mRNA指定的顺序连接氨基酸的核糖体，使用tRNA分子携带氨基酸并一次读出mRNA三个核苷酸来完成。该密码定义了这些核苷酸三联体的序列(称为密码子)如何指定在蛋白质合成期间接下来将添加哪种氨基酸。除了一些例外，核酸序列中的三核苷酸密码子指定单一氨基酸。因为绝大多数基因都使用完全相同的密码进行编码，所以该特定密码通常称为规范或标准遗传密码。虽然遗传密码决定给定编码区的蛋白质序列，但其他基因组区可能会影响这些蛋白质产生的时间和地点。

[0308] 此外，本发明提供了载体，该载体包含本发明的多核苷酸/核酸分子。载体是用作将(外来)遗传物质转移到细胞中的媒介物的核酸分子。术语“载体”涵盖但不限于质粒、病毒、粘粒和人造染色体。一般来讲，工程化载体包含复制起点、多克隆位点和选择性标志物。载体本身通常是核苷酸序列，该核苷酸序列通常是包含插入物(转基因)和充当载体的“骨架”的更大序列的DNA序列。除转基因插入物和骨架外，现代载体可涵盖其他特征：启动子、遗传标记、抗生素抗性、报告基因、靶向序列、蛋白质纯化标签。称为表达载体(表达构建体)的载体尤其用于在靶细胞中表达转基因，并且通常具有控制序列。

[0309] 术语“控制序列”是指在特定宿主生物体中表达可操作连接的编码序列所必需的

DNA序列。例如，适用于原核生物的控制序列包括启动子、任选的操纵子序列和核糖体结合侧。已知真核细胞利用启动子、聚腺苷酸化信号和增强子。

[0310] 当核酸与另一核酸序列处于功能关系时，该核酸是“可操作地连接的”。例如，如果将前序列或分泌前导序列的DNA表达为参与多肽分泌的前蛋白，则该前序列或分泌前导序列的DNA可操作地连接至该多肽的DNA；如果启动子或增强子影响编码序列的转录，则该启动子或增强子可操作地连接至该序列；或者如果核糖体结合侧被定位成使得有助于翻译，则该核糖体结合侧可操作地连接至编码序列。一般来讲，“可操作地连接”意指所连接的DNA序列是连续的，并且在分泌性前导序列的情形下是连续的并处于阅读相(reading phase)中。然而，增强子不必是连续的。连接通过在方便的限制性位点进行接合来完成。如果不存在此类位点，则根据常规实践使用合成的寡核苷酸衔接子或接头。

[0311] “转染”是有意将核酸分子或多核苷酸(包括载体)引入到靶细胞中的过程。该术语主要用于真核细胞中的非病毒方法。转导通常用于描述病毒介导的核酸分子或多核苷酸的转移。动物细胞的转染典型地涉及打开细胞膜中的瞬时孔或“洞”，以允许摄取物质。转染可以使用磷酸钙，通过电穿孔，通过细胞挤压或通过将阳离子脂质与物质混合以产生脂质体(这些脂质体与细胞膜融合并将其货物存放在内部)来进行。

[0312] 术语“转化”用于描述核酸分子或多核苷酸(包括载体)向细菌中，以及向非动物真核细胞(包括植物细胞)中的非病毒转移。因此，转化是细菌或非动物真核细胞的基因改变，该基因改变是因通过一个或多个细胞膜从其周围直接摄取并随后掺入外源遗传物质(核酸分子)而产生。转化可以通过人为手段来实现。为了使转化发生，细胞或细菌必须处于感受态，这可能作为对如饥饿和细胞密度的环境条件的时间限制应答而发生。

[0313] 此外，本发明提供了宿主细胞，该宿主细胞用本发明的多核苷酸/核酸分子或载体转化或转染。如本文使用的，术语“宿主细胞”或“受体细胞”旨在包括可以是或已经是载体、外源性核酸分子和编码本发明抗体构建体的多核苷酸的受体和/或抗体构建体本身的受体的任何单个细胞或细胞培养物。通过转化、转染等方式将相应物质引入到细胞中。术语“宿主细胞”还旨在包括单细胞的后代或潜在后代。因为某些修饰可能由于天然的、意外的或有意的突变或由于环境影响而在后代中发生，所以这种后代事实上可能与亲本细胞不完全相同(在形态或基因组或全部DNA补体中)，但仍包括在本文所用术语的范围内。适合的宿主细胞包括原核细胞或真核细胞，并且还包括但不限于细菌、酵母细胞、真菌细胞、植物细胞和动物细胞，如昆虫细胞和哺乳动物细胞，例如鼠、大鼠、猕猴或人。

[0314] 本发明的抗体构建体可以在细菌中产生。表达后，将本发明的抗体构建体从大肠杆菌细胞糊中以可溶性级分分离，并且可以通过例如亲和色谱法和/或尺寸排除来纯化。最终纯化可以类似于用于纯化例如在CHO细胞中表达的抗体的方法进行。

[0315] 除了原核生物之外，真核微生物(如丝状真菌或酵母)是本发明的抗体构建体的适合的克隆或表达宿主。酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)或普通面包酵母是低等真核宿主微生物中最常用的。然而，许多其他属、物种和菌株通常可获得并且可用于本文中，如粟酒裂殖酵母(Schizosaccharomyces pombe)、克鲁维酵母属(Kluyveromyce)宿主，如乳酸克鲁维酵母(K.lactis)、脆壁克鲁维酵母(K.fragilis)(ATCC 12424)、保加利亚克鲁维酵母(K.bulgaricus)(ATCC 16045)、威克克鲁维酵母(K.wickeramii)(ATCC 24178)、瓦尔提鲁维酵母(K.waltii)(ATCC 56500)、果蝇克鲁维酵母(K.drosophilarum)(ATCC 36906)、耐

热克鲁维酵母(K.thermotolerans)和马克斯克鲁维酵母(K.marxianus);耶氏酵母属(EP 402 226);毕赤酵母(EP 183 070);假丝酵母属;瑞氏木霉(EP 244 234);粗糙脉孢菌;许旺酵母属(Schwanniomyces),如西方许旺酵母(Schwanniomyces occidentalis);和丝状真菌,如脉孢菌属(Neurospora)、青霉属(Penicillium)、弯颈霉属(Tolypocladium)和曲霉属(Aspergillus)宿主,如构巢曲霉(A.nidulans)和黑曲霉(A.niger)。

[0316] 用于表达本发明的糖基化抗体构建体的适合的宿主细胞衍生自多细胞生物体。无脊椎动物细胞的实例包括植物细胞和昆虫细胞。已经鉴定了来自如草地贪夜蛾(Spodoptera frugiperda)(毛虫)、埃及伊蚊(Aedes aegypti)(蚊子)、白纹伊蚊(Aedes albopictus)(蚊子)、黑腹果蝇(Drosophila melanogaster)(果蝇)和家蚕(Bombyx mori)的宿主的许多杆状病毒株和变体以及相应的许可性昆虫宿主细胞。用于转染的多种病毒株是公众可获得的,例如苜蓿银纹夜蛾(Autographa californica)NPV的L-1变体和家蚕NPV的Bm-5株,并且根据本发明,此类病毒可以用作本文的病毒,特别是用于转染草地贪夜蛾细胞。

[0317] 棉花、玉米、马铃薯、大豆、矮牵牛、番茄、拟南芥和烟草的植物细胞培养物也可以用作宿主。可用于在植物细胞培养物中产生蛋白质的克隆和表达载体是本领域技术人员已知的。参见,例如Hiatt等人,Nature[自然](1989)342:76-78;Owen等人(1992)Bio/Technology[生物/技术]10:790-794;Artsaenko等人(1995)The Plant J[植物杂志]8:745-750和Fecker等人(1996)Plant Mol Biol[植物分子生物学]32:979-986。

[0318] 然而,对脊椎动物细胞的兴趣最大,并且脊椎动物细胞在培养物(组织培养物)中的繁殖已成为常规程序。有用的哺乳动物宿主细胞系的实例是由SV40(COS-7,ATCC CRL 1651)转化的猴肾CV1系;人胚胎肾系(293细胞或亚克隆用于在悬浮培养中生长的293细胞,Graham等人,J.Gen Virol.[普通病毒学杂志]36:59(1977));幼仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞/-DHFR(CHO,Urlaub等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊]77:4216(1980));小鼠塞托利细胞(TM4,Mather,Biol.Reprod.[生殖生物学]23:243-251(1980));猴肾细胞(CVI ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL1587);人宫颈癌细胞(HELA,ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL 34);布法罗大鼠肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138,ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2,14138065);小鼠乳房肿瘤(MMT 060562,ATCC CCL5 1);TRI细胞(Mather等人,Annals N.Y Acad.Sci.[纽约科学院年刊](1982)383:44-68);MRC 5细胞;FS4细胞;和人肝癌细胞系(Hep G2)。

[0319] 在另一实施例中,本发明提供了用于产生本发明的抗体构建体的方法,所述方法包括在允许表达本发明的抗体构建体的条件下培养本发明的宿主细胞并且从该培养物中回收所产生的抗体构建体。

[0320] 如本文使用的,术语“培养”是指细胞在适合的条件下在培养基中的体外维持、分化、生长、增殖和/或繁殖。术语“表达”包括涉及产生本发明的抗体构建体的任何步骤,包括但不限于转录、转录后修饰、翻译、翻译后修饰和分泌。

[0321] 当使用重组技术时,抗体构建体可以在周质空间中细胞内产生,或直接分泌到培养基中。如果抗体构建体是在细胞内产生,则作为第一步,例如通过离心或超滤去除宿主细胞或溶解片段的微粒状碎片。Carter等人,Bio/Technology[生物/技术]10:163-167(1992)

描述了用于分离分泌到大肠杆菌周质空间的抗体的程序。简而言之，在约30min内，在乙酸钠(pH 3.5)、EDTA和苯甲基磺酰氟(PMSF)存在下使细胞糊解冻。可以通过离心去除细胞碎片。在将抗体分泌到培养基中的情况下，通常首先使用可商购的蛋白质浓缩滤器，例如Amicon或Millipore Pellicon超滤单元对来自此类表达系统的上清液进行浓缩。任何前述步骤中可以包括蛋白酶抑制剂(如PMSF)以抑制蛋白水解，并且可以包括抗生素以防止外来污染物的生长。

[0322] 可以使用例如羟基磷灰石色谱法、凝胶电泳、透析和亲和色谱法回收或纯化从宿主细胞制备的本发明的抗体构建体。取决于要回收的抗体，也可使用其他用于蛋白质纯化的技术，如在离子交换柱上分级分离、乙醇沉淀、反相HPLC、在二氧化硅上进行的色谱法、在肝素SEPHAROSE™上进行的色谱法、在阴离子或阳离子交换树脂(如聚天冬氨酸柱)上进行的色谱法、色谱聚焦、SDS-PAGE、以及硫酸铵沉淀。当本发明的抗体构建体包含CH3结构域时，Bakerbond ABX树脂(美国贝克，菲利普斯堡，新泽西州(J.T.Baker,Phillipsburg,NJ))可用于纯化。

[0323] 亲和色谱法是优选的纯化技术。亲和配体所连接的基质最常为琼脂糖，但其他基质也是可用的。在机械上稳定的基质如可控多孔玻璃或聚(苯乙烯二乙烯基)苯允许比用琼脂糖可以实现的更快的流速和更短的处理时间。

[0324] 此外，本发明提供了药物组合物，该药物组合物包含本发明的抗体构建体或根据本发明的方法产生的抗体构建体。对于本发明的药物组合物优选的是，抗体构建体的均质性为≥80％，更优选≥81％、≥82％、≥83％、≥84％或≥85％，进一步优选≥86％、≥87％、≥88％、≥89％或≥90％，还进一步优选≥91％、≥92％、≥93％、≥94％或≥95％，并且最优选≥96％、≥97％、≥98％或≥99％。

[0325] 如本文使用的，术语“药物组合物”涉及适合施用给患者，优选人患者的组合物。本发明的特别优选的药物组合物包含优选治疗有效量的一种或多种本发明的抗体构建体。优选地，药物组合物进一步包含一种或多种(药学上有效的)载剂、稳定剂、赋形剂、稀释剂、增溶剂、表面活性剂、乳化剂、防腐剂和/或佐剂的适合配制品。组合物的可接受成分优选在所使用的剂量和浓度下是对接受者无毒性的。本发明的药物组合物包括但不限于液体、冷冻和冻干组合物。

[0326] 本发明组合物可以包含药学上可接受的载剂。一般来讲，如本文使用的，“药学上可接受的载剂”意指与药物施用，特别是肠胃外施用相容的任何和所有的水性和非水性溶液、无菌溶液、溶剂、缓冲剂(例如磷酸盐缓冲盐水(PBS)溶液)、水、悬浮液、乳液(如油/水乳液)、各物种型的润湿剂、脂质体、分散介质和包衣。此类介质和药剂在药物组合物中的使用在本领域中是熟知的，并且包含此类载剂的组合物可以通过熟知的常规方法配制。

[0327] 某些实施例提供了药物组合物，这些药物组合物包含本发明的抗体构建体和另外一种或多种赋形剂，如在本部分和本文其他地方说明性描述的那些赋形剂。在这方面，赋形剂在本发明中可用于多种目的，如调整配制品的物理、化学或生物特性，如调整粘度和/或本发明的方法以改善有效性和/或稳定此类配制品和方法，以对抗由于例如在制造、运输、储存、使用前准备、施用和之后过程中发生的压力而导致的降解和腐坏。

[0328] 在某些实施例中，药物组合物可以含有用于改变、保持或保存组合物的以下方面的目的的配制物质：例如pH、渗透压、粘度、透明度、颜色、等渗性、气味、无菌性、稳定性、溶

解或释放速率、吸附性或渗透性(参见REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES[雷明登氏药学全书],第18"版,(A.R.Genrmo编辑),1990,Mack Publishing Company[马克出版公司])。在此类实施例中,适合的配制物质可以包括但不限于:

[0329] • 氨基酸,例如甘氨酸、丙氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、苏氨酸、脯氨酸、2-苯丙氨酸,包括带电荷的氨基酸,优选赖氨酸、乙酸赖氨酸、精氨酸、谷氨酸盐和/或组氨酸

[0330] • 抗微生物剂,如抗细菌剂和抗真菌剂

[0331] • 抗氧化剂,如抗坏血酸、甲硫氨酸、亚硫酸钠或亚硫酸氢钠;

[0332] • 缓冲剂、缓冲系统和缓冲剂,用于将组合物保持在约5.5至7.5、优选地6.5至7下;缓冲剂的实例是硼酸盐、柠檬酸盐、磷酸盐或其他有机酸、琥珀酸盐、磷酸盐、组氨酸和乙酸盐;

[0333] • 非水性溶剂,如丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油和可注射用有机酯如油酸乙酯;

[0334] • 水性载剂包括水、醇/水性溶液、乳剂或悬浮液,包括盐水和缓冲的介质;

[0335] • 生物可降解聚合物,例如聚酯;

[0336] • 增积剂,例如甘露糖醇或甘氨酸;

[0337] • 螯合剂,例如乙二胺四乙酸(EDTA);

[0338] • 等渗剂和吸收延迟剂;

[0339] • 络合剂,例如咖啡因、聚乙烯吡咯烷酮、β-环糊精或羟丙基-β-环糊精;

[0340] • 填充剂;

[0341] • 单糖;二糖;和其他碳水化合物(如葡萄糖、甘露糖或糊精);碳水化合物可以是非还原糖,优选海藻糖、蔗糖、八硫酸盐、山梨醇或木糖醇;

[0342] • (低分子量)蛋白质、多肽或蛋白质载剂,例如人或牛血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白,优选是人来源的;

[0343] • 着色剂和调味剂;

[0344] • 含硫还原剂,如谷胱甘肽、硫辛酸、巯基乙酸钠、硫代甘油、[α]-一硫代甘油和硫代硫酸钠

[0345] • 稀释剂;

[0346] • 乳化剂;

[0347] • 亲水聚合物,例如聚乙烯吡咯烷酮

[0348] • 成盐抗衡离子(如钠);

[0349] • 防腐剂,例如抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂、惰性气体等;实例是:苯扎氯铵、苯甲酸、水杨酸、硫柳汞、苯乙醇、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、氯己定、山梨酸或过氧化氢;

[0350] • 金属复合物,如Zn-蛋白质复合物;

[0351] • 溶剂和共溶剂(如甘油、丙二醇或聚乙二醇);

[0352] • 糖和糖醇,例如海藻糖、蔗糖、八硫酸盐、甘露醇、山梨醇或木糖醇水苏糖、甘露糖、山梨糖、木糖、核糖、肌糖(myoinisitose)、半乳糖、乳糖醇、核糖醇、肌肉肌醇(myoinisitol)、半乳糖醇、甘油、环多醇(例如肌醇)、聚乙二醇;和多元糖醇;

[0353] • 悬浮剂;

[0354] • 表面活性剂或润湿剂，如普朗尼克(pluronics)、PEG、脱水山梨聚糖、聚山梨醇酯(如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯)、氚核、氨丁三醇、卵磷脂、胆固醇、泰洛沙星(tyloxapal)；表面活性剂可以是洗涤剂，优选分子量>1.2KD，和/或聚醚，优选分子量>3KD；优选洗涤剂的非限制性实例是吐温20、吐温40、吐温60、吐温80和吐温85；优选聚醚的非限制性实例是PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000和PEG 5000；

[0355] • 稳定性增强剂，例如蔗糖或山梨糖醇；

[0356] • 张力增强剂，例如碱金属卤化物，优选地氯化钠或氯化钾；甘露糖醇山梨糖醇；

[0357] • 肠胃外递送媒介物，包括氯化钠溶液、林格氏右旋糖、右旋糖和氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发性油；

[0358] • 静脉内递送媒介物，包括流体和营养补充物、电解质补充物(如基于林格氏右旋糖的那些)。

[0359] 对于本领域技术人员来说明显的是，例如，药物组合物的不同成分(例如，上文列出的那些)可以具有不同的效应，并且氨基酸可以充当缓冲剂、稳定剂和/或抗氧化剂；甘露醇可以充当膨胀剂和/或张力增强剂；氯化钠可以充当递送媒介物和/或张力增强剂；等。

[0360] 设想除了本文定义的本发明的多肽之外，本发明的组合物可以包含另外的生物活性剂，这取决于组合物的预期用途。此类药剂可以是作用于胃肠系统的药物、充当细胞抑制剂的药物、预防高尿酸血症的药物、抑制免疫反应的药物(例如皮质类固醇)、调节炎症应答的药物、作用于循环系统的药物和/或本领域中已知的药剂如细胞因子。还设想将本发明的抗体构建体应用于共疗法中，即与另一种抗癌药物组合。

[0361] 在某些实施例中，最佳药物组合物将由本领域技术人员根据例如预期施用途径、递送形式和所希望剂量来确定。参见，例如REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES[雷明登氏药学全书]，同上。在某些实施例中，此类组合物可以影响本发明的抗体构建体的物理状态、稳定性、体内释放速率和体内清除速率。在某些实施例中，药物组合物中的主要媒介物或载剂本质上可以是水性的或非水性的。例如，适合的媒介物或载剂可以是注射用水、生理盐水溶液或人造脑脊液，可能补充有用于肠胃外施用的组合物中常见的其他物质。中性缓冲盐水或与血清白蛋白混合的盐水是另外的示例性媒介物。在某些实施例中，本发明抗体构建体组合物可以通过将具有所希望纯度的选定成分与任选配制品(REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES[雷明登氏药学全书]，同上)以冻干饼或水性溶液的形式混合来制备用于储存。此外，在某些实施例中，可以使用适当的赋形剂(如蔗糖)将本发明的抗体构建体配制成冻干物。

[0362] 当考虑肠胃外施用时，用于本发明的治疗组合物能以无热原的肠胃外可接受的水性溶液的形式提供，该水性溶液在药学上可接受的媒介物中包含本发明的所希望抗体构建体。用于肠胃外注射的特别适合的媒介物是无菌蒸馏水，其中将本发明的抗体构建体配制成适当保存的无菌等渗溶液。在某些实施例中，该制备可以涉及用可以提供产物(该产物可以经由储库注射来递送)的受控或持续释放的药剂(如可注射微球体、生物可侵蚀颗粒、聚合物化合物(如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂质体)配制所希望分子。在某些实施例中，也可以使用透明质酸，该透明质酸具有促进循环持续时间的作用。在某些实施例中，可植入药物递送装置可用于引入所希望的抗体构建体。

[0363] 其他药物组合物对于本领域技术人员来说是显而易见的，包括在持续或控制递

送/释放配制品中涉及本发明抗体构建体的配制品。用于配制各种其他持续或控制递送方式的技术(如脂质体载剂、生物可侵蚀微粒或多孔珠粒和储库注射)也是本领域技术人员已知的。参见,例如国际专利申请号PCT/US93/00829,其描述了用于递送药物组合物的多孔聚合物微粒的控制释放。持续释放制剂可以包括呈成型制品(例如膜或微胶囊)形式的半透性聚合物基质。持续释放基质可以包括聚酯、水凝胶、聚丙交酯(如美国专利号3,773,919和欧洲专利申请公开号EP 058481中所披露)、L-谷氨酸和γ-L-谷氨酸乙酯的共聚物(Sidman等人,1983,Biopolymers[生物聚合物]2:547-556)、聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)(Langer等人,1981,J.Biomed.Mater.Res.[生物医学材料研究杂志]15:167-277和Langer,1982,Chem.Tech.[化学技术]12:98-105)、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人,1981,同上)或聚-D(-)-3-羟基丁酸(欧洲专利申请公开号EP133,988)。持续释放组合物还可以包括可以通过本领域中已知的若干种方法中的任一种制备的脂质体。参见,例如Eppstein等人,1985,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]82:3688-3692;欧洲专利申请公开号EP 036,676;EP 088,046和EP 143,949。

[0364] 也可以将抗体构建体包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中,包埋在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或包埋在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明登氏药学全书],第16版,Oslo,A.编辑,(1980)中。

[0365] 用于体内施用的药物组合物典型地以无菌制剂提供。灭菌可以通过无菌滤膜过滤完成。当将组合物冻干时,可以在冻干和重配之前或之后使用该方法进行灭菌。用于肠胃外施用的组合物能以冻干形式或于溶液中储存。通常将肠胃外组合物置入具有无菌进入口的容器(例如具有可由皮下注射针刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)中。

[0366] 本发明的另一方面包括自缓冲的本发明抗体构建体配制品,这些配制品可用作药物组合物,如国际专利申请WO 06138181A2(PCT/US2006/022599)中所述。在这方面有用的蛋白质稳定和配制材料和方法,可以获得各种各样的说明,如Arakawa等人,"Solvent interactions in pharmaceutical formulations[药物配制品中的溶剂相互作用],"Pharm Res.[药物研究]8(3):285-91(1991);Kendrick等人,"Physical stabilization ofproteins in aqueous solution[水性溶液中蛋白质的物理稳定化]"在RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS:THEORY AND PRACTICE[稳定蛋白质配制品的合理设计:理论与实践]中,Carpenter和Manning编辑Pharmaceutical Biotechnology[药物生物技术]13:61-84(2002)和Randolph等人,"Surfactant-protein interactions[表面活性剂-蛋白质相互作用]",Pharm Biotechnol.[药物生物技术]13:159-75(2002),特别参见关于根据本发明的自缓冲蛋白质配制品的相关赋形剂和方法的相关部分,尤其是关于用于兽医和/或人医学用途的蛋白质药物产品和方法。

[0367] 根据本发明的某些实施例,可以使用盐以例如调整配制品的离子强度和/或等渗性和/或改善根据本发明的组合物的蛋白质或其他成分的溶解度和/或物理稳定性。众所周知,离子可以通过与蛋白质表面上的带电荷的残基结合并通过屏蔽蛋白质中的带电荷基团和极性基团并降低其静电相互作用、吸引和排斥相互作用的强度来稳定蛋白质的天然状态。离子还可以通过特别地与蛋白质的变性肽键(--CONH)结合来稳定蛋白质的变性状态。

此外,与蛋白质中的带电荷基团和极性基团的离子相互作用还可以减少分子间静电相互作用,并且从而防止或减少蛋白质聚集和不溶解。

[0368] 离子种类对蛋白质的作用显著不同。已经开发了多种对可用于配制根据本发明的药物组合物的离子及其对蛋白质的作用的分类评级。一个实例是Hofmeister系列,该系列通过对溶液中蛋白质的构象稳定性的作用来对离子和极性非离子溶质进行评级。稳定溶质称为“亲液的”。不稳定溶质称为“离液的”。通常使用高浓度的亲液剂(例如,>1摩尔硫酸铵)以从溶液中沉淀蛋白质(“盐析”)。通常使用离液剂来使蛋白质变性和/或溶解(“盐溶”)。离子对“盐溶”和“盐析”的相对有效性限定了其在Hofmeister系列中的位置。

[0369] 根据本发明的各种实施例,游离氨基酸可在本发明抗体构建体配制品中作为膨胀剂、稳定剂和抗氧化剂以及其他标准用途。赖氨酸、脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸可用于稳定配制品中的蛋白质。甘氨酸可用于冻干以确保正确的饼结构和特性。在液体配制品和冻干配制品两者中,精氨酸均可用于抑制蛋白质聚集。蛋氨酸可用作抗氧化剂。

[0370] 多元醇包括糖,例如甘露醇、蔗糖和山梨醇以及多元醇,如例如甘油和丙二醇,并且出于本文论述的目的,包括聚乙二醇(PEG)和相关物质。多元醇是亲液的。它们在液体配制品和冻干配制品两者中是有用的稳定剂,以保护蛋白质免受物理和化学降解过程的影响。多元醇也可用于调整配制品的张力。在本发明的选择实施例中有用的多元醇是甘露醇,甘露醇通常用于确保在冻干配制品中饼的结构稳定性。它确保了饼的结构稳定性。它通常与冻干保护剂(例如蔗糖)一起使用。山梨醇和蔗糖是用于调整张力且作为稳定剂以防止在运输过程中的冷冻-解冻应力或防止在制造过程中制备团块的优选药剂。还原糖(含有游离醛或酮基团),如葡萄糖和乳糖,可以使表面赖氨酸和精氨酸残基糖基化。因此,它们通常不是根据本发明使用的优选多元醇。此外,在这方面,形成此类反应性物质的糖也不是本发明优选的多元醇,该糖如蔗糖,蔗糖在酸性条件下水解为果糖和葡萄糖并因此产生糖基化。PEG可用于稳定蛋白质并用作冷冻保护剂,并且在这方面可以用于本发明。

[0371] 本发明抗体构建体配制品的实施例进一步包含表面活性剂。蛋白质分子可易于吸附在表面上,并且变性以及随后在空气-液体、固体-液体和液体-液体界面处聚集。这些效应通常与蛋白质浓度成反比。这些有害的相互作用通常与蛋白质浓度成反比,并且典型地因物理振荡(如在产品运输和处理过程中产生的物理振荡)而加剧。常规使用表面活性剂来防止、最小化或减少表面吸附。在这方面,本发明中有用的表面活性剂包括聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、脱水山梨醇聚乙氧基化物的其他脂肪酸酯、以及泊洛沙姆188。表面活性剂也常用于控制蛋白质构象稳定性。在这方面使用表面活性剂是蛋白质特异性的,因为任何给定的表面活性剂典型地会稳定一些蛋白质并使其他蛋白质不稳定。

[0372] 聚山梨醇酯易于氧化降解,并且通常在供应时含有足够量的过氧化物以引起蛋白质残基侧链,尤其是甲硫氨酸的氧化。因此,应谨慎使用聚山梨醇酯,并且在使用时应以其最低有效浓度使用。在这方面,聚山梨醇酯例示了赋形剂应以其最低有效浓度使用的一般规则。

[0373] 本发明抗体构建体配制品的实施例进一步包含一种或多种抗氧化剂。通过保持适当水平的环境氧气和温度并避免暴露于光下,可以在某种程度上防止药物配制品中蛋白质的有害氧化。也可以使用抗氧化赋形剂来防止蛋白质的氧化降解。在这方面,有用的抗氧化剂是还原剂、氧/自由基清除剂和螯合剂。用于根据本发明的治疗性蛋白质配制品中的抗氧

化剂优选是水溶性的并且在整个产品的储存寿命内保持其活性。在这方面,EDTA是根据本发明的优选的抗氧化剂。抗氧化剂可以破坏蛋白质。例如,还原剂,如特别是谷胱甘肽,可以破坏分子内二硫键。因此,选择用于本发明的抗氧化剂尤其用于消除或足够降低其本身破坏配制品中的蛋白质的可能性。

