202304993

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202304993 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 02 月 01 日

(21)申請案號：111112543 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 03 月 31 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C07K16/46 (2006.01)*
A61K39/395 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2021/03/31 美國 63/168,606
2021/09/29 美國 63/249,784
2022/01/20 美國 63/301,305
2022/03/25 世界智慧財產權組織 PCT/CA2022/050442

(71)申請人：加拿大商木曾路生物科技公司 (加拿大) KISOJI BIOTECHNOLOGY INC. (CA) 加拿大

(72)發明人：姚書剛 YAO, SHUGANG (CN)；瓦根查克 理查 WARGACHUCK, RICHARD (CA)；崔雲 CUI, YUN (CN)；侯 文陽 HOU, WENYANG (CA)；圖盧茲 傑克西 TOULOUSE, JACYNTHE (CA)；溫濟斯 伊雷傑斯 UNDZYS, ELIJUS (CA)；卡札涅茲 安娜 KAZANETS, ANNA (CA)；宮立瑩 GONG, LIYING (CN)；克里斯蒂齊 米立卡 KRSTIC, MILICA (CA)；王 曉葳 WANG, XIAOWEI (CA)；札哈達 希巴 ZAHREDDINE, HIBA (CA)；達 克魯斯 路易斯 DA CRUZ, LUIS (CA)；楊 士範 YOUNG, DAVID S. (CA)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：183 項 圖式數：27 共 355 頁

(54)名稱

靶向腫瘤及／或免疫細胞之結合劑

(57)摘要

本發明大體上關於能夠靶向腫瘤細胞及/或免疫細胞之結合劑。本發明之結合劑包含能夠與DR2、與 PD-1 及/或與 CD47 結合的重鏈抗體（HcAb）的一或多個抗原結合域。本發明之結合劑可以呈單體或多聚體的形式，且可以係單特異性的或多特異性的。

The present disclosure generally relates to binding agents that are capable of targeting tumor cells and/or immune cells. The binding agents of the present disclosure comprise one or more antigen binding domains of heavy chain antibodies (HcAb) which are capable of binding to DR2, to PD-1 and/or to CD47. The binding agents of the present disclosure may be in the form of monomers or multimers and may be monospecific or multispecific.

指定代表圖：

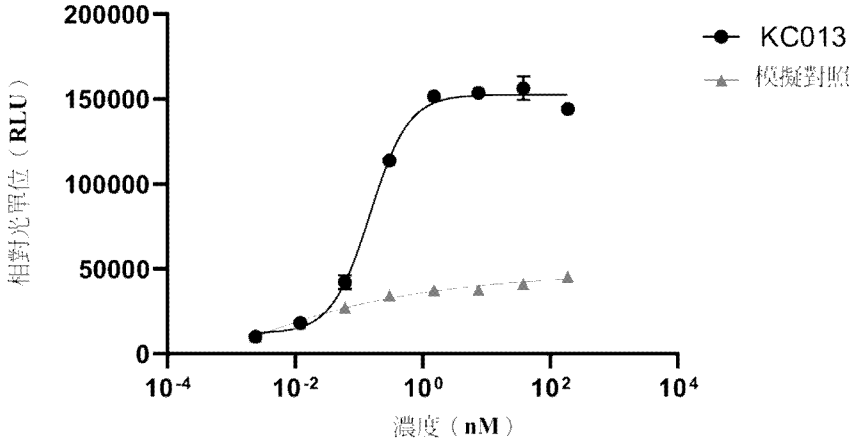

200000
150000
100000
50000
0
相對光單位（RLU）
10-4
10-2
100
102
104
濃度（nM）
KC013
模擬對照

圖1

【發明摘要】

【中文發明名稱】

靶向腫瘤及/或免疫細胞之結合劑

【英文發明名稱】

BINDING AGENTS TARGETING TUMORS AND/OR IMMUNE CELLS

【中文】

本發明大體上關於能夠靶向腫瘤細胞及/或免疫細胞之結合劑。本發明之結合劑包含能夠與 DR2、與 PD-1 及/或與 CD47 結合的重鏈抗體（HcAb）的一或多個抗原結合域。本發明之結合劑可以呈單體或多聚體的形式，且可以係單特異性的或多特異性的。

【英文】

The present disclosure generally relates to binding agents that are capable of targeting tumor cells and/or immune cells. The binding agents of the present disclosure comprise one or more antigen binding domains of heavy chain antibodies (HcAb) which are capable of binding to DR2, to PD-1 and/or to CD47. The binding agents of the present disclosure may be in the form of monomers or multimers and may be monospecific or multispecific.

【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

靶向腫瘤及/或免疫細胞之結合劑

【英文發明名稱】

BINDING AGENTS TARGETING TUMORS AND/OR IMMUNE CELLS

【技術領域】

【0001】 本發明大體上關於能夠靶向腫瘤細胞及/或免疫細胞之結合劑。本發明之結合劑包含能夠與 DR2、與 PD-1 及/或與 CD47 結合的 VHH 抗體的一或多個抗原結合域。本發明之結合劑可以呈單體或多聚體的形式，且可以係單特異性的或多特異性的。

【先前技術】

【0002】 駱駝及軟骨魚天然產生由僅功能性同二聚重鏈抗體（HCAb）構成的抗體（Hamers-Casterman 等人, 1993；Muyldermans 及 Smider, 2016）。HCAb 之重鏈缺乏第一恆定域（CH1）且與經典抗體之不同之處僅在於輕鏈配對通常涉及之一些胺基酸取代（Muyldermans 等人, 1994；Vu 等人, 1997）。此等取代（Val37Phe/Tyr、Gly44Glu、Leu45Arg 及 Trp47Gly）存在於構架區 2（FR2）中。HCAb 的抗原結合片段稱為 VHH 或 nanobody®。VHH 的分子量為約 15 kDa，此使其適合於需要增強的組織滲透或快速清除的應用，諸如基於放射性同位素之成像。但是，對於治療應用，VHH 半衰期通常需要延長，以便最大程度地降低腎臟清除率並最佳化治療功效（De Vlieger 等人,《抗體（Antibodies）》 8(1), 1-22, 2019）。雖然已經利用了延長 VHH 半衰期之方法，諸如聚乙二醇化、N-醣基化、HSA 或其他攜載體蛋白輸注，但此類構築體可能引入免疫原性或成功有限。

【0003】 VHH 已被利用作為製造雙特異性抗體及多特異性抗體的建構組元。在一些研究中，與單價形式相比，二價構築體顯示出增加的親合力或親和力

（Conrath 等人, 2001；Coppieters 等人, 2006；Hmila 等人, 2008；Simmons 等人, 2006 及 Hultberg 等人, 2011, Jähnichen 等人 (2010), Fridy 等人, 2014）。

【0004】 一些基於 VHH 之治療劑目前正處於研究後期或已被 FDA 批准。此等治療劑包括被批准用於血小板減少性紫癜症的針對抗原 vWF 的二價單特異性抗體卡普賽珠單抗（Caplacizumab）（Duggan, 2018）。針對 RSV 的三價奈米抗體複合物 ALX-0171 正處於開發後期，用於呼吸道合胞病毒感染（Detallea 等人, 2015）。ALX-0061 係單價的，針對抗原 IL-6R，但與 HSA 奈米抗體相連以延長半衰期，並且正處於臨床開發階段，用於 RA 及 SLE 適應症（Van Roy 等人, 2015）。研究性藥物 ALX-0761 含有三個針對抗原 IL-17A、IL-17F 及 HAS 的奈米抗體並且正在開發用於銀屑病（Svecova 等人, 2019）。抗 RANKL，亦即 ALX-0141 係二價的，針對抗原 RANKL，且與 HSA 相連以延長半衰期（Schoen 等人, 2013）。奧索拉珠單抗（Ozoralizumab）係二價奈米抗體，針對抗原 TNFα，且與 HSA 相連以延長半衰期（Fleischmann 等人, 2012）。

【0005】 申請人已經開發出靶向腫瘤細胞及/或免疫細胞的含有一或多個抗原結合域的新穎結合劑。

【發明內容】

【0006】 本發明通常關於尤其能夠靶向腫瘤細胞及/或免疫細胞之結合劑。

【0007】 在一些實施例中，本發明之結合劑能夠與 DR2 結合、與 PD-1 結合及/或與 CD47 結合。在本發明之其他實施例中，結合劑可能與表現 DR2 的細胞結合、與表現 PD-1 的細胞結合及/或與表現 CD47 的細胞結合。

【0008】 在一些實施例中，表現 DR2 的細胞包含腫瘤細胞。

【0009】 在一些實施例中，表現 PD-1 的細胞包含免疫細胞。

【0010】 在一些實施例中，表現 CD47 的細胞包含免疫細胞或腫瘤細胞。

【0011】 因此，在一些實施例中，結合劑可以包含能夠與 DR2 結合或與表

現 DR2 的細胞結合的抗原結合域、能夠與 PD-1 結合或與表現 PD-1 的細胞結合的抗原結合域及/或能夠與 CD47 結合或與表現 CD47 的細胞結合的抗原結合域。根據本發明，結合劑亦可以包含另外的抗原結合域。

【0012】 在一些實施例中，能夠與 DR2 結合或與表現 DR2 的細胞結合的抗原結合域係如本文所述的抗原結合域 1（ABD1）。在一些實施例中，能夠與 DR2 結合或與表現 DR2 的細胞結合的抗原結合域不限於抗原結合域 1（ABD1）。

【0013】 因此，在一些實施例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）。

【0014】 在一些實施例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）及至少一個其他抗原結合域。

【0015】 在一些情況下，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 1（ABD1），並且亦可以與免疫細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1），以及至少一個與免疫細胞結合的抗原結合域。

【0016】 在一些實施例中，能夠與 PD-1 結合或與表現 PD-1 的細胞結合的抗原結合域係如本文所述的抗原結合域 2（ABD2）。在一些實施例中，能夠與 PD-1 結合或與表現 PD-1 的細胞結合的抗原結合域不限於抗原結合域 2（ABD2）。

【0017】 因此，在一些實施例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 2（ABD2）。

【0018】 在一些實施例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 2（ABD2）及至少一個其他抗原結合域。

【0019】 在一些情況下，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 2（ABD2），且亦可以與腫瘤細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 2（ABD2），以及至少一個結合腫瘤細胞的抗原結合域。

【0020】 在一些實施例中，能夠與 CD47 結合或與表現 CD47 的細胞結合

的抗原結合域係如本文所述的抗原結合域 3（ABD3）。在一些實施例中，能夠與 CD47 結合或與表現 CD47 的細胞結合的抗原結合域不限於 ABD3。

【0021】 因此，在一些實施例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【0022】 在一些實施例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 3（ABD3）及至少一個其他抗原結合域。

【0023】 在一些情況下，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 3（ABD3），並且亦可以與腫瘤細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 3（ABD3），及至少一個與腫瘤細胞結合的抗原結合域。在其他實例中，結合劑可以包含至少一個抗原結合域 3（ABD3），並且亦可以與免疫細胞結合。在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 3（ABD3），以及至少一個與免疫細胞結合的抗原結合域。

【0024】 在某些情況下，結合劑能夠與 DR2 及與 PD-1 結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 DR2 結合的抗原結合域及至少一個與 PD-1 結合的抗原結合域。

【0025】 在某些情況下，結合劑能夠與 DR2 及與 CD47 結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 DR2 結合的抗原結合域，及至少一個與 CD47 結合的抗原結合域。

【0026】 在某些情況下，結合劑能夠與 DR2、PD-1 及與 CD47 結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 DR2 結合的抗原結合域、至少一個與 PD-1 結合的抗原結合域及至少一個與 CD47 結合的抗原結合域。

【0027】 在某些情況下，結合劑能夠與 PD-1 及與 CD47 結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 PD-1 結合的抗原結合域及至少一個與 CD47 結合的抗原結合域。

【0028】 在某些情況下，結合劑能夠與 PD-1、與 CD47 及與腫瘤細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 PD-1 結合的抗原結合域、至少一個與 CD47 結合的抗原結合域及至少一個與腫瘤細胞結合的抗原結合域。

【0029】 在某些情況下，結合劑能夠與 PD-1 及與腫瘤細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 PD-1 結合的抗原結合域及至少一個與腫瘤細胞結合的抗原結合域。

【0030】 在某些情況下，結合劑能夠與 CD47 及與腫瘤細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 CD47 結合的抗原結合域及至少一個與腫瘤細胞結合的抗原結合域。

【0031】 在某些情況下，結合劑能夠與 CD47 及與免疫細胞結合。因此，在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 CD47 結合的抗原結合域，以及至少一個與免疫細胞結合的抗原結合域。