[0374] 根据本发明的配制品可以包含金属离子,这些金属离子是蛋白质辅助因子并且是形成蛋白质配位复合物所必需的,如形成某些胰岛素悬浮液所必需的锌。金属离子也可以抑制降解蛋白质的一些过程。然而,金属离子也催化降解蛋白质的物理和化学过程。镁离子(10-120mM)可用于抑制天冬氨酸异构化为异天冬氨酸。Ca^{+2}离子(高达100mM)可以增加人脱氧核糖核酸酶的稳定性。然而,Mg^{+2}、Mn^{+2}和Zn^{+2}可以使rhDNase去稳定。类似地,Ca^{+2}和Sr^{+2}可以稳定因子VIII,它可以因Mg^{+2}、Mn^{+2}和Zn^{+2}、Cu^{+2}和Fe^{+2}去稳定,并且其聚集可以通过Al^{+3}离子增加。

[0375] 本文披露的抗体构建体也可以配制为免疫脂质体。“脂质体”是由各物种型的脂质、磷脂和/或表面活性剂构成的小囊泡,该小囊泡可用于将药物递送至哺乳动物。脂质体的组分通常以双层形式排列,类似于生物膜的脂质排列。含有抗体构建体的脂质体通过本领域已知的方法制备,如Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],82:3688(1985);Hwang等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],77:4030(1980);美国专利号4,485,045和4,544,545;以及WO 97/38731中所述。具有延长的循环时间的脂质体披露于美国专利号5,013,556中。特别有用的脂质体可以通过反相蒸发方法用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生化磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物产生。使脂质体挤出通过具有限定孔径的滤器以产生具有所希望的直径的脂质体。本发明的抗体构建体的Fab’片段可以与脂质体经由二硫键交换反应缀合,如Martin等人J.Biol.Chem.[生物化学杂志]257:286-288(1982)中所述。化学治疗剂任选地包含在脂质体内。参见Gabizon等人J.National Cancer Inst.[国家癌症研究所杂志]81(19)1484(1989)。

[0376] 一旦配制了药物组合物,可以将它作为溶液、悬浮液、凝胶、乳液、固体、晶体或作为脱水或冻干粉末储存在无菌小瓶中。此类配制品能以即用形式或以在施用前重构的形式(例如冻干形式)储存。

[0377] 本文定义的药物组合物的生物活性可以例如通过细胞毒性测定来确定,如以下实例、WO 99/54440或由Schlereth等人(Cancer Immunol.Immunother.[癌症免疫学免疫治疗]20(2005),1-12)所述。如本文使用的,“功效”或“体内功效”是指使用例如标准化NCI应答标准对本发明的药物组合物治疗的应答。使用本发明的药物组合物的疗法的成功或体内功效是指组合物对于其预期用途的有效性,即组合物引起其所希望效应,即耗尽病理细胞(例如肿瘤细胞)的能力。体内功效可以通过已建立的相应疾病实体的标准方法进行监测,这些方法包括但不限于白细胞计数、差异、荧光激活细胞分选法、骨髓抽吸。另外,可以使用各种疾病特异性临床化学参数和其他建立的标准方法。此外,可以使用计算机辅助断层摄影术、X射线、核磁共振断层摄影术(例如,用于基于国家癌症研究所标准的应答评估[Cheson BD,Horning SJ,Coiffier B,Shipp MA,Fisher RI,Connors JM,Lister TA,Vose J,Grillo-Lopez A,Hagenbeek A,Cabanillas F,Klippensten D,Hiddemann W,Castellino R,Harris NL,Armitage JO,Carter W,Hoppe R,Canellos GP.Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin’s

lymphomas[标准化非霍奇金淋巴瘤应答标准的国际研讨会报告].NCI Sponsored International Working Group[NCI资助的国际工作组].J Clin Oncol.[临床肿瘤学杂志]1999年4月;17(4):1244])、正电子发射断层摄影术扫描、白细胞计数、差异、荧光激活细胞分选法、骨髓抽吸、淋巴结活组织检查/组织学和各种淋巴瘤特异性临床化学参数(例如乳酸盐脱氢酶)和其他已建立的标准方法。

[0378] 开发药物(如本发明的药物组合物)的另一主要挑战是药代动力学特性的可预测调节。为此,可以建立候选药物的药代动力学曲线,即影响特定药物治疗给定病状的能力的药代动力学参数的曲线。影响药物治疗某种疾病实体的能力的药物的药代动力学参数包括但不限于:半衰期、分布容量、肝脏首过代谢和血清结合程度。给定药剂的功效可以受到上文提及的每个参数的影响。

[0379] "半衰期"意指50%的给予药物通过生物过程(例如代谢、排泄等)消除的时间。"肝脏首过代谢"意指药物在首次与肝脏接触时,即在首次通过肝脏期间代谢的倾向。"分布体积"意指药物在身体各个隔室(例如细胞内和细胞外空间、组织和器官等)中的滞留程度,以及药物在这些隔室内的分布。"血清结合程度"意指药物与血清蛋白(如白蛋白)相互作用并结合从而导致药物生物活性降低或丧失的倾向。

[0380] 药代动力学参数还包括对于施用的给定量药物的生物利用度、滞后时间(T滞后)、Tmax、吸收速率、起效时间和/或Cmax。"生物利用度"意指血液隔室中药物的量。"滞后时间"意指药物施用与其在血液或血浆中的检测和可测量性之间的时间延迟。"Tmax"是药物达到最大血液浓度之后的时间,并且"Cmax"是用给定药物获得的最大血液浓度。达到其生物效应所需的药物的血液或组织浓度的时间受到所有参数的影响。表现出跨物种特异性的双特异性抗体构建体的药代动力学参数(其可以在如上所概述的非黑猩猩灵长类动物的临床前动物测试中确定)也示于例如Schlereth等人(Cancer Immunol.Immunother.[癌症免疫学免疫治疗]20(2005),1-12)的公开中。

[0381] 在本发明的优选方面中,药物组合物在约-20℃下稳定至少四周。从所附实施例中显而易见的是,可以使用不同的系统测试本发明的抗体构建体的质量相比于相应现有技术抗体构建体的质量。这些测试被理解为符合"ICH Harmonised Tripartite Guideline:Stability Testing of Biotechnological/Biological Products Q5C and Specifications:Test procedures and Acceptance Criteria for Biotech Biotechnological/Biological Products Q6B[ICH三方协调指南:生物技术/生物产品的稳定性测试Q5C和规格:生物技术/生物产品的测试程序和验收准则Q6B]",并且因此被选择以提供稳定性指示曲线,从而确定检测到产品的属性、纯度和效力的变化。人们普遍接受术语纯度是相对术语。由于糖基化、脱酰胺或其他异质性的效应,因此生物技术/生物产品的绝对纯度典型地应通过超过一种的方法进行评估,并且所导出的纯度值取决于方法。出于稳定性测试的目的,纯度测试应集中在确定降解产物的方法上。

[0382] 为了评估包含本发明的抗体构建体的药物组合物的质量,可以例如通过分析溶液中可溶性聚集物的含量(根据尺寸排除的HMWS)来分析。优选的是,在约-20℃下稳定至少四周的特征在于小于1.5%HMWS/优选小于1%HMWS的含量。

[0383] 在所附实例4-12中提供了用于评估呈药物组合物形式的本发明的抗体构建体的稳定性的其他实例。在那些实例中,关于不同药物配制品中的不同应力条件测试本发明的

抗体构建体的实施例，并且将结果与本领域已知的双特异性T细胞接合抗体构建体的其他半衰期延长(HLE)形式进行比较。一般来讲，设想与具有不同HLE形式和不具有任何HLE形式的抗体构建体(即“规范的”抗体构建体)相比，根据本发明的提供有特定FC模式的抗体构建体在宽范围的应力条件(如温度和光应力)下典型地更稳定。所述温度稳定性可以涉及降低的温度(低于室温，包括冷冻)和升高的温度(高于室温，包括高达或高于体温的温度)两者。正如本领域技术人员将会认识到，在临床实践中难以避免的这种关于应力的改善稳定性使得抗体构建体更安全，这是因为在临床实践中会出现较少的降解产物。结果，所述增加的稳定性意味着安全性增加。

[0384] 氢-氘交换(HDX)是一种化学反应，其中共价结合的氢原子被氘原子替换，反之亦然。其可以最容易地应用于可交换的质子和氘核，其中在没有任何催化剂的情况下，在适合的氘源存在下发生这种转变。该方法给出有关分子各个部分的溶剂可及性的信息，从而给出蛋白质的三级结构的信息。

[0385] 一个实施例提供了本发明的抗体构建体或根据本发明的方法产生的抗体构建体，其用于预防、治疗或缓解增殖性疾病、肿瘤性疾病、病毒性疾病或免疫性障碍。

[0386] 本文所述的配制品可在有需要的患者中用作治疗、缓解和/或预防如本文所述的病理医学病状的药物组合物。术语“治疗”是指治疗性治疗和预防性(prophylactic或preventative)措施两者。治疗包括将配制品施加或施用至患有疾病/障碍、疾病/障碍的症状或患疾病/障碍的倾向的患者的体内、分离的组织或细胞，目的是治愈、痊愈、缓和、减轻、改变、补救、缓解、改善或影响该疾病，该疾病症状或患该疾病的倾向。

[0387] 如本文使用的，术语“缓解”是指通过将根据本发明的抗体构建体施用至有需要的受试者而对患有如下文所述的肿瘤或癌症或转移性癌症的患者的疾病状态的任何改善。这种改善还可以被视为减缓或停止患者的肿瘤或癌症或转移性癌症的进展。如本文使用的，术语“预防”意指通过将根据本发明的抗体构建体施用至有需要的受试者来避免患有如下文所指定的肿瘤或癌症或转移性癌症的患者发生或复发。

[0388] 术语“疾病”是指将受益于用本文所述的抗体构建体或药物组合物治疗的任何病状。这包括慢性和急性障碍或疾病，包括那些使哺乳动物易患所考虑疾病的病理病状。

[0389] “赘生物”是组织的异常生长，通常但不总是形成肿块。当也形成肿块时，通常称之为“肿瘤”。赘生物或肿瘤可以是良性的、潜在恶性的(癌前)、或恶性的。恶性赘生物通常称为癌症。它们通常侵入并破坏周围组织，并可能形成转移，即它们扩散到身体的其他部位、组织或器官。因此，术语“转移性癌症”涵盖转移到原始肿瘤的组织或器官除外的其他组织或器官。淋巴瘤和白血病是淋巴赘生物。出于本发明的目的，它们也涵盖在术语“肿瘤”或“癌症”中。

[0390] 术语“病毒性疾病”描述了作为受试者病毒感染的结果的疾病。

[0391] 如本文使用的，术语“免疫学障碍”根据该术语的常见定义描述免疫学障碍，如自体免疫疾病、超敏反应、免疫缺陷。

[0392] 在一个实施例中，本发明提供治疗或缓解增殖性疾病、肿瘤性疾病、病毒性疾病或免疫障碍的方法，该方法包括向有需要的受试者施用本发明的抗体构建体或根据本发明的方法产生的抗体构建体的步骤。

[0393] 术语“有需要的受试者”或“需要治疗的那些”包括已经患有障碍的那些以及要预

防障碍的那些。有需要的受试者或“患者”包括接受预防性或治疗性治疗的人和其他哺乳动物受试者。

[0394] 本发明的抗体构建体通常将针对特定施用途径和方法、特定施用剂量和频率、特定疾病的特定治疗、生物利用度和持久性范围等来设计。组合物的物质优选以对于施用位点可接受的浓度配制。

[0395] 因此可以根据本发明设计配制品和组合物以通过任何适合的施用途径递送。在本发明的上下文中，施用途径优选地是肠胃外途径(例如静脉内、动脉内、骨内、肌内、脑内、脑室内、硬膜外、鞘内、皮下、腹膜内、羊膜外、关节内、心内、真皮内、病灶内、子宫内、膀胱内、玻璃体内、经皮、鼻内、经黏膜、滑膜内、管腔内)。

[0396] 本发明的药物组合物和抗体构建体可特别用于肠胃外施用，例如皮下或静脉内递送，例如通过注射如弹丸注射，或通过输注如连续输注。药物组合物可以使用医疗装置来施用。用于施用药物组合物的医疗装置的实例描述在美国专利号4,475,196;4,439,196;4,447,224;4,447,233;4,486,194;4,487,603;4,596,556;4,790,824;4,941,880;5,064,413;5,312,335;5,312,335;5,383,851;和5,399,163中。

[0397] 特别地，本发明提供了适合的组合物的不间断施用。作为非限制性实例，可以通过患者佩戴的用于计量治疗剂进入患者体内的流入的小型泵系统来实现不间断或实质上不间断(即连续)的施用。包含本发明的抗体构建体的药物组合物可以通过使用所述泵系统施用。此类泵系统在本领域中通常是已知的，并且通常依赖于含有要输注的治疗剂的药筒的定期更换。当更换这种泵系统中的药筒时，可能导致原本不间断地流入患者体内的治疗剂的暂时中断。在这种情况下，药筒替换之前的施用阶段和药筒替换之后的施用阶段仍将被认为在药物手段的含义内，并且本发明的方法一起构成这种治疗剂的一次“不间断施用”。

[0398] 本发明的抗体构建体的连续或不间断施用可以通过流体递送装置或小型泵系统进行静脉内或皮下施用，该流体递送装置或小型泵系统包括用于将流体驱出储器的流体驱动机构和用于致动驱动机构的致动机构。用于皮下施用的泵系统可以包括用于穿透患者皮肤并将适合的组合物递送到患者体内的针或套管。所述泵系统可以独立于静脉、动脉或血管而直接固定或连接到患者皮肤，从而允许泵系统与患者皮肤直接接触。泵系统可以连接到患者皮肤24小时至数天。泵系统可能尺寸较小，具有小容积的储器。作为非限制性实例，待施用的适合的药物组合物的储器容积可以为0.1至50ml。

[0399] 连续施用也可以通过佩戴在皮肤上的贴片经皮施用，并且以一定间隔进行更换。本领域技术人员知道适用于该目的的用于药物递送的贴片系统。值得注意的是，经皮施用尤其适合于不间断施用，因为第一用尽的贴片的更换可以有利地与在将新的第二贴片放置在例如紧邻第一用尽的贴片的皮肤表面上的同时并在即将移除第一用尽的贴片之前来完成。不会出现流动中断或电池故障的问题。

[0400] 如果已将药物组合物冻干，则在施用之前首先将冻干物质在适当液体中重构。可以将冻干物质在例如抑菌注射用水(BWFI)、生理盐水、磷酸盐缓冲盐水(PBS)或与冷冻干燥前蛋白质所处于的相同配制品中重配。

[0401] 本发明的组合物能以适合的剂量施用至受试者，该剂量可以例如通过向非黑猩猩灵长类动物(例如猕猴)施用增加剂量的表现出本文所述的跨物种特异性的本发明的抗体构建体通过剂量递增研究来确定。如上所述，表现出本文所述的跨物种特异性的本发明的

抗体构建体可以有利地以相同形式用于非黑猩猩灵长类动物的临床前测试并且作为药物用于人类中。剂量方案将由主治医师和临床因素决定。如在医学领域中熟知的，任何一个患者的剂量取决于许多因素，包括患者体型、体表面积、年龄、待施用的具体化合物、性别、施用时间和途径、一般健康状况和同时施用的其他药物。

[0402] 术语“有效剂量(effective dose或effective dosage)”定义为足以实现或至少部分实现所希望效应的量。术语“治疗有效剂量”定义为足以治愈或至少部分阻止已罹患疾病的患者的疾病及其并发症的量。对此用途有效的量或剂量将取决于要治疗的病状(适应症)、递送的抗体构建体、治疗背景和目标、疾病的严重程度、先前疗法、患者的临床病史和对治疗剂的应答、施用途径、患者的体型(体重、体表或器官大小)和/或病状(年龄和一般健康状况)以及患者自体免疫系统的一般状态。可以根据主治医生的判断调整适当的剂量，以使得它可以一次施用至患者或经一系列施用而施用至患者，并且以便获得最佳治疗效应。

[0403] 根据上文提及的因素，典型的剂量范围可以为约0.1μg/kg至高达约30mg/kg或更多。在具体的实施例中，剂量范围可以为1.0μg/kg至约20mg/kg、任选地10μg/kg至约10mg/kg或100μg/kg至约5mg/kg。

[0404] 本发明的抗体构建体的治疗有效量优选导致疾病症状严重程度降低、无疾病症状期的频率或持续时间增加或预防由于疾病折磨而产生的损害或残疾。为了治疗表达靶细胞抗原的肿瘤，本发明的抗体构建体的治疗有效量，例如抗靶细胞抗原/抗CD3抗体构建体，相对于未治疗的患者优选地抑制细胞生长或肿瘤生长至少约20％、至少约40％、至少约50％、至少约60％、至少约70％、至少约80％、或至少约90％。可以在预测功效的动物模型中评价化合物抑制肿瘤生长的能力。

[0405] 药物组合物可以作为单独的治疗剂或与另外的疗法(如视需要的抗癌疗法，例如其他蛋白质和非蛋白质药物)组合施用。这些药物可以与包含如本文定义的本发明的抗体构建体的组合物同时施用，或者在施用所述抗体构建体之前或之后以时间限定间隔和剂量分开施用。

[0406] 如本文使用的，术语“有效且无毒的剂量”是指本发明抗体构建体的可耐受剂量，该可耐受剂量足够高以引起病理性细胞消耗、肿瘤消除、肿瘤缩小或疾病稳定，而没有或基本上没有主要毒性效应。这种有效且无毒的剂量可以例如通过本领域中描述的剂量递增研究来确定，并且应低于诱导严重不良副作用事件的剂量(剂量限制毒性，DLT)。

[0407] 如本文使用的，术语“毒性”是指在不良事件或严重不良事件中表现的药物的毒性效应。这些副作用事件可能是指施用后缺乏系统性药物耐受性和/或缺乏局部耐受性。毒性还可能包括由药物引起的致畸或致癌效应。

[0408] 如本文使用的，术语“安全性”、“体内安全性”或“耐受性”定义了药物的施用而在施用后未立即诱导严重不良事件(局部耐受性)以及在药物的较长施用时段期间未诱导严重不良事件。例如，可以在治疗和随访期期间以例如有规律的间隔评价“安全性”、“体内安全性”或“耐受性”。测量包括临床评价，例如器官表现，以及实验室异常的筛选。可以进行临床评价，并且根据NCI-CTC和/或MedDRA标准记录/编码与正常发现的偏差。器官表现可以包括如过敏/免疫学、血液/骨髓、心律失常、凝血等的标准，如例如不良事件的通用术语标准v3.0(CTCAE)中所述的。可以测试的实验室参数包括例如血液学、临床化学、凝血曲线和尿液分析以及其他体液(如血清、血浆、淋巴或脊髓液、液体等)的检查。因此安全性可以通过

例如身体检查、成像技术(即超声波、x射线、CT扫描、磁共振成像(MRI)、其他具有技术装置的措施(即心电图术))、生命体征、通过测量实验室参数和记录不良事件来评估。例如,根据本发明的用途和方法中非黑猩猩灵长类动物中的不良事件可以通过组织病理学和/或组织化学方法进行检查。

[0409] 上述术语也在以下中提及:例如Preclinical safety evaluation of biotechnology-derived pharmaceuticals S6[生物技术衍生药物的临床前安全性评价S6];ICH Harmonised Tripartite Guideline[ICH三方协调指南];ICH Steering Committee meeting on July 16,1997[1997年7月16日的ICH指导委员会会议]。

[0410] 最后,本发明提供了试剂盒,该试剂盒包含本发明的抗体构建体或根据本发明的方法产生的抗体构建体、本发明的药物组合物、本发明的多核苷酸、本发明的载体和/或本发明的宿主细胞。

[0411] 在本发明的上下文中,术语“试剂盒”意指两种或更多种组分(其中一种对应于本发明的抗体构建体、药物组合物、载体或宿主细胞)一起包装在容器、接受器或其他中。因此,试剂盒可以被描述为足以实现某一目标的一组产品和/或器具,其可以作为单一单元销售。

[0412] 试剂盒可以包括一个或多个具有任何适当形状、大小和材料(优选防水的,例如塑料或玻璃)的接受器(如小瓶、安瓿、容器、注射器、小瓶、袋),该一个或多个接收器含有适于施用的剂量的本发明的抗体构建体或药物组合物(参见上文)。试剂盒可以另外含有使用说明(例如呈小册子或说明手册的形式)、用于施用本发明的抗体构建体的手段(如注射器、泵、输注器等)、用于重配本发明的抗体构建体的手段和/或用于稀释本发明的抗体构建体的手段。

[0413] 本发明还提供了用于单剂量施用单元的试剂盒。本发明的试剂盒还可以含有包含干燥/冻干的抗体构建体的第一接受器和包含水性配制品的第二接受器。在本发明的某些实施例中,提供了含有单室和多室预填充注射器(例如液体注射器和冻干注射器)的试剂盒。

[0414] 本发明的药物组合物进一步包含缓冲剂,其可选自由以下组成的组:磷酸钾、乙酸/乙酸钠、柠檬酸/柠檬酸钠、琥珀酸/琥珀酸钠、酒石酸/酒石酸钠、组氨酸/组氨酸HCl、甘氨酸、Tris、谷氨酸、乙酸盐及其混合物,并特别地选自磷酸钾、柠檬酸/柠檬酸钠、琥珀酸、组氨酸、谷氨酸、乙酸盐及其组合。

[0415] 适合的缓冲剂浓度涵盖约200mM或更低的浓度,例如约190、180、170、160、150、140、130、120、110、100、80、70、60、50、40、30、20、10或5mM。技术人员将能够容易地调整缓冲剂浓度以提供如本文所述的药物组合物的稳定性。本发明药物组合物中设想的缓冲剂浓度具体范围从约5至约200mM,优选从约5至约100mM,更优选从约10至约50mM。

[0416] 如本文使用的,术语“药物组合物”涉及适于向有需要的受试者施用的组合物。术语“受试者”或“个体”或“动物”或“患者”在本文中可互换地使用,是指任何希望施用本发明药物组合物的受试者,特别是哺乳动物受试者。哺乳动物受试者包括人、非人灵长类动物、狗、猫、豚鼠、兔、大鼠、小鼠、马、牛、母牛等,优选人。本发明的药物组合物是稳定的和药学上可接受的,即能够引发所希望的治疗效果,而不会在施用药物组合物的受试者中引起任何不希望的局部或全身性作用。本发明的药学上可接受的组合物可以特别是无菌的和/或

药学上惰性的。具体地，术语“药学上可接受的”可以意指由管理机构或其他受普遍承认的药典批准在动物中使用，并且更特别地在人中使用。

[0417] 本发明的药物组合物包含一种或多种本文所述的双特异性单链抗体构建体，优选以治疗有效量，β-环糊精和缓冲剂。“治疗有效量”是指所述构建体引发所希望的治疗效果的量。治疗效果和毒性可以通过标准药物方法在细胞培养物或实验性动物中，例如ED50(在50％群体中治疗有效的剂量)和LD50(对50％群体致死的剂量)来确定。治疗和毒性作用之间的剂量比为治疗指数，并且它能以ED50/LD50比表示。通常展现出大治疗指数的药物组合物是优选的。

[0418] 组合物可包含如前所述的β-环糊精和缓冲剂。药物组合物可任选地包含一种或多种另外的赋形剂，只要它们不降低或消除其如本文所述的有利特性，并特别是其稳定性。

[0419] 赋形剂在本发明中可用于多种目的，如调整配制品的物理、化学或生物特性，如调整粘度和或本发明的方法以进一步改善有效性和或进一步稳定此类配制品和方法，以防止由于例如在制造、运输、储存、使用前准备、施用和之后过程中发生的压力而导致的降解和腐坏。术语“赋形剂”通常包括填充剂、粘合剂、崩解剂、包衣、吸附剂、抗粘附剂、助流剂、防腐剂、抗氧化剂、调味剂、着色剂、甜味剂、溶剂、共溶剂、缓冲剂、螯合剂、粘度赋予剂、表面活性剂、稀释剂、保湿剂、载体、稀释剂、防腐剂、乳化剂、稳定剂和张力调节剂。

[0420] 对于本领域技术人员来说明显的是，例如，药物组合物的不同赋形剂(例如，上文列出的那些)可以具有不同的效应，并且氨基酸可以充当缓冲剂、稳定剂和/或抗氧化剂；甘露醇可以充当膨胀剂和/或张力增强剂；氯化钠可以充当递送媒介物和/或张力增强剂；等。

[0421] 多元醇在液体和冻干配制品中都是有用的稳定剂，以保护蛋白质免受物理和化学降解过程的影响，并且还可用于调整配制品的张力。多元醇包括糖，例如甘露醇、蔗糖和山梨醇以及多元醇，如例如甘油和丙二醇，并且出于本文论述的目的，包括聚乙二醇(PEG)和相关物质。甘露醇通常用于确保在冻干配制品中饼的结构稳定性。它确保了饼的结构稳定性。它通常与冻干保护剂(例如蔗糖)一起使用。山梨醇和蔗糖是用于调整张力且作为稳定剂以防止在运输过程中的冷冻-解冻应力或防止在制造过程中制备团块的常用药剂。PEG可用于稳定蛋白质并作为冷冻保护剂。

[0422] 常规使用表面活性剂来防止、最小化或减少表面吸附。蛋白质分子可易于吸附在表面上，并且变性以及随后在空气-液体、固体-液体和液体-液体界面处聚集。这些效应通常与蛋白质浓度成反比。这些有害的相互作用通常与蛋白质浓度成反比，并且典型地因物理振荡(如在产品运输和处理过程中产生的物理振荡)而加剧。常用的表面活性剂包括聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、脱水山梨醇聚乙氧基化物的其他脂肪酸酯、以及泊洛沙姆188。表面活性剂也常用于控制蛋白质构象稳定性。在这方面使用表面活性剂是蛋白质特异性的，因为任何给定的表面活性剂典型地会稳定一些蛋白质并使其他蛋白质不稳定。

[0423] 聚山梨醇酯易于氧化降解，并且通常在供应时含有足够量的过氧化物以引起蛋白质残基侧链，尤其是甲硫氨酸的氧化。因此，应谨慎使用聚山梨醇酯，并且在使用时应以其最低有效浓度使用。

[0424] 通过保持适当水平的环境氧气和温度并避免暴露于光下，抗氧化剂可以在某种程度上防止药物配制品中蛋白质的有害氧化。也可以使用抗氧化赋形剂来防止蛋白质的氧化降解。在这方面，有用的抗氧化剂是还原剂、氧/自由基清除剂和螯合剂。用于治疗性蛋白质

配制品中的抗氧化剂优选是水溶性的并且在整个产品的储存寿命内保持其活性。EDTA是有用实例。

[0425] 金属离子可以充当蛋白质辅因子并且能够形成蛋白质配位复合物。金属离子也可以抑制降解蛋白质的一些过程。然而，金属离子也催化降解蛋白质的物理和化学过程。镁离子(10-120mM)可用于抑制天冬氨酸异构化为异天冬氨酸。Ca+2离子(高达100mM)可以增加人脱氧核糖核酸酶的稳定性。然而，Mg+2、Mn+2和Zn+2可以使rhDNase去稳定。类似地，Ca+2和Sr+2可以稳定因子VIII，它可以因Mg+2、Mn+2和Zn+2、Cu+2和Fe+2去稳定，并且其聚集可以通过Al+3离子增加。

[0426] 根据本发明，可以使用盐以例如调整药物配制品的离子强度和/或等渗性和/或进一步改善抗体构建体或其他成分的溶解度和/或物理稳定性。众所周知，离子可以通过与蛋白质表面上的带电荷的残基结合并通过屏蔽蛋白质中的带电荷基团和极性基团并降低其静电相互作用、吸引和排斥相互作用的强度来稳定蛋白质的天然状态。离子还可以通过特别地与蛋白质的变性肽键(--CONH)结合来稳定蛋白质的变性状态。此外，与蛋白质中的带电荷基团和极性基团的离子相互作用还可以减少分子间静电相互作用，并且从而防止或减少蛋白质聚集和不溶解。离子种类对蛋白质的作用不同。已经开发了多种对可用于配制根据本发明的药物组合物的离子及其对蛋白质的作用的分类评级。一个实例是Hofmeister系列，该系列通过对溶液中蛋白质的构象稳定性的作用来对离子和极性非离子溶质进行评级。稳定溶质称为“亲液的。”不稳定溶质称为“离液的。”通常使用高浓度的亲液剂(例如，>1摩尔硫酸铵)以从溶液中沉淀蛋白质(“盐析”)。通常使用离液剂来使蛋白质变性和/或溶解(“盐溶”)。离子对“盐溶”和“盐析”的相对有效性限定了其在Hofmeister系列中的位置。

[0427] 游离氨基酸可在药物组合物中作为膨胀剂、稳定剂和抗氧化剂以及其他标准用途。赖氨酸、脯氨酸、丝氨酸和丙氨酸可用于稳定配制品中的蛋白质。甘氨酸可用于冻干以确保正确的饼结构和特性。在液体配制品和冻干配制品两者中，精氨酸均可用于抑制蛋白质聚集。蛋氨酸可用作抗氧化剂。

[0428] 用于配制药物组合物的特别有用的赋形剂包括蔗糖、海藻糖、甘露醇、山梨醇、精氨酸、赖氨酸、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、泊洛沙姆188、普朗尼克及其组合。所述赋形剂能以不同的浓度存在于药物组合物中，只要该组合物表现出如本文举例说明的所需特性，并特别是促进所含双特异性单链抗体构建体的稳定化。例如，蔗糖能以2%(w/v)至12%(w/v)的浓度存在于药物组合物中，即浓度为12%(w/v)、11%(w/v)、10%(w/v)、9%(w/v)、8%(w/v)、7%(w/v)、6%(w/v)、5%(w/v)、4%(w/v)、3%(w/v)或2%(w/v)。优选的蔗糖浓度范围为4%(w/v)至10%(w/v)、并且更优选为6%(w/v)至10%(w/v)。聚山梨醇酯80能以0.001%(w/v)至0.5%(w/v)的浓度存在于药物组合物中，即浓度为0.5%(w/v)、0.2%(w/v)、0.1%(w/v)、0.08%(w/v)、0.05%(w/v)、0.02%(w/v)、0.01%(w/v)、0.008%(w/v)、0.005%(w/v)、0.002%(w/v)或0.001%(w/v)。优选的聚山梨醇酯80浓度范围为0.002%(w/v)至0.5%(w/v)、并且优选为0.005%(w/v)至0.02%(w/v)。

[0429] 然而，还可以想到药物组合物不包含任何防腐剂。特别地，本发明尤其提供包含一种或多种防腐剂的药物组合物，该药物组合物包含浓度为约0.5mg/ml至50mg/ml的双特异性抗体构建体，其优选为单链，和所述抗体构建体在其中是稳定的缓冲剂，浓度为约10mM的磷酸钾、以及另外的浓度为约8%(w/v)的蔗糖和浓度为约0.01%(w/v)的聚山梨醇酯80，pH

为约6.0。

[0430] 本发明的药物组合物能以多种形式配制，例如，以固体、液体、冷冻、气体或冻干形式，并且尤其可以是软膏、乳膏、透皮贴剂、凝胶、粉末、片剂、溶液，气溶胶、颗粒、丸剂、悬浮液、乳液、胶囊、糖浆、液体、酏剂、提取物、酊剂或流体提取物形式。

[0431] 一般来讲，对于本发明的药物组合物，可以想到多种储存和/或剂型，这取决于预期的施用途径、递送型式和所希望的剂量(参见，例如，Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明顿药物科学]，第22版，Oslo，A.，编辑，(2012))。技术人员将意识到，特定剂型的这种选择可以例如影响本发明的抗体构建体的物理状态、稳定性、体内释放速率和体内清除速率。

[0432] 例如，药物组合物中的主要媒介物或载体在自然界中可以是水性或非水性的。适合的媒介物或载体可以是注射用水、生理盐水溶液或人造脑脊液，可能补充有组合物中常见的用于肠胃外施用的其他物质。中性缓冲盐水或与血清白蛋白混合的盐水是另外的示例性媒介物。

[0433] 当考虑肠胃外施用时，本发明的治疗组合物能以无热原的、肠胃外可接受的水性溶液的形式提供，该水性溶液在药学上可接受的媒介物中包含所希望的抗体构建体。用于肠胃外注射的特别适合的媒介物是无菌蒸馏水，其中将抗体构建体配制成适当保存的无菌等渗溶液。该制备可以涉及用可以提供产物(该产物可以经由储库注射来递送)的控制或持续释放的药剂(如可注射微球体、生物可侵蚀颗粒、聚合物化合物(如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂质体)配制所希望分子。也可以使用透明质酸，该透明质酸具有促进循环持续时间的作用。可植入药物递送装置可用于引入所希望的抗体构建体。

[0434] 本文还设想了持续或控制递送/释放配制品。用于配制各种其他持续或控制递送方式的技术(如脂质体载剂、生物可侵蚀微粒或多孔珠粒和储库注射)也是本领域技术人员已知的。参见，例如国际专利申请号PCT/US93/00829，其描述了用于递送药物组合物的多孔聚合物微粒的控制释放。持续释放制剂可以包括呈成型制品(例如膜或微胶囊)形式的半透性聚合物基质。持续释放基质可包括聚酯、水凝胶、聚交酯(如美国专利号3,773,919和欧洲专利申请公开号EP 058481中所披露的)、L-谷氨酸和γ-谷氨酸乙酯的共聚物(Sidman等人，1983，Biopolymers[生物聚合物]2:547-556)、聚(2-羟乙基-甲基丙烯酸酯)(Langer等人，1981，J.Biomed.Res.[生物医学材料研究]15:167-277和Langer，1982，Chem.Tech.[化学技术]12:98-105)、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人，1981，同上)或聚-D(-)-3-羟基丁酸(欧洲专利申请公开号EP 133,988)。持续释放组合物还可以包括可以通过本领域中已知的若干种方法中的任一种制备的脂质体。参见，例如Eppstein等人，1985，Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家科学院院刊]82:3688-3692；欧洲专利申请公开号EP 036,676；EP 088,046和EP 143,949。也可以将抗体构建体包埋在例如通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊(例如分别为羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊)中，包埋在胶体药物递送系统(例如脂质体、白蛋白微球、微乳液、纳米颗粒和纳米胶囊)中或包埋在粗滴乳状液中。此类技术披露于Remington's Pharmaceutical Sciences[雷明登氏药学全书]，第22版，Oslo，A.编辑，(2012)中。

[0435] 用于体内施用的药物组合物典型地以无菌制剂提供。灭菌可以通过无菌滤膜过滤完成。当将组合物冻干时，可以在冻干和重配之前或之后使用该方法进行灭菌。用于肠胃外

施用的组合物能以冻干形式或于溶液中储存。通常将肠胃外组合物置入具有无菌进入口的容器(例如具有可由皮下注射针刺穿的塞子的静脉内溶液袋或小瓶)中。

[0436] 本文披露的抗体构建体也可以配制为免疫脂质体。“脂质体”是由各物种型的脂质、磷脂和/或表面活性剂构成的小囊泡,该小囊泡可用于将药物递送至哺乳动物。脂质体的组分通常以双层形式排列,类似于生物膜的脂质排列。含有抗体构建体的脂质体通过本领域已知的方法制备,如Epstein等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],82:3688(1985);Hwang等人,Proc.Natl Acad.Sci.USA[美国国家科学院院刊],77:4030(1980);美国专利号4,485,045和4,544,545;以及WO 97/38731中所述。具有延长的循环时间的脂质体披露于美国专利号5,013,556中。特别有用的脂质体可以通过反相蒸发方法用包含磷脂酰胆碱、胆固醇和PEG衍生化磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)的脂质组合物产生。使脂质体挤出通过具有限定孔径的滤器以产生具有所希望的直径的脂质体。本发明的抗体构建体的Fab’片段可以与脂质体经由二硫键交换反应缀合,如Martin等人J.Biol.Chem.[生物化学杂志]257:286-288(1982)中所述。化学治疗剂任选地包含在脂质体内。参见Gabizon等人J.National Cancer Inst.[国家癌症研究所杂志]81(19)1484(1989)。

[0437] 设想除了本文定义的双特异性单链抗体构建体外,本发明的组合物还可以包含另外的生物活性剂,这取决于组合物的预期用途。这些药剂可能特别是作用于肿瘤和/或恶性细胞的药物,但是取决于药物组合物的预期用途,也可以想到其它活性剂,这些用途包括作用于胃肠系统的药剂、抑制免疫反应的药物(例如皮质类固醇)、调节炎症应答的药物、作用于循环系统的药物和/或本领域中已知的药剂如细胞因子。还设想将本发明的药物组合物应用于共疗法中,即与另一种抗癌药物组合。

[0438] 一旦配制了药物组合物,可以将它作为溶液、悬浮液、凝胶、乳液、固体、晶体或作为脱水或冻干粉末储存在无菌小瓶中。此类配制品能以即用形式或以在施用前重构的形式(例如冻干形式)储存。例如,可以将冻干组合物在例如抑菌注射用水(BWFI)、生理盐水、磷酸盐缓冲盐水(PBS)或与冷冻干燥前蛋白质所处于的相同配制品中重配。

[0439] 本发明的药物组合物通常可以配制成通过任何适合的施用途径递送。在本发明的上下文中,施用途径包括但不限于局部途径(例如表皮、吸入、鼻、眼、耳(auricular/aural)、阴道、黏膜);肠内途径(例如口服、胃肠、舌下、唇下、颊、直肠);和肠胃外途径(例如静脉内、动脉内、骨内、肌内、脑内、脑室内、硬膜外、鞘内、皮下、腹膜内、羊膜外、关节内、心内、真皮内、病灶内、子宫内、膀胱内、玻璃体内、经皮、鼻内、经黏膜、滑膜内、管腔内)。

[0440] 本文所述的药物组合物可特别用于肠胃外施用,例如皮下或静脉内递送,例如通过注射如弹丸注射,或通过输注如连续输注。药物组合物可以使用医疗装置来施用。用于施用药物组合物的医疗装置的实例描述在美国专利号4,475,196;4,439,196;4,447,224;4,447,233;4,486,194;4,487,603;4,596,556;4,790,824;4,941,880;5,064,413;5,312,335;5,312,335;5,383,851;和5,399,163中。

[0441] 本发明的药物组合物也可以不间断地施用。作为非限制性实例,可以通过患者佩戴的用于计量抗体构建体进入患者体内的流入的小型泵系统来实现不间断或实质上不间断(即连续)的施用。药物组合物可以通过使用所述泵系统施用。此类泵系统在本领域中通常是已知的,并且通常依赖于含有要输注的治疗剂的药筒的定期更换。当更换这种泵系统中的药筒时,可能导致原本不间断地流入患者体内的治疗剂的暂时中断。在这种情况下,药

筒替换之前的施用阶段和药筒替换之后的施用阶段仍将被认为在药物手段的含义内，并且本发明的方法一起构成这种治疗剂的一次“不间断施用”。

[0442] 本发明的药物组合物的连续或不间断施用可以通过流体递送装置或小型泵系统进行静脉内或皮下施用，该流体递送装置或小型泵系统包括用于将流体驱出储器的流体驱动机构和用于致动驱动机构的致动机构。用于皮下施用的泵系统可以包括用于穿透患者皮肤并将适合的组合物递送到患者体内的针或套管。所述泵系统可以独立于静脉、动脉或血管而直接固定或连接到患者皮肤，从而允许泵系统与患者皮肤直接接触。泵系统可以连接到患者皮肤24小时至数天。泵系统可能尺寸较小，具有小容积的储器。作为非限制性实例，待施用的适合的药物组合物的储器容积可以为0.1至50ml。

[0443] 技术人员将容易理解，本发明的药物组合物通常可以包含任何上述赋形剂或另外的活性剂，或者能以任何适合的形式提供，只要它是稳定的并且优选表现出与已在所附实例中评估的包含β-环糊精的药物组合物相同的有利特性。技术人员将能够容易地调整各种组分，以便提供稳定的药物组合物，即优选基本上不含包含在其中的双特异性单链抗体片段的聚集体和/或构象异构体。

[0444] *****

[0445] 必须注意的是，除非上下文另有明确说明，否则如本文使用的，单数形式“一(a)”，“一(an)”和“所述”包括复数个指示物。因此，例如，对“一种试剂”的提及包括此类不同试剂中的一种或多种，并且对“所述方法”的提及包括提及本领域普通技术人员已知的可以修改或取代本文所述的方法的等效步骤和方法。

[0446] 除非另外指明，否则在一系列元素前面的术语“至少”应被理解为指该系列中的每一个元素。本领域技术人员仅使用常规实验就将认识到或能够确定本文所述的本发明的具体实施例的许多等效物。此类等效物旨在涵盖在本发明中。

[0447] 术语“和/或”在本文使用时包括“和”、“或”和“由所述术语连接的元素的全部或任何其他组合”的含义。

[0448] 如本文使用的，术语“约”或“大约”意指在给定值或范围的20％内、优选在10％内、并且更优选在5％内。然而，它也包括明确数字，例如约20包括20。

[0449] 术语“小于”或“大于”包括明确数字。例如，小于20意指小于或等于。类似地，多于或大于分别意指多于或等于/或大于或等于。

[0450] 贯穿本说明书及其后的权利要求书，除非上下文另有要求，否则词语“包含(comprise)”以及变型如“包含(comprises)”或“包含(comprising)”应当被理解成隐含包括所述整数或步骤或者整数或步骤的组，但不排除任何其他整数或步骤或者整数或步骤的组。当在本文中使用时，术语“包含(comprising)”可以用术语“含有(containing)”或“包括(including)”来取代，或者有时在本文中使用时用术语“具有(having)”取代。

[0451] 如本文使用的，“由……组成”排除了在权利要求元素中未指定的任何元素、步骤或成分。如本文使用的，“基本上由……组成”并不排除不实质性地影响权利要求的基本和新颖特征的材料或步骤。

[0452] 在本文的每种情况下，术语“包含”、“基本上由……组成”和“由……组成”中的任一者都可以用另外两个术语中的任一个来替换。

[0453] 应理解，本发明不限于本文所述的特定方法、方案、材料、试剂和物质等，并且因此

可以变化。本文使用的术语仅用于描述特定实施例的目的，而不打算限制仅由权利要求限定的本发明的范围。

[0454] 本说明书全文中引用的所有出版物和专利(包括所有专利、专利申请、科学出版物、制造商的说明书、说明书等)，无论是上文还是下文，均通过引用整体并入文中。本文没有任何内容应解释为承认本发明无权由于先前发明而早于这些披露内容。通过引用并入的材料在一定程度上与本说明书发生冲突或不一致时，本说明书将替代任何此类材料。

[0455] 将从以下实例中获得对本发明及其优点的更好理解，这些实例仅用于说明目的。这些实例并不打算以任何方式限制本发明的范围。

[0456] 实例

[0457] 实例1：为了研究已知的防腐剂与根据本发明的代表性双特异性抗体构建体的相容性，在各自的已知防腐剂存在下以表4中列出的参数配制CD19xCD3双特异性抗体构建体。

[0458] 表4：用于测试防腐剂与CD19xCD3双特异性抗体构建体的相容性的配制参数。

[0459]

配制品名称	pH	蛋白质 (mg/mL)	缓冲剂 (mM)	蔗糖 (%)	防腐剂 (w/v)	聚山梨酸酯 80 (%)
G4SuT	4.0	0.8	10 mM 谷氨酸	9	NA	0.01
G4SuT_CH	4.0	0.8	10 mM 谷氨酸	9	0.3% 氯丁醇	0.01
G4SuT_ME	4.0	0.8	10 mM 谷氨酸	9	0.2% 对羟基苯甲酸甲酯	0.01
G4SuT_PH	4.0	0.8	10 mM 谷氨酸	9	0.5% 苯酚	0.01
G4SuT_TH	4.0	0.8	10 mM 谷氨酸	9	0.01% 硫柳汞	0.01

[0460] 先前发现使用的配制参数有效稳定双特异性抗体构建体。因此，与不含防腐剂的阴性对照(G4SuT)相比，任何差异都应变得甚至更加明显。所选的防腐剂浓度反映了本领域使用的标准浓度。将各自的配制品在25℃下储存14天，并在第0、1、3、7和14天通过尺寸排阻色谱法(SEC-HPLC)检查。从图1可以看出，包括含有0％防腐剂的对照的一些测试配制品在25℃下均显示出高分子量(HMW)物质百分比的下降。对于氯丁醇和对羟基苯甲酸甲酯就是这种情况，这表明这些防腐剂不会使蛋白质药物去稳定化，并不会诱导聚集或甚至减少聚集。添加苯酚后，HMW值总体保持恒定，这也表明苯酚与所测试的双特异性抗体构建体在给定实验条件下的相容性。由于随时间观察到HWM的轻微增加，因此硫柳汞似乎不太适合。从HMW到主峰的重新平衡可能部分是由于从药物产品浓度到IV袋浓度的稀释。通常可以得出结论，在4.0至6.5的范围内的低pH，例如4.0下，本发明的双特异性抗体构建体保持稳定或用防腐剂例如像氯丁醇或对羟基苯甲酸甲酯，或同样通过苯甲醇稳定。低pH补助双特异性抗体构建体的稳定化，这就是为什么包含更高浓度(例如至少200、300、400、500、600、700、800、900或1000μg/ml)的药物组合物是稳定的，即显示出低百分位数HMW浓度。

[0461] 实例2：作为另一种已知的防腐剂，测试了苯甲醇与根据本发明的代表性双特异性抗体构建体，CD19xCD3双特异性抗体构建体的相容性。为了更好地模拟临床应用情况，选择生理pH7作为具有挑战性的环境，因为与pH 4环境相比，典型地如本文所述的双特异性抗体构建体在pH7环境中不大受聚集影响。将预期到朝聚集的总体趋势。详细地讲，制备了CD19xCD3抗体构建体从4.5至800μg/ml的稀释行，反映了典型的临床应用浓度以及可能超过的浓度。根据商业和法规批准的0.9％氯化钠USP(含0.9％苯甲醇)选择0.9％苯甲醇浓度。在25℃(在临床环境中环境温度也很普遍)下0、1和2天后通过尺寸排阻色谱法(SEC-HPLC)确定不需要的HMW物质的百分比来检查相容性。从图1中可以看出，以不希望的HMW物

质的百分比表示的聚集速率取决于双特异性抗体构建体的浓度，在当前情况下为CD19xCD3双特异性抗体构建体。低于50μg/ml的浓度令人惊讶地表明HMW物质没有增加。从4.5μg/ml浓度下的HMW百分比值可以看出，HMW物质甚至显示出可逆性转化回单体。因此，观察到在低于约50μg/ml阈值下，代表性的CD19xCD3双特异性抗体构建体在与防腐剂例如苯甲醇接触时几乎没有显示出HMW物质，并且即使在储存2天后，HMW百分比也保持低于2％。同样，在低于200μg/ml的浓度下，初始HMW浓度也非常低(低于1％)，甚至在储存2天后仍保持显著低于5％。由于就稳定性而言，根据本发明的CD19xCD3双特异性抗体构建体是更敏感的双特异性抗体构建体，所以其他构建体在各自的双特异性抗体构建体浓度下显示甚至更低的HMW百分比，并且即使在任何进一步补充的稳定剂不存在下，在代表性防腐剂苯甲醇存在下并在与临床应用相关的生理pH 7和25℃温度下是稳定的。

[0462] 实例3：在代表性防腐剂苯甲醇存在下，在生理pH7以及温度4℃和25℃的条件下(涵盖了在临床环境中的冷藏和施用)，通过SEC-HPLC在14天的时段内针对代表性CD19xCD3双特异性抗体构建体进一步检查了HMW物质可逆性转化回单体。所述构建体的浓度分别为4μg/ml。苯甲醇浓度分别为0.25％、0.5％和0.9％。从图3A可以看出，在4℃下，HMW百分比从第0天下降到第7天，但从第7天到第14天没有明显变化。包含苯甲醇的配制品的HMW值略低于未显示稳定作用的那些配制品。在25℃下，这种作用更加明显(见图3B)。苯甲醇浓度越高，观察时间越长，HMW百分比越低。该结果证实，在代表性防腐剂苯甲醇存在下，优选以更高但可调节的可接受浓度(0.9％)，HMW物质甚至显示出可逆性转化回单体。

[0463] 在相同的实验条件下，同样检查了输注袋材料的潜在影响。制备了含1900ng/mL Blincyto的IV袋用于微生物生长研究，这是用于7天静脉袋的预期施用浓度。为稳定性研究而制备的IV袋将施用浓度括起来，并含有4500ng/mL或1900ng/mL的Blincyto。对于稳定性指示测定SE-HPLC和CE-HPLC，需要更高的浓度高于LOQ。

[0464] 两项研究均利用250mL IV袋。仅使用空的EVA IV袋评估微生物生长研究。这些袋在无菌环境中制备，并在室温下孵育14天期间准备进行微生物接种和生长测试。稳定性研究评估了EVA和聚烯烃IV袋。在使用前，将装有盐水的聚烯烃IV袋排出。制备含Blincyto的输注溶液后，将两种IV袋类型均在4℃下放置10天，以模拟在临床上的最大储存时间，然后在25℃和37℃下孵育14天。因此，比较了输注袋材料乙基乙酸乙烯酯(EVA)和聚烯烃在百分位数HMW物质方面BiTE®稳定性的任何差异。

[0465] 将其中包含4μg/ml CD19xCD3双特异性抗体构建体和浓度为0％、0.5％、0.6％或0.74％的苯甲醇的各自的配制品在25℃下保持0、4、7、9、11或14天，其中将一个样品在4℃下保持10天作为静态对照。从图3C可以看出，包含苯甲醇的配制品显示出总体上改善的稳定性，甚至降低的HMW值表明可逆性转化回单体，特别是取决于防腐剂浓度。与聚烯烃相比，对于EVA所观察到的这种趋势稍微更一致。因此，作为单体(即非聚集的和活性的双特异性抗体构建体)的指示剂的百分位数主峰随着更高浓度的防腐剂和在检查时间内而增加(参见图3D)。通常，苯甲醇的存在似乎增加了重新平衡的速率，尤其是在25℃孵育期间。总体而言，测试的两种类型的IV袋材料之间不存在有意义的差异。

[0466] 实例4：由防腐剂例如苯甲醇赋予的本发明的代表性双特异性抗体构建体的改善的稳定性使用荧光作为检测手段通过变性测定进一步检查。实验条件包括氯化胍作为变性剂，将其浓度绘制在x轴上(见图4)。在接近生理pH 7的情况下，在25℃下的孵育时间为2.5

小时。将荧光激发设置为280nm,发射扫描范围为300至400nm。由作为本领域标准的荧光测定法计算出百分位数变性分数。结果可如图4所示。灰色曲线表示包含苯甲醇的配制品,黑色曲线表示不含防腐剂的配制品。灰色曲线显示曲线底部向右移动。这意味着展开该区域即CD3结构域需要更多的变性剂,这转化为防腐剂赋予的改善的稳定性。

[0467] 实例5:该实例是支持通过静脉内(IV)袋施用的CD19xCD3双特异性抗体构建体药物产品(DP)的微生物激发研究。进行这项研究以评估不同浓度(0.5%-0.74%)的苯甲醇(BeOH)减少或消除在20-25℃下保持14天的装有含苯甲醇、CD19xCD3双特异性抗体构建体DP和静脉内溶液稳定剂(IVSS)的博纳吐单抗输注溶液的IV袋中微生物生长的能力。

[0468] 从研究中获得的结果证明,在评估浓度下的苯甲醇能够抑制六种评估微生物的生长。在研究中评估的对革兰氏阴性细菌(大肠杆菌、铜绿假单胞菌和阴沟肠杆菌)的抗菌功效是显而易见的。在不含BeOH的博纳吐单抗输注溶液中,这些微生物可生长至约106CFU/mL,但所有三个评估浓度均完全抑制了其生长。该研究评估的对革兰氏阳性细菌(金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌)和酵母菌(白色念珠菌)的作用不如对革兰氏阴性细菌明显,这主要是由于博纳吐单抗输注溶液不支持革兰氏阳性细菌和酵母菌的生长。观察到这些微生物对0.0%BeOH阳性对照的滴度逐渐降低,在评估期结束时滴度很低甚至没有可回收的滴度。然而,苯甲醇对这些微生物的抗菌功效可以通过在BeOH处理过的样品中使受激发的接种物完全失活或抑制所需的持续时间差异来证明。

[0469] 进行研究以评估六种不同微生物在装有109mL CD19xCD3双特异性抗体构建体输注溶液的IV袋中的生长,所述输注溶液含有苯甲醇(BeOH,最终浓度为0.0%、0.5%、0.6%或0.74%)、CD19xCD3双特异性抗体构建体DP和IVSS。将制备的IV袋在20-25℃下保持14天。

[0470] 选择用于研究的细菌和酵母菌是通常从医院感染中分离出来的已知人类病原体的代表。这些微生物包括白色念珠菌(ATCC 10231)、阴沟肠杆菌(ATCC 13047)、大肠杆菌(ATCC 8739)、藤黄微球菌(ATCC 4698)、铜绿假单胞菌(ATCC 9027)和金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)。

[0471] 博纳吐单抗DP配制品含有在25mM柠檬酸一水合物、200mM L-赖氨酸单盐酸盐、15%(w/v)海藻糖脱水剂、0.1%(w/v)聚山梨酸酯80(pH 7.0)中的1.91μg/mL博纳吐单抗。用于IVSS的配制品是25mM柠檬酸一水合物、1.25M L-赖氨酸单盐酸盐、0.1%(w/v)聚山梨酸酯80(pH 7.0)。

[0472] 测试物品:研究中评估的测试物品为装在IV袋中的博纳吐单抗输注溶液,其在总体积的109mL/袋中含有浓度为1.91μg/mL的博纳吐单抗。通过添加2.2mL IVSS,16.8mL合并的重构的博纳吐单抗DP(210μg),以及90mL盐溶液和含有0.9%苯甲醇(basaline)的盐溶液的合并总体积来制备溶液。通过添加不同量的盐水和basaline实现了研究中评估的四种不同水平的BeOH(0.0%、0.5%、0.6%和0.74%)。例如,通过添加90mL盐水制备含0.0%BeOH的袋(阳性对照),而通过向2.2mL IVSS和16.8mL博纳吐单抗DP添加18mL盐水和72mL 0.9% basaline制备具有0.6%BeOH的袋。有关更多详细信息,请参阅附录A。请注意,本报告附录A的图1(IV袋制备示意图)中为0.0%BeOH阳性对照的示意图,以及附录D的图4中同一示意图无意地表示最终的BeOH浓度为0.5%,而不是0.0%。这是印刷错误,对研究结果没有影响。

[0473] 评估了总共24个装有CD19xCD3双特异性抗体构建体输注溶液的IV袋,以评估四种水平的苯甲醇对上述六种不同微生物的影响(6 x 4=24)。通过注入口将大约1mL含有<1 x

104CFU微生物的接种物接种到每个袋中，产生约1 x 102CFU/mL的初始微生物量。接种后，用无菌IPA清洁袋上的采样口，将袋短暂混合，然后在20℃-25℃下孵育。

[0474] 阴性对照：将在三种水平的BeOH(0.5％、0.6％和0.74％)下并没有激发的微生物下的含博纳吐单抗输注溶液的三个IV袋与受激发的测试物品一起孵育，以用作阴性对照。研究中评估的其他测定阴性对照包括0.1％蛋白胨水(PEPW)和磷酸盐缓冲盐水(PHSS)。这些阴性对照必须始终对生长而言是阴性的。有关更多详细信息，请参阅附录A。

[0475] 取样和滴定程序：在0小时、第4天、第8天、第10天、第12天和第14天的每个时间点，从每个评估袋中收集3mL等分试样并滴定。

[0476] 通过膜过滤对每个定时样品的1mL等分试样一式两份进行样品滴定。进行另外的稀释以获得可计数的结果(<300CFU/板)。

[0477] 在图1至图6中以图形方式显示了BeOH对受激发的微生物的影响。一般而言，在这项研究中评估的革兰氏阴性(G-)细菌(大肠杆菌、铜绿假单胞菌和阴沟肠杆菌)在博纳吐单抗输注溶液(不含BeOH)中生长并保持了活力，远胜于革兰氏阳性(G+)细菌(金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌)和酵母菌(白色念珠菌)。所有三种评估的G-细菌的0.0％BeOH阳性对照在第8天生长到约106CFU/mL，并保持该水平到研究结束(14天)，见图5A、5B和5C。相对而言，在BeOH存在下，接种的G-细菌的生长(约100CFU/mL)被抑制(或失活)。在所有三个BeOH浓度下，在第4天及以后均没有可回收的铜绿假单胞菌(图5B)，在第10天及以后均没有可回收的大肠杆菌或阴沟肠杆菌(分别为图5A和图5C)。

[0478] 与G-细菌不同，博纳吐单抗输注溶液(含有或不含有BeOH)不支持G+细菌(金黄色葡萄球菌和藤黄微球菌)或白色念珠菌的生长，分别见图5D、5E和5F。在0.0％BeOH阳性对照定时样品中观察到G+细菌和白色念珠菌的滴度逐渐降低，到研究结束时滴度很低甚至没有可回收的滴度。既然如此，BeOH对这些微生物的抗菌作用虽然仍然很明显，但并不像在G-细菌上观察到的那样明显。可以证明该效果是，与0.0％BeOH对照相比，经BeOH处理的样品中受激发的微生物被完全失活或抑制。对于金黄色葡萄球菌而言，与阳性对照的第10天相比，受激发的接种物在第4天及以后在0.74％BeOH下，在第8天在0.5％或0.6％BeOH下变得不可回收(图5D)。类似地，在第8天在0.74％BeOH下，在第14天在0.5％或0.6％BeOH下，受激发的藤黄微球菌不可回收，并且阳性对照在第14天仍具有少量可回收的微生物(图5E)；并且受激发的白色念珠菌在所有三种水平的BeOH下在第8天不可回收，而对于阳性对照，在第10天不可回收(图5F)。因此，可以证明在测试配制品中具有强大的抗菌活性。