【0032】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）。

【0033】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）。

【0034】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）。

【0035】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係選自：

抗原結合域 1（ABD1），

抗原結合域 2（ABD2）或

抗原結合域 3（ABD3）。

【0036】 在一些實施例中，結合劑可以包含靶向除 ABD1、ABD2 及 ABD3

所覆蓋的抗原決定基以外的抗原決定基的抗原結合域。因此，結合劑可以包含與 ABD1、ABD2 及/或 ABD3 具有相同或不同特異性的抗原結合域。

【0037】 在一些實施例中，結合劑可以包含超過一個抗原結合域。

【0038】 例如，在一些實施例中，結合劑可以包含兩個或更多個抗原結合域、三個或更多個抗原結合域、四個或更多個抗原結合域、五個或更多個抗原結合域、六個或更多個抗原結合域、七個或更多個抗原結合域、八個或更多個抗原結合域、九個或更多個抗原結合域、十個或更多個抗原結合域。

【0039】 在一些實施例中，結合劑可以包含在一個與十二個之間的抗原結合域。

【0040】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以係單特異性的。

【0041】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以係多特異性的。

【0042】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以係單價的。

【0043】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以係多價的。

【0044】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以呈單體的形式。

【0045】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以呈二聚體或更高階的形式，諸如三聚體、四聚體、五聚體等（例如，多聚體）。

【0046】 在一些情況下，結合劑的抗原結合域源自重鏈抗體。在某些情況下，重鏈抗體可以藉由對駱駝科或轉殖基因動物進行免疫接種來獲得。

【0047】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 DR2 結合且包含本文所述的互補決定區的抗原結合域。

【0048】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 PD-1 結合且包含本文所述的互補決定區的抗原結合域。

【0049】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個與 CD47 結合且包含本文所述的互補決定區的抗原結合域。

【0050】在一些實施例中，抗原結合域係在一或多個多肽鏈上。

【0051】在一些實施例中，抗原結合域抗原係在相同的多肽鏈上。

【0052】在一些實施例中，結合劑包含單個多肽鏈。

【0053】在一些實施例中，結合劑包含兩個多肽鏈。因此，結合劑可以呈二聚體的形式。

【0054】在一些實施例中，結合劑包含超過兩個多肽鏈，諸如三個或更多個多肽鏈、四個或更多個多肽鏈、五個或更多個多肽鏈、六個或更多個多肽鏈、七個或更多個多肽鏈、八個或更多個多肽鏈、九個或更多個多肽鏈、十個或更多個多肽鏈。因此，結合劑可以呈多聚體的形式。例如，包含三個多肽鏈之結合劑在本文中被稱為三聚體，包含四個多肽鏈之結合劑在本文中被稱為四聚體等。

【0055】在一些實施例中，結合劑包含能夠組裝形成二聚體的至少兩個多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含一或多個抗原結合域。

【0056】在一些實施例中，兩個多肽鏈能夠組裝形成二聚體，且每個多肽鏈包含不同的抗原結合域。

【0057】在一些實施例中，兩個多肽鏈能夠組裝形成二聚體，且每個多肽鏈包含相同的抗原結合域。

【0058】在一些實施例中，每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）。

【0059】在一些實施例中，每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 2（ABD2）。

【0060】在一些實施例中，每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 3（ABD3）。

【0061】在一些例示性實施例中，結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）及相同的抗原結合域 2（ABD2）。

【0062】在其他例示性實施例中，結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）及相同的抗原結合域

3（ABD3）。

【0063】在進一步的例示性實施例中，結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 2（ABD2）及相同的抗原結合域 3（ABD3）。

【0064】在又進一步的例示性實施例中，結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）、相同的抗原結合域 2（ABD2）及相同的抗原結合域 2（ABD3）。

【0065】在一些情況下，抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）及抗原結合域 2（ABD3）可佔據兩個多肽鏈中之每一個的相同位置。

【0066】在一些情況下，抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）及抗原結合域 2（ABD3）可佔據兩個多肽鏈中之每一個的不同位置。

【0067】在一些實施例中，結合劑的每個多肽鏈係相同的。

【0068】在一些實施例中，結合劑的每個多肽鏈係不同的。

【0069】在一些實施例中，兩個多肽鏈能夠組裝形成均二聚體。

【0070】在一些實施例中，兩個多肽鏈能夠組裝形成異二聚體。

【0071】在一些實施例中，抗原結合域被胺基酸序列分開。

【0072】在一些實施例中，胺基酸序列係連接子。

【0073】本發明之結合劑涵蓋例如本文所揭示之抗原結合域、本文所揭示之單個多肽鏈、本文所揭示之多肽鏈的二聚體或本文所揭示之多肽鏈的多聚體。

【0074】因此，本發明之結合劑可以具有以下型式：抗體及其抗原結合片段、抗體樣分子（Fc-、CH3-融合物等）、與蛋白質支架的融合物、免疫細胞調節劑等。

【0075】有利的是，本發明之結合劑可以具有 2020 年 12 月 18 日申請之 PCT/CA2020/051753（其全部內容以引用的方式併入本文中）中所揭示的式 Ia、

式 Ib、式 Ic、式 II、式 III、式 IV、式 V、式 VI、式 VII 或式 VIII 及其類似式或本文所揭示之式 I、式 II、式 III、式 IIIa 及式 IIIb、式 IV、式 V、式 VI、式 VII 或式 VIII 的型式。

【0076】 在一些實施例中，結合劑由包含一或多個抗原結合域的多肽鏈及允許至少兩個多肽鏈形成二聚體的二聚化域構成。

【0077】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 I 之胺基酸序列：

$$X\text{-}[(Ab_a)\text{-}(L_b)]_m\text{-}(DD)\text{-}[(L_c)\text{-}(Ab_d)]_n\text{-}Y$$

其中 m 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 n 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 m 及 n 不同時地係 0；

其中 Ab_a、Ab_d 各自表示抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）；

其中 X 或 Y 獨立地存在或不存在，且包含胺基酸序列；

其中 L_b、L_c 各自獨立地包含一或多個連接子；且

其中 DD 表示二聚化域。

【0078】 在一些實施例中，多肽鏈包含兩個或更多個抗原結合域、三個或更多個抗原結合域、四個或更多個抗原結合域、五個或更多個抗原結合域、六個或更多個抗原結合域等。

【0079】 在一些實施例中，多肽鏈包含在一個與十二個之間的抗原結合域。

【0080】 在一些實施例中，結合劑包含一個多肽鏈。

【0081】 在一些實施例中，結合劑包括兩個多肽鏈、三個多肽鏈、四個多肽鏈、五個多肽鏈、六個多肽鏈、七個多肽鏈、八個多肽鏈、九個多肽鏈、十個多肽鏈或超過十個多肽鏈。

【0082】在一些實施例中，多肽鏈可以共價連接。

【0083】在一些實施例中，多肽鏈可以非共價連接。

【0084】在一些實施例中，多肽鏈可以經由靜電相互作用締合。

【0085】在其中 m 係 2 或大於 2 之整數的一些實施例中，[(Ab_a)-(L_b)]單元係相同或不同的。

【0086】在其中 n 係 2 或大於 2 之整數的一些實施例中，[(L_c)-(Ab_d)]單元係相同或不同的。

【0087】在一些實施例中，當 m 係 2 或大於 2 之整數時，每個 Ab_a 係相同或不同的。

【0088】在一些實施例中，當 n 係 2 或大於 2 之整數時，每個 Ab_d 係相同或不同的。

【0089】在一些實施例中，Ab_a 表示 ABD1、ABD2 或 ABD3。

【0090】在一些實施例中，Ab_d 表示 ABD1、ABD2 或 ABD3。

【0091】在一些實施例中，Ab_d 表示 ABD1、ABD2 或 ABD3。

【0092】在實施例中，一或多個多肽鏈進一步包含抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區。例如，在一些實施例中，L_b 係抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區。

【0093】在一些實施例中，鉸鏈區係來自 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的天然鉸鏈區。

【0094】在一些實施例中，鉸鏈區係具有至少 70%一致性的突變鉸鏈區，其中天然鉸鏈區來自 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。

【0095】在一些實施例中，一或多個連接子中之每一個獨立地具有長度為至少 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸的殘基。

【0096】在一些實施例中，一或多個連接子中之每一個獨立地係可撓性連接子、螺旋連接子或剛性連接子。

【0097】在一些實施例中，可撓性連接子係 GS 連接子。在一些實施例中，可撓性連接子包含如本文所述的一或多個 GGGGS 單元。

【0098】在一些實施例中，剛性連接子包含如本文所述的多個 PA 重複序列。

【0099】在一些實施例中，螺旋連接子包含如本文所述的一或多個EAAAK單元。

【0100】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 II：X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y（式 II）。

【0101】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 III：X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 III）。

【0102】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 IV：X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y（式 IV）。

【0103】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 V：X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 V）。

【0104】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 VI：X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y（式 VI）。

【0105】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 VII：X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 VII）。

【0106】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈包含式 VIII：X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y（式 VIII）。

【0107】在一些實施例中，Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}或 Ab_{d3}各自獨立

地包含抗原結合域。

【0108】在一些實施例中，Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}或Ab_{d3}各自獨立地表示抗原結合域。

【0109】在一些實施例中，Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}或Ab_{d3}中的至少一個係抗原結合域1（ABD1）、抗原結合域2（ABD2）或抗原結合域3（ABD3）。

【0110】在一些實施例中，Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}、或Ab_{d3}中的至少一個並非抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）。

【0111】在一些實施例中，L_{b1}包含一個連接子或多個連接子及/或抗體或其抗原結合片段的鉸鏈區。在一些實施例中，鉸鏈區係如本文所揭示之天然鉸鏈區。在其他實施例中，鉸鏈區係如本文所揭示之突變鉸鏈區。

【0112】在一些實施例中，L_{b2}、L_{b3}、L_{c1}、L_{c2}及L_{c3}各自獨立地包含如本文所揭示之一個連接子或多個連接子。

【0113】在一些實施例中，多肽鏈包含如本文所揭示之抗原結合域 ABD1及與免疫細胞結合的抗原結合域。

【0114】在一些實施例中，多肽鏈包含如本文所揭示之抗原結合域 ABD2及與腫瘤細胞結合的抗原結合域。

【0115】在一些實施例中，多肽鏈包含如本文所揭示之抗原結合域 ABD3及與腫瘤細胞結合的抗原結合域。

【0116】在一些實施例中，多肽鏈包含如本文所揭示之抗原結合域 ABD3及與免疫細胞結合的抗原結合域。

【0117】在一些實施例中，多肽鏈包含至少一個選自如本文所揭示之ABD1、ABD2及ABD3的抗原結合域。

【0118】在一些實施例中，多肽鏈包含至少兩個選自如本文所揭示之

ABD1、ABD2 及 ABD3 的抗原結合域。

【0119】在一些實施例中，多肽鏈包含至少三個選自如本文所揭示之 ABD1、ABD2 及 ABD3 的抗原結合域。

【0120】在一些實施例中，二聚化域包含免疫球蛋白二聚化域。本文涵蓋的熟習此項技術者已知的其他二聚化域包括白胺酸拉鏈等。

【0121】在一些實施例中，二聚化域包含 IgG、IgM、IgA、IgD 或 IgE 二聚化域（來自人或動物 IgGss、IgM、IgAs、IgDs 或 IgE）。

【0122】在一些實施例中，二聚化域包含抗體之 CH3 域。二聚化域亦可以包含抗體之 CH2 域。

【0123】在一些例示性實施例中，二聚化域包含天然 CH3 域。

【0124】在一些例示性實施例中，二聚化域包含突變 CH3 域。

【0125】在一些實施例中，二聚化域包含天然 CH2 及天然 CH3 域。

【0126】在一些實施例中，二聚化域包含天然 CH2 及突變 CH3 域。

【0127】在一些實施例中，二聚化域包含突變 CH2 及突變 CH3 域。

【0128】在一些實施例中，二聚化域包含突變 CH2 及天然 CH3 域。

【0129】在一些實施例中，二聚化域不包含 CH1 域。

【0130】在一些實施例中，二聚化域不包含 CH4 域。

【0131】在一些實施例中，二聚化域包含抗體的 Fc 區或其一部分。

【0132】在一些實施例中，多肽鏈包含至少兩個或至少三個抗原結合域及二聚化域，其允許組裝兩個多肽鏈以形成多價及/或多特異性結合劑。

【0133】在實施例中，抗原結合域包含單域抗體（sdAb）的抗原結合域或由其組成。

【0134】在實施例中，抗原結合域包含重鏈可變區（VH 或 VHH）。

【0135】在某些實施例，VHH 衍生自人類、小鼠、大鼠等。

【0136】在一些實施例中，VHH 來自能夠表現駱駝化小鼠或大鼠 VHH、來自其他物種（例如，人類等）的 VHH 或來自其他物種的駱駝化 VHH（例如，駱駝化人類 VHH 等）的轉殖基因小鼠或大鼠。

【0137】在一些實施例中，結合劑不包含輕鏈可變區（VL 或 VLL）。

【0138】在實施例中，結合劑包含輕鏈可變區（VL 或 VLL）。

【0139】在一些實施例中，抗原結合域係單鏈可變片段（ScFv）。

【0140】在實施例中，抗原結合域來自 V_{NAR} 片段。

【0141】在其他實施例中，多肽鏈的抗原結合域包含以下的組合：單域抗體（sdAb）的任何抗原結合域、重鏈可變區（VH 或 VHH）、輕鏈可變區（VL 或 VLL）、單鏈可變片段（ScFv）及/或 V_{NAR} 片段。

【0142】在一些實施例中，sdAb 或 VHH 來自駱駝科抗體。

【0143】在實施例中，駱駝科抗體來自單峰駱駝、駱駝、駱馬、羊駝等。

【0144】在其他實施例中，sdAb 或 VHH 來自軟骨魚抗體。

【0145】在實施例中，軟骨魚抗體係鯊魚抗體。

【0146】在一些實施例中，每個抗原結合域特異性地與不同抗原決定基結合。

【0147】在其他實施例中，每個抗原結合域特異性地與不同抗原結合。

【0148】在其他實施例中，每個抗原結合域特異性地與不同蛋白質結合。

【0149】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與由腫瘤表現的蛋白結合的抗原結合域，該抗原結合域。在其他實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與由腫瘤表現的蛋白質結合且調節其活性的抗原結合域。

【0150】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域。在其他實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多

肽鏈包含至少一個與免疫檢查點蛋白結合且調節其活性的抗原結合域。

【0151】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與免疫細胞蛋白結合的抗原結合域。在其他實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與免疫細胞蛋白結合且調節其活性的抗原結合域。然而，在其他實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與免疫細胞結合或者接合或募集或重定向免疫細胞的抗原結合域。

【0152】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與周邊血液單核細胞（PBMC）結合的抗原結合域。在其他實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與 PBMC 結合且調節其活性的抗原結合域。然而，在其他實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與 PBMC 結合且募集或重定向 PBMC 的抗原結合域。

【0153】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與 T 細胞蛋白結合的抗原結合域。在其他實施例中，結合劑可以與 T 細胞蛋白結合，並且可以調節其活性。然而，在其他實施例中，結合劑可以與 T 細胞蛋白結合，並且可以募集或重定向 T 細胞。在一些實施例中，結合劑可以與活化 T 細胞結合及/或可調節活化 T 細胞的活性。

【0154】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與由腫瘤表現的蛋白質結合的抗原結合域及至少一個與免疫細胞結合且募集或重定向免疫細胞的抗原結合域。

【0155】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與由腫瘤表現的蛋白質結合的抗原結合域、至少一個與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域及至少一個與免疫細胞結合且募集或重定向免疫細胞的抗原結合域。

【0156】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個調節免疫檢查點抑制劑的抗原結合域。

【0157】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與腫瘤抗原結合的抗原結合域、至少一個與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域及至少一個與 T 細胞結合的抗原結合域。

【0158】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個與腫瘤抗原結合的抗原結合域、至少一個與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域及至少一個與 CD47 結合的抗原結合域。

【0159】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個調節 CD47 功能的抗原結合域。

【0160】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含至少一個結合 CD47 並藉由阻斷 SiRPα/CD47 相互作用來增強巨噬細胞功能的抗原結合域。

【0161】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含特異性地與受體結合的抗原結合域。

【0162】在一些實施例中，結合劑包含多肽鏈，該多肽鏈包含特異性地與腫瘤抗原結合的抗原結合域及特異性地與免疫調節劑結合的抗原結合域。

【0163】在一些實施例中，特異性與腫瘤抗原結合的抗原結合域係二聚化域之 N 端，且特異性與免疫調節劑結合的抗原結合域係二聚化域之 C 端。

【0164】在一些實施例中，免疫調節劑係免疫檢查點蛋白、細胞介素、趨化介素或免疫受體或者免疫輔受體。

【0165】本文應當理解，給定抗原結合域可以與不同蛋白質中存在的抗原決定基結合。因此，在一些實施例中，抗原結合域或包含其之結合劑可以與超過一種蛋白質結合。在一些實施例中，抗原結合域或結合劑可以對超過一種蛋白質具有親和力。

【0166】在一些實施例中，結合劑包含能夠形成二聚體的至少兩個多肽鏈。

【0167】在一些實施例中，兩個多肽鏈係相同的。

【0168】在一些實施例中，兩個多肽鏈係不同的。

【0169】在一些實施例中，多肽鏈係相同的，並且結合劑係同二聚體。

【0170】在一些實施例中，多肽鏈係不同的，並且結合劑係異二聚體。

【0171】在一些實施例中，結合劑係多特異性抗體。

【0172】在一些實施例中，結合劑係雙特異性的、三特異性的或四特異性的。

【0173】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多特異性的多肽鏈。

【0174】在一些實施例中，結合劑包含雙特異性、三特異性或四特異性的一或多個多肽鏈。

【0175】在一些實施例中，一或多個多肽鏈具有相同的價位和特異性。

【0176】在一些實施例中，一或多個多肽鏈具有不同的價位和特異性。

【0177】在一些實施例中，一或多個多肽鏈各自係抗體重鏈。

【0178】如前述技術方案中任一項之結合劑，其中該結合劑係抗體或其抗原結合片段。

【0179】在一些實施例中，該結合劑係雙特異性抗體。

【0180】在一些實施例中，雙特異性抗體進一步包含第一抗體輕鏈及第二抗體輕鏈。

【0181】在一些實施例中，一或多個抗原結合域經人類化。

【0182】在一些實施例中，一或多個抗原結合域經部分人類化。

【0183】在一些實施例中，抗原結合域包含一或多個人類構架。

【0184】在一些實施例中，X 或 Y 獨立地選自連接子、細胞介素、趨化介素、標籤、掩蔽域、噬菌體外殼蛋白（pIII、pVI、pV、pVII 或 pIX）、抗原結合域或其組合。

【0185】在一些實施例中，多肽鏈與治療性部分綴合。

【0186】在一些實施例中，多肽鏈與可偵測部分綴合。

【0187】在一些實施例中，多肽鏈與允許延長半衰期的蛋白綴合。

【0188】在一些實施例中，多肽鏈與奈米粒子連接。

【0189】本發明之其他態樣及實施例係關於一種組合物，其包含本文所揭示之至少一種結合劑。

【0190】在一些實施例中，組合物包含單體、二聚體及其混合物。

【0191】在一些實施例中，大於 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的第一多肽鏈及第二多肽鏈以二聚體形式存在於組合物中。

【0192】在一些實施例中，大於 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的第一多肽鏈及第二多肽鏈以同二聚體形式存在於組合物中。

【0193】在一些實施例中，大於 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的第一多肽鏈及第二多肽鏈以異二聚體形式存在於組合物中。

【0194】本發明之其他態樣及實施例係關於一種醫藥組合物，其包含本文所揭示之結合劑及醫藥學上可接受之載劑。

【0195】本發明之又其他態樣及實施例係關於一種核酸或核酸組，其編碼本文所揭示之多肽鏈及/或結合劑。

【0196】如本文所揭示的，核酸可以呈 DNA 區段的形式。

【0197】本發明之另外的態樣及實施例係關於一種包含本文所揭示之核酸的載體或包含本文所揭示之核酸的載體組。

【0198】本發明之進一步的態樣及實施例係關於一種細胞，其表現本文所揭示之多肽鏈或結合劑。

【0199】本發明之另外的態樣及實施例係關於一種細胞，其包含本文所揭示之核酸或載體。

【0200】本發明之進一步的態樣及實施例係關於一種套組，其包含本文所

揭示之結合劑。

【0201】本發明之又進一步的態樣及實施例係關於一種套組，其包含本文所揭示之核酸。

【0202】本發明之又進一步的態樣及實施例係關於一種套組，其包含本文所揭示之載體。

【0203】本發明之又進一步的態樣及實施例係關於一種套組，其包含本文所揭示之細胞。

【0204】在另一態樣及實施例中，本發明係關於一種治療病症或疾病之方法，該方法包含投與本文所揭示之結合劑。

【0205】在進一步的態樣及實施例中，本發明係關於一種治療病症或疾病之方法，該方法包含投與本文所揭示之組合物。

【0206】在進一步的態樣及實施例中，本發明係關於一種治療病症或疾病之方法，該方法包含投與本文所揭示之醫藥組合物。

【0207】在某些實施例中，該病症或疾病係癌症。

【0208】在一些實施例中，該病症或疾病係實性瘤。

【0209】在一些實施例中，該病症或疾病係晚期轉移性實性癌。

【0210】在某些實施例中，該病症或疾病係血液性癌症。

【0211】在某些實施例中，該病症或疾病係肺癌。

【0212】在一些實施例中，該肺癌係轉移性的。

【0213】在一些實施例中，該病症或疾病係小細胞肺癌。

【0214】在一些實施例中，該病症或疾病係非小細胞肺癌。

【0215】在一些實施例中，該病症或疾病係骨髓瘤。

【0216】在一些實施例中，該病症或疾病係前列腺癌。

【0217】在一些實施例中，該病症或疾病係乳癌。

【0218】在一些實施例中，該病症或疾病係直腸癌。

【0219】在一些實施例中，該病症或疾病係胰臟癌。

【0220】在一些實施例中，該病症或疾病係神經膠質母細胞瘤。

【0221】在一些實施例中，該病症或疾病係感染。

【0222】在一些實施例中，該病症或疾病係免疫失調。

【0223】在其他態樣及實施例中，本發明涉及一種製備本文所揭示之結合劑之方法，該方法包含用一或多種載體對細胞進行轉型，該一或多種載體包含本文所揭示之核酸。

【0224】在一些實施例中，該方法可以進一步包含自雜質中分離及/或純化結合劑。

【0225】在其他實施例中，該方法可以進一步包含自單體及/或同二聚體中分離及/或純化異二聚體。

【0226】在其他實施例中，該方法可以進一步包含自單體及/或異二聚體中分離及/或純化同二聚體。

【0227】在一些實施例中，該方法亦進一步包含將該結合劑與治療性部分、可偵測部分或允許延長半衰期的蛋白或與奈米粒子綴合。

【0228】本發明之進一步範圍、適用性及優勢將自下文給出的非限制性詳細描述中顯而易見。然而，應當理解，本詳細描述雖然指示本發明之例示性實施例，但僅以舉例的方式且參考附圖給出。

【圖式簡單說明】

【0229】**圖 1**：表示 D2 特異性結合劑（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）在 D2 蛋白脂質體上的結合曲線之圖式。包括模擬蛋白脂質體作為陰性對照。

【0230】**圖 2**：列出了用各種 G 蛋白感測器轉染之 GPCR BRET 分析中 D2 特異性結合劑（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）之 EC50 之表格。將多巴胺用作陽性對照

以顯示 GPCR 與包括 Gαz、Gαi2、GαoA 及 Barr2 在內的 G 蛋白的反應。陰性對照係包含 SEQ ID NO:114 中所示之抗原結合域的 4HEM 特異性結合劑（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）（KC018）。

【0231】 **圖 3**：顯示在用包含 D2 特異性抗原結合域（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）（KC013；SEQ ID NO:73）的結合劑處理後 NCI-H69 細胞中基因表現變化之熱圖。陰性對照係包含 SEQ ID NO:114 中所示之抗原結合域的 4HEM 特異性結合劑（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）（KC018）。

【0232】 **圖 4A-4B**：表示來自**圖 3** 的 RNAseq 結果的 PANTHER 分析的經下調信號傳導路徑及蛋白質類別之圖式。

【0233】 **圖 5A-5C**：表示在用包含 D2 特異性抗原結合域（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）的結合劑（KC013；SEQ ID NO:73）處理後藉由 qRT-PCR NCI-H69（**圖 5A**）、NCI-H82（**圖 5B**）及 HEK-D2（**圖 5C**）驗證的下調基因的圖式。

【0234】 **圖 6A-6B**：表示包含 D2 特異性抗原結合域（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）的結合劑（KC013；SEQ ID NO:73）及曲妥珠單抗在 SCID 小鼠中單劑量注射的藥物動力學的圖式（**圖 6A**：IV 注射）（**圖 6B**：IP 注射）。

【0235】 **圖 7A-7C**：顯示與同型對照（虛線）在 NCI-H727 腫瘤預防模型（**圖 7A**）、NCI-H69 腫瘤預防模型（**圖 7B**）或 NCI-H510A 腫瘤預防模型（**圖 7C**）中相比，包含 D2-特異性抗原結合域（VHH-鉸鏈-CH2-CH3，實線）的結合劑（KC013；SEQ ID NO:73）在具有小細胞肺癌（SCLC）異種移植模型腫瘤的 NCG 小鼠中的腫瘤動力學及活體內功效之圖式。陰性對照係包含 SEQ ID NO:114 中所示之抗原結合域的 4HEM 特異性結合劑（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）（KC018）。