[0479] 实例6：该实验的目的是证明在包含本发明的双特异性抗体构建体和防腐剂的配制品中使用的缓冲剂和/或赋形剂的另外的稳定作用。检查了模型抗FAPα结构域、分离的抗CD3结构域(I2C，如在所有示例双特异性抗体构建体中典型地使用的)、CD33xCD3双特异性抗体构建体和EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体。对于FAPa、抗CD3结构域和CD33xCD3双特异性抗体构建体，实验程序是相同的。首先，将蛋白质样品分别透析到Tris-磷酸盐缓冲剂(35mM Tris，17.5mM磷酸盐，pH 6.0)和(35mM Tris，17.5mM磷酸盐，50mM柠檬酸盐，pH 6.0)中。透析后将蛋白质浓度调节至0.3mg/mL。其次，氢-氘交换(HDX)反应是通过将蛋白质样品在具有完全相同组成的相应D2O缓冲剂中进行1至5倍稀释而引发的。第三，在10s、1min、10min、1hr、4hr和12hr后淬灭HDX反应，并且然后通过质谱分析淬灭的蛋白质样品。对于FAPa，HDX反应在4℃、25℃和37℃下进行。对于CD33xCD3双特异性抗体构建体AMG330和抗

CD3,HDX反应在37℃下进行。为了评估在苯甲醇存在下抗体构建体的稳定性,将苯甲醇直接以0.9%的浓度添加到蛋白质样品中。对于EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体,将蛋白质样品分别透析到(a)10mM KH2PO4、2%蔗糖,4%甘露醇pH 6和(b)10mM KH2PO4,2%蔗糖,4%甘露醇,50mm柠檬酸盐pH6中。透析后将蛋白质浓度调节至1mg/mL。其次,HDX反应是通过将蛋白质样品在具有完全相同组成的相应D2O缓冲剂中进行1至5倍稀释而引发的。第三,在10s、10min、2hr、8hr、16hr、24hr后淬灭HDX反应,然后通过质谱分析淬灭的蛋白质样品。实验在25℃下进行。

[0480] 这些图显示了柠檬酸盐(在适用于苯甲醇存在的情况下)对FAPα(图6A)、其中抗CD3结构域中的肽108-112(YISYW)对应于FAPα中的肽367-370的抗CD3结构域(图6B)、其中CD33xCD3双特异性抗体构建体中的肽364-368(YISYW)对应于FAPα中的肽366-370的CD33xCD3双特异性抗体构建体(图6C)、和其中EGFRvIII双特异性抗体构建体中的肽365-369(YISYW)对应于FAPα中的肽366-370的EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体(图6D)的稳定作用。因此,可以观察到对不同BiTE分子的抗CD3结构域的CDR-H3区(YISYW)的柠檬酸盐稳定作用。对于FAPa、抗CD3和CD33xCD3双特异性抗体构建体,实验条件是相同的,稳定作用是等效的。对于EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体,如上所述,实验是在稍微不同的条件下进行的,但同样给出稳定作用。因此,显示柠檬酸盐能够在需要时在防腐剂存在下使双特异性抗体构建体稳定。

[0481] 此外,测试了柠檬酸盐和苯甲醇对FAPa、AMG 330、AMG 596和分离的CD3粘合剂本身的作用。每个检查的构建体的结果显示出类似的效果。在此处,显示柠檬酸盐和苯甲醇可能对残基366-370(YISYW)的区域具有抵消作用。图6E和6F显示了柠檬酸盐和苯甲醇的单独作用。例如,向Tris-磷酸盐的配制品(滑动圆形)添加柠檬酸盐(滑动方形)会降低该区域的构象动力学。作为比较,向Tris-磷酸盐的配制品中添加苯甲醇(滑动三角形),其增加该区域的构象动力学。图6G和6H显示了柠檬酸盐和苯甲醇的抵消作用。柠檬酸盐和苯甲醇的添加(空心菱形),构象动力学已经恢复到在Tris-磷酸盐的配制品中的构象动力学(实心圆),这表明柠檬酸盐和苯甲醇彼此抵消。因此,在双特异性抗体构建体高于防腐剂如苯甲醇可平衡的稳定作用(抗二聚作用)的情况下,柠檬酸盐可充当补充稳定剂以抵消防腐剂的去稳定化作用。

[0482] 实例7:该实例涉及低浓度双特异性抗体构建体例如BiTE®从IV输注袋中回收的改善。由于BiTE®抗体构建体的高效能,因此典型地需要低BiTE®浓度。在IV袋相容性研究期间,将EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体在0.9%(v/v)盐水溶液中稀释至极低的浓度,以通过连续静脉内输注进行施用。用于FIH临床研究的最低群剂量要求蛋白质浓度为约80ng/mL。在这种极低浓度下对EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体的回收进行的分析需要一定独创性,并且需要使用相当标准的反相色谱方法来使来自蛋白质的信号最大化。

[0483] 早期研究调查了EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建在添加和不添加包含25mM柠檬酸盐、1.25M赖氨酸和0.1%聚山梨酸酯(pH7)的静脉内稳定溶液IVSS的情况下的回收,观察到,在相同的制备方案下,来自在IVSS存在下在盐水中稀释的蛋白质的信号显著高于来自在IVSS不存在下在盐水中稀释的蛋白质的信号。这项研究利用的单一IVSS浓度为4%(v/v)。

[0484] 为了尝试理解信号的偏差,设计了一项简短的研究,以比较在从C8柱中洗脱时使

用215nm吸光度作为记录信号所记录的蛋白质峰面积。以下方案简要描述了执行的实验。将浓度为2mg/mL的EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体储备溶液在Eppendorf管中使用含有0％、1％、2％、4％、6％、8％或10％(v/v)IVSS的0.9％盐水作为稀释剂连续稀释2000倍，达到1μg/mL。使用以下稀释方案，对相同储备溶液EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体等分试样进行稀释：1:10->1:10->1:10->1:2。将50μL标称浓度为1μg/mL的每个EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体样品加载到C8柱上，并用反相色谱法洗脱。色谱图使用215nm吸光度记录。记录每个样品的峰高和峰面积以进行比较。生成的原始数据在下面的图7A中呈现。每个EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体样品的峰面积均绘制为下图2所示稀释溶液中所含％IVSS的函数。

[0485] 从图7B中可以明显看出，向盐水稀释液中添加1％(v/v)IVSS对EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体的回收具有显著影响，使EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体的回收率提高了大约250％。通过向盐水稀释液添加4％-10％(v/v)IVSS，通过洗脱峰高和峰面积评估，EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体的回收率是恒定的，这表明该分子在4％(v/v)IVSS下已获得完全回收。

[0486] 由于EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体的样品都在相同条件下制备并分析，所以盐水稀释液中的％IVSS是样品之间的唯一变量，因此有理由得出结论，加载到柱上的蛋白质的量由于蛋白质损失而在0％IVSS、1-2％IVSS和4-10％IVSS样品之间变化；大概是通过吸附到在加工过程中分子接触到的表面上。相反，EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体在IVSS溶液存在下回收率的提高可能是在加工过程中阻断EGFRvIIIxCD3双特异性抗体构建体表面吸附的结果。这种理解可以用于各种药物产品施用步骤中，以确保活性药物产品的准确递送。

[0487] 表5：序列表

[0488]

1	CD19 VL CDR1	人工的	aa	KASQSVDYDGDSYLN

[0489]

2	CD19 VL CDR2	人工的	aa	DASNLVS
3	CD19 VL CDR3	人工的	aa	QQSTEDPWT
4	CD19 VH CDR1	人工的	aa	SYWMN
5	CD19 VH CDR2	人工的	aa	QIWPGDGDTNYNGKFKG
6	CD19 VH CDR3	人工的	aa	RETTTVGRYYYAMDY
7	CD19 VL	人工的	aa	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWY QQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPV EKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIK
8	CD19 VH	人工的	aa	QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWMNWVKQ RPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTADESSST AYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDYWGQG TTVTVSS
9	CD3 VH CDR1	人工的	aa	RYTMH
10	CD3 VH CDR2	人工的	aa	YINPSRGYTNYNQKFKD
11	CD3 VH CDR3	人工的	aa	YYDDHYCLDY
12	CD3 VL CDR1	人工的	aa	RASSSVSYMN
13	CD3 VL CDR2	人工的	aa	DTSKVAS
14	CD3 VL CDR3	人工的	aa	QQWSSNPLT
15	CD3 VH	人工的	aa	DIKLQQSGAELARPGASVKMSCKTSGYTFTRYTMHWVKQ RPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQKFKDKATLTTDKSSSTAY MQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDHYCLDYWGQGTTLTVSS
16	CD3 VL	人工的	aa	VDDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQ KSGTSPKRWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEA EDAATYYCQQWSSNPLTFGAGTKLELK
17	CD19xCD3 scFv BLINCYTO 包含接头和 his-标签	人工的	aa	DIQLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYLNWY QQIPGQPPKLLIYDASNLVSGIPPRFSGSGSGTDFTLNIHPV EKVDAATYHCQQSTEDPWTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGS GGGGSQVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYAFSSYWM NWVKQRPGQGLEWIGQIWPGDGDTNYNGKFKGKATLTA DESSSTAYMQLSSLASEDSAVYFCARRETTTVGRYYYAMDY WGQGTTVTVSSGGGGSDIKLQQSGAELARPGASVKMSCK TSGYTFTRYTMHWVKQRPGQGLEWIGYINPSRGYTNYNQ KFKDKATLTTDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARYYDDH YCLDYWGQGTTLTVSSVEGGSGGSGGSGGSGGVDDIQLT QSPAIMSASPGEKVTMTCRASSSVSYMNWYQQKSGTSPK RWIYDTSKVASGVPYRFSGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYY CQQWSSNPLTFGAGTKLELKHHHHHH
18	CDR-L1 I2C	人工的	aa	GSSTGAVTSGNYPN
19	CDR-L2 I2C	人工的	aa	GTKFLAP
20	CDR-L3 I2C	人工的	aa	VLWYSNRWV
21	CDR-H1 I2C	人工的	aa	KYAMN
22	CDR-H2 I2C	人工的	aa	RIRSKYNNYATYYADSVKD
23	CDR-H3 I2C	人工的	aa	HGNFGNSYISYWAY
24	VH I2C	人工的	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQ

[0490]

				APGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSS
25	VL I2C	人工的	aa	QTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
26	VH-VL I2C	人工的	aa	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
27	CD33 ccVH E11	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSS
28	CD33 VH E11	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSS
29	CD33 HCDR1 E11	人工的	aa	NYGMN
30	CD33 HCDR2 E11	人工的	aa	WINTYTGEPTYADKFQG
31	CD33 HCDR3 E11	人工的	aa	WSWSDGYYVYFDY
32	CD33 CC VL E11	人工的	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGCGTRLEIK
33	CD33 VL E11	人工的	aa	DIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIK
34	CD33 LCDR1 E11	人工的	aa	KSSQSVLDSSTNKNSLA
35	CD33 LCDR2 E11	人工的	aa	WASTRES
36	CD33 LCDR3 E11	人工的	aa	QQSAHFPIT
37	CD33 HL CC E11	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGCGTRLEIK
38	CD33 HL E11	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIK

[0491]

39	CD33 CC E11 HL x I2C HL 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTST STAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQ GTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLG ERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSW ASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSA HFPITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKL SCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC VRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
40	CD33 E11 HL x I2C HL	人工的	aa	MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGESVKVS CKASGYTFTNYGMNWVKQAPGQGLEWMGWINTYTGEP TYADKFQGRVTMTTDTSTSTAYMEIRNLGGDDTAVYYCAR WSWSDGYYVYFDYWGQGTSVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSDIVMTQSPDSLTVSLGERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLA WYQQKPGQPPKLLLSWASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTI DSPQPEDSATYYCQQSAHFPITFGQGTRLEIKSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL TCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVLHHHHHH
41	CD33 CC x I2C-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGESVKVSCKASGYTFTNYGMNWVK QAPGQCLEWMGWINTYTGEPTYADKFQGRVTMTTDTST STAYMEIRNLGGDDTAVYYCARWSWSDGYYVYFDYWGQ GTSVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLTVSLG ERTTINCKSSQSVLDSSTNKNSLAWYQQKPGQPPKLLLSW ASTRESGIPDRFSGSGSGTDFTLTIDSPQPEDSATYYCQQSA HFPITFGCGTRLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKL SCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNY ATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYC VRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSG GGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPN WVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALT LSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK

[0492]

42	EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR1	人工的	aa	NYGMH
43	EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR2	人工的	aa	VIWYDGSDKYYADSVRG
44	EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR3	人工的	aa	DGYDILTGNPRDFDY
45	EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR1	人工的	aa	RSSQSLVHSDGNTYLS
46	EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR2	人工的	aa	RISRRFS
47	EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR3	人工的	aa	MQSTHVPRT
48	EGFRvIII_CCxCD3-scFc VH	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSS
49	EGFRvIII_CCxCD3-scFc VL	人工的	aa	DTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK
50	EGFRvIII_CCxCD3-scFc scFv	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIK
51	EGFRvIII_CCxCD3-scFc 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
52	EGFRvIII_CCxCD3-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQSGRSLRLSCAASGFTFRNYGMHWVRQAPGKCLEWVAVIWYDGSDKYYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGYDILTGNPRDFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDTVMTQTPLSSHVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLLIYRISRRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLEISRVEAEDVGVYYCMQSTHVPRTFGCGTKVEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT

[0493]

				YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
53	MSLN_5 VH CDR1	人工的	aa	DYYMT
54	MSLN_5 VH CDR2	人工的	aa	YISSSGSTIYYADSVKG
55	MSLN_5 VH CDR3	人工的	aa	DRNSHFDY
56	MSLN_5 VL CDR1	人工的	aa	RASQGINTWLA
57	MSLN_5 VL CDR2	人工的	aa	GASGLQS
58	MSLN_5 VL CDR3	人工的	aa	QQAKSFPRT
59	MSLN _5 VH	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQ MNSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSS
60	MSLN_5 VL	人工的	aa	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGINTWLAWYQQK PGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE DFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIK
61	MSLN_5 scFv	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQ MNSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIK
62	MSLN_5xI2C0 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQ MNSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL

					WYSNRWVFGGGTKLTVL
[0494]	63	MSLN_5xCD3-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMTWIRQA PGKGLEWLSYISSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLFLQ MNSLRAEDTAVYYCARDRNSHFDYWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ GINTWLAWYQQKPGKAPKLLIYGASGLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAKSFPRTFGQGTKVEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL WYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYR CVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	64	MSLN_5_CCxCD3-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMSWIRQA PGKCLEWFSYISSSGGIIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLRAEDTAVYYCARDVGSHFDYWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQ DISRWLAWYQQKPGKAPKLLISAASRLQSGVPSRFSGSGS GTDFTLTISSLQPEDFAIYYCQQAKSFPRTFGCGTKVEIKSG GGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMN WVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRD DSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTV SPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIG GTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVL WYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYR CVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	65	CDR-H1 CDH19	人工的	aa	SYGMH

[0495]

	65254.007			
66	CDR-H2 CDH19 65254.007	人工的	aa	FIWYEGSNKYYAESVKD
67	CDR-H3 CDH19 65254.007	人工的	aa	RAGIIGTIGYYYGMDV
68	CDR-L1 CDH19 65254.007	人工的	aa	SGDRLGEKYTS
69	CDR-L2 CDH19 65254.007	人工的	aa	QDTKRPS
70	CDR-L3 CDH19 65254.007	人工的	aa	QAWESSTVV
71	VH CDH19 65254.007	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
72	VL CDH19 65254.007	人工的	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPG QSPLLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWESSTVVFGGGTKLTVLS
73	VH-VL CDH19 65254.007	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GGGTKLTVLS
74	CDH19 65254.007 x I2C	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQK PGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLHHHHHH
75	CDH19 65254.007 x I2C -scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ

[0496]

				TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQK PGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
76	CDH19 65254.007 x I2C -scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKGLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GGGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQK PGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPC EEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
77	CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc VH	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSS
78	CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc VL	人工的	aa	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPG QSPLLVIYQDTKRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDE ADYYCQAWESSTVVFGCGTKLTVL
79	CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc scFv	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI

[0497]

				PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GCGTKLTVL
80	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GCGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQK PGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
81	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GCGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQK PGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
82	CDH19 65254.007_C C x I2C -scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVR QAPGKCLEWVAFIWYEGSNKYYAESVKDRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARRAGIIGTIGYYYGMDVWGQ GTTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSSYELTQPPSVSVSPGQ TASITCSGDRLGEKYTSWYQQRPGQSPLLVIYQDTKRPSGI PERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWESSTVVF GCGTKLTVLSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS GFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYA DSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGN FGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ TVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQK PGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQP EDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPP

[0498]

				CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPC EEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
83	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR1	人工的	aa	NARMGVS
84	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR2	人工的	aa	HIFSNDEKSYSTSLKN
85	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR3	人工的	aa	IVGYGSGWYGFFDY
86	FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR1	人工的	aa	RASQGIRNDLG
87	FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR2	人工的	aa	AASTLQS
88	FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR3	人工的	aa	LQHNSYPLT
89	FLT3_7 A8xCD3-scFc VH	人工的	aa	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVT VSS
90	FLT3_ A8-scFc VL	人工的	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKP GKAPKRLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDF ATYYCLQHNSYPLTFGCGTKVEIK
91	FLT3_7 A8xCD3-scFv	人工的	aa	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGCGTKV EIK
92	FLT3_7 A8xCD3 双特异性分子	人工的	aa	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGCGTKV EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY

[0499]

				WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
93	FLT3_7 A8xCD3-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVTLKESGPTLVKPTETLTLTCTLSGFSLNNARMGVSWIRQ PPGKCLEWLAHIFSNDEKSYSTSLKNRLTISKDSSKTQVVLT MTNVDPVDTATYYCARIVGYGSGWYGFFDYWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTIT CRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASTLQSGVPSRF SGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCLQHNSYPLTFGCGTKV EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
94	VH CDR1 DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	SYYWS
95	VH CDR2 DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	YVYYSGTTNYNPSLKS
96	VH CDR3 DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	IAVTGFYFDY
97	VL CDR1 DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	RASQRVNNNYLA
98	VL CDR2 DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	GASSRAT
99	VL CDR3 DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	QQYDRSPLT
100	VH DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSS
101	VL DLL3_1_CC_ delGK	人工的	aa	EIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVNNNYLAWYQQRP GQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK

[0500]

102	DLL3_1_CC_delGK	人工的	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVN NNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIK
103	DLL3_1_CCxCD3_delGK双特异性分子	人工的	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVN NNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVL
104	DLL3_1_CCxCD3-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPP GKCLEWIGYVYYSGTTNYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLS SVTAADTAVYYCASIAVTGFYFDYWGQGTLVTVSSGGGGS GGGGSGGGGSEIVLTQSPGTLSLSPGERVTLSCRASQRVN NNYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGT DFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYDRSPLTFGCGTKLEIKSGGG GSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWV RQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYW GQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSP GGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGT KFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWY SNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
105	VH CDR1 CD19 97-G1RE-C2	人工的	aa	SYGMH
106	VH CDR2 CD19 97-G1RE-C2	人工的	aa	VISYEGSNKYYAESVKG
107	VH CDR3 CD19 97-G1RE-C2	人工的	aa	DRGTIFGNYGLEV

[0501]

108	VH CD19 97-G1RE-C2 CC	人工的	aa	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQ APGKCLEWVAVISYEGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYL QMNSLRDEDTAVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGQGTTVTV SS
109	VL CDR1 CD19 97-G1RE-C2	人工的	aa	RSSQSLLHKNAFNYLD
110	VL CDR2 CD19 97-G1RE-C2	人工的	aa	LGSNRAS
111	VL CDR3 CD19 97-G1RE-C2	人工的	aa	MQALQTPFT
112	VL CD19 97-G1RE-C2 CC	人工的	aa	DIVMTQSPLSLPVISGEPASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYL QKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE AEDVGVYYCMQALQTPFTFGCGTKVDIK
113	CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0	人工的	aa	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIVMTQSPLSLPVISGEP ASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT PFTFGCGTKVDIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAV ISYEGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDT AVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGQGTTVTVSSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL TCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVL
114	CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0-scFc	人工的	aa	MDMRVPAQLLGLLLLWLRGARCDIVMTQSPLSLPVISGEP ASISCRSSQSLLHKNAFNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNR ASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQT PFTFGCGTKVDIKGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKCLEWVAV ISYEGSNKYYAESVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRDEDT AVYYCARDRGTIFGNYGLEVWGQGTTVTVSSGGGGSEVQ LVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYAMNWVRQAPG KGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDSKNTAYL QMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISYWAYWGQGTLV TVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTL TCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPRGLIGGTKFLAPG TPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYCVLWYSNRWV FGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKG GGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY

[0502]

				TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
115	VH CDR1 CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	SYPIN
116	VH CDR2 CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	VIWTGGGTNYASSVKG
117	VH CDR3 CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	SRGVYDFDGRGAMDY
118	VL CDR1 CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	KSSQSLLYSSNQKNYFA
119	VL CDR2 CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	WASTRES
120	VL CDR3 CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	QQYYSYPYT
121	VH CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGT LVTVSS
122	VL CDH3 G8A 6-B12	人工的	aa	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAW YQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS LQAEDVAVYYCQQYYSYPYTFGQGTKLEIK
123	CDH3 G8A 6-B12 scFv	人工的	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGER ATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSY PYTFGQGTKLEIK
124	CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 双特异性分子	人工的	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGER ATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSY PYTFGQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
125	CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 双特异性分子 HLE	人工的	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSSYPINWVRQAP GKGLEWVGVIWTGGGTNYASSVKGRFTISRDNSKNTVYL QMNSLRAEDTAVYYCAKSRGVYDFDGRGAMDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPDSLAVSLGER ATINCKSSQSLLYSSNQKNYFAWYQQKPGQPPKLLIYWAST

[0503]

				RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSY PYTFGQGTKLEIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSC AASGFTFNKYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYAT YYADSVKDRFTISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVR HGNFGNSYISYWAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQTVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWV QQKPGQAPRGLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSG VQPEDEAEYYCVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLT VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA KTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	126	BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VH	人工的	aa	NHIIH
	127	BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VH	人工的	aa	YINPYPGYHAYNEKFQG
	128	BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VH	人工的	aa	DGYYRDTDVLDY
	129	BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VL	人工的	aa	QASQDISNYLN
	130	BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VL	人工的	aa	YTSRLHT
	131	BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VL	人工的	aa	QQGNTLPWT
	132	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VH	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SS
	133	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VL	人工的	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDISNYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSLEPEDIA TYYCQQGNTLPWTFGCGTKLEIK
	134	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) scFv	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSG SGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGCGTKLEI K
	135	BCMA A7	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA

[0504]

	27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0 双特异性分子			PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSG SGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGCGTKLEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
136	BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0-scFc 双特异性分子 HLE	人工的	aa	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNHIIHWVRQA PGQCLEWMGYINPYPGYHAYNEKFQGRATMTSDTSTSTV YMELSSLRSEDTAVYYCARDGYYRDTDVLDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC QASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLHTGVPSRFSG SGSGTDFTFTISSLEPEDIATYYCQQGNTLPWTFGCGTKVEI KSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
137	PM 76-B10.17 CC VH CDR1	人工的	aa	DYYMY
138	PM 76-B10.17 CC VH CDR2	人工的	aa	IISDAGYYTYYSDIIKG
139	PM 76-B10.17 CC VH CDR3	人工的	aa	GFPLLRHGAMDY
140	PM 76-B10.17 CC VL CDR1	人工的	aa	KASQNVDANVA
141	PM 76-B10.17 CC VL CDR2	人工的	aa	SASYVYW
142	PM	人工的	aa	QQYDQQLIT

[0505]

	76-B10.17 CC VL CDR3			
143	PM 76-B10.17 CC VH	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS
144	PM 76-B10.17 CC VL	人工的	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDANVAWYQQK PGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSE DFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK
145	PM 76-B10.17 CC scFv	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IK
146	PM 76-B10.17 CC x I2C0 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
147	PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0506]

148	PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
149	PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL
150	PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN

[0507]

				GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
151	PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDAGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDANVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
152	PM 76-B10.11 CC VH CDR1	人工的	aa	DYYMY
153	PM 76-B10.11 CC VH CDR2	人工的	aa	IISDGGYYTYYSDIIKG
154	PM 76-B10.11 CC VH CDR3	人工的	aa	GFPLLRHGAMDY
155	PM 76-B10.11 CC VL CDR1	人工的	aa	KASQNVDTNVA
156	PM 76-B10.11 CC VL CDR2	人工的	aa	SASYVYW
157	PM 76-B10.11 CC VL CDR3	人工的	aa	QQYDQQLIT

[0508]

158	PM 76-B10.11 CC VH	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SS
159	PM 76-B10.11 CC VL	人工的	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQK PGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSE DFATYYCQQYDQQLITFGGGTKLEIK
160	PM 76-B10.11 CC scFv	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIK
161	PM 76-B10.11 CC x I2C0 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
162	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
163	PM	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ

[0509]

	76-B10.11 CC x I2C0-scFc_de lGK 双特异性 HLE 分子			APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
164	PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL
165	PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE

[0510]

				MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
166	PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKGLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYL QMNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTV SSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRF SGSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGGGTKL EIKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKY AMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRF TISRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
167	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR1	人工的	aa	DYYMY
168	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR2	人工的	aa	IISDGGYYTYYSDIIKG
169	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR3	人工的	aa	GFPLLRHGAMDY
170	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL	人工的	aa	KASQNVDTNVA

	CDR1			
171	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR2	人工的	aa	SASYVYW
172	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR3	人工的	aa	QQYDQQLIT
173	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS
174	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL	人工的	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQQK PGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFSGSASGTDFTLTISSVQSE DFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLEIK
175	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc scFv	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IK
[0511] 176	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 双特异性分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVL
177	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN

[0512]

				WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	178	PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc_de lGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQAPR GLIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYY CVLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	179	PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scF c 双特异性分子	人工的	aa QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVL
	180	PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scF	人工的	aa QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK

		c 双特异性 HLE 分子			ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG GGSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGS TYRCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
[0513]	181	PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子	人工的	aa	QVQLVESGGGLVKPGESLRLSCAASGFTFSDYYMYWVRQ APGKCLEWVAIISDGGYYTYYSDIIKGRFTISRDNAKNSLYLQ MNSLKAEDTAVYYCARGFPLLRHGAMDYWGQGTLVTVSS GGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCK ASQNVDTNVAWYQQKPGQAPKSLIYSASYVYWDVPSRFS GSASGTDFTLTISSVQSEDFATYYCQQYDQQLITFGCGTKLE IKSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFNKYA MNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTI SRDDSKNTAYLQMNNLKTEDTAVYYCVRHGNFGNSYISY WAYCGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQTVVTQEPS LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTSGNYPNWVQQKPGQCPRG LIGGTKFLAPGTPARFSGSLLGGKAALTLSGVQPEDEAEYYC VLWYSNRWVFGGGTKLTVLGGGGDKTHTCPPCPAPELLG GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTYRCVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGG SDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPCEEQYGSTY RCVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

序列表

<110> 美商安进公司
<120> 用于改善的储存和施用的包含双特异性抗体构建体的药物组合物
<130> 32243/51930A
<150> US 62/502,578
<151> 2017-05-05
<160> 181
<170> PatentIn 版本 3.5
<210> 1
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VL CDR1
<400> 1
Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp Gly Asp Ser Tyr Leu Asn
1 5 10 15
<210> 2
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VL CDR2
<400> 2
Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser
1 5
<210> 3
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VL CDR3
<400> 3
Gln Gln Ser Thr Glu Asp Pro Trp Thr
1 5
<210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征

[0001]

<223> CD19 VH CDR1
<400> 4
Ser Tyr Trp Met Asn
1 5
<210> 5
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VH CDR2
<400> 5
Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
[0002] <221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VH CDR3
<400> 6
Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 7
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VL
<400> 7
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
20 25 30
Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser Gly Ile Pro Pro
50 55 60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80
Pro Val Glu Lys Val Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr
85 90 95

Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 8
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 VH
<400> 8

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Gln Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe
50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp
100 105 110

[0003]

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 9
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VH CDR1
<400> 9

Arg Tyr Thr Met His
1 5

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VL CDR2
<400> 10

Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 11
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VH CDR3
<400> 11
Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 12
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VL CDR1
<400> 12
Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn
1 5 10

[0004]

<210> 13
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VL CDR2
<400> 13
Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser
1 5
<210> 14
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VL CDR3
<400> 14
Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
1 5
<210> 15
<211> 119

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VH
<400> 15

Asp Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr
20 25 30
Thr Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60
Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 16
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD3 VL
<400> 16

Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser
1 5 10 15
Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser
20 25 30
Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Arg Trp
35 40 45
Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly Val Pro Tyr Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu
65 70 75 80
Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 17
<211> 504
<212> PRT
<213> 人工序列

[0005]

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19xCD3 scFv BLINCYTO 包括接头和 his-标签
<400> 17