【0236】 **圖 8**：列出了在用包含 SEQ ID NO:71（KC011）、SEQ ID NO:72（KC012）、SEQ ID NO:73（KC013）或 SEQ ID NO:74（KC014）中所述之胺基酸序列的 D2 特異性結合劑（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）處理後 SCID 小鼠中的各種

腫瘤預防 SCLC 腫瘤模型中的腫瘤生長抑制百分比的表格。

【0237】 **圖 9A**：顯示 PD-1 特異性結合劑（KC036；SEQ ID NO:94）對人類、食蟹獼猴及大鼠重組 PD1 蛋白或對照蛋白（BSA）的結合曲線的圖式。陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC035：SEQ ID NO:93）。

【0238】 **圖 9B**：顯示 PD-1 特異性結合劑（KC036；SEQ ID NO:94）與抗 PD-1 抗體帕博利珠單抗（Pembrolizumab）（陽性對照）相比對人類重組 PD1 蛋白的結合曲線的圖式。陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC035：SEQ ID NO:93）。

【0239】 **圖 9C**：顯示 CD47 特異性結合劑（KC015；SEQ ID NO:75）對人類重組 CD47 蛋白的結合曲線的圖式。KC015 的陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC016：SEQ ID NO:76）。陽性對照係單株抗體純系 B6H12。純系 B6H12 的同型對照用作小鼠 IgG 同型對照抗體。

【0240】 **圖 9D**：顯示 CD47 特異性結合劑 KC015 對食蟹獼猴 CD47 蛋白的結合曲線的圖式。陰性對照 KC016 係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑。陽性對照係單株抗體純系 B6H12。純系 B6H12 的同型對照用作小鼠 IgG 同型對照抗體。

【0241】 **圖 9E**：表示 CD47 特異性結合劑 KC015 對包括 T 細胞、單核球、顆粒球、紅血球（RBC）及血小板在內的各種血球亞型的結合曲線的圖式。

【0242】 **圖 10**：表示藉由流動式細胞測量術獲得的 PD-1 特異性結合劑（KC036；SEQ ID NO:94）對 CHO-PD1 細胞（**圖 10B**）及 CHO 親代細胞（**圖 10A**）的細胞結合活性的圖式。市售 PD-1 抗體用作陽性對照。陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC035：SEQ ID NO:93）。

【0243】 **圖 11**：表示在用於經由 CD3 次單元活化 T 細胞的培育後 48 小時在 CD33 BiTE 存在下或在對照 BiTE 存在下由 PD-1 特異性結合劑（KC036；SEQ

ID NO:94）誘導的 PBMC 介導之 THP-1 死亡的細胞毒性數據之圖式。陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC031：SEQ ID NO:89）。陽性對照包括帕博利珠單抗及納武單抗（nivolumab）。

【0244】**圖 12**：顯示使用 PD-1/PD-L1 阻斷生物分析系統的 PD-1 特異性結合劑（KC036；SEQ ID NO:94）的檢查點抑制活性之圖式。此系統係在 NFAT 啟動子下表現螢光素酶報導基因的工程化 Jurkat 細胞系。陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC035:SEQ ID NO:93）。抗 PD-1 抗體帕博利珠單抗用作陽性對照。

【0245】**圖 13**：表示包含抗 D2、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域的三特異性結合劑與 HEK293T 細胞及 HEK293T-CD47 KO 細胞（CD47 剔除細胞）（KC020；SEQ ID NO:77）以及包含相同抗 CD47 抗原結合域的單特異性結合劑（KC015:SEQ ID NO:75 VHH-鉸鏈-CH2-CH3）的圖式。陰性對照包括包含抗 HEWL 抗原結合域的相應形式（KC016（SEQ ID NO:76）及 KC039（SEQ ID NO:97））。市售抗人類 CD47 抗體（純系 CC2C6）用作陽性對照。

【0246】**圖 14**：表示包含抗 D2 及抗 CD47 抗原結合域的結合劑與包含抗 HEWL 抗原結合域（KC035:SEQ ID NO:93）或抗 CD3 及抗 HEWL 抗原結合域（KC034；SEQ ID NO:92）的對照結合劑相比，對人類 T 細胞（KC040: SEQ ID NO:84）之結合的圖式。

【0247】**圖 15A-15B**：表示由包含人類 T 細胞（KC040: SEQ ID NO:84）上的抗 D2 及抗 CD47 抗原結合域的結合劑以 5:1 的 E 與 T 之比誘導的 T 細胞活化（**圖 15A**）及 T 細胞依賴性細胞毒性（**圖 15B**）的圖式。對照包括僅培養基（陰性對照）、包含抗 HEWL 抗原結合域及相同抗 D2 抗原結合域（陰性對照 KC032；SEQ ID NO:90）及 OKT3（陽性對照）的結合劑。

【0248】**圖 16**：說明在存在或不存在刀豆球蛋白 A 的情況下用包含 D2 及

CD47 特異性抗原結合域（KC040:SEQ ID NO:84）的結合劑處理後 T 細胞活化的圖式。對照包括包含 HEWL 結合域特異性抗原（KC035：SEQ ID NO:93）或抗 CD3 及抗 HEWL 抗原結合域（陽性對照 KC034；SEQ ID NO:92）或 OKT3（陽性對照）的結合劑。

【0249】**圖 17**：顯示使用 Promega CD47/SIRPα 阻斷生物分析系統的 CD47 特異性結合劑（KC015；SEQ ID NO:75）的檢查點抑制活性之圖式。此系統係工程化 THP-1 細胞系，表現由與 FcγR 接合的 FcγR 蛋白誘導的螢光素酶報導基因。陰性對照係包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC016：SEQ ID NO:76）。陽性對照係單株抗體純系 B6H12。純系 B6H12 的同型對照係小鼠 IgG 同型對照抗體。

【0250】**圖 18**：表示在 NCG 小鼠中既定的 NCI-H82 異種移植模型中用包含抗 D2、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域的三特異性結合劑（KC021:SEQ ID NO:78）處理後腫瘤體積的圖式。陰性對照包括包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC031：SEQ ID NO:89）。

【0251】**圖 19A-19B**：表示在用包含抗 D2 及抗 PD-1 抗原結合域（KC037；SEQ ID NO:95）、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域（KC038；SEQ ID NO:96）的結合劑或包含相同抗 D2、抗 PD1 及抗 CD47 抗原結合域的三特異性結合劑（KC020；SEQ ID NO:77 及 KC021：SEQ ID NO:78）處理後 T 細胞浸潤至 NCI-H69 集群中（**圖 19A**）或用相同試劑活化 T 細胞（**圖 19B**）的圖式。對照包括包含 HEWL 特異性抗原結合域的結合劑（KC035:SEQ ID NO:93）。

【0252】**圖 20A-20B**：表示腫瘤體積的圖式（**圖 20A**）及表示用包含不同抗 D2 及相同抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域的三特異性結合劑（KC020；SEQ ID NO:77，KC022；SEQ ID NO:79，KC023；SEQ ID NO:80，KC024；SEQ ID NO:81，KC025；SEQ ID NO:82，KC026；SEQ ID NO:83）處理後的腫瘤生長抑

制之表格（**圖 20B**）。

【0253】 **圖 21A**：表示在 NCG 小鼠的 PBMC 預植入之 NCI-H82 異種移植模型中用 CD47 特異性結合劑（KC015；SEQ ID NO:75）處理後的腫瘤體積之圖式。在腫瘤細胞植入前 3 天，將 1000 萬個 PBMC 植入 NCG 小鼠中。在 PBMC 植入後 10 天開始處理，每週兩次，共 8 個劑量。研究中使用的陰性對照係 PBS。

【0254】 **圖 21B**：顯示了在不同模型中使用包括 NCI-H69、NCI-H82、SCLC-21H 及 RKO 的各種腫瘤細胞的 KC020（SEQ ID NO:77）的活體內功效的表格。

【0255】 **圖 21C**：表示在 SCID 小鼠中的既定 MDA-MB-231 異種移植模型中用抗 CD47 特異性結合劑 KC015 處理後的腫瘤體積的圖式。研究中使用的陰性對照係 PBS。將 500 萬個 MDA-MB-231 細胞皮下（s.c.）注射至 SCID 小鼠的右腹。小鼠藉由腹膜內（i.p.）接受結合劑（8 mg/kg）處理，每週一次，共八個劑量。

【0256】 **圖 22**：表示在用包含抗 D2、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域的結合劑的 IgG1 或 IgG4 同型（KC028；SEQ ID NO:86；KC029；SEQ ID NO:87，KC027: SEQ ID NO:85）處理後腫瘤體積的圖式。對照包括包含抗 HEWL 抗原結合域的結合劑（KC031: SEQ ID NO:89）。

【0257】 **圖 23A-23B**：生物分佈實驗的圖示（**圖 23A**）及顯示 NCG 小鼠的 NCI-H82（上圖）及 NCI-H69（下圖）異種移植模型中包含抗 D2、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域（KC021；SEQ ID NO:78）的三特異性結合劑的積累的圖式（**圖 23B**）。

【0258】 **圖 24A-24B**：表示用 PBS 或 KC020（SEQ ID NO:77）處理的帶有既定 NCI-H69 腫瘤的 hCD34+人類化 NCG 小鼠的肝臟轉移的圖式（**圖 24A**）及表明如黑框所示散佈的腫瘤細胞來自 PBS 組而並非 KC020（SEQ ID NO:77）組的腫瘤的 H&E 染色照片（**圖 24B**）。

【0259】**圖 24C**：表示在 NCG 小鼠中以 1:5 之 E:T 比在 NCI-H82/PBMC 共植入模型中 KC020 的腫瘤動力學及活體內功效之圖式。

【0260】**圖 25A-25C**：表示藉由 ELISA 分析所量測的經受應激條件的 KC020（SEQ ID NO:77）對 D2 蛋白脂質體（**圖 25A**）、人類重組 PD-1 蛋白（**圖 25B**）及人類重組 CD47 蛋白（**圖 25C**）的結合的圖式。應激條件包括攪拌 3 天、凍融五次以及在 40℃下儲存兩週。

【0261】**圖 26A-26C**：表示藉由 ELISA 分析所量測的經受低 pH 應激的 KC020（SEQ ID NO:77）對 D2 蛋白脂質體（**圖 26A**）、人類重組 PD-1 蛋白（**圖 26B**）及人類重組 CD47 蛋白（**圖 26C**）的結合的圖式。應激條件包括在 pH 3.5 下處理 4 小時及 48 小時。

【0262】**圖 27**：表示植入 NCI-H82 SCLC 尾靜脈轉移模型的 KC020 處理的動物的存活曲線圖。NCG 小鼠接種 50,000 個 NCI-H82 細胞，第二天進行 KC020 處理。KC020 每兩週治療一次。研究中使用的陰性對照係 PBS。

【實施方式】

定義

【0263】除非另有指示，否則指示用於二聚域之胺基酸編號係根據 EU 編號系統。

【0264】除非本文另有指示或明顯與上下文相矛盾，否則在描述實施例之上下文中（尤其在申請專利範圍之上下文中）使用術語「一（a/an）」及「該（the）」及類似參照詞應理解為涵蓋單數及複數。

【0265】除非明確陳述或自上下文顯而易見，否則如本文所用之術語「或（or）」應理解為包括性的且涵蓋「或」與「及（and）」。

【0266】本文所使用之「及/或」應被視為特定揭露每一指定特徵或組分（在另一特徵或組分存在或不存在的情況下）。

【0267】 除非另外指出，否則術語「包含（comprising）」、「具有（having）」、「包括（including）」及「含有（containing）」應理解為開放式術語（亦即，意謂「包括但不限於」）。術語「由...組成」被視為封閉式的。

【0268】 術語「治療」出於本發明之目的係指治療性處理及防治性或腫瘤預防性措施。需要治療者包括已患該病症者以及易患該病症者；以及有待預防該病症者。

【0269】 關於既定值之術語「約」或「大約」意謂涵蓋值的變化。在一些實施例中，術語「約」或「大約」一般將意謂在既定值或範圍之+/- 10%內、+/- 5%內、+/- 4%內、+/- 3%內、+/- 2%內或+/- 1%內的範圍。