[0006]

```
Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1               5                  10                  15
Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Val Asp Tyr Asp
            20                  25                  30
Gly Asp Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Ile Pro Gly Gln Pro Pro
        35                  40                  45
Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Val Ser Gly Ile Pro Pro
    50                  55                  60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65                  70                  75                  80
Pro Val Glu Lys Val Asp Ala Ala Thr Tyr His Cys Gln Gln Ser Thr
                85                  90                  95
Glu Asp Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gly
            100                 105                 110
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
        115                 120                 125
Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Arg Pro Gly Ser Ser Val
    130                 135                 140
Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Ser Ser Tyr Trp Met
145                 150                 155                 160
Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly Gln
                165                 170                 175
Ile Trp Pro Gly Asp Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gly Lys Phe Lys Gly
            180                 185                 190
Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met Gln
        195                 200                 205
Leu Ser Ser Leu Ala Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg
    210                 215                 220
Arg Glu Thr Thr Thr Val Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
225                 230                 235                 240
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
                245                 250                 255
Ile Lys Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Ala Arg Pro Gly Ala Ser
            260                 265                 270
Val Lys Met Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Arg Tyr Thr
        275                 280                 285
Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
    290                 295                 300
Tyr Ile Asn Pro Ser Arg Gly Tyr Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
305                 310                 315                 320
Asp Lys Ala Thr Leu Thr Thr Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr Met
                325                 330                 335
Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
            340                 345                 350
Arg Tyr Tyr Asp Asp His Tyr Cys Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
```

Thr Leu Thr Val Ser Ser Val Glu Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380
Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Asp Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro
385 390 395 400
Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg
405 410 415
Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly
420 425 430
Thr Ser Pro Lys Arg Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Val Ala Ser Gly
435 440 445
Val Pro Tyr Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu
450 455 460
Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln
465 470 475 480
Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu
485 490 495
Leu Lys His His His His His His
500

<210> 18
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-L1 I2C

[0007]

<400> 18
Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
1 5 10
<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-L2 I2C
<400> 19
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro
1 5
<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-L3 I2C
<400> 20

Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
1 5
<210> 21
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-H1 I2C
<400> 21
Lys Tyr Ala Met Asn
1 5
<210> 22
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-H2 I2C
<400> 22
Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15
[0008] Val Lys Asp

<210> 23
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-H3 I2C
<400> 23
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr
1 5 10
<210> 24
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH I2C
<400> 24
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 Ser
115 120 125

<210> 25
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL I2C
<400> 25

[0009]

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> 26
<211> 249
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH-VL I2C
<400> 26

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 Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
130 135 140
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
145 150 155 160
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
165 170 175
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
180 185 190
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
195 200 205
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
210 215 220
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
225 230 235 240
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
245

[0010]

<210> 27
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 ccVH E11
<400> 27
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val 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 Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 28
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 VH E11
<400> 28

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val 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 Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

[0011]

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 HCDR1 E11
<400> 29

Asn Tyr Gly Met Asn
1 5

<210> 30
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 HCDR2 E11
<400> 30

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 31
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 HCDR3 E11
<400> 31
Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 32
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 CCVL E11
<400> 32
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

[0012]

Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser
20 25 30
Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Ser Ala His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 33
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 VL E11
<400> 33
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser
20 25 30
Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Ser Ala His Phe Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 LCDR1 E11
<400> 34
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
1 5 10 15
Ala

[0013]

<210> 35
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 LCDR2 E11
<400> 35
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5
<210> 36
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 LCDR3 E11
<400> 36
Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
1 5

[0014]

<210> 37
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 HL CC E11
<400> 37

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val 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 Gln Cys Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
    130                 135                 140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145                 150                 155                 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
                165                 170                 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
            180                 185                 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
        195                 200                 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
    210                 215                 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225                 230                 235                 240
Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
                245                 250
```

<210> 38
<211> 250
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 HL E11
<400> 38

[0015]

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val 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 Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
130 135 140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145 150 155 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
165 170 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
180 185 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
195 200 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
210 215 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225 230 235 240
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
245 250

<210> 39
<211> 505
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 CC E11 HL x I2C HL 双特异性分子
<400> 39
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val 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 Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

[0016]

```
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
    130                 135                 140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145                 150                 155                 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
                165                 170                 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
            180                 185                 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
        195                 200                 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
    210                 215                 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225                 230                 235                 240
Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
                245                 250                 255
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
            260                 265                 270
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
        275                 280                 285
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
    290                 295                 300
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
        355                 360                 365
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385                 390                 395                 400
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
                405                 410                 415
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
            420                 425                 430
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
        435                 440                 445
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
    450                 455                 460
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465                 470                 475                 480
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
                485                 490                 495
```

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
500 505

<210> 40
<211> 530
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 E11 HL x I2C HL
<400> 40

[0017]

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
20 25 30
Pro Gly Glu Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45
Thr Asn Tyr Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala
65 70 75 80
Asp Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser
85 90 95
Thr Ala Tyr Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe
115 120 125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
130 135 140
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met
145 150 155 160
Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr
165 170 175
Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys
180 185 190
Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu
195 200 205
Leu Leu Ser Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe
210 215 220
Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro
225 230 235 240
Gln Pro Glu Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe
245 250 255
Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly
260 265 270
Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
275 280 285
Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
290 295 300
Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
305 310 315 320

Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr
325 330 335
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser
340 345 350
Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr
355 360 365
Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile
370 375 380
Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
385 390 395 400
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln
405 410 415
Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr
420 425 430
Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn
435 440 445
Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu
450 455 460
Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser
465 470 475 480
Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln
485 490 495
Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg
500 505 510
Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu His His His His
515 520 525

[0018]

His His
530

<210> 41
<211> 993
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD33 CC x I2C-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 41
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Val Lys Val 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 Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Ile Arg Asn Leu Gly Gly Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Trp Ser Trp Ser Asp Gly Tyr Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

[0019]

```
Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser
    130                 135                 140
Pro Asp Ser Leu Thr Val Ser Leu Gly Glu Arg Thr Thr Ile Asn Cys
145                 150                 155                 160
Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Asp Ser Ser Thr Asn Lys Asn Ser Leu
                165                 170                 175
Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Leu Ser
            180                 185                 190
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
        195                 200                 205
Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asp Ser Pro Gln Pro Glu
    210                 215                 220
Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ala His Phe Pro Ile Thr
225                 230                 235                 240
Phe Gly Cys Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser
                245                 250                 255
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
            260                 265                 270
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr
        275                 280                 285
Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
    290                 295                 300
Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp
305                 310                 315                 320
Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
                325                 330                 335
Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
            340                 345                 350
Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp
        355                 360                 365
Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val
385                 390                 395                 400
Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu
                405                 410                 415
Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn
            420                 425                 430
Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly
        435                 440                 445
Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu
    450                 455                 460
Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp
465                 470                 475                 480
Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe
                485                 490                 495
Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr
            500                 505                 510
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
        515                 520                 525
```

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
530 535 540
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
545 550 555 560
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
565 570 575
Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val
580 585 590
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
595 600 605
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
610 615 620
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
625 630 635 640
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
645 650 655
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
660 665 670
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
675 680 685
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
690 695 700
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
705 710 715 720
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
725 730 735

[0020]

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
740 745 750
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys
755 760 765
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
770 775 780
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
785 790 795 800
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
805 810 815
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
820 825 830
Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
835 840 845
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
850 855 860
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
865 870 875 880
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
885 890 895
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
900 905 910
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
915 920 925
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
930 935 940

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
945 950 955 960
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
965 970 975
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
980 985 990
Lys

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR1
<400> 42
Asn Tyr Gly Met His
1 5
<210> 43
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR2
<400> 43
Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Arg
1 5 10 15
Gly

<210> 44
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIIIxCD3-scFc VH CDR3
<400> 44
Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 45
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

[0021]

[0022]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR1
<400> 45
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser
1 5 10 15
<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR2
<400> 46
Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser
1 5
<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIIIxCD3-scFc VL CDR3
<400> 47
Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg Thr
1 5
<210> 48
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIII_CCxCD3-scFc VH
<400> 48
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 49
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIII_CCxCD3-scFc VL
<400> 49
Asp Thr Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly
1 5 10 15
Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30
Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro
35 40 45
Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser
85 90 95
[0023] Thr His Val Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110
<210> 50
<211> 251
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIII_CCxCD3-scFc scFv
<400> 50
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140
Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175
Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190
Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205
Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225 230 235 240
Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
245 250

<210> 51
<211> 506
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIII_CCxCD3-scFc 双特异性分子

[0024]

<400> 51
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
130 135 140
Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145 150 155 160
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
165 170 175
Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
180 185 190

[0025]

Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205
Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
210 215 220
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225 230 235 240
Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
260 265 270
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
275 280 285
Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
290 295 300
Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305 310 315 320
Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
325 330 335
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
340 345 350
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
355 360 365
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385 390 395 400
Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
405 410 415
Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
420 425 430
Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
435 440 445
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
450 455 460
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465 470 475 480
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
485 490 495
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
500 505

<210> 52
<211> 994
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> EGFRvIII_CCxCD3-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 52
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ser Gly Arg
1 5 10 15

[0026]

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asn Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Asn Pro Arg Asp Phe Asp
            100                 105                 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Thr Val Met Thr
    130                 135                 140
Gln Thr Pro Leu Ser Ser His Val Thr Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160
Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asp Gly Asn Thr Tyr
                165                 170                 175
Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile
            180                 185                 190
Tyr Arg Ile Ser Arg Arg Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205
Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Glu Ile Ser Arg Val Glu Ala
    210                 215                 220
Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Thr His Val Pro Arg
225                 230                 235                 240
Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285
Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300
Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320
Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400
Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415
Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430
```

[0027]

```
Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
        435                 440                 445
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys
            500                 505                 510
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
        515                 520                 525
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
    530                 535                 540
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545                 550                 555                 560
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
                565                 570                 575
Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
            580                 585                 590
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
        595                 600                 605
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
    610                 615                 620
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625                 630                 635                 640
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
                645                 650                 655
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
            660                 665                 670
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
        675                 680                 685
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
    690                 695                 700
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705                 710                 715                 720
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                725                 730                 735
Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
        755                 760                 765
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
    770                 775                 780
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
785                 790                 795                 800
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
                805                 810                 815
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
            820                 825                 830
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
        835                 840                 845
```

Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
850 855 860
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
865 870 875 880
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
885 890 895
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
900 905 910
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
915 920 925
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
930 935 940
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
945 950 955 960
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
965 970 975
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
980 985 990
Gly Lys

<210> 53
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0028] <223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VH CDR1
<400> 53
Asp Tyr Tyr Met Thr
1 5
<210> 54
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VH CDR2
<400> 54
Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 55
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

[0029]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VH CDR3
<400> 55
Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr
1 5
<210> 56
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VL CDR1
<400> 56
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Thr Trp Leu Ala
1 5 10
<210> 57
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VL CDR2
<400> 57
Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser
1 5
<210> 58
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VL CDR3
<400> 58
Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Arg Thr
1 5
<210> 59
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN _5 VH
<400> 59

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 60
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 VL
<400> 60

[0030]

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Asn Thr Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 61
<211> 239
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5 scFv
<400> 61

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

[0031]

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
    130                 135                 140
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
145                 150                 155                 160
Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
                165                 170                 175
Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
            180                 185                 190
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys
    210                 215                 220
Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
225                 230                 235
<210> 62
<211> 494
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5xI2C0 双特异性分子
<400> 62
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
```

[0032]

```
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
    130                 135                 140
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
145                 150                 155                 160
Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
                165                 170                 175
Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
            180                 185                 190
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys
    210                 215                 220
Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
225                 230                 235                 240
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
                245                 250                 255
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
            260                 265                 270
Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
        275                 280                 285
Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala
    290                 295                 300
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
305                 310                 315                 320
Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu
                325                 330                 335
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser
            340                 345                 350
Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
        355                 360                 365
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380
Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
385                 390                 395                 400
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser
                405                 410                 415
Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
            420                 425                 430
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg
        435                 440                 445
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly
    450                 455                 460
Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser
465                 470                 475                 480
Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                485                 490
<210> 63
<211> 982
<212> PRT
<213> 人工序列
```

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5xCD3-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 63

[0033]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Thr Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
        35                  40                  45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Phe
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Arg Asn Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
    130                 135                 140
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly
145                 150                 155                 160
Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
                165                 170                 175
Lys Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
            180                 185                 190
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys
    210                 215                 220
Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
225                 230                 235                 240
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
                245                 250                 255
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
            260                 265                 270
Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
        275                 280                 285
Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala
    290                 295                 300
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
305                 310                 315                 320
Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu
                325                 330                 335
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser
            340                 345                 350
Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
        355                 360                 365
```

[0034]

```
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380
Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
385                 390                 395                 400
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser
                405                 410                 415
Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
            420                 425                 430
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg
        435                 440                 445
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly
    450                 455                 460
Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser
465                 470                 475                 480
Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
                485                 490                 495
Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
            500                 505                 510
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
        515                 520                 525
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
    530                 535                 540
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
545                 550                 555                 560
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser
                565                 570                 575
Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
            580                 585                 590
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
        595                 600                 605
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
    610                 615                 620
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
625                 630                 635                 640
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
                645                 650                 655
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
            660                 665                 670
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
        675                 680                 685
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
    690                 695                 700
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
705                 710                 715                 720
Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        755                 760                 765
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    770                 775                 780
```

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
785 790 795 800
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
805 810 815
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly
820 825 830
Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
835 840 845
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
850 855 860
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
865 870 875 880
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
885 890 895
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
900 905 910
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
915 920 925
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
930 935 940
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
945 950 955 960
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
965 970 975
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

[0035]

<210> 64
<211> 982
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> MSLN_5_CCxCD3-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 64
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His
20 25 30
Tyr Met Ser Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Phe
35 40 45
Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Val Gly Ser His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

[0036]

```
Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser
    130                 135                 140
Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp
145                 150                 155                 160
Ile Ser Arg Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro
                165                 170                 175
Lys Leu Leu Ile Ser Ala Ala Ser Arg Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
            180                 185                 190
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
        195                 200                 205
Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Lys
    210                 215                 220
Ser Phe Pro Arg Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser
225                 230                 235                 240
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
                245                 250                 255
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
            260                 265                 270
Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
        275                 280                 285
Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala
    290                 295                 300
Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
305                 310                 315                 320
Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu
                325                 330                 335
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser
            340                 345                 350
Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
        355                 360                 365
Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    370                 375                 380
Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly
385                 390                 395                 400
Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser
                405                 410                 415
Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
            420                 425                 430
Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg
        435                 440                 445
Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly
    450                 455                 460
Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser
465                 470                 475                 480
Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly
                485                 490                 495
Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
            500                 505                 510
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
        515                 520                 525
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
    530                 535                 540
```

[0037]

```
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
545                 550                 555                 560
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser
                565                 570                 575
Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
            580                 585                 590
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
        595                 600                 605
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
    610                 615                 620
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
625                 630                 635                 640
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
                645                 650                 655
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
            660                 665                 670
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
        675                 680                 685
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
    690                 695                 700
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
705                 710                 715                 720
Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        755                 760                 765
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    770                 775                 780
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
785                 790                 795                 800
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
                805                 810                 815
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly
            820                 825                 830
Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
        835                 840                 845
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
    850                 855                 860
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
865                 870                 875                 880
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
                885                 890                 895
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
            900                 905                 910
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
        915                 920                 925
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
    930                 935                 940
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
945                 950                 955                 960
```

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
965 970 975
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 65
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-H1 CDH19 65254.007
<400> 65
Ser Tyr Gly Met His
1 5
<210> 66
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-H2 CDH19 65254.007
<400> 66

[0038]

Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15
Asp

<210> 67
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-H3 CDH19 65254.007
<400> 67
Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10 15
<210> 68
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-L1 CDH19 65254.007
<400> 68

Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser
1 5 10
<210> 69
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-L2 CDH19 65254.007
<400> 69
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser
1 5
<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDR-L3 CDH19 65254.007
<400> 70
Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val
1 5

[0039]

<210> 71
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDH19 65254.007
<400> 71
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 72
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDH19 65254.007
<400> 72

```
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1               5                  10                  15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr
            20                  25                  30
Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr
        35                  40                  45
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
    50                  55                  60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65                  70                  75                  80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val
                85                  90                  95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser
            100                 105
```

<210> 73
<211> 247
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH-VL CDH19 65254.007
<400> 73

[0040]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
    130                 135                 140
```

Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145 150 155 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
180 185 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
195 200 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
210 215 220
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser
245

<210> 74
<211> 507
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH19 65254.007 x I2C
<400> 74

[0041]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145 150 155 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
180 185 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
195 200 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
210 215 220

[0042]

Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly
225 230 235 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495
Lys Leu Thr Val Leu His His His His His His
500 505

<210> 75
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH19 65254.007 x I2C -scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 75
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

[0043]

```
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
    130                 135                 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
                165                 170                 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
            180                 185                 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
        195                 200                 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
    210                 215                 220
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
            260                 265                 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
    290                 295                 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305                 310                 315                 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
                325                 330                 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
            340                 345                 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385                 390                 395                 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
                405                 410                 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
            420                 425                 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
        435                 440                 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
    450                 455                 460
```

[0044]

```
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
                485                 490                 495
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            500                 505                 510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        515                 520                 525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
    530                 535                 540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545                 550                 555                 560
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                565                 570                 575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
            580                 585                 590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        595                 600                 605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    610                 615                 620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625                 630                 635                 640
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                645                 650                 655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            660                 665                 670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        675                 680                 685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
    690                 695                 700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705                 710                 715                 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        755                 760                 765
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
    770                 775                 780
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785                 790                 795                 800
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
                805                 810                 815
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            820                 825                 830
Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
        835                 840                 845
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
    850                 855                 860
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865                 870                 875                 880
```

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 76
<211> 987
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH19 65254.007 x I2C -scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 76

[0045]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145 150 155 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
180 185 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
195 200 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
210 215 220

[0046]

```
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Gly Gly
225                 230                 235                 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
            260                 265                 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
    290                 295                 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305                 310                 315                 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
                325                 330                 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
            340                 345                 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385                 390                 395                 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
                405                 410                 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
            420                 425                 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
        435                 440                 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
    450                 455                 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
                485                 490                 495
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            500                 505                 510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        515                 520                 525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
    530                 535                 540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545                 550                 555                 560
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                565                 570                 575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
            580                 585                 590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        595                 600                 605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    610                 615                 620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625                 630                 635                 640
```

[0047]

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
645 650 655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
660 665 670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
675 680 685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
690 695 700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705 710 715 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
725 730 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
740 745 750
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
755 760 765
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
770 775 780
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
785 790 795 800
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
805 810 815
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
820 825 830
Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
835 840 845
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
850 855 860
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
865 870 875 880
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
885 890 895
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
900 905 910
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 77
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc VH
<400> 77
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125
<210> 78
<211> 106
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
[0048]
<223> CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc VL
<400> 78
Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr
20 25 30
Ser Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr
35 40 45
Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60
Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80
Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val
85 90 95
Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105
<210> 79
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc scFv
<400> 79

[0049]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
    130                 135                 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
                165                 170                 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
            180                 185                 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
        195                 200                 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
    210                 215                 220
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu
                245
<210>  80
<211>  501
<212>  PRT
<213>  人工序列
<220>
<223>  合成多肽
<220>
<221>  尚未归类的特征
<223>  CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc 双特异性分子
<400>  80
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

[0050]

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
    130                 135                 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
                165                 170                 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
            180                 185                 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
        195                 200                 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
    210                 215                 220
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
            260                 265                 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
    290                 295                 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305                 310                 315                 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
                325                 330                 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
            340                 345                 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385                 390                 395                 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
                405                 410                 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
            420                 425                 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
        435                 440                 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
    450                 455                 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
                485                 490                 495
```

Lys Leu Thr Val Leu
500

<210> 81
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 81

[0051]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
100 105 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
130 135 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145 150 155 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
180 185 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
195 200 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
210 215 220
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320

[0052]

```
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
                325                 330                 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
            340                 345                 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385                 390                 395                 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
                405                 410                 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
            420                 425                 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
        435                 440                 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
    450                 455                 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
                485                 490                 495
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            500                 505                 510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        515                 520                 525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
    530                 535                 540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545                 550                 555                 560
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                565                 570                 575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
            580                 585                 590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        595                 600                 605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    610                 615                 620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625                 630                 635                 640
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                645                 650                 655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            660                 665                 670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        675                 680                 685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
    690                 695                 700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705                 710                 715                 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
```

[0053]

```
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        755                 760                 765
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
    770                 775                 780
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785                 790                 795                 800
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
                805                 810                 815
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            820                 825                 830
Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
        835                 840                 845
Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
    850                 855                 860
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865                 870                 875                 880
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
                885                 890                 895
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
            900                 905                 910
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
        915                 920                 925
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
    930                 935                 940
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945                 950                 955                 960
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
                965                 970                 975
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            980                 985
<210>  82
<211>  987
<212>  PRT
<213>  人工序列
<220>
<223>  合成多肽
<220>
<221>  尚未归类的特征
<223>  CDH19 65254.007_CC x I2C -scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400>  82
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Phe Ile Trp Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
    50                  55                  60
Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

[0054]

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Arg Ala Gly Ile Ile Gly Thr Ile Gly Tyr Tyr Tyr Gly Met
            100                 105                 110
Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ser Tyr Glu Leu
    130                 135                 140
Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ser Pro Gly Gln Thr Ala Ser Ile
145                 150                 155                 160
Thr Cys Ser Gly Asp Arg Leu Gly Glu Lys Tyr Thr Ser Trp Tyr Gln
                165                 170                 175
Gln Arg Pro Gly Gln Ser Pro Leu Leu Val Ile Tyr Gln Asp Thr Lys
            180                 185                 190
Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn
        195                 200                 205
Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met Asp Glu Ala Asp
    210                 215                 220
Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Glu Ser Ser Thr Val Val Phe Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240
Thr Lys Leu Thr Val Leu Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
            260                 265                 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
    290                 295                 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305                 310                 315                 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
                325                 330                 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
            340                 345                 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385                 390                 395                 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
                405                 410                 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
            420                 425                 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
        435                 440                 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
    450                 455                 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
                485                 490                 495
```

[0055]

```
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            500                 505                 510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        515                 520                 525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
    530                 535                 540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545                 550                 555                 560
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                565                 570                 575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
            580                 585                 590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        595                 600                 605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    610                 615                 620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625                 630                 635                 640
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                645                 650                 655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            660                 665                 670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        675                 680                 685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
    690                 695                 700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705                 710                 715                 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
        755                 760                 765
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
    770                 775                 780
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
785                 790                 795                 800
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
                805                 810                 815
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
            820                 825                 830
Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val
        835                 840                 845
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
    850                 855                 860
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
865                 870                 875                 880
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
                885                 890                 895
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
            900                 905                 910
```

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
915 920 925
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
930 935 940
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
945 950 955 960
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
965 970 975
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR1
<400> 83
Asn Ala Arg Met Gly Val Ser
1 5

<210> 84
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR2
<400> 84
His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser Leu Lys Asn
1 5 10 15

<210> 85
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VH CDR3
<400> 85
Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

[0056]

[0057]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR1
<400> 86
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly
1 5 10
<210> 87
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR2
<400> 87
Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser
1 5
<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VL CDR3
<400> 88
Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5
<210> 89
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc VH
<400> 89
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30
Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60
Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 90
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_ A8-scFc VL
<400> 90
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp
20 25 30
Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95
[0058] Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 91
<211> 246
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3- scFv
<400> 91
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30
Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60
Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr
180 185 190
Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205
Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220
Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240
Thr Lys Val Glu Ile Lys
245

<210> 92
<211> 501
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3 双特异性分子

[0059]

<400> 92
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
20 25 30
Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu
35 40 45
Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
50 55 60
Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val
65 70 75 80
Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
100 105 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125
Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
130 135 140
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145 150 155 160
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
165 170 175
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr
180 185 190

[0060]

Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
195 200 205
Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
210 215 220
Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
225 230 235 240
Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
245 250 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
260 265 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
275 280 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
290 295 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305 310 315 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
325 330 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
340 345 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
355 360 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385 390 395 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
405 410 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
420 425 430
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
435 440 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
450 455 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465 470 475 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
485 490 495
Lys Leu Thr Val Leu
500

<210> 93
<211> 989
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> FLT3_7 A8xCD3-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 93
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Thr Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15

[0061]

```
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Leu Ser Gly Phe Ser Leu Asn Asn Ala
            20                  25                  30
Arg Met Gly Val Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Cys Leu Glu
        35                  40                  45
Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser
    50                  55                  60
Leu Lys Asn Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Thr Gln Val
65                  70                  75                  80
Val Leu Thr Met Thr Asn Val Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
                85                  90                  95
Cys Ala Arg Ile Val Gly Tyr Gly Ser Gly Trp Tyr Gly Phe Phe Asp
            100                 105                 110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
        115                 120                 125
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
    130                 135                 140
Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
145                 150                 155                 160
Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly Trp Tyr Gln
                165                 170                 175
Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr
            180                 185                 190
Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
        195                 200                 205
Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
    210                 215                 220
Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
225                 230                 235                 240
Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                245                 250                 255
Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu
            260                 265                 270
Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp
        275                 280                 285
Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg
    290                 295                 300
Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp
305                 310                 315                 320
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
                325                 330                 335
Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg
            340                 345                 350
His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly
        355                 360                 365
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro
385                 390                 395                 400
Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser
                405                 410                 415
Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln
            420                 425                 430
```

[0062]

```
Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu
        435                 440                 445
Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys
    450                 455                 460
Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr
465                 470                 475                 480
Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr
                485                 490                 495
Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
            500                 505                 510
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
        515                 520                 525
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
    530                 535                 540
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
545                 550                 555                 560
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
                565                 570                 575
Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr
            580                 585                 590
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
        595                 600                 605
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
    610                 615                 620
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
625                 630                 635                 640
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
                645                 650                 655
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
            660                 665                 670
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
        675                 680                 685
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
    690                 695                 700
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
705                 710                 715                 720
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
        755                 760                 765
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
    770                 775                 780
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
785                 790                 795                 800
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
                805                 810                 815
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
            820                 825                 830
Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu
        835                 840                 845
```

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
850 855 860
Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
865 870 875 880
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
885 890 895
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
900 905 910
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
915 920 925
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
930 935 940
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
945 950 955 960
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
965 970 975
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 94
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR1 DLL3_1_CC_delGK

[0063]

<400> 94
Ser Tyr Tyr Trp Ser
1 5
<210> 95
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR2 DLL3_1_CC_delGK
<400> 95
Tyr Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser
1 5 10 15
<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR3 DLL3_1_CC_delGK
<400> 96

[0064]

Ile Ala Val Thr Gly Phe Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10
<210> 97
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR1 DLL3_1_CC_delGK
<400> 97
Arg Ala Ser Gln Arg Val Asn Asn Asn Tyr Leu Ala
1 5 10
<210> 98
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR2 DLL3_1_CC_delGK
<400> 98
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5
<210> 99
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR3 DLL3_1_CC_delGK
<400> 99
Gln Gln Tyr Asp Arg Ser Pro Leu Thr
1 5
<210> 100
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH DLL3_1_CC_delGK
<400> 100
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 Cys 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
115

<210> 101
<211> 108
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL DLL3_1_CC_delGK
<400> 101

[0065]

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Asn Asn Asn
20 25 30
Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45
Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Arg Ser Pro
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 102
<211> 241
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DLL3_1_CC_delGK
<400> 102

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 Cys 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 Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240
Lys

[0066]

<210> 103
<211> 496
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DLL3_1_CCxCD3_delGK 双特异性分子
<400> 103
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 Cys 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

[0067]

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 Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225 230 235 240
Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
245 250 255
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
260 265 270
Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
275 280 285
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
290 295 300
Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
305 310 315 320
Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys
325 330 335
Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly
340 345 350
Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
355 360 365
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
370 375 380
Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser
385 390 395 400
Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val
405 410 415
Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
420 425 430
Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro
435 440 445
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu
450 455 460
Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp
465 470 475 480
Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
485 490 495

<210> 104
<211> 982
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> DLL3_1_CCxCD3-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 104

[0068]

```
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 Cys 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 Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile
225                 230                 235                 240
Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
                245                 250                 255
Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser
            260                 265                 270
Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro
        275                 280                 285
Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn
    290                 295                 300
Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
305                 310                 315                 320
Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys
                325                 330                 335
Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly
            340                 345                 350
Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
        355                 360                 365
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    370                 375                 380
```

[0069]

```
Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser
385                 390                 395                 400
Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val
                405                 410                 415
Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala
            420                 425                 430
Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro
        435                 440                 445
Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu
    450                 455                 460
Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp
465                 470                 475                 480
Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
                485                 490                 495
Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            500                 505                 510
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        515                 520                 525
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    530                 535                 540
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
545                 550                 555                 560
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr
                565                 570                 575
Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            580                 585                 590
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
        595                 600                 605
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    610                 615                 620
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
625                 630                 635                 640
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                645                 650                 655
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            660                 665                 670
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        675                 680                 685
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
    690                 695                 700
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
705                 710                 715                 720
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
        755                 760                 765
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
    770                 775                 780
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
785                 790                 795                 800
```

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
805 810 815
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly
820 825 830
Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
835 840 845
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
850 855 860
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
865 870 875 880
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
885 890 895
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
900 905 910
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
915 920 925
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
930 935 940
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
945 950 955 960
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
965 970 975
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

[0070]