【0270】 術語「功能性活性」參照抗原結合域意味著抗原結合域係能夠與其目標結合，並且視情況抗原結合域擁有一或多種生物活性。

【0271】 如本文所用，術語「可撓性連接子」係指至少包含由可撓性胺基酸殘基構成的部分的肽，該等可撓性胺基酸殘基允許鄰近模組彼此相對移動。

【0272】 如本文所用，術語「剛性連接子」係指至少包含由胺基酸構成的部分的肽，該等胺基酸表現出剛性結構，並且在兩個模組之間保持距離。

【0273】 如本文所用，術語「螺旋連接子」係指由採用 α-螺旋構形的胺基酸殘基構成的連接子。

【0274】 如本文所用，術語「可切割的連接子」係指包含對蛋白酶敏感的酶促切割位點的肽，該等蛋白酶選自 ADAMS、ADAMTS、天冬胺酸蛋白酶、凋亡蛋白酶、半胱胺酸組織蛋白酶、半胱胺酸蛋白酶、金屬蛋白酶、絲胺酸蛋白酶、凝血因子蛋白酶、II 型跨膜絲胺酸蛋白酶（TTSP）以及其組合。

【0275】 如本文所用，相對於多肽鏈或結合劑，術語「單特異性」係指與單個抗原或抗原決定基結合的多肽鏈或結合劑。因此，單特異性多肽鏈或結合劑可以具有一個抗原結合域或超過一個結合域（其相同或不同），其對給定抗原或

抗原決定基具有相同特異性。

【0276】 如本文所用，相對於多肽鏈或結合劑，術語「多特異性」係指與超過一個抗原或抗原決定基結合的多肽鏈或結合劑。

【0277】 術語「多特異性」涵蓋「雙特異性」、「三特異性」、「四特異性」、「五特異性」、「六特異性」等。

【0278】 如本文中之結合劑上下文所用，術語「雙特異性」表示與兩種不同抗原或蛋白質結合或與相同抗原或蛋白質的兩個抗原決定基結合之結合劑。

【0279】 如本文所用，諸如表述「結合劑包含至少兩個多肽鏈」等中的表述「至少兩個多肽鏈」等係指多肽鏈種類的數目，而並非指絕對數值。

【0280】 本文中應理解，以諸如「A 至 B」之格式提及值範圍的表述包括每一個別值及構成且包括此類範圍的任何子範圍。例如，表述「1 至 10」包括子範圍，諸如且不限於「2 至 10」、「2 至 9」、「3 至 6」、「5 至 7」及其間包含的任何個別值且包括 1 及 10，亦即 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10。

【0281】 在本文中應理解，關於既定值之術語「至少」意欲包括該值及上位值。舉例而言，術語「至少 80%」包括「至少 81%」、「至少 82%」、「至少 83%」、「至少 84%」、「至少 85%」、「至少 86%」、「至少 87%」、「至少 88%」、「至少 89%」、「至少 90%」、「至少 91%」、「至少 92%」、「至少 93%」、「至少 94%」、「至少 95%」、「至少 96%」、「至少 97%」、「至少 98%」、「至少 99%」、「至少 99.1%」、「至少 99.2%」、「至少 99.3%」、「至少 99.4%」、「至少 99.5%」、「至少 99.6%」、「至少 99.7%」、「至少 99.8%」、「至少 99.9%」及 100%。

抗原結合域（AB）

【0282】 如本文所揭示，結合劑可以包含一或多個抗原結合域。

【0283】 本發明之抗原結合域可因其結合特定目標的能力而被選擇。本發明之抗原結合域亦可因其活體內及/或活體外功能性質或生物效應而被選擇，包

括例如其調節細胞過程的能力，諸如基因表現、信號轉導、細胞生長、細胞生存力及其類似過程。

【0284】 例如，本發明之結合劑包含一或多個抗原結合域，該一或多個抗原結合域各自獨立地包含抗體的一或多個互補決定區（CDR）。

【0285】 因此，本發明之結合劑的特異性可以由其抗原結合域賦予。

【0286】 本發明之結合劑可以包含能夠與 DR2 結合或與表現 DR2 的細胞結合的抗原結合域、能夠與 PD-1 結合或與表現 PD-1 的細胞結合的抗原結合域及/或能夠與 CD47 結合或與表現 CD47 的細胞結合的抗原結合域。

【0287】 在一些實施例中，抗原結合域係能夠與 DR2 結合或與表現 DR2 的細胞結合的抗原結合域，且包括例如抗原結合域 1（ABD1）。

【0288】 在一些實施例中，抗原結合域係能夠與 PD-1 結合或與表現 PD-1 的細胞結合的抗原結合域，且包括例如抗原結合域 2（ABD2）。

【0289】 在一些實施例中，抗原結合域係能夠與 CD47 結合或與表現 CD47 的細胞結合的抗原結合域，且包括例如抗原結合域 3（ABD3）。

【0290】 在一些實施例中，抗原結合域靶向與 ABD1、ABD2 及/或 ABD3 相同的抗原決定基或抗原。在一些實施例中，抗原結合域與 ABD1、ABD2 及/或 ABD3 競爭以結合其各自的抗原決定基或抗原。

【0291】 在一些實施例中，抗原結合域與至少一種並非在 DR2、PD-1 或 CD47 之中選擇的抗原結合。

【0292】 在一些實施例中，結合劑可以包含超過一個抗原結合域。

【0293】 例如，在一些實施例中，結合劑可以包含兩個或更多個抗原結合域。

【0294】 在一些實施例中，結合劑可以包含三個或更多個抗原結合域。

【0295】 在一些實施例中，結合劑可以包含四個或更多個抗原結合域。

【0296】在一些實施例中，結合劑可以包含五個或更多個抗原結合域。

【0297】在一些實施例中，結合劑可以包含六個或更多個抗原結合域。

【0298】在一些實施例中，結合劑可以包含在一個與十二個之間的抗原結合域，諸如在一個與兩個之間，在一個與三個之間，在一個與四個之間，在一個與五個之間，在一個與六個之間，在一個與七個之間，在一個與八個之間，在一個與九個之間，在一個與十個之間，在一個與十一個之間，在一個與十二個之間，在兩個與三個之間，在兩個與四個之間，在兩個與五個之間，在兩個與六個之間，在兩個與七個之間，在兩個與八個之間，在兩個與九個之間，在兩個與十個之間，在兩個與十一個之間，在兩個與十二個之間，在三個與四個之間，在三個與五個之間，在三個與六個之間，在三個與七個之間，在三個與八個之間，在三個與九個之間，在三個與十個之間，在三個與十一個之間，在三個與十二個之間，在四個與五個之間，在四個與六個之間，在四個與七個之間，在四個與八個之間，在四個與九個之間，在四個與十個之間，在四個與十一個之間，在四個與十二個之間，在五個與六個之間，在五個與七個之間，在五個與八個之間，在五個與九個之間，在五個與十個之間，在五個與十一個之間，在五個與十二個之間，在六個與七個之間，在六個與八個之間，在六個與九個之間，在六個與十個之間，在六個與十一個之間，在六個與十二個之間，在七個與八個之間，在七個與九個之間，在七個與十個之間，在七個與十一個之間，在七個與十二個之間，在八個與九個之間，在八個與十個之間，在八個與十一個之間，在八個與十二個之間，在九個與十個之間，在九個與十一個之間，在九個與十二個之間，在十個與十一個之間，在十個與十二個或在十一個與十二個之間。

【0299】在一些實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，且該等抗原結合域中之至少一個能夠與腫瘤細胞結合。

【0300】在一些實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域

且該等抗原結合域中之至少一個能夠與免疫調節劑結合。在一些實施例中，該等抗原結合域中之至少一個能夠與免疫檢查點蛋白結合。在一些實施例中，免疫檢查點蛋白係 PD-1。

【0301】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，且該等抗原結合域中之至少一個能夠與免疫細胞結合。在一些實施例中，該等抗原結合域中之至少一個能夠與在免疫細胞（例如，T 細胞、NK 細胞、單核球、巨噬細胞等）表面處表現的蛋白結合。

【0302】 在一些實施例中，本發明之結合劑可以係多價的，並且可以包含至少一個結合腫瘤細胞的抗原結合域及至少一個結合免疫細胞的抗原結合域。

【0303】 在一些實施例中，在免疫細胞表面處表現的蛋白選自 CD47 或 CD3。

【0304】 在一些實施例中，在免疫細胞表面處表現的蛋白係 CD47。

【0305】 在一些實施例中，在免疫細胞表面處表現的蛋白係 CD3。

【0306】 抗原結合域可以衍生自天然抗體（人或動物源性）或衍生自合成抗體。

【0307】 在一些實施例中，天然抗體的抗原結合域經工程化以形成單個鏈。

【0308】 在一些實施例中，抗原結合域可以自諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 等 IgG 獲得。在特定實施例中，抗原結合域衍生自人類 IgG 重鏈。

【0309】 在一些實施例中，抗原結合域可以自重鏈抗體（HCAb）獲得。

【0310】 抗原結合域的例示性實施例包括例如且不限於單域抗體（sdAb）、重鏈可變區（VH 或 VHH）、輕鏈可變區（VL 或 VLL）、單鏈可變片段（scFv）、V_{NAR} 片段及其組合。

【0311】 在一些實施例中，本文所揭示之結合劑的抗原結合域係 VHH。

【0312】 在一些實施例中，本文所揭示之結合劑的抗原結合域係包含本文

所揭示之 VHH 的互補決定區的 VHH。

【0313】在一些實施例中，本文所揭示之 VHH 的互補決定區（CDR）對應於 Kabat CDR。

【0314】在一些實施例中，本文所揭示之 VHH 的互補決定區（CDR）對應於 IMGT CDR。

【0315】在一個具體的實施例中，本發明之結合劑可以包含衍生自人類或小鼠或大鼠或衍生自轉殖基因小鼠或大鼠的抗原結合域 VHH，其中小鼠或大鼠 VHH 已經駱駝化；人類 VHH；已駱駝化的人類 VHH；IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c 或 IgG3 的 VHH 或其組合。抗體可以藉由用感興趣的抗原對小鼠或大鼠或轉殖基因小鼠或大鼠進行免疫接種來獲得，該轉殖基因小鼠或大鼠在其重鏈、IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c 或 IgG3 或其組合中之任一者中缺乏功能性 CH1 域，或上述 VHH 的組合。

【0316】在一個具體實施例中，本發明之多肽鏈可以包含駱駝科抗體的抗原結合域，諸如 IgG2 或 IgG3 的 VHH。駱駝科抗體可以藉由用感興趣的抗原對單峰駱駝、駱駝、駱馬或羊駝進行免疫接種來獲得。

【0317】在一些實施例中，駱駝科抗體可以源自所謂的舊世界駱駝科動物，諸如雙峰駱駝（*Camelus bactrianus*）、單峰駱駝（*Camelus dromaderus*），或源自新世界駱駝科動物，諸如羊駝（*Lama pacos*）、駱馬（*Lama glama*）及瘦駝（*Lama vicugna*）。

【0318】在另一具體實施例中，本發明之多肽鏈可以包含軟骨魚的抗原結合域，諸如 IgNAR 的 V_{NAR} 片段。V_{NAR} 片段可能源自鯊魚抗體。

【0319】若需要，可以將非人類抗體的抗原結合域人類化。舉例而言，可以修飾非人 VH、VHH 或 HCAb 的構架區，以使其更像人類。駱駝科抗體的人類化例如論述於 Vincke C.等人 （《生物化學雜誌（J.Biol Chem.）》 2009,

284(5):3273-3284），其全部內容以引用的方式併入本文中。人類化駱駝科抗體可以例如藉由在將 CDR 接枝於通用人類化奈米抗體支架（例如，Vincke C.等人中揭示的 h-NbBcII10$_{FGLA}$）上來獲得。V_{NAR} 抗體可以藉由將非 CDR 殘基轉化為人類生殖系 Vκ1 序列 DPK9 的殘基來人類化，如 Kovalenko OV 等人（《生物化學雜誌》2013, 288:17408-17419）所述，其全部內容以引用的方式併入本文中。因此，本發明之多肽鏈涵蓋人類化抗原結合域。

【0320】 在又一個具體實施例中，抗原結合域可以包含人類 VH（修飾的或未修飾的）。人類 VH 可以例如自合成的人類 VH 庫中獲得。修飾的人類 VH 包括其中一些胺基酸殘基已被修飾以使其更像駱駝之彼等（亦即，藉由駱駝化）。

【0321】 熟習此項技術者將理解，抗原結合域可以併入抗體、抗原結合片段或抗體樣分子，包括但不限於單域抗體（sdAb）、VHH、習知抗體或其抗原結合片段、雙特異性抗體、單鏈 Fv-CH3（scFv-CH3）融合物、串聯-scFv-CH3（TaFv-CH3）融合物、雙功能抗體-CH3（Db-CH3）融合物、串聯 Db-CH3（TaDb-CH3）融合物、單鏈 Db-CH3 融合物（scDb-CH3）、Fab-CH3 融合物、單鏈 Fab-CH3 融合物、Fab-scFv-CH3 融合物、雙重親和性再靶向（DART）-CH3 融合物、Fab-DART-CH3 融合物、單鏈 Fv-Fc（scFv-Fc）融合物、串聯-scFv-Fc（TaFv-Fc）融合物、雙功能抗體-Fc（Db-Fc）融合物、串聯 Db-Fc（TaDb-Fc）融合物、單鏈 Db-Fc 融合物（scDb-Fc）、Fab-Fc 融合物、單鏈 Fab-Fc 融合物、Fab-scFv-Fc 融合物、雙重親和性再靶向（DART）-Fc 融合物、Fab-DART-Fc 融合物等。此等抗體形式可能具有天然 CH3、突變 CH3 域、天然 CH2-CH3 域或本文揭示的突變 CH2-CH3 域。

ABD1 之例示性實施例

【0322】 抗原結合域 1（ABD1）可以例如自結合 DR2 的抗原結合域中選擇，本文提供其中一些非限制性例示性實施例。

【0323】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:1 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:2 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:3 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）。

【0324】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:4 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:5 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:6 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0325】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:8 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:9 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:10 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0326】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:11 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:12 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:13 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0327】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:15 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:16 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:17 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0328】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:18 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:19 中所述之胺基酸

序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:20 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0329】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:22 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:23 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:24 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0330】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:25 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:26 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:27 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0331】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:29 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:30 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:31 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0332】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:32 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:33 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:34 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0333】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:36 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:37 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:38 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0334】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:39 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:40 中所述之胺基酸

序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:41 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0335】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:43 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:44 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:45 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0336】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:46 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:47 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:48 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0337】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:50 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:51 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:52 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0338】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有 SEQ ID NO:53 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:54 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:55 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0339】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:7 的一或多個構架區中。

【0340】 在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:7 之 Kabat

CDR 一致的 CDR。

【0341】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:7 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0342】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0343】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:14 的一或多個構架區中。

【0344】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:14 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0345】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:14 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0346】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0347】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺

基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:21 的一或多個構架區中。

【0348】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:21 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0349】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:21 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0350】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0351】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:28 的一或多個構架區中。

【0352】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:28 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0353】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:28 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0354】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如

SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0355】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:35 的一或多個構架區中。

【0356】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:35 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0357】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:35 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0358】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0359】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:42 的一或多個構架區中。

【0360】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:42 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0361】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序

列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:42 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0362】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0363】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:49 的一或多個構架區中。

【0364】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:49 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0365】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:49 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0366】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0367】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有與 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:56 的一或多個構架區中。

【0368】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:56 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0369】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:56 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0370】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列的重鏈。

ABD2 之例示性實施例

【0371】抗原結合域 2（ABD2）可以例如自結合 PD-1 的抗原結合域中選擇，本文提供其中一些非限制性例示性實施例。

【0372】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:57 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有如 SEQ ID NO:58 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CRDH2）及具有如 SEQ ID NO:59 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CRDH3）。

【0373】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有 SEQ ID NO:60 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:61 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:62 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0374】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有與 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺

基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:63 的一或多個構架區中。

【0375】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:63 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0376】在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:63 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0377】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈。

ABD3 之例示性實施例

【0378】抗原結合域 3（ABD3）可以例如自結合 CD47 的抗原結合域中選擇，本文提供其中一些非限制性例示性實施例。

【0379】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有 SEQ ID NO:64 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:65 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:66 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）。

【0380】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有 SEQ ID NO:67 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:68 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:69 中所述之胺基酸序列的 CDRH3。

【0381】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原

結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有與 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。在一些實施例中，胺基酸變化可以位於 SEQ ID NO:70 的一或多個構架區中。

【0382】 在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:70 之 Kabat CDR 一致的 CDR。

【0383】 在一些實施例中，重鏈包含與 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列及與 SEQ ID NO:70 之 IMGT CDR 一致的 CDR。

【0384】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

其他抗原結合域之例示性實施例

【0385】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3），並且至少一個抗原結合域與不同抗原結合。

【0386】 在一些實施例中，結合劑可以因此包含與 CD3 結合的抗原結合域。此類抗原結合域包括本領域技術人員已知之彼等。在 SEQ ID NO:115 中提供了與 CD3 結合的抗原結合域的例示性實施例。

【0387】 因此，在一些實施例中，結合劑可以包含與 DR2、PD-1 及/或 CD3 結合的抗原結合域。在其他實施例中，結合劑可以可以包含與 DR2 及/或 CD3 結合的抗原結合域。在其他實施例中，結合劑可以可以包含與 PD-1 及/或 CD3 結合的抗原結合域。

【0388】在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3），並且其中至少一個抗原結合域自例如且並非限制地與以下特異性結合的抗原結合域中選擇：CD3、CD36、DRD1、DRD2、DRD3、DRD4、DRD5、PD-L1、TROP2、CD147、MCT1、IL1RAP、AMIGO2、PTK7、MCT2、MCT4、NHE1、H+/K+-ATP 酶、LAP、HLA-I A2、CD73、CD98、CEACAM5/6、ICAM-1、MCSP、纖維接合素（fibronectin）、β1 整合素、四跨膜蛋白（Tetraspanin）8、CD164、CD59、CD63、CD44、CD166、cWF、TNF、IL-17A、IL17-F、IL-6R、BCMA、TNF、RANKL、ADAMTS5、VEGF、Ang2、CX_3CR1、CXCR4、TfR1（CD71）、CXCR2、CD3、PD1、PDL-1、CTLA-4、CD8、LAG-3、OX40、CD27、CD122/IL2RB、TLR8/CD288、TIM-3、ICOS/CD278、NKG2A、A2AR、B7-H3、B7-H4、GITR/TNFRSF18、4-IBB/CD137、KIR2DL1、KIR3DL2、SIRPα、CD47、VISTA、CD40、CD112、CD96、TOGOT、BTLA、TIGIT、CD4、VEGFR2、CD19、IGFR1、EpCAM、EGFR、DLL3、CGRP、CD79b、CD28、CCR5、ErbB3、ErbB2、TGFβ1、TGFβ2、TGFβ3、TGFβR1、TGFβR2、IDO1、IDO2、TLR-4、TLR-7、TLR-8、TLR-9、NOX2 或 SIGLEC-7。

一或多個多肽鏈

【0389】本發明之結合劑包含一或多個多肽鏈。

【0390】可以在活體外合成編碼所需多肽鏈序列的 DNA 的區段。不同的 DNA 模組以有組織及定向的方式組裝成單片，接著選殖至表現載體中。所得多肽鏈因此由形成單鏈的不同模組構成。

【0391】本發明之多肽鏈包括，例如且不限於，抗原結合域、連接子及促進至少兩個多肽鏈組裝的二聚化域。

【0392】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以係單特異性的。

【0393】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以係多特異性的。

【0394】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以係單價的。

【0395】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以係多價的。

【0396】在一些情況下，多肽鏈不包含二聚化域。

【0397】在一些情況下，多肽鏈包含二聚化域。

【0398】在本發明之一些態樣，多肽鏈可以係單特異性的。

【0399】單特異性多肽鏈之例示性實施例包括包含一個抗原結合域之多肽鏈。單特異性多肽鏈的另一例示性實施例包括包含超過一個抗原結合域之多肽鏈，但抗原結合域具有相同的 CDR 及構架區。單特異性多肽鏈的另一例示性實施例包括包含超過一個抗原結合域之多肽鏈，但抗原結合域具有相同的 CDR 及不同的構架區。單特異性多肽鏈的另一例示性實施例包括包含抗原結合域之多肽鏈，該等抗原結合域的一或多個 CDR 的胺基酸序列不同（例如，一或多個 CDR 中之保守取代），而不影響其與相同的抗原或抗原決定基結合的能力。

【0400】在本發明之一些態樣，多肽鏈可以係多特異性的。多肽鏈可以涵蓋例如雙特異性多肽鏈、三特異性多肽鏈、四特異性多肽鏈、五特異性多肽鏈、六特異性多肽鏈、雙互補位多肽鏈、多互補位多肽鏈等。

【0401】在例示性構型中，一或多個抗原結合域可以位於二聚化域之 N 端處、C 端處或每一側上。

【0402】在另一例示性構型中，多肽鏈可以在二聚化域之 N 端處包含至少一個抗原結合域且在二聚化域之 C 端處包含至少一個抗原結合域。

【0403】在另一例示性構型中，多肽鏈可以在二聚化域之 N 端處包含一個抗原結合域且在二聚化域之 C 端處包含至少兩個抗原結合域。

【0404】在又一個例示性構型中，多肽鏈可以在二聚化域之 N 端處包含兩個抗原結合域且在二聚化域之 C 端處包含兩個抗原結合域。

【0405】 多肽鏈可以 N 端至 C 端方式包含式 I 之胺基酸序列：

$$X\text{-}[(Ab_a)\text{-}(L_b)]_m\text{-}(DD)\text{-}[(L_c)\text{-}(Ab_d)]_n\text{-}Y$$

其中 m 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 n 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 m 及 n 不同時地係 0；

其中 Ab_a、Ab_d 各自表示抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）；

其中 X 或 Y 獨立地存在或不存在，且包含胺基酸序列；

其中 L_b、L_c 各自獨立地包含一或多個連接子；且

其中 DD 表示二聚化域。

【0406】 在一些實施例中，L_b 可能不存在。

【0407】 在一些實施例中，L_c 可能不存在。

【0408】 在一些實施例中，L_b 及 L_c 可能不存在。

【0409】 在一些實施例中，多肽鏈包含超過一個抗原結合域。

【0410】 在其中 m 係 2 或大於 2 之整數的一些實施例中，$[(Ab_a)\text{-}(L_b)]$單元係相同的。

【0411】 在其中 m 係 2 或大於 2 之整數的其他實施例中，多肽鏈或結合劑之$[(Ab_a)\text{-}(L_b)]$單元係不同的。

【0412】 在其中 m 係大於 2 之整數的其他實施例中，多肽鏈或結合劑之$[(Ab_a)\text{-}(L_b)]$單元可以包含相同及不同的單元。

【0413】 在其中 n 係 2 或大於 2 之整數的一些實施例中，$[(L_c)\text{-}(Ab_d)]$單元係相同的。

【0414】 在其中 n 係 2 或大於 2 之整數的其他實施例中，$[(L_c)\text{-}(Ab_d)]$單元係不同的。

【0415】在其中 n 係 2 或大於 2 之整數的其他實施例中，[(L_c)-(Ab_d)]單元包含相同及不同的單元。

【0416】在一些實施例中，當 m 係 2 或大於 2 之整數時，每個 Ab_a 係相同或不同的。

【0417】在一些實施例中，當 n 係 2 或大於 2 之整數時，每個 Ab_d 係相同或不同的。

【0418】在一些實施例中，Ab_a 表示 ABD1。

【0419】在一些實施例中，Ab_d 表示 ABD2。

【0420】在一些實施例中，Ab_d 表示 ABD3。

【0421】在一些實施例中，m 係 1，且 Ab_a 表示 ABD1。

【0422】在一些實施例中，n 係 2，且 Ab_d 中之一個表示 ABD2。

【0423】在一些實施例中，n 係 2，且 Ab_d 中之一個表示 ABD3。

【0424】在一些實施例中，n 係 2，且 Ab_d 中之一個表示 ABD2 且另一個 Ab_d 表示 ABD3。

【0425】在一些實施例中，m 係 2、3、4、5 或大於 5 之整數。

【0426】在一些實施例中，m 係 2。

【0427】在其他實施例中，m 係 3。

【0428】在又其他實施例中，m 係 4。

【0429】在進一步的實施例中，m 係 5。

【0430】在其他實施例中，m 係大於 5 之整數。

【0431】在一些實施例中，n 係 2、3、4、5 或大於 5 之整數。

【0432】在一些實施例中，n 係 2。

【0433】在其他實施例中，n 係 3。

【0434】在另外的實施例中，n 係 4。

【0435】在進一步的實施例中，n 係 5。

【0436】在其他實施例中，n 係大於 5 之整數。

【0437】在實施例中，一或多個多肽鏈進一步包含抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區。

【0438】在一些實施例中，鉸鏈區係在該二聚化域之 N 端處。

【0439】在一些實施例中，L_b 係抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區。

【0440】在一些實施例中，鉸鏈區為天然人類 IgG1 鉸鏈區。在其他實施例中，鉸鏈區係突變人類 IgG1 鉸鏈區。

【0441】在其他實施例中，鉸鏈區為天然人類 IgG2 鉸鏈區。在其他實施例中，鉸鏈區係突變人類 IgG2 鉸鏈區。

【0442】在其他實施例中，鉸鏈區為天然人類 IgG3 鉸鏈區。在其他實施例中，鉸鏈區係突變人類 IgG3 鉸鏈區。

【0443】在又其他實施例中，鉸鏈區係天然人類 IgG4 鉸鏈區。在其他實施例中，鉸鏈區係突變人類 IgG4 鉸鏈區。

【0444】在一些實施例中，一或多個連接子中之每一個獨立地具有長度為至少 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸的殘基。