<210> 105
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR1 CD19 97-G1RE-C2
<400> 105
Ser Tyr Gly Met His
1 5
<210> 106
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR2 CD19 97-G1RE-C2
<400> 106
Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 107
<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR3 CD19 97-G1RE-C2
<400> 107
Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr Gly Leu Glu Val
1 5 10
<210> 108
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CD19 97-G1RE-C2 CC
<400> 108
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
[0071] Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr Gly Leu Glu Val Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 109
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR1 CD19 97-G1RE-C2
<400> 109
Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Lys Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15
<210> 110
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR2 CD19 97-G1RE-C2
<400> 110
Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser
1 5
<210> 111
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR3 CD19 97-G1RE-C2
<400> 111
Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr
1 5
<210> 112
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0072] <223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CD19 97-G1RE-C2 CC
<400> 112
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Ile Ser Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Lys
20 25 30
Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
65 70 75 80
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95
Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110
<210> 113
<211> 525
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0
<400> 113

[0073]

```
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1               5                  10                  15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser
            20                  25                  30
Leu Pro Val Ile Ser Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
        35                  40                  45
Gln Ser Leu Leu His Lys Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu
    50                  55                  60
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn
65                  70                  75                  80
Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
                85                  90                  95
Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
            100                 105                 110
Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly
        115                 120                 125
Thr Lys Val Asp Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    130                 135                 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
145                 150                 155                 160
Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
                165                 170                 175
Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
            180                 185                 190
Cys Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr
        195                 200                 205
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
    210                 215                 220
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr
225                 230                 235                 240
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr
                245                 250                 255
Gly Leu Glu Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
            260                 265                 270
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
        275                 280                 285
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
    290                 295                 300
Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
305                 310                 315                 320
Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
                325                 330                 335
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
            340                 345                 350
Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
        355                 360                 365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
    370                 375                 380
Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
385                 390                 395                 400
```

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
405 410 415
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
420 425 430
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
435 440 445
Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
450 455 460
Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
465 470 475 480
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
485 490 495
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
500 505 510
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
515 520 525

<210> 114
<211> 1013
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CD19 97-G1RE-C2 CC x I2C0-scFc
<400> 114

[0074]

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp
1 5 10 15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser
20 25 30
Leu Pro Val Ile Ser Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser
35 40 45
Gln Ser Leu Leu His Lys Asn Ala Phe Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu
50 55 60
Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn
65 70 75 80
Arg Ala Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
85 90 95
Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Met Gln Ala Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Cys Gly
115 120 125
Thr Lys Val Asp Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val
145 150 155 160
Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
165 170 175
Thr Phe Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
180 185 190
Cys Leu Glu Trp Val Ala Val Ile Ser Tyr Glu Gly Ser Asn Lys Tyr
195 200 205

[0075]

```
Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
    210                 215                 220
Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Asp Glu Asp Thr
225                 230                 235                 240
Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Gly Thr Ile Phe Gly Asn Tyr
                245                 250                 255
Gly Leu Glu Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Gly
            260                 265                 270
Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
        275                 280                 285
Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
    290                 295                 300
Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly
305                 310                 315                 320
Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr
                325                 330                 335
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp
            340                 345                 350
Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp
        355                 360                 365
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr
    370                 375                 380
Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
385                 390                 395                 400
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
                405                 410                 415
Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
            420                 425                 430
Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
        435                 440                 445
Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly
    450                 455                 460
Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe
465                 470                 475                 480
Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val
                485                 490                 495
Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn
            500                 505                 510
Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly
        515                 520                 525
Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
    530                 535                 540
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
545                 550                 555                 560
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
                565                 570                 575
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
            580                 585                 590
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr
        595                 600                 605
Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
    610                 615                 620
```

[0076]

```
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
625                 630                 635                 640
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
                645                 650                 655
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
            660                 665                 670
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
        675                 680                 685
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
    690                 695                 700
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
705                 710                 715                 720
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
                725                 730                 735
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
            740                 745                 750
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        755                 760                 765
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    770                 775                 780
Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
785                 790                 795                 800
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
                805                 810                 815
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
            820                 825                 830
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
        835                 840                 845
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser
    850                 855                 860
Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
865                 870                 875                 880
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
                885                 890                 895
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
            900                 905                 910
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
        915                 920                 925
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
    930                 935                 940
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
945                 950                 955                 960
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
                965                 970                 975
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
            980                 985                 990
Val Met His Glu Ala Leu His Asn  His Tyr Thr Gln Lys  Ser Leu Ser
        995                 1000                1005
Leu Ser  Pro Gly Lys
    1010
<210>  115
<211>  5
```

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR1 CDH3 G8A 6-B12
<400> 115
Ser Tyr Pro Ile Asn
1 5
<210> 116
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR2 CDH3 G8A 6-B12
<400> 116
Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys Gly
1 5 10 15
<210> 117
<211> 15
<212> PRT
[0077] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDR3 CDH3 G8A 6-B12
<400> 117
Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10 15
<210> 118
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR1 CDH3 G8A 6-B12
<400> 118
Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Phe
1 5 10 15
Ala

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR2 CDH3 G8A 6-B12
<400> 119
Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5
<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDR3 CDH3 G8A 6-B12
<400> 120
Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5
<210> 121
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

[0078]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VH CDH3 G8A 6-B12
<400> 121
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 Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Pro Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 122
<211> 113
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> VL CDH3 G8A 6-B12
<400> 122
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Gln Lys Asn Tyr Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95
Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Lys

<210> 123
<211> 251
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0079] <223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH3 G8A 6-B12 scFv
<400> 123
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 Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Pro Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
130 135 140
Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn
145 150 155 160
Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr
165 170 175

Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
180 185 190
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
210 215 220
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr
225 230 235 240
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
245 250

<210> 124
<211> 506
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 双特异性分子
<400> 124

[0080]

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 Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Pro Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
130 135 140
Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn
145 150 155 160
Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr
165 170 175
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
180 185 190
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
195 200 205
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
210 215 220
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr
225 230 235 240
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
245 250 255

[0081]

```
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285
Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300
Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320
Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400
Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415
Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430
Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
        435                 440                 445
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
            500                 505
<210> 125
<211> 994
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> CDH3 G8A 6-B12 x I2C0 双特异性分子 HLE
<400> 125
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 Ser Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
Pro Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Gly Val Ile Trp Thr Gly Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
```

[0082]

```
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
Lys Ser Arg Gly Val Tyr Asp Phe Asp Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr
            100                 105                 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
    130                 135                 140
Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly Glu Arg Ala Thr Ile Asn
145                 150                 155                 160
Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser Ser Asn Gln Lys Asn Tyr
                165                 170                 175
Phe Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
            180                 185                 190
Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly
        195                 200                 205
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala
    210                 215                 220
Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Ser Tyr Pro Tyr
225                 230                 235                 240
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly
                245                 250                 255
Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
            260                 265                 270
Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys
        275                 280                 285
Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
    290                 295                 300
Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala
305                 310                 315                 320
Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn
                325                 330                 335
Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val
            340                 345                 350
Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr
        355                 360                 365
Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
    370                 375                 380
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val
385                 390                 395                 400
Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr
                405                 410                 415
Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro
            420                 425                 430
Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly
        435                 440                 445
Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
    450                 455                 460
Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu
465                 470                 475                 480
Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val
                485                 490                 495
```

[0083]

```
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys
            500                 505                 510
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
        515                 520                 525
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
    530                 535                 540
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
545                 550                 555                 560
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
                565                 570                 575
Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys
            580                 585                 590
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
        595                 600                 605
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
    610                 615                 620
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
625                 630                 635                 640
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
                645                 650                 655
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
            660                 665                 670
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
        675                 680                 685
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
    690                 695                 700
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
705                 710                 715                 720
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
                725                 730                 735
Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp
        755                 760                 765
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
    770                 775                 780
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
785                 790                 795                 800
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
                805                 810                 815
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
            820                 825                 830
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg
        835                 840                 845
Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
    850                 855                 860
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
865                 870                 875                 880
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
                885                 890                 895
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
            900                 905                 910
```

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
915 920 925
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
930 935 940
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
945 950 955 960
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
965 970 975
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
980 985 990
Gly Lys

<210> 126
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VH
<400> 126
Asn His Ile Ile His
1 5

[0084]

<210> 127
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VH
<400> 127
Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe Gln
1 5 10 15
Gly

<210> 128
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VH
<400> 128
Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr
1 5 10
<210> 129
<211> 11

[0085]

<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR1 VL
<400> 129
Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10
<210> 130
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR2 VL
<400> 130
Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
1 5
<210> 131
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CDR3 VL
<400> 131
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5
<210> 132
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VH
<400> 132
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His
20 25 30
Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 133
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) VL
<400> 133
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

[0086]

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95
Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 134
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) scFv
<400> 134
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His
20 25 30
Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
180 185 190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys

<210> 135
<211> 498
<212> PRT
[0087] <213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0 双特异性分子
<400> 135
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His
20 25 30
Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
180 185 190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
245 250 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
260 265 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
275 280 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
290 295 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305 310 315 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
325 330 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
340 345 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

[0088]

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495
Val Leu

<210> 136
<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> BCMA A7 27-C4-G7 CC (44/100) x I2C0-scFc 双特异性分子 HLE
<400> 136

[0089]

```
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1               5                  10                  15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn His
            20                  25                  30
Ile Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Cys Leu Glu Trp Met
        35                  40                  45
Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Pro Gly Tyr His Ala Tyr Asn Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Gln Gly Arg Ala Thr Met Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Asp Gly Tyr Tyr Arg Asp Thr Asp Val Leu Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Thr
            180                 185                 190
Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
```

[0090]

```
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        755                 760                 765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    770                 775                 780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785                 790                 795                 800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                805                 810                 815
```

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
820 825 830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
835 840 845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

[0091]

<210> 137
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC VH CDR1
<400> 137
Asp Tyr Tyr Met Tyr
1 5
<210> 138
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC VH CDR2
<400> 138
Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 139
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC VH CDR3
<400> 139
Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 140
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC VL CDR1
<400> 140
Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala
1 5 10
<210> 141
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0092] <223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC VL CDR2
<400> 141
Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
1 5
<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC VL CDR3
<400> 142
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr
1 5
<210> 143
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征

<223> PM 76-B10.17 CC VH
<400> 143
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 144
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
[0093]
<223> PM 76-B10.17 CC VL
<400> 144
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 145
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC scFv
<400> 145

[0094]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys
```

<210> 146
<211> 498
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 双特异性分子
<400> 146

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

[0095]

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
```

Val Leu

<210> 147
<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 147

[0096]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
```

[0097]

```
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                725                 730                 735
```

[0098]

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        755                 760                 765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    770                 775                 780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785                 790                 795                 800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                805                 810                 815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
            820                 825                 830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        835                 840                 845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
    850                 855                 860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865                 870                 875                 880
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
                885                 890                 895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
            900                 905                 910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
        915                 920                 925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
    930                 935                 940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945                 950                 955                 960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
                965                 970                 975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            980                 985
```

<210> 148
<211> 984
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 148

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

[0099]

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
```

[0100]

```
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        755                 760                 765
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    770                 775                 780
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785                 790                 795                 800
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                805                 810                 815
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
            820                 825                 830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        835                 840                 845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    850                 855                 860
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865                 870                 875                 880
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
                885                 890                 895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            900                 905                 910
```

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 149
<211> 498
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性分子
<400> 149

[0101]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
245 250 255

[0102]

```
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu
```

<210> 150
<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 150

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
```

[0103]

```
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
```

[0104]

```
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        755                 760                 765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    770                 775                 780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785                 790                 795                 800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                805                 810                 815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
            820                 825                 830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        835                 840                 845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
    850                 855                 860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865                 870                 875                 880
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
                885                 890                 895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
            900                 905                 910
```

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 151
<211> 984
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.17 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 151

[0105]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Ala Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Ala Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser

[0106]

```
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
```

660 665 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
675 680 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
690 695 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705 710 715 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
725 730 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
740 745 750
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
755 760 765
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
770 775 780
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785 790 795 800
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
805 810 815
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
820 825 830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
835 840 845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
850 855 860
[0107] Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865 870 875 880
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
885 890 895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
900 905 910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 152
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VH CDR1
<400> 152
Asp Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 153
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VH CDR2
<400> 153
Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 154
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VH CDR3
<400> 154
Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10

[0108]

<210> 155
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VL CDR1
<400> 155
Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala
1 5 10
<210> 156
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VL CDR2
<400> 156
Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
1 5
<210> 157

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VL CDR3
<400> 157
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr
1 5
<210> 158
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VH
<400> 158
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 159
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC VL
<400> 159
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile

[0109]

35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 160
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC scFv
<400> 160

[0110]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys

<210> 161

<211> 498
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 双特异性分子
<400> 161

[0111]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
245 250 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
260 265 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
275 280 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
290 295 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305 310 315 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
325 330 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn

340 345 350

Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
355 360 365

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400

Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415

Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430

Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445

Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460

Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480

Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495

Val Leu

<210> 162
<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
[0112] <223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 162

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160

Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro

[0113]

```
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
```

580 585 590

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
595 600 605

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
610 615 620

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625 630 635 640

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
645 650 655

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
660 665 670

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
675 680 685

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
690 695 700

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705 710 715 720

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
725 730 735

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
740 745 750

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
755 760 765

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
770 775 780

[0114] Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785 790 795 800

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
805 810 815

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
820 825 830

Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
835 840 845

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 163

<211> 984
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 163

[0115]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
```

[0116]

```
                340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
```

[0117]

```
          755                 760                 765
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
      770                 775                 780
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785                 790                 795                 800
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                  805                 810                 815
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
             820                 825                 830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
          835                 840                 845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
      850                 855                 860
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865                 870                 875                 880
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
                  885                 890                 895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
             900                 905                 910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
          915                 920                 925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
      930                 935                 940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945                 950                 955                 960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                  965                 970                 975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
             980
<210>  164
<211>  498
<212>  PRT
<213>  人工序列
<220>
<223>  合成多肽
<220>
<221>  尚未归类的特征
<223>  PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性分子
<400>  164
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
```

[0118]

```
                100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu
```

<210> 165

<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 165

[0119]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
```

[0120]

```
                340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
```

[0121]

```
          755                 760                 765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
      770                 775                 780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785                 790                 795                 800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                  805                 810                 815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
              820                 825                 830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
          835                 840                 845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
      850                 855                 860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865                 870                 875                 880
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
                  885                 890                 895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
              900                 905                 910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
          915                 920                 925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
      930                 935                 940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945                 950                 955                 960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
                  965                 970                 975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
              980                 985
```

<210> 166
<211> 984
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 166

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

[0122]

```
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
```

[0123]

```
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        755                 760                 765
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    770                 775                 780
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785                 790                 795                 800
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                805                 810                 815
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
            820                 825                 830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        835                 840                 845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    850                 855                 860
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865                 870                 875                 880
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
                885                 890                 895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            900                 905                 910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        915                 920                 925
```

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

<210> 167
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR1
<400> 167
Asp Tyr Tyr Met Tyr
1 5
<210> 168
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR2
<400> 168
Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 169
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH CDR3
<400> 169
Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr
1 5 10
<210> 170
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽

[0124]

<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR1
<400> 170
Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala
1 5 10
<210> 171
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR2
<400> 171
Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
1 5
<210> 172
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
[0125]
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL CDR3
<400> 172
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr
1 5
<210> 173
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VH
<400> 173
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120
<210> 174
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc VL
<400> 174
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn
20 25 30
Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45
Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile
85 90 95
[0126] Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105
<210> 175
<211> 243
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc scFv
<400> 175
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
195 200 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
210 215 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225 230 235 240
Glu Ile Lys

<210> 176
<211> 498
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
[0127] <223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 双特异性分子
<400> 176
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190

[0128]

```
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu
```

<210> 177
<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 177

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                   10                  15
```

[0129]

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
```

[0130]

```
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                725                 730                 735
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
            740                 745                 750
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
        755                 760                 765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
    770                 775                 780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785                 790                 795                 800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
                805                 810                 815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
            820                 825                 830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
        835                 840                 845
```

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 178
<211> 984
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 178

[0131]

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190

[0132]

```
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Ala Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
```

[0133]

```
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        755                 760                 765
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
    770                 775                 780
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785                 790                 795                 800
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
                805                 810                 815
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
            820                 825                 830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
        835                 840                 845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
    850                 855                 860
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865                 870                 875                 880
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
                885                 890                 895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
            900                 905                 910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
        915                 920                 925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
    930                 935                 940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945                 950                 955                 960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                965                 970                 975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
            980
<210>  179
<211>  498
<212>  PRT
<213>  人工序列
```

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性分子
<400> 179

[0134]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
```

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
370 375 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385 390 395 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
405 410 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
420 425 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
435 440 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
450 455 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465 470 475 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
485 490 495
Val Leu

<210> 180
<211> 986
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
[0135] <223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc 双特异性 HLE 分子
<400> 180
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
130 135 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145 150 155 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
165 170 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
180 185 190

[0136]

```
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
        355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
```

[0137]

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
610 615 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625 630 635 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
645 650 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
660 665 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
675 680 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
690 695 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705 710 715 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
725 730 735
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
740 745 750
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
755 760 765
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
770 775 780
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
785 790 795 800
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
805 810 815
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu
820 825 830
Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu
835 840 845
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
850 855 860
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
865 870 875 880
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
885 890 895
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
900 905 910
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
915 920 925
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
930 935 940
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
945 950 955 960
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
965 970 975
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980 985

<210> 181
<211> 984
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成多肽
<220>
<221> 尚未归类的特征
<223> PM 76-B10.11 CC x I2C0 CC (103/43)-scFc_delGK 双特异性 HLE 分子
<400> 181

[0138]

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Glu
1               5                  10                  15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
            20                  25                  30
Tyr Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Ala Ile Ile Ser Asp Gly Gly Tyr Tyr Thr Tyr Tyr Ser Asp Ile Ile
    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 Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Gly Phe Pro Leu Leu Arg His Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly
            100                 105                 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
        115                 120                 125
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
    130                 135                 140
Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys
145                 150                 155                 160
Ala Ser Gln Asn Val Asp Thr Asn Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
                165                 170                 175
Gly Gln Ala Pro Lys Ser Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Val Tyr Trp
            180                 185                 190
Asp Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Ala Ser Gly Thr Asp Phe Thr
        195                 200                 205
Leu Thr Ile Ser Ser Val Gln Ser Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
    210                 215                 220
Gln Gln Tyr Asp Gln Gln Leu Ile Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu
225                 230                 235                 240
Glu Ile Lys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
                245                 250                 255
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala
            260                 265                 270
Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asn Lys Tyr Ala Met Asn Trp Val Arg Gln
        275                 280                 285
Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Arg Ile Arg Ser Lys Tyr
    290                 295                 300
Asn Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr
305                 310                 315                 320
Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Asn
                325                 330                 335
Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val Arg His Gly Asn
            340                 345                 350
Phe Gly Asn Ser Tyr Ile Ser Tyr Trp Ala Tyr Cys Gly Gln Gly Thr
```

[0139]

```
          355                 360                 365
Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    370                 375                 380
Gly Gly Gly Gly Ser Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr
385                 390                 395                 400
Val Ser Pro Gly Gly Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly
                405                 410                 415
Ala Val Thr Ser Gly Asn Tyr Pro Asn Trp Val Gln Gln Lys Pro Gly
            420                 425                 430
Gln Cys Pro Arg Gly Leu Ile Gly Gly Thr Lys Phe Leu Ala Pro Gly
        435                 440                 445
Thr Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu
    450                 455                 460
Thr Leu Ser Gly Val Gln Pro Glu Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Val
465                 470                 475                 480
Leu Trp Tyr Ser Asn Arg Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr
                485                 490                 495
Val Leu Gly Gly Gly Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
            500                 505                 510
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
        515                 520                 525
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
    530                 535                 540
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
545                 550                 555                 560
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu
                565                 570                 575
Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
            580                 585                 590
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
        595                 600                 605
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
    610                 615                 620
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
625                 630                 635                 640
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
                645                 650                 655
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
            660                 665                 670
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
        675                 680                 685
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
    690                 695                 700
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
705                 710                 715                 720
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
                725                 730                 735
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
            740                 745                 750
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
        755                 760                 765
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
```

770 775 780
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
785 790 795 800
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
805 810 815
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys Glu Glu Gln
820 825 830
Tyr Gly Ser Thr Tyr Arg Cys Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
835 840 845
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
850 855 860
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
865 870 875 880

[0140] Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
885 890 895
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
900 905 910
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
915 920 925
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
930 935 940
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
945 950 955 960
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
965 970 975
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
980

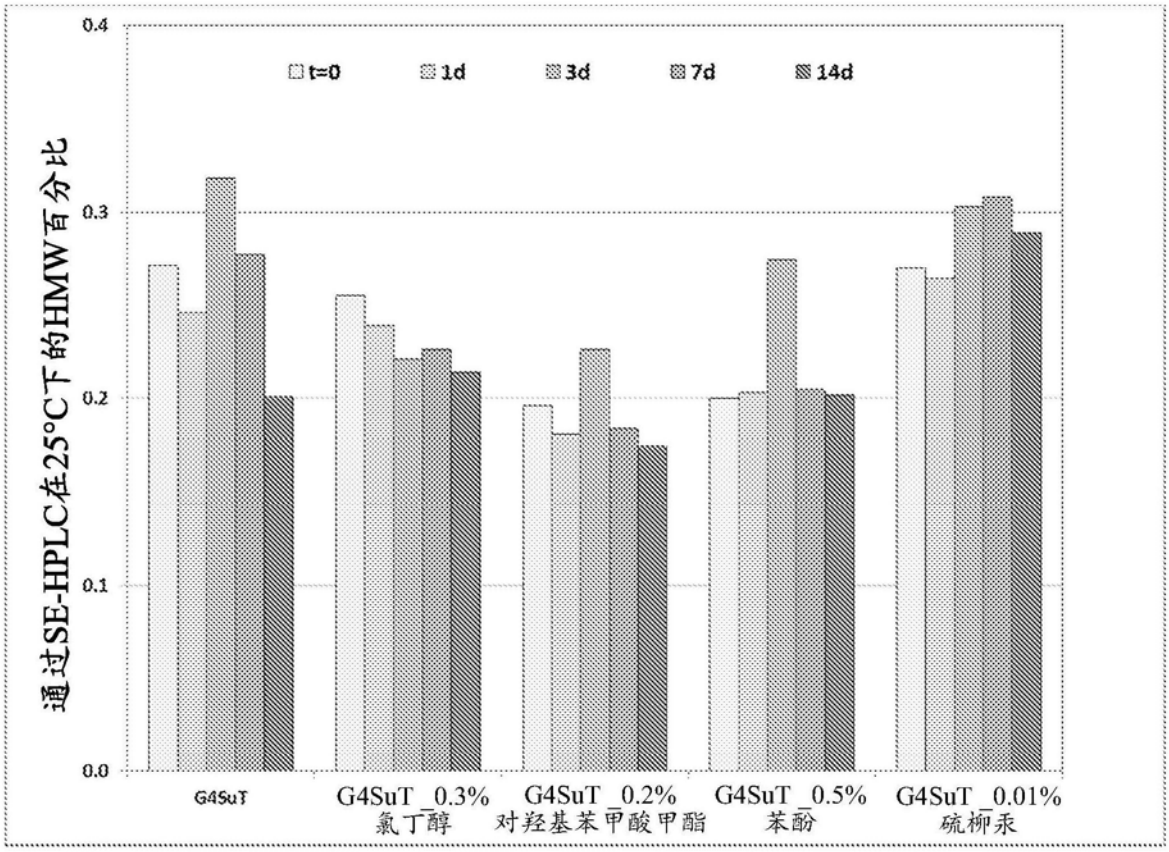

0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
t=0
1d
3d
7d
14d
通过SE-HPLC在25°C下的HMW百分比
G4SuT
G4SuT _0.3%
氯丁醇
G4SuT _0.2%
对羟基苯甲酸甲酯
G4SuT _0.5%
苯酚
G4SuT _0.01%
硫柳汞

图1

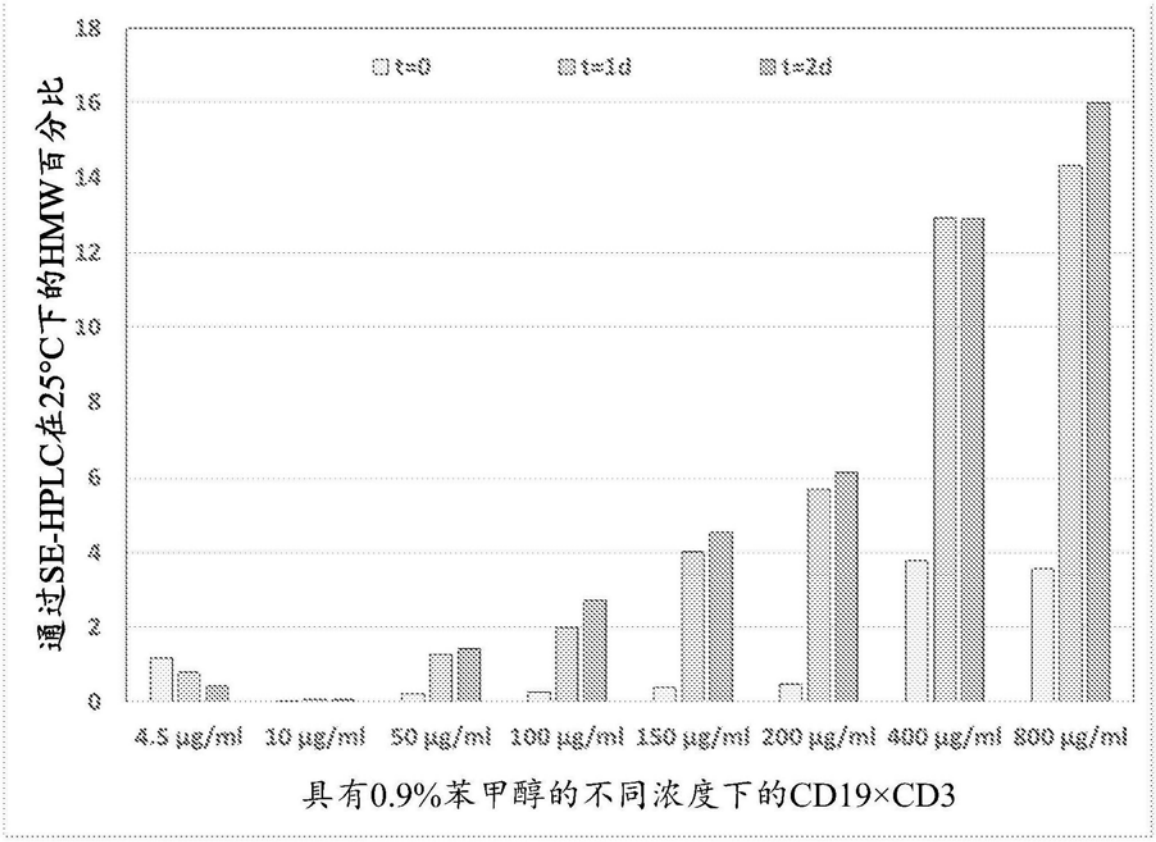

通过SE-HPLC在25°C下的HMW百分比
t=0
t=1d
t=2d
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
4.5 μg/ml
10 μg/ml
50 μg/ml
100 μg/ml
150 μg/ml
200 μg/ml
400 μg/ml
800 μg/ml
具有0.9%苯甲醇的不同浓度下的CD19×CD3

图2

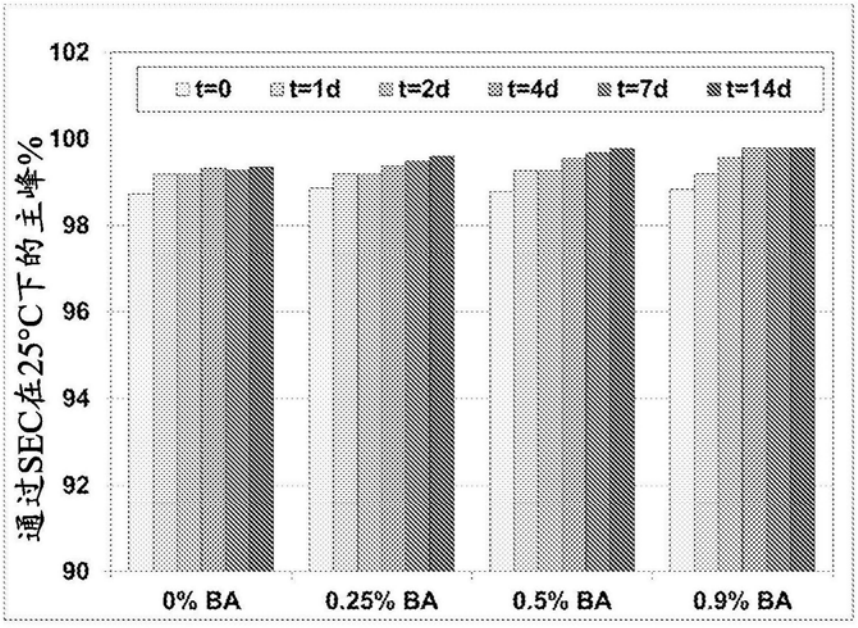

通过SEC在25°C下的主峰%
t=0
t=1d
t=2d
t=4d
t=7d
t=14d
90
92
94
96
98
100
102
0% BA
0.25% BA
0.5% BA
0.9% BA