【0445】在一些實施例中，一或多個連接子中之每一個獨立地係可撓性連接子、螺旋連接子或剛性連接子。

【0446】在一些實施例中，連接子 L_c 係剛性連接子。

【0447】在一些實施例中，Lc 包含不可切割的連接子。在其他實施例中，Lc 由不可切割的連接子組成。

【0448】在一些實施例中，一或多個連接子包含可撓性連接子。

【0449】在一些實施例中，一或多個連接子包含剛性連接子。

【0450】在一些實施例中，可撓性連接子係 GS 連接子。

【0451】在一些實施例中，可撓性連接子包含一或多個 GGGGS 單元。

【0452】在一些實施例中，可撓性連接子包含至少 2、3、4、5 或更多個 GGGGS 單元。

【0453】在一些實施例中，剛性連接子包含多個 PA 重複序列。

【0454】在一些實施例中，剛性連接子選自 PAPAPKA（SEQ ID NO:105）；APAPAPAPAPKA（SEQ ID NO:106）；APAPAPAPAPAPAPAPAPKA（SEQ ID NO:107）；或其組合。

【0455】在一些實施例中，螺旋連接子包含一或多個 EAAAK 單元。

【0456】在一些實施例中，螺旋連接子選自 AEAAAKEAAAKA（SEQ ID NO:109）；AEAAAKEAAAKEAAAKA（SEQ ID NO:110）；AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKA（SEQ ID NO:111）；或其組合。

【0457】在一些實施例中，二聚化域包含與 SEQ ID NO:116 至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%一致的胺基酸序列。

【0458】在一些實施例中，二聚化域包含與 SEQ ID NO:117 至少 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%一致的胺基酸序列。

【0459】在其他例示性實施例中，多肽鏈包含式 II：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y$（式 II）。

【0460】在又其他例示性實施例中，多肽鏈包含式 III：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）。

【0461】在進一步的例示性實施例中，多肽鏈包含式 IV：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y$（式 IV）。

【0462】在另外的例示性實施例中，多肽鏈包含式 V：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 V）。

【0463】在進一步的例示性實施例中，多肽鏈包含式 VI：

X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y（式 VI）。

【0464】在又進一步的例示性實施例中，多肽鏈包含式 VII：

X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 VII）。

【0465】在其他例示性實施例中，多肽鏈包含式 VIII：

X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y（式 VIII）。

【0466】在一些實施例中，Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}、Ab_{d3} 各自獨立地包含抗原結合域。

【0467】在一些實施例中，Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}、Ab_{d3} 各自獨立地表示抗原結合域。

【0468】在一些實施例中，抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）。

【0469】在一些實施例中，L_{b1} 包含一個連接子或多個連接子及/或抗體或其抗原結合片段的鉸鏈區。在一些實施例中，L_{b1} 係 L_b。

【0470】在一些實施例中，L_{b2}、L_{b3}、L_{c1}、L_{c2} 及 L_{c3} 各自獨立地包含一個連接子或多個連接子。

【0471】在一些實施例中，L_{b1}、L_{b2} 及/或 L_{b3} 中之一或多個可能不存在。

【0472】在一些實施例中，L_{b2} 及/或 L_{b3} 可能不存在。

【0473】在一些實施例中，L_{c1}、L_{c2} 及/或 L_{c3} 中之一或多個可能不存在。

【0474】在一些實施例中，L_{c2} 及/或 L_{c3} 可能不存在。

【0475】在一些實施例中，L_{c1} 係剛性連接子。

【0476】在一些實施例中，L_{c2} 係剛性連接子。

【0477】在一些實施例中，L_{c3}係剛性連接子。

【0478】在一些實施例中，L_{c1}及L_{c2}係剛性連接子。

【0479】在一些實施例中，L_{c1}、L_{c2}及L_{c3}係剛性連接子。

【0480】在一些實施例中，L_{c1}、L_{c2}及/或L_{c3}可能不存在。

【0481】在一些實施例中，L_{c2}及/或L_{c3}可能不存在。

【0482】在一些實施例中，L_{c1}及/或L_{c3}可能不存在。

【0483】在一些實施例中，L_{c2}及/或L_{c3}可能不存在。

【0484】在一些實施例中，L_{c1}、L_{c2}及L_{c3}可能不存在。

【0485】本發明之多肽鏈包含作為單鏈或當作為本文揭示的結合劑的一部分時具有功能活性的抗原結合域。

【0486】舉例而言，多肽鏈的抗原結合域可以與其目標結合並且可以具有生物學活性。

【0487】在一些實施例中，抗原結合域的生物學活性包括例如且不限於阻斷目標與其天然受體或配位體的結合。或者，抗原結合域的生物學活性包括其螯合目標的能力。此外，抗原結合域的生物學活性包括其誘導信號傳導的能力。

【0488】包含超過一個抗原結合域之多肽鏈被表徵為係多價的。

【0489】本發明之多肽鏈可以在其N端或C端或兩端包含額外的胺基酸序列（分別由本文揭示的式中之X及Y定義）。

【0490】在一些實施例中，N端的胺基酸序列（由X定義）可以包括信號肽，其例示性實施例在SEQ ID NO:133中提供。

【0491】在一些實施例中，N端（由X定義）或C端（由Y定義）的胺基酸序列可以獨立地包括連接子、細胞介素、趨化介素、標籤（例如His標籤（例如SEQ ID NO:134）、掩蔽域、噬菌體外殼蛋白、抗原結合域或其組合。

【0492】多特異性多肽鏈之例示性實施例包括包含至少兩個抗原結合域之

多肽鏈，該等抗原結合域的一或多個 CDR 的胺基酸序列不同，導致不同的結合特異性。

【0493】 當多肽鏈與兩個不同的抗原決定基或抗原結合時，其可以更具體地表徵為係雙特異性的。當多肽鏈與三個不同的抗原決定基或抗原結合時，其可以被表徵為係三特異性的。當多肽鏈與四個不同的抗原決定基或抗原結合時，其可以被表徵為係四特異性的。當多肽鏈與五個不同的抗原決定基或抗原結合時，其可以被表徵為係五特異性的。當多肽鏈與六個不同的抗原決定基或抗原結合時，其可以被表徵為係六特異性的。

【0494】 包含與同一目標上的兩個非重疊抗原決定基結合的兩個抗原結合域之多肽鏈被表徵為係雙互補位的。包含與相同目標上的三個、四個或更多個抗原決定基結合的抗原結合域之多肽鏈被表徵為係多互補位的。

【0495】 將基於預期用途，諸如偵測、診斷及/或治療用途來選擇給定多肽鏈的抗原結合域。可以選擇特定多肽鏈的每個抗原結合域以產生累加或協同效應。

【0496】 在一些實施例中，可以根據其與涉及疾病或病狀的蛋白質特異性結合的能力來選擇抗原結合域。

【0497】 舉例而言，本發明之多肽鏈可以包含至少一個抗原結合域，該抗原結合域與由腫瘤細胞或腫瘤細胞環境表現的抗原特異性結合（亦即，腫瘤特異性抗原結合域）。

【0498】 在本發明之其他態樣及實施例中，多肽鏈可以包含至少一個與免疫調節劑特異性結合的抗原結合域。

【0499】 舉例而言，多肽鏈可以包含一或多個結合免疫檢查點蛋白、細胞介素、趨化介素或免疫受體或輔受體等的抗原結合域（例如，免疫特異性抗原結合域）。

【0500】在一些例示性實施例中，抗原結合域可與多巴胺受體 D2（DR2）結合。

【0501】在一些例示性實施例中，抗原結合域可與 PD1 結合。

【0502】在一些例示性實施例中，抗原結合域可與 CD47 結合。

【0503】在例示性實施例中，本發明之多肽鏈可以包含至少一個腫瘤特異性抗原結合域及至少一個免疫特異性抗原結合域。

【0504】在一些實施例中，一或多個腫瘤特異性抗原結合域可以位於二聚化域之 N 端處。

【0505】在一些實施例中，一或多個腫瘤特異性抗原結合域可以位於二聚化域之 C 端處。

【0506】在一些實施例中，腫瘤特異性抗原結合域可以位於二聚化域之 N 端及 C 端兩處。

【0507】在一些實施例中，更多的一或多個免疫特異性抗原結合域可以位於二聚化域之 N 端處。

【0508】在一些實施例中，一或多個免疫特異性抗原結合域可以位於二聚化域之 C 端處。

【0509】在一些實施例中，免疫特異性抗原結合域可以位於二聚化域之 N 端及 C 端兩者處。

【0510】在例示性及非限制性實施例中，多肽鏈或結合劑可以在二聚化域之 C 端處包含兩個免疫特異性抗原結合域。在一些實施例中，可以經由不可切割的連接子連接鄰近二聚化域之 C 端部分的免疫特異性抗原結合域。

二聚化域（DD）

【0511】在一些實施例中，本發明之多肽鏈包含二聚化域。因此，兩個多肽鏈可以組裝形成結合劑。結合劑的例示性實施例包括同二聚體及異二聚體。

【0512】二聚化域可以包含例如且不限於免疫球蛋白的恆定區，包括例如重鏈免疫球蛋白的 Fc、CH2 及/或 CH3 域。

【0513】在本發明之某些實施例及態樣中，二聚化域可以具有與天然 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 恆定區或與其相應的 CH2 及/或 CH3 域相同的序列。

【0514】本發明特別涵蓋具有與天然人類抗體的序列相同的序列的二聚化域。二聚化域之例示性實施例包括例如天然人類重鏈的 CH2-CH3 域。

【0515】因此，在一些實施例中，二聚化域包含抗體的天然恆定區，諸如天然人類 IgG1 恆定區、天然人類 IgG2 恆定區、天然人類 IgG3 恆定區或天然人類 IgG4 恆定區。

【0516】因此，在一些實施例中，二聚化域包含天然 CH3 域。

【0517】在例示性實施例中，二聚化域包含天然人類 CH3 域。

【0518】在一些實施例中，二聚化域包含天然 CH2 域及天然 CH3 域。

【0519】在一些實施例中，天然 CH3 域係天然 IgG1 CH3 域。在一些實施例中，天然 CH3 域係天然人類 IgG1 CH3（例如，SEQ ID NO:116）。

【0520】在一些實施例中，天然 CH3 域係天然 IgG2 CH3 域。在其他實施例中，天然 CH3 域係天然人類 IgG2 CH3 域。

【0521】在一些實施例中，天然 CH3 域係天然 IgG3 CH3 域。在其他實施例中，天然 CH3 域係天然人類 IgG3 CH3 域。

【0522】在一些實施例中，天然 CH3 域係天然 IgG4 CH3 域。在一些實施例中，天然 CH3 域係天然人類 IgG4 CH3 域。

【0523】當結合劑的兩個多肽鏈由相同的胺基酸序列構成時，結合劑將形成同二聚體。然而，具有天然抗體的 CH2-CH3 域但胺基酸序列不同的多肽鏈的共表現可能導致同二聚體及異二聚體的混合物。混合物中存在的不同結合劑可以藉由此項技術中已知的方法分離，包括例如尺寸排阻層析法。

【0524】因此，本發明之例示性異二聚體包括具有天然抗體的 CH3 域或 CH2-CH3 域並且由具有不同序列或組態的兩個多肽鏈形成之彼等。

【0525】在一些實施例中，多肽鏈可以具有突變的二聚化域，其與天然或野生型序列相比包含例如 1 至 30、1 至 20、1 至 15、1 至 10、1 至 9、1 至 8、1 至 7、1 至 6、1 至 5、1 至 4、1 至 3 個胺基酸取代。

【0526】在例示性實施例中，突變的二聚化域可以包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個胺基酸取代。如表 2 中所述，胺基酸取代可以係保守的或非保守的。

【0527】在例示性實施例中，多肽鏈可以具有突變的二聚化域，其具有與天然 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 恆定區或與 CH2 及/或 CH3 域 80%至 99%一致的序列。本發明所涵蓋之多肽鏈包括包含突變的二聚化域之彼等，其與天然 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 恆定區或與 CH2 及/或 CH3 域 85%至 99%一致、90%至 99%一致、95%至 99%一致。

【0528】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以包含突變的二聚化域，其包含有利於異二聚體形成的胺基酸取代。本發明之異二聚體因此可以由包含此類突變之多肽鏈形成。

【0529】因此，在一些實施例中，二聚化域包含突變的抗體恆定區，諸如突變的人類 IgG1 恆定區、突變的人類 IgG2 恆定區、突變的人類 IgG3 恆定區或突變的人類 IgG4 恆定區。與天然恆定區相比，突變恆定區可以具有一或多個胺基酸取代、胺基酸插入或胺基酸缺失。