图3A

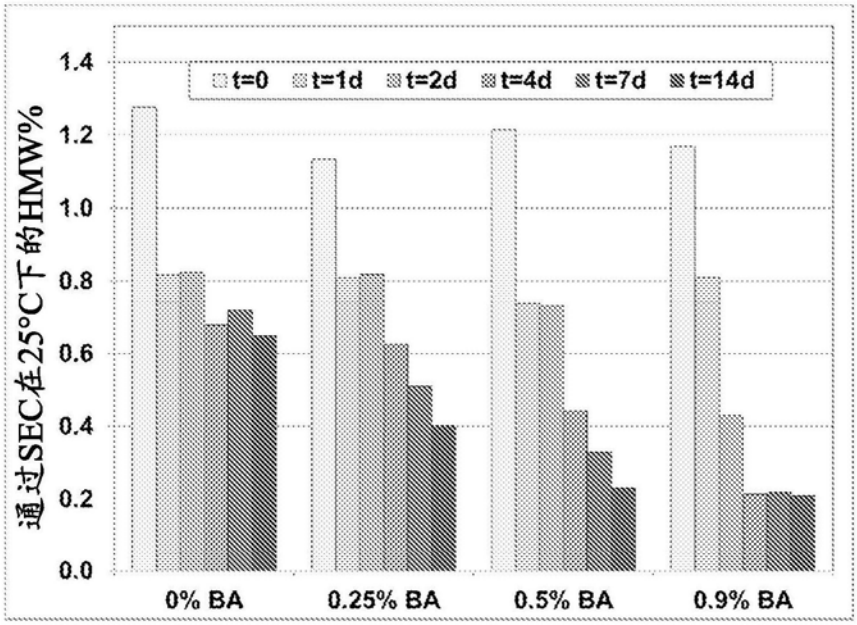

t=0
t=1d
t=2d
t=4d
t=7d
t=14d
通过SEC在25°C下的HMW%
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0% BA
0.25% BA
0.5% BA
0.9% BA

图3B

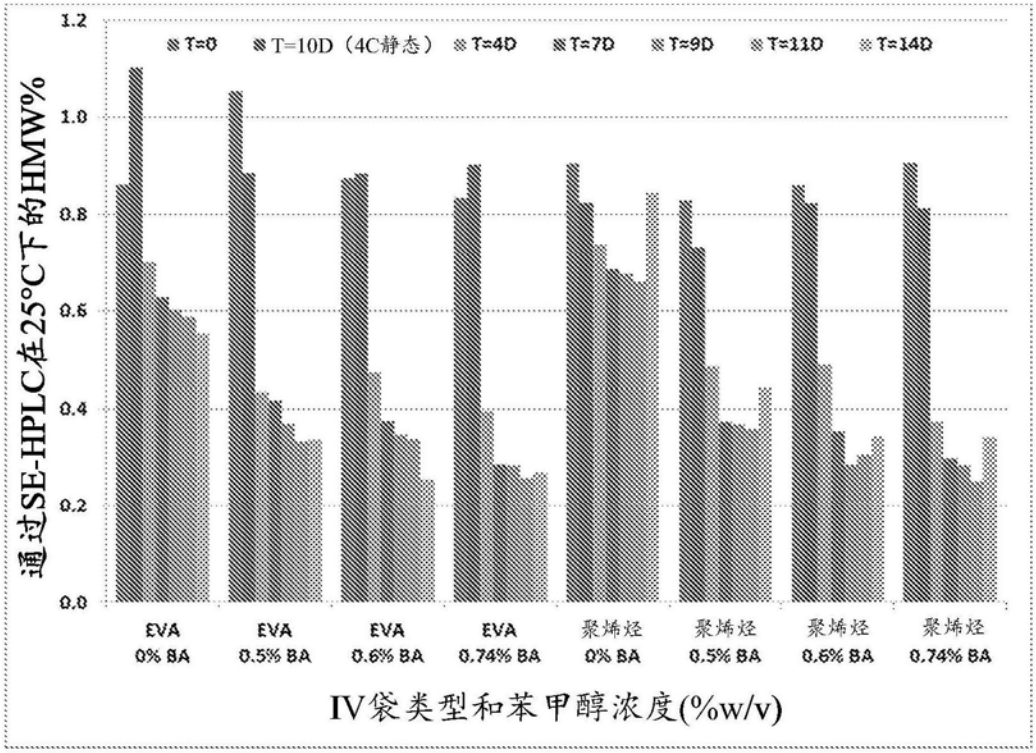

T=0
T=10D（4C静态）
T=4D
T=7D
T=9D
T=11D
T=14D
通过SE-HPLC在25°C下的HMW%
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
EVA 0% BA
EVA 0.5% BA
EVA 0.6% BA
EVA 0.74% BA
聚烯烃 0% BA
聚烯烃 0.5% BA
聚烯烃 0.6% BA
聚烯烃 0.74% BA
IV袋类型和苯甲醇浓度(%w/v)

图3C

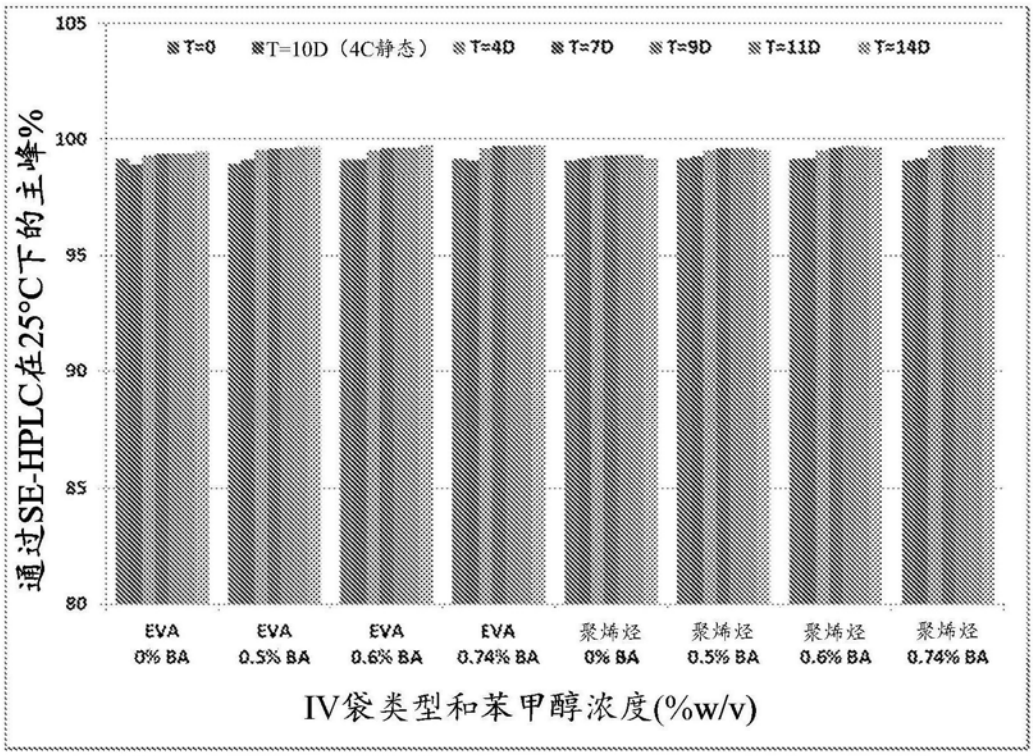

T=0
T=10D（4C静态）
T=4D
T=7D
T=9D
T=11D
T=14D
通过SE-HPLC在25°C下的主峰%
105
100
95
90
85
80
EVA 0% BA
EVA 0.5% BA
EVA 0.6% BA
EVA 0.74% BA
聚烯烃 0% BA
聚烯烃 0.5% BA
聚烯烃 0.6% BA
聚烯烃 0.74% BA
IV袋类型和苯甲醇浓度(%w/v)

图3D

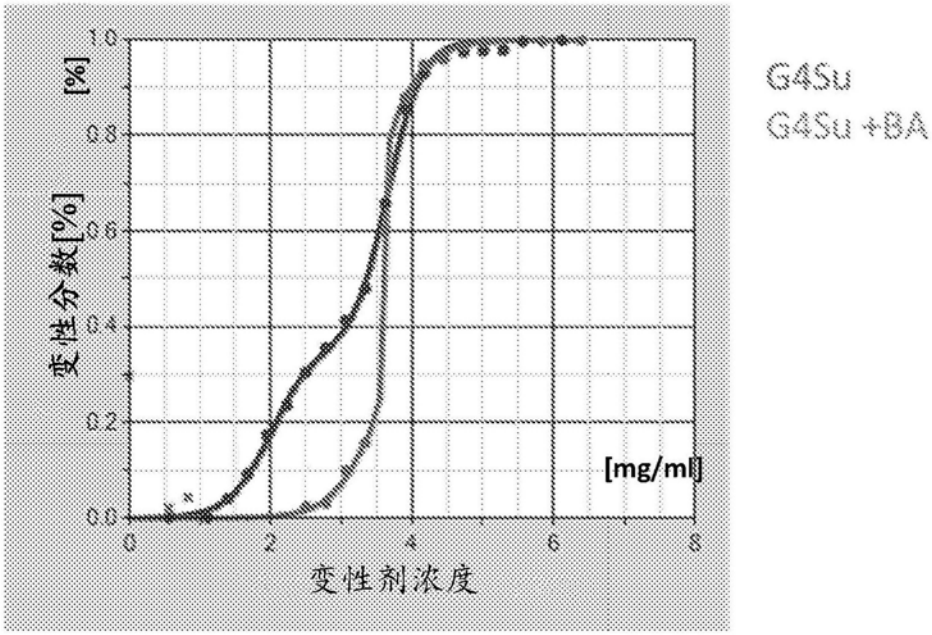

变性分数[%]
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
[mg/ml]
0
2
4
6
8
变性剂浓度
G4Su
G4Su +BA

图4

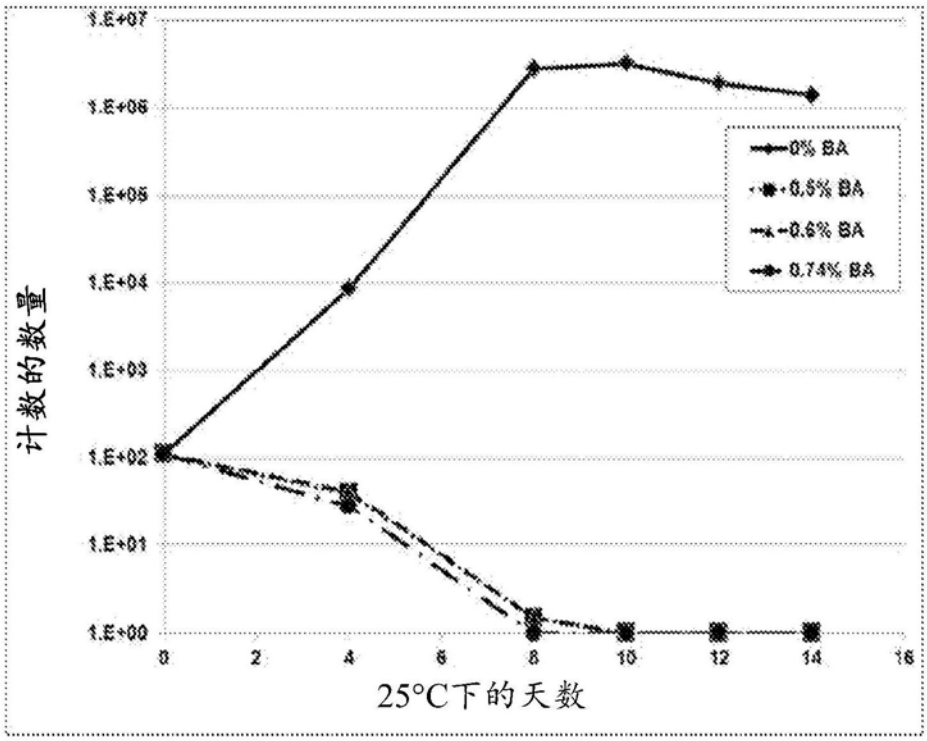

1.E+07
1.E+06
1.E+05
1.E+04
1.E+03
1.E+02
1.E+01
1.E+00
计数的数量
0
2
4
6
8
10
12
14
16
25°C下的天数
0% BA
0.5% BA
0.6% BA
0.74% BA

图5A

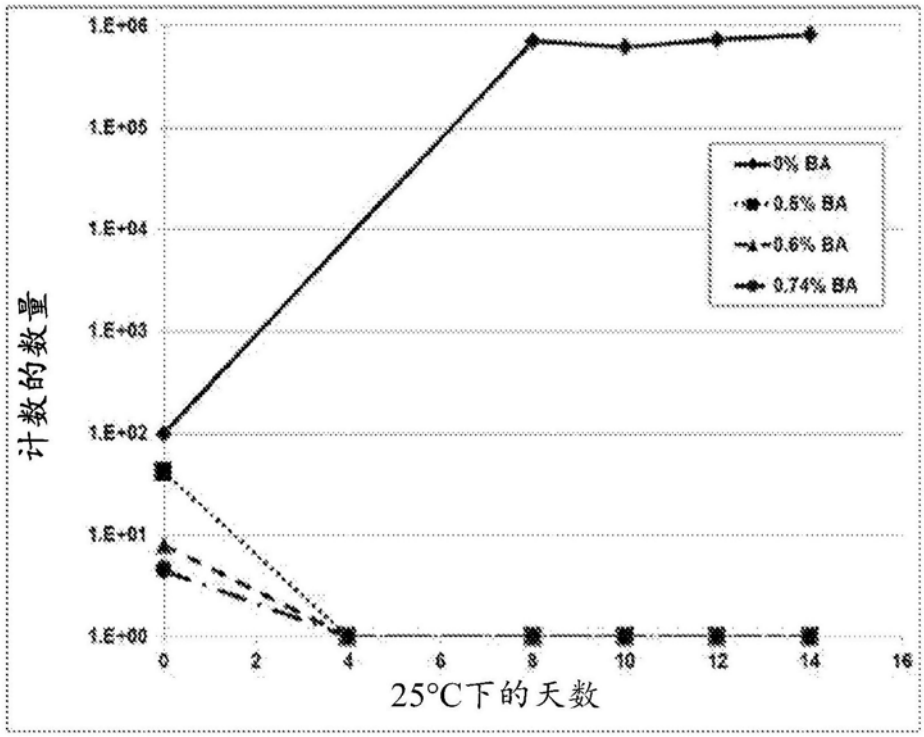

1.E+06
1.E+05
1.E+04
1.E+03
1.E+02
1.E+01
1.E+00
计数的数量
0
2
4
6
8
10
12
14
16
25°C下的天数
0% BA
0.5% BA
0.6% BA
0.74% BA

图5B

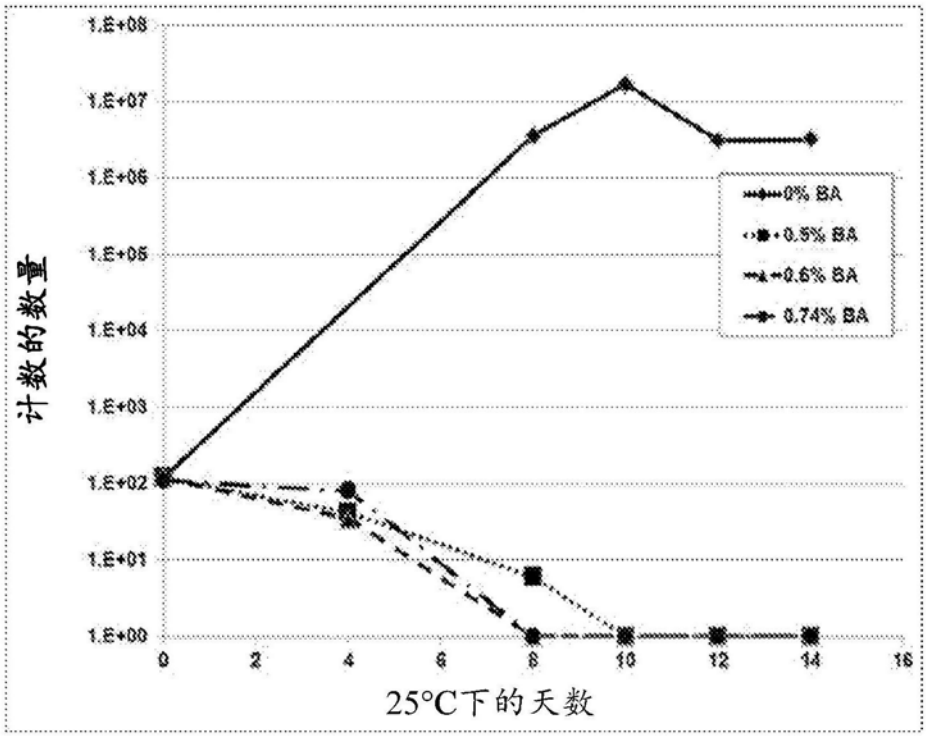

1.E+08
1.E+07
1.E+06
1.E+05
1.E+04
1.E+03
1.E+02
1.E+01
1.E+00
计数的数量
0
2
4
6
8
10
12
14
16
25°C下的天数
0% BA
0.5% BA
0.6% BA
0.74% BA

图5C

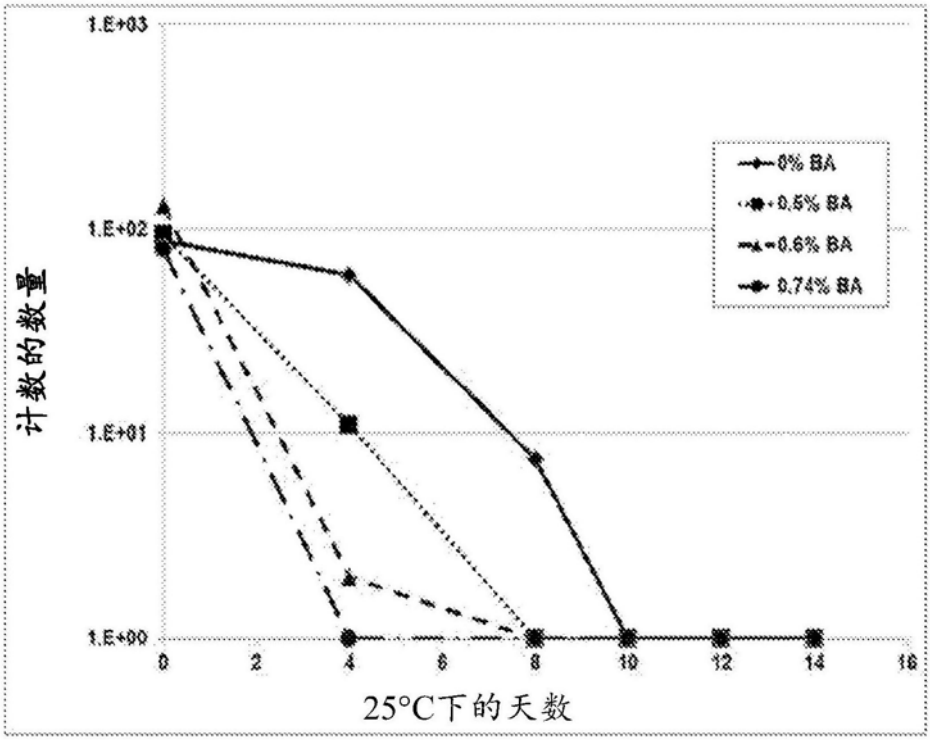

1.E+03
1.E+02
1.E+01
1.E+00
计数的数量
0
2
4
6
8
10
12
14
16
25°C下的天数
0% BA
0.5% BA
0.6% BA
0.74% BA

图5D

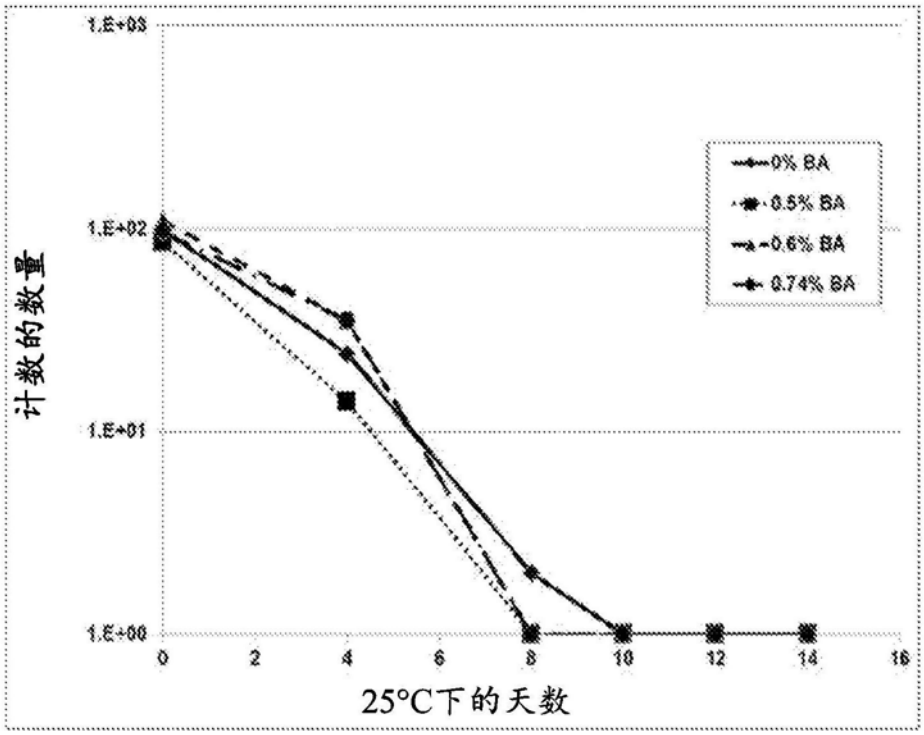

1.E+03
1.E+02
1.E+01
1.E+00
计数的数量
0% BA
0.5% BA
0.6% BA
0.74% BA
0
2
4
6
8
10
12
14
16
25°C下的天数

图5E

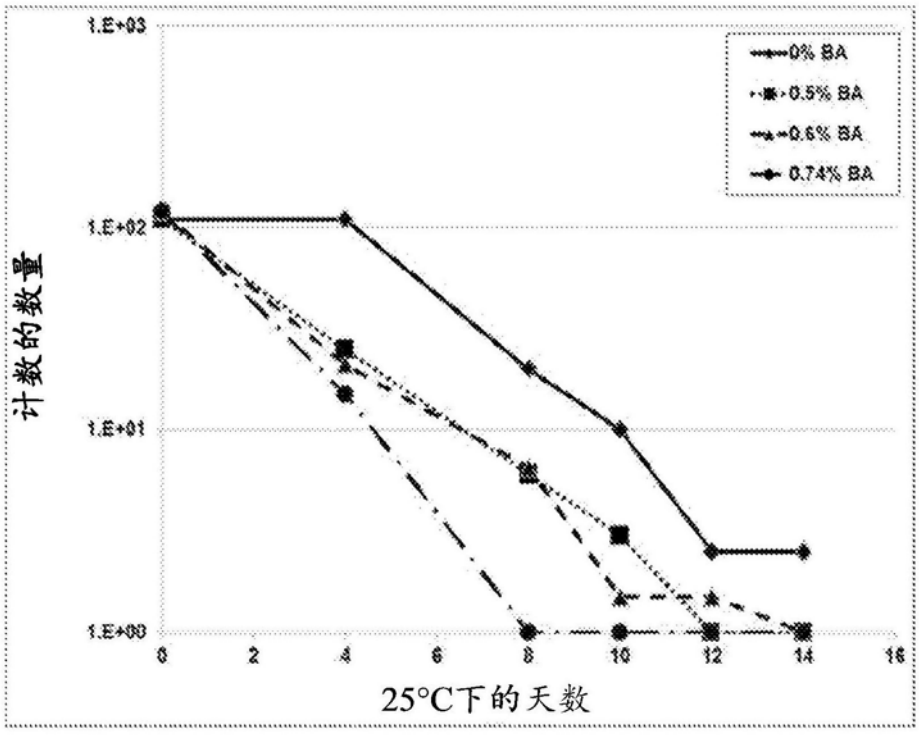

1.E+03
1.E+02
1.E+01
1.E+00
计数的数量
0% BA
0.5% BA
0.6% BA
0.74% BA
0
2
4
6
8
10
12
14
16
25°C下的天数

图5F

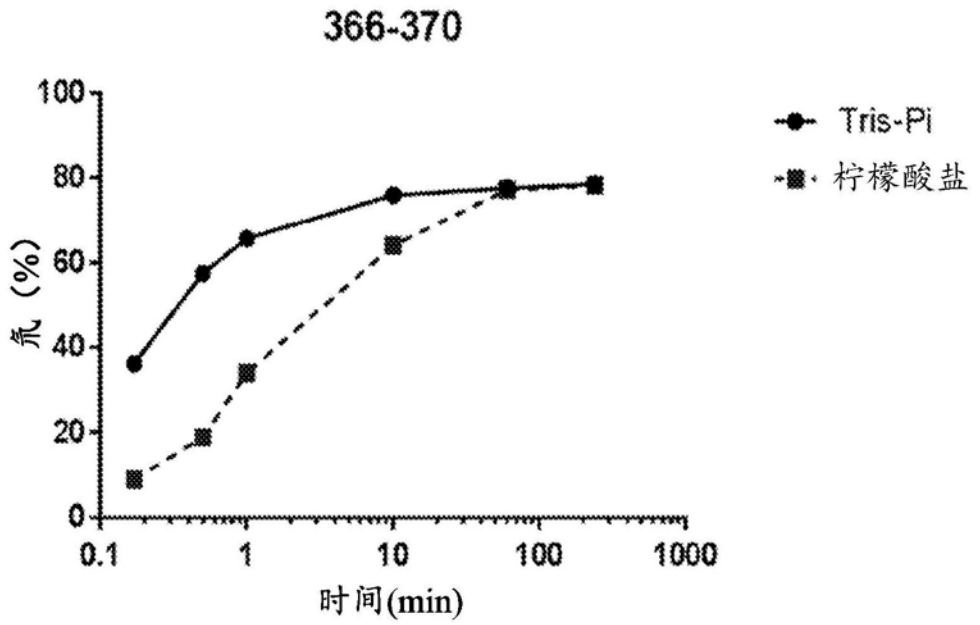

366-370
100
80
60
40
20
0
氚（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
柠檬酸盐

图6A

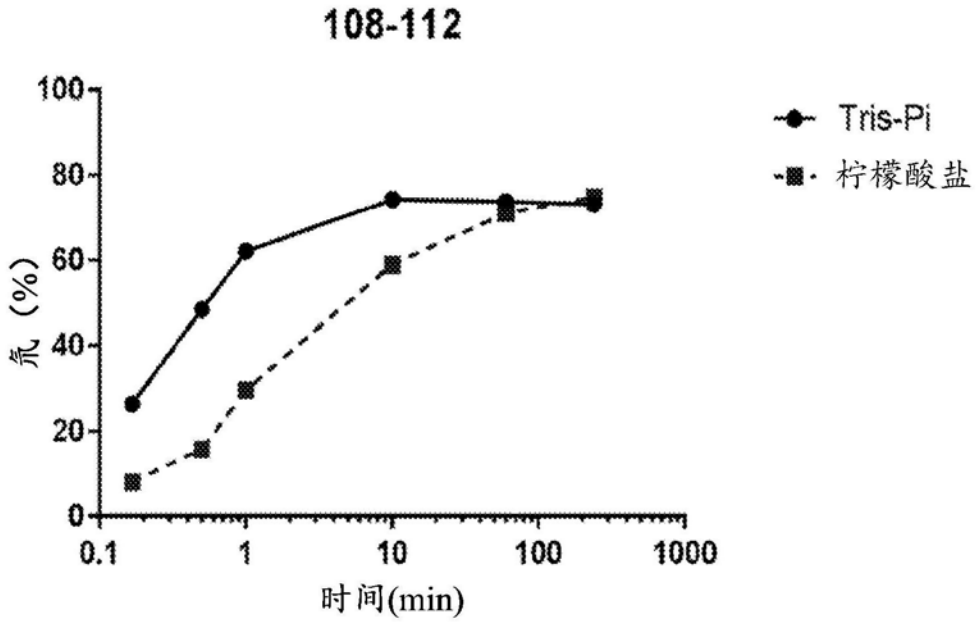

108-112
100
80
60
40
20
0
氚（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
柠檬酸盐

图6B

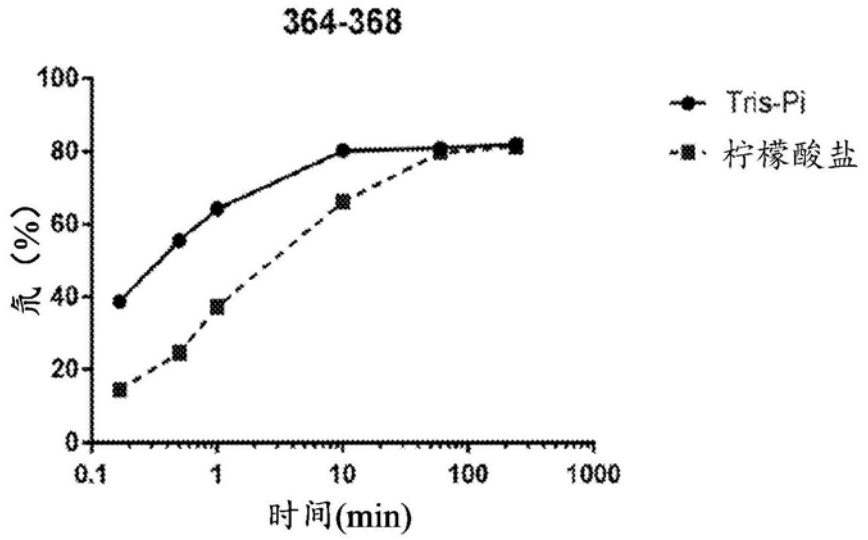

364-368
100
80
60
40
20
0
氘（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
柠檬酸盐

图6C

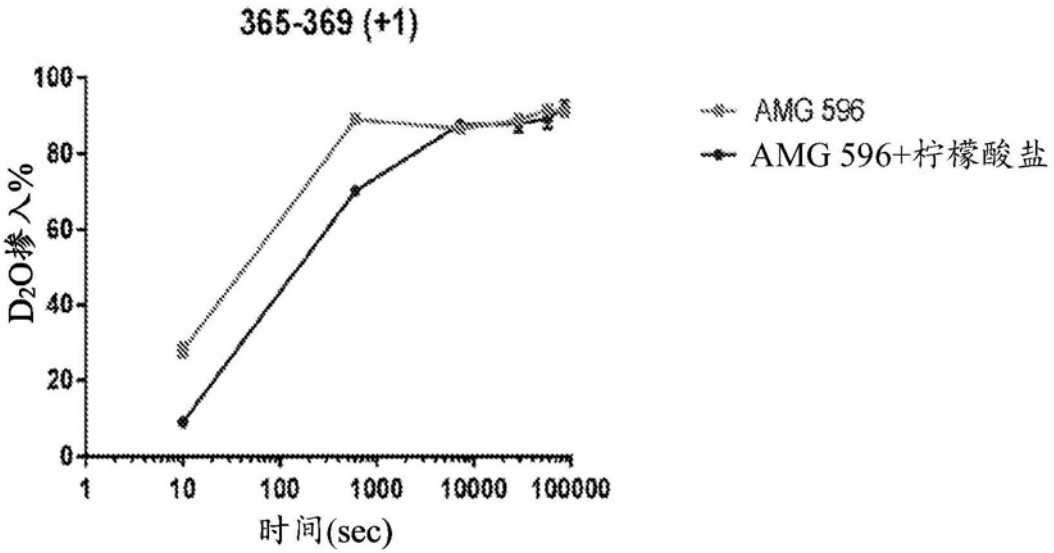

365-369 (+1)
100
80
60
40
20
0
D2O掺入%
1
10
100
1000
10000
100000
时间(sec)
AMG 596
AMG 596+柠檬酸盐

图6D

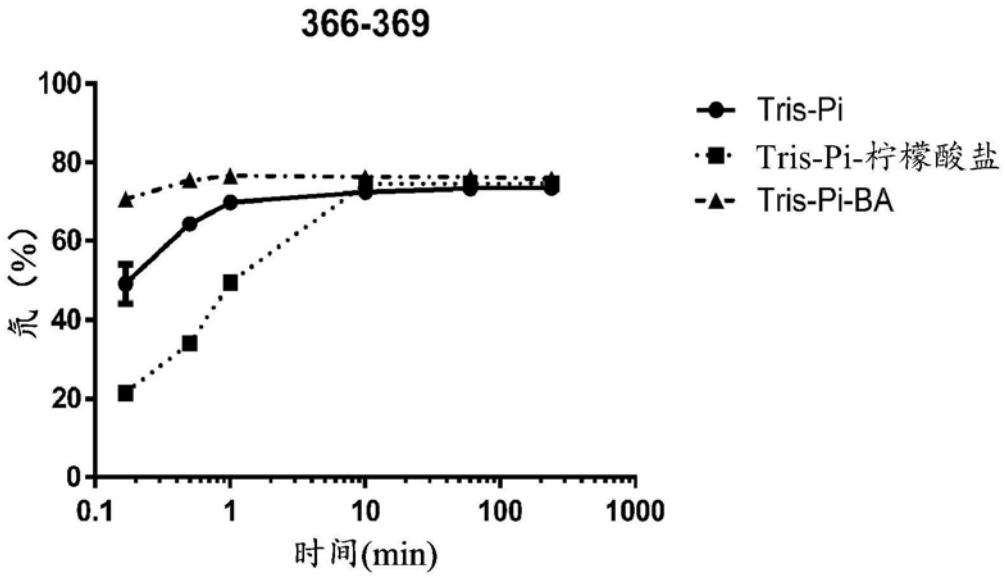

366-369
100
80
60
40
20
0
氘（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
Tris-Pi-柠檬酸盐
Tris-Pi-BA

图6E

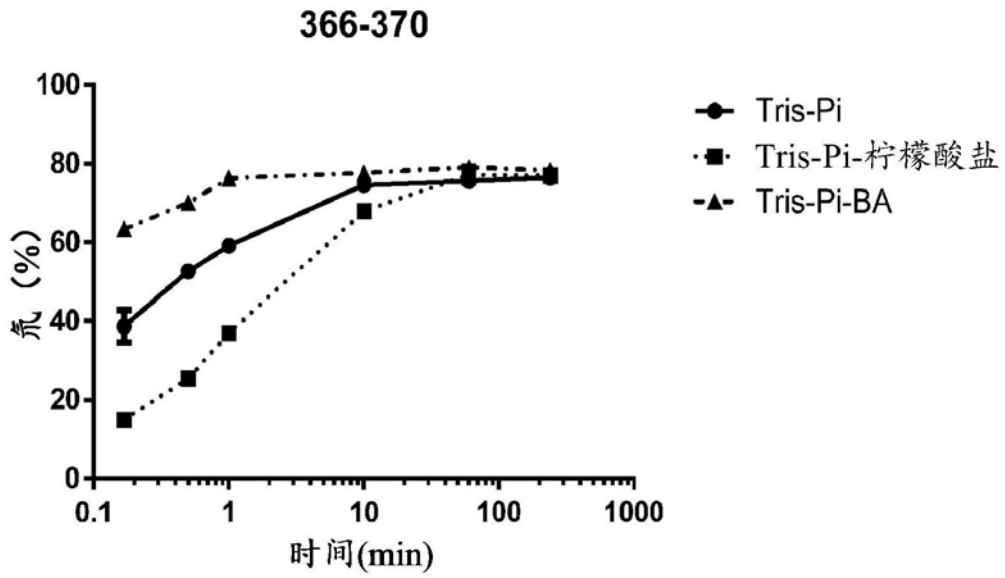

366-370
100
80
60
40
20
0
氘（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
Tris-Pi-柠檬酸盐
Tris-Pi-BA

图6F

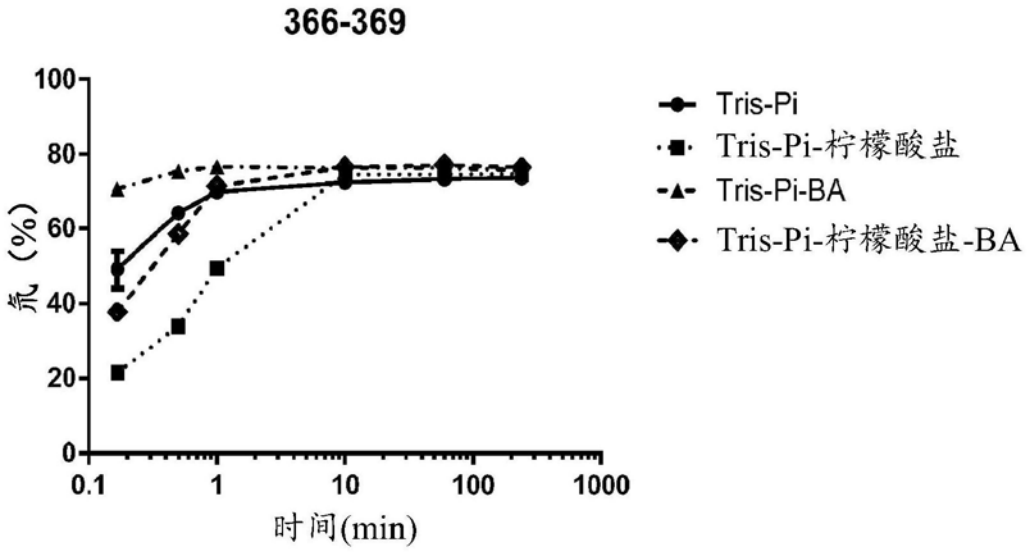

366-369
100
80
60
40
20
0
氘（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
Tris-Pi-柠檬酸盐
Tris-Pi-BA
Tris-Pi-柠檬酸盐-BA

图6G

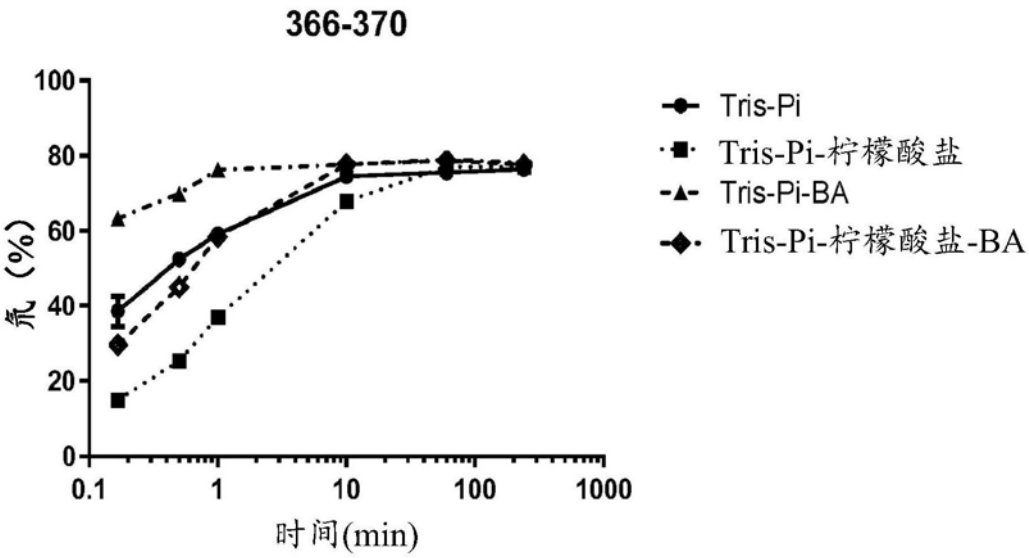

366-370
100
80
60
40
20
0
氘（%）
0.1
1
10
100
1000
时间(min)
Tris-Pi
Tris-Pi-柠檬酸盐
Tris-Pi-BA
Tris-Pi-柠檬酸盐-BA

图6H

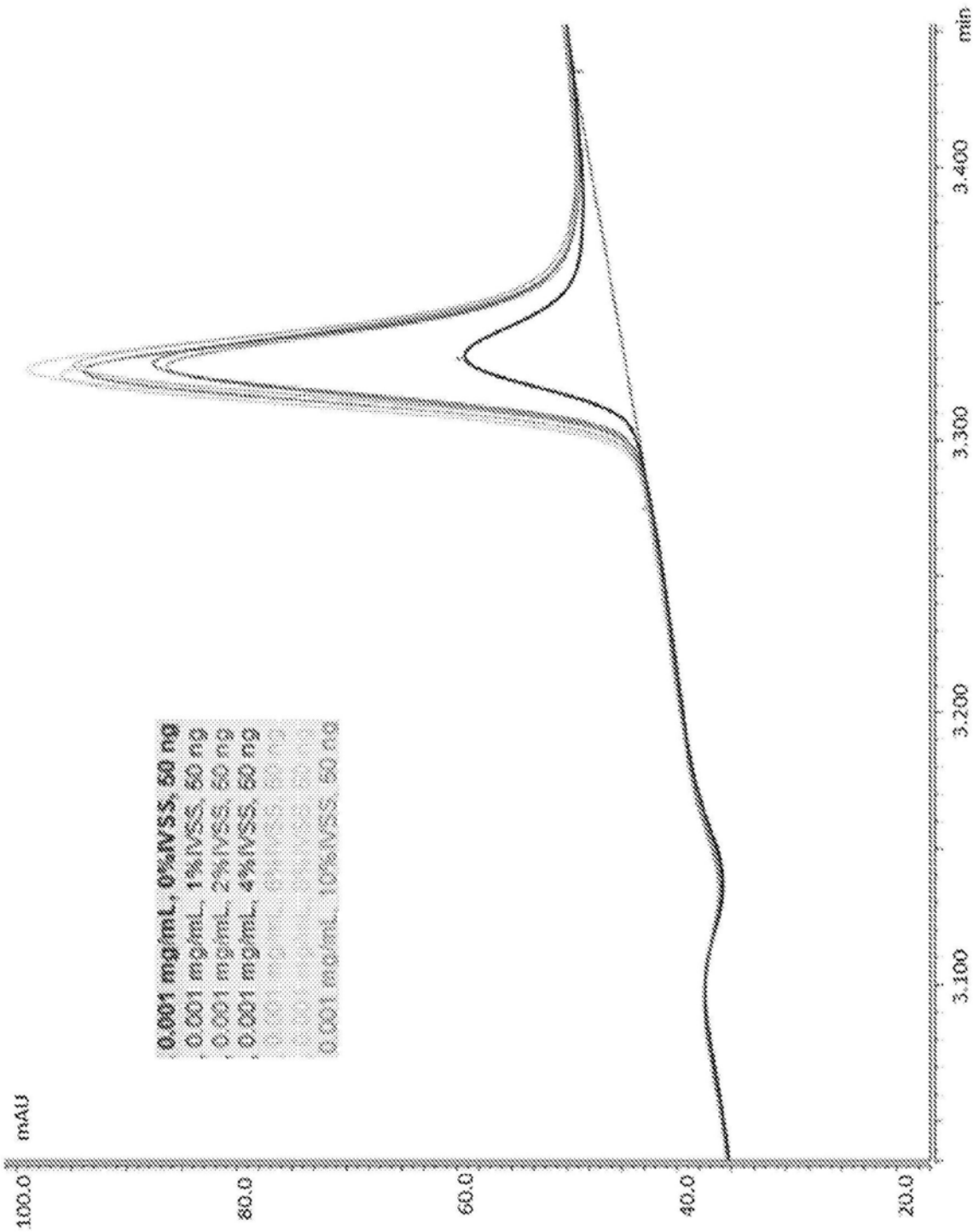

mAU
100.0
80.0
60.0
40.0
20.0
min
3.100
3.200
3.300
3.400
0.001 mg/mL, 0%IVSS, 50 ng
0.001 mg/mL, 1%IVSS, 50 ng
0.001 mg/mL, 2%IVSS, 50 ng
0.001 mg/mL, 4%IVSS, 50 ng
0.001 mg/mL, 100%IVSS, 50 ng

图7

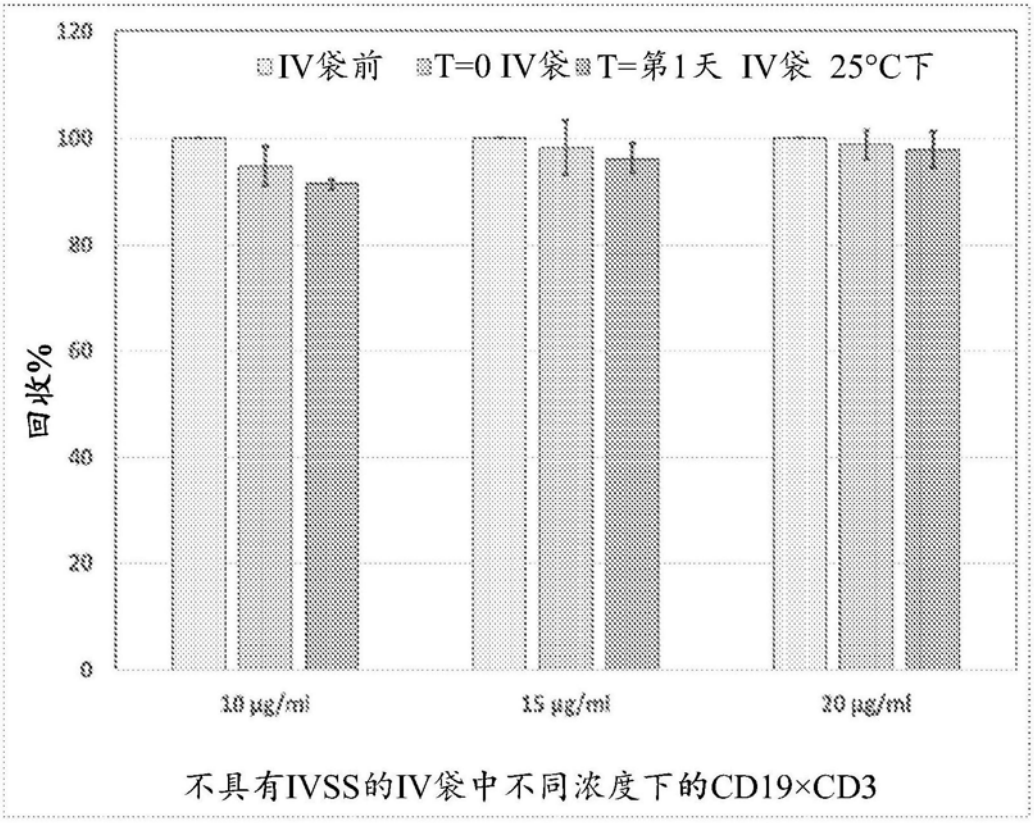

IV袋前
T=0 IV袋
T=第1天 IV袋 25°C下
回收%
120
100
80
60
40
20
0
10 μg/ml
15 μg/ml
20 μg/ml
不具有IVSS的IV袋中不同浓度下的CD19×CD3

图8A

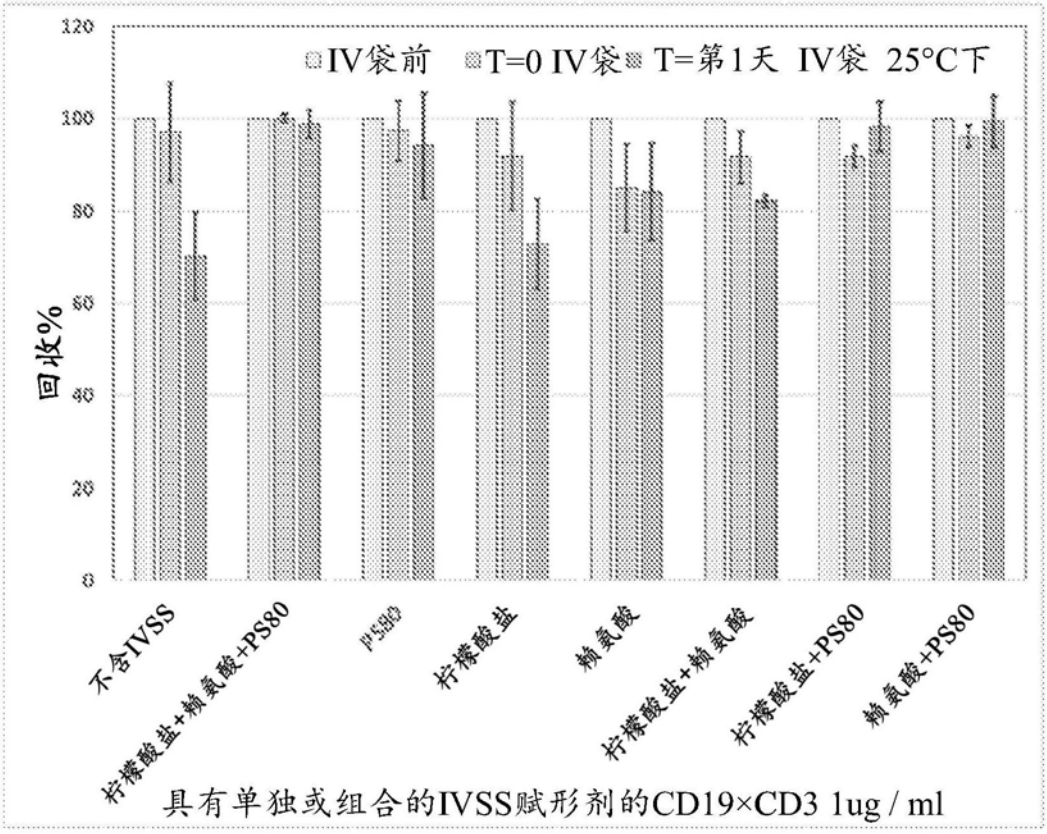

IV袋前
T=0 IV袋
T=第1天 IV袋 25°C下
回收%
120
100
80
60
40
20
0
不含IVSS
柠檬酸盐+精氨酸+PS80
PS80
柠檬酸盐
精氨酸
柠檬酸盐+精氨酸
柠檬酸盐+PS80
精氨酸+PS80
具有单独或组合的IVSS赋形剂的CD19×CD3 1ug / ml

图8B

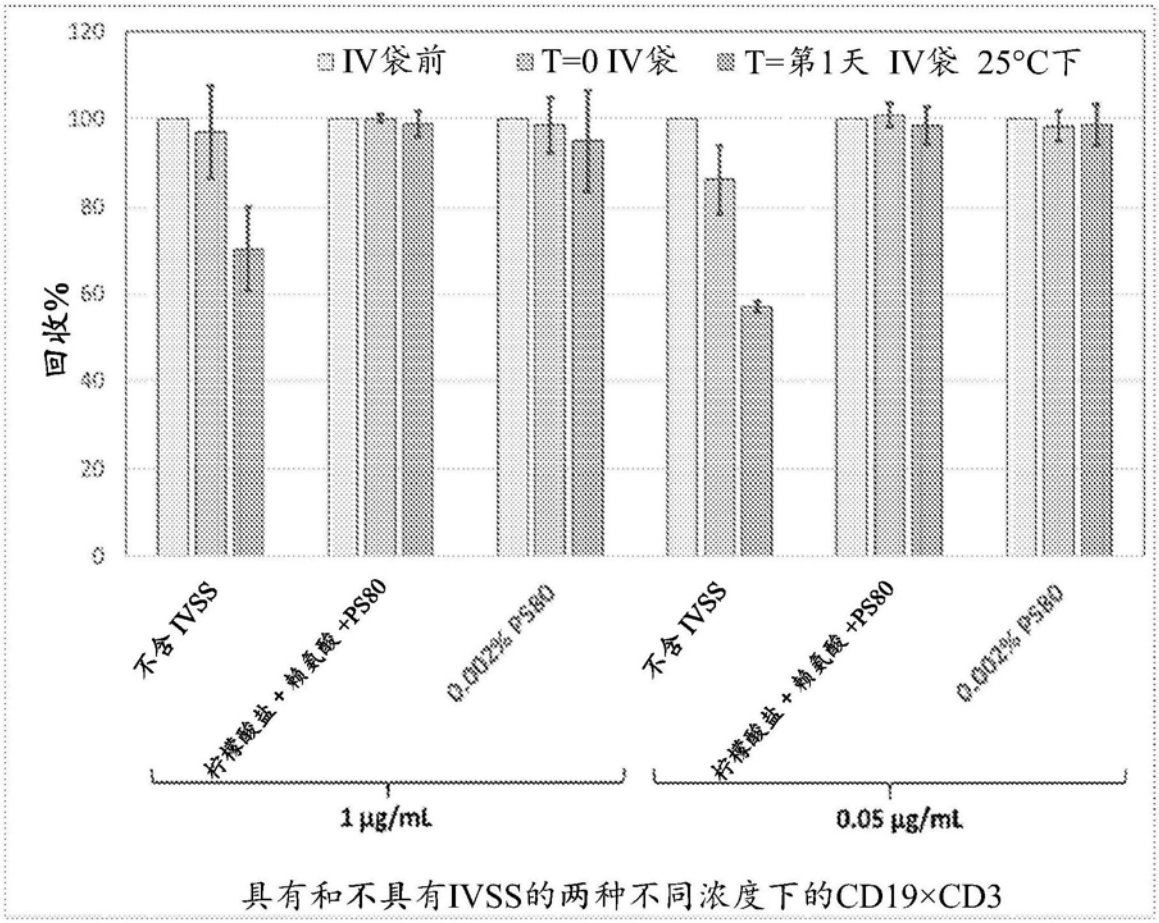

IV袋前
T=0 IV袋
T=第1天 IV袋 25°C下
回收%
120
100
80
60
40
20
0
不含IVSS
柠檬酸盐+精氨酸+PS80
0.002% PS80
不含IVSS
柠檬酸盐+精氨酸+PS80
0.002% PS80
1 μg/mL
0.05 μg/mL
具有和不具有IVSS的两种不同浓度下的CD19×CD3

图8C

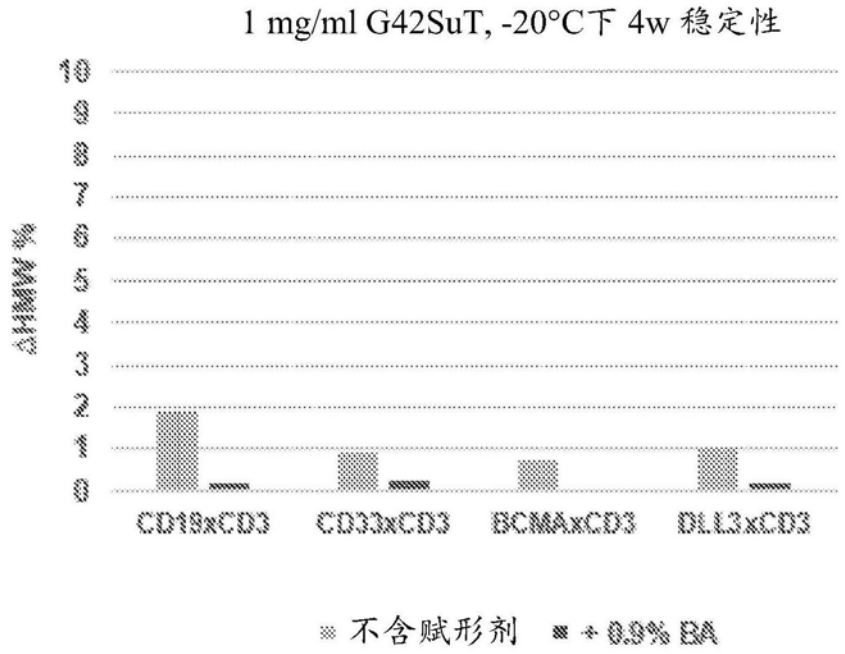

1 mg/ml G42SuT, -20°C下 4w 稳定性
ΔHMW %
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
CD19xCD3
CD33xCD3
BCMAxCD3
DLL3xCD3
不含赋形剂
+ 0.9% BA

图9

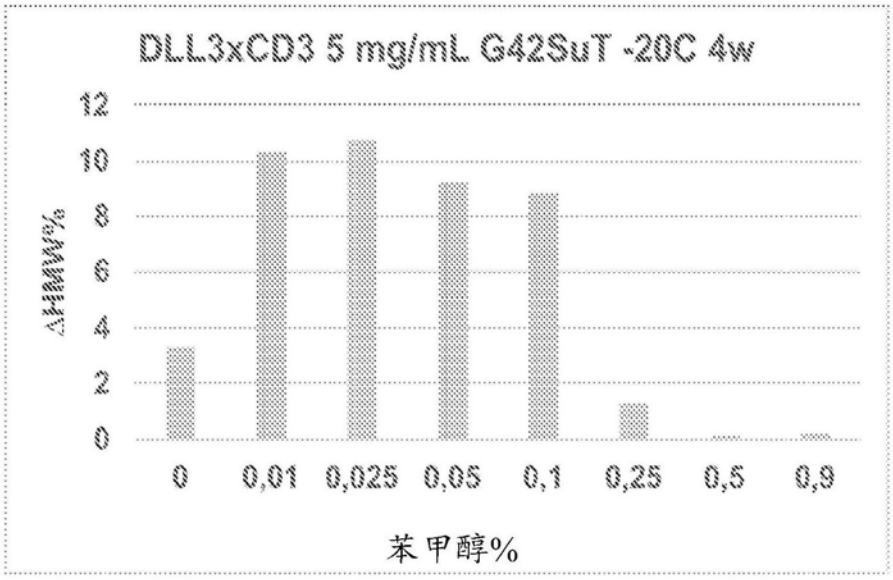

DLL3xCD3 5 mg/mL G42SuT -20C 4w
ΔHMW%
12
10
8
6
4
2
0
0
0,01
0,025
0,05
0,1
0,25
0,5
0,9
苯甲醇%

图10