【0530】因此，在一些實施例中，二聚化域包含突變 CH3 域。與天然 CH3 域相比，突變 CH3 域可以具有一或多個胺基酸取代、胺基酸插入或胺基酸缺失。

【0531】在一些實施例中，二聚化域包含天然 CH2 及突變 CH3 域。

【0532】在一些實施例中，二聚化域包含突變 CH2 及突變 CH3 域。與天然

CH2 域相比，突變 CH2 域可以具有一或多個胺基酸取代、胺基酸插入或胺基酸缺失。

【0533】在一些實施例中，突變 CH3 域係突變 IgG1 CH3 域。在其他實施例中，突變 CH3 域係突變人類 IgG1 CH3 域。

【0534】在一些實施例中，突變 CH3 域係突變 IgG2 CH3 域。在其他實施例中，突變 CH3 域係突變人類 IgG2 CH3 域。

【0535】在一些實施例中，突變 CH3 域係突變 IgG3 CH3 域。在其他實施例中，突變 CH3 域係突變人類 IgG3 CH3 域。

【0536】在一些實施例中，突變 CH3 域係突變 IgG4 CH3 域。在其他實施例中，突變 CH3 域係突變人類 IgG4 CH3 域。

【0537】在一些實施例中，突變 CH2 域係突變 IgG1 CH2 域。在其他實施例中，突變 CH2 域係突變人類 IgG1 CH2 域。

【0538】在一些實施例中，突變 CH2 域係突變 IgG2 CH2 域。在其他實施例中，突變 CH2 域係突變人類 IgG2 CH2 域。

【0539】在一些實施例中，突變 CH2 域係突變 IgG3 CH2 域。在其他實施例中，突變 CH2 域係突變人類 IgG3 CH2 域。

【0540】在一些實施例中，突變 CH2 域係突變 IgG4 CH2 域。在其他實施例中，突變 CH2 域係突變人類 IgG4 CH2 域。

【0541】在一些實施例中，可以修飾 Fc 區以防止醣基化、延長其半衰期、調節受體結合或效應功能。例示性突變論述於 Saunders K.O.（Front. Immunol. 10:1296, 2019，其全部內容以引用的方式併入本文中）中並且包括例如突變天冬醯胺 297（例如 N297）。

【0542】根據本發明，與天然 CH3 域相比，突變 CH3 域包含一或多個突變。因此，在一些實施例中，二聚化域包含與天然 CH3 域相比包含一或多個突

變的突變 CH3 域。

【0543】舉例而言，與人類 IgG1 的天然 CH3 域相比，突變 CH3 域可以包含一或多個突變。在另一實例中，與人類 IgG2 的天然 CH3 域相比，突變 CH3 域可以包含一或多個突變。在又一個實例中，與人類 IgG3 的天然 CH3 域相比，突變 CH3 域可以包含一或多個突變。在另一實例中，與人類 IgG4 的天然 CH3 域相比，突變 CH3 域可以包含一或多個突變。

【0544】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包括在位置 356、357、370、399 及/或 439 處的胺基酸取代（根據 EU 編號系統）。

【0545】在一些實施例中，與人類 IgG1 或 IgG4 的天然 CH3 域相比，二聚化域包含突變 CH3 域，其在對應於 D399、D/E356 及/或 K370（根據 EU 編號系統）的位置處包含一或多個突變。

【0546】在其他實施例中，二聚化域包含突變 CH3 域，其與人類 IgG1 或 IgG4 的天然 CH3 域相比，在對應於根據 EU 編號（根據 EU 編號系統）的 D399、E357 及/或 K439 的位置處包含一或多個突變。

【0547】在一些實施例中，與人類 IgG1 或 IgG4 的天然 CH3 域相比，突變 CH3 域進一步在對應於根據 EU 編號（根據 EU 編號系統）的 Y349、T350、L351、P352、S354、R/Q355、T394 及/或 P395 的位置處包含一或多個突變。

【0548】在例示性實施例中，給定結合劑的一個多肽鏈可以包括例如在位置 357、399 及 439 處具有胺基酸取代之突變 CH3 域，而結合劑的另一個多肽鏈可以包括在位置 356、370 及 399 處具有胺基酸取代之突變 CH3 域（根據 EU 編號系統）。

【0549】在例示性實施例中，給定結合劑的一個多肽鏈可以包括在位置 357、399 及 439 處具有胺基酸取代之突變 CH3 域，而結合劑的另一個多肽鏈可以包括在位置 356、370 及 399 處具有胺基酸取代之突變 CH3 域（根據 EU 編號

系統）。給定結合劑的一個或兩個多肽鏈可以視情況進一步在選自 349、350、351、352、354、355、394 及/或 395 的位置處包含突變。給定結合劑的一個多肽鏈因此可以包含具有本文揭示的胺基酸序列的第一個二聚化域（DD_1），且給定結合劑的另一多肽鏈可以包含具有本文揭示的胺基酸序列的第二個二聚化域（DD_2）。

【0550】 在一些實施例中，位置 356 處的胺基酸可以經中性胺基酸替換。在一些實施例中，位置 370 處的胺基酸可以經帶正電荷的胺基酸替換。在一些實施例中，位置 399 處的胺基酸可以經中性胺基酸替換。在一些實施例中，位置 357 處的胺基酸可以經中性胺基酸替換。在一些實施例中，位置 439 處的胺基酸可以經帶負電荷的胺基酸替換。

【0551】 舉例而言，為了有利於異二聚體的形成，可以藉由以下方式使一個多肽鏈突變：**a**）位置 356 處的天冬胺酸（D）或麩胺酸（E）替換為中性胺基酸，**b**）位置 370 處的離胺酸（K）替換為帶正電荷的胺基酸，及 **c**）位置 399 處的天冬胺酸（D）替換為中性胺基酸，以及可以藉由以下方式使另一個多肽鏈突變：**a**）位置 357 處的麩胺酸（E）替換為中性胺基酸，**b**）位置 399 處的天冬胺酸（D）替換為中性胺基酸，**c**）位置 439 處的離胺酸（K）替換為帶負電荷的胺基酸。

【0552】 本發明之多肽鏈的一例示性實施例可以包含二聚化域，該二聚化域包含突變 CH3 域，其中位置 356 處的天冬胺酸（D）或麩胺酸（E）可以改變為麩醯胺酸（Q），位置 370 處的離胺酸（K）可以改變為麩胺酸（E），以及位置 399 處的天冬胺酸（D）可以改變為天冬醯胺（N）。

【0553】 本發明之多肽鏈的另一例示性實施例可以包含二聚化域，該二聚化域包含突變 CH3 域，其中位置 357 處的麩胺酸（E）可以改變為麩醯胺酸（Q），位置 399 處的天冬胺酸（D）可以改變為天冬醯胺（N），以及位置 439 處的離胺酸（K）可以改變為麩胺酸（E）。

【0554】在一些實施例中，二聚化域包含突變 CH3 域，其中胺基酸取代（與天然 CH3 域相比）係選自：

a. 在位置 D399 處的胺基酸取代；

b. 在位置 D/E356 處的胺基酸取代；

c. 在位置 E357 處的胺基酸取代；

d. 在位置 K370 處的胺基酸取代；

e. 在位置 K439 處的胺基酸取代；

f. 在位置 Y349 處的胺基酸取代；

g. 在位置 T350 處的胺基酸取代；

h. 在位置 L351 處的胺基酸取代；

i. 在位置 P352 處的胺基酸取代；

j. 在位置 S354 處的胺基酸取代；

k. 在位置 R355 處的胺基酸取代；

l. 在位置 Q355 處的胺基酸取代；

m. 在位置 T394 處的胺基酸取代；

n. 在位置 P395 處的胺基酸取代；

o. 在位置 Y349 處的胺基酸取代；及

p. 其中 a.至 o.中的兩項或更多項的任何組合。

【0555】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 Y349 處的胺基酸取代。

【0556】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 T350 處的胺基酸取代。

【0557】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 L351 處的胺基酸取代。

【0558】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 P352 處的胺基酸取代。

【0559】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 S354 處的胺基酸取代。

【0560】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 R355 處的胺基酸取代。

【0561】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 Q355 處的胺基酸取代。

【0562】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370 及 T394 處的胺基酸取代。

【0563】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、D/E356、K370、Y349 及 S354 處的胺基酸取代。

【0564】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、K439、E357 及 Y349 處的胺基酸取代。

【0565】在一些實施例中，突變 CH3 域包含在位置 D399、E357、K439 及 T350 處的胺基酸取代。

【0566】在一些實施例中，突變 CH3 域包含在位置 D399、E357、K439E 及 L351 處的胺基酸取代。

【0567】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、K439、E357 及 P352 處的胺基酸取代。

【0568】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含位置 D399、K439、E357 及 S354 處的胺基酸取代。

【0569】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、K439、E357 及 R355 處的胺基酸取代。

【0570】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、K439、E357 及 Q355 處的突變。

【0571】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含在位置 D399、K439、E357 及 P395 處的胺基酸取代。

【0572】在一些實施例中，突變 CH3 域包含在位置 D399、E357、K439、Y349 及 S354 處的胺基酸取代。

【0573】應當理解，可以在不影響多肽鏈形成二聚體的能力之情況下進行在天然 CH3 域或突變 CH3 域中的其他胺基酸取代（在其他位置或與其他胺基酸殘基相同的位置）。

【0574】在一些實施例中，位置 Y349 處之胺基酸取代選自 Y349K、Y349D 或 Y349R。更具體而言，在一些實施例中，位置 Y349 處之胺基酸取代為 Y349K。在其他實施例中，位置 Y349 處之胺基酸取代為 Y349D。

【0575】在一些實施例中，位置 S354 處之胺基酸取代選自 S354K、S354D、S354W 或 S354M。更具體而言，在一些實施例中，位置 S354 處之胺基酸取代為 S354K。在其他實施例中，位置 S354 處之胺基酸取代為 S354D。在其他實施例中，位置 S354 處之胺基酸取代為 S354M。

【0576】在一些實施例中，位置 L351 處之胺基酸取代為 L351Y、L351W、L351H、L351R、L351D、L351A、L351T。更具體而言，在一些實施例中，位置 L351 處之胺基酸取代為 L351Y。在其他實施例中，位置 L351 處之胺基酸取代為 L351W。在其他實施例中，位置 L351 處之胺基酸取代為 L351R。

【0577】在一些實施例中，位置 T350 處之胺基酸取代為 T350L、T350I 或 T350V。更具體而言，在一些實施例中，位置 T350 處之胺基酸取代為 T350I。在其他實施例中，位置 T350 處之胺基酸取代為 T350V。

【0578】在一些實施例中，位置 P352 處之胺基酸取代為 P352Y、P352V、

P352R、P352T、P352L、P352G、P352E、P352C、P352K 或 P352D。更具體而言，在一些實施例中，位置 P352 處之胺基酸取代為 P352R。在其他實施例中，位置 P352 處之胺基酸取代為 P352E。

【0579】在一些實施例中，位置 T394 處之胺基酸取代為 T394N。

【0580】在一些實施例中，位置 P395 處之胺基酸取代為 P395I。在其他實施例中，位置 P395 處之胺基酸取代為 P395G。在其他實施例中，位置 P395 處之胺基酸取代為 P395E。

【0581】在一些實施例中，位置 R355 處之胺基酸取代為 R355K。在其他實施例中，位置 R355 處之胺基酸取代為 R355W。

【0582】在一些實施例中，位置 Q355 處之胺基酸取代為 Q355K。在其他實施例中，位置 Q355 處之胺基酸取代為 Q355W。

【0583】在一些實施例中，突變 CH3 域包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q 及 K370E。

【0584】在一些實施例中，突變 CH3 域包含根據 EU 編號的突變 D399Q、D/E356Q 及 K370E。

【0585】在其他實施例中，突變 CH3 域包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q 及 K439E。

【0586】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399Q、D/E356Q、K370E、Y349K 及 S354K。

【0587】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351W。

【0588】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 S354M。

【0589】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、

K370E 及 T350I。

【0590】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350V。

【0591】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352R。

【0592】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352E。

【0593】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399Q、D/E356Q 及 K370E。

【0594】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351Y。

【0595】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351H。

【0596】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 R355K。

【0597】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 Q355K。

【0598】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 S354K。

【0599】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350L。

【0600】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T394N。

【0601】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、

K370E 及 P352Y。

【0602】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352V。

【0603】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352T。

【0604】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352L。

【0605】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352G。

【0606】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352C。

【0607】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351T。

【0608】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351A。

【0609】在一些實施例中，突變 CH3 域包含突變 D399Q、E357Q、K439E、Y349D 及 S354D。

【0610】在一些實施例中，突變 CH3 域包含突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R。

【0611】在一些實施例中，突變 CH3 域包含突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351Y。

【0612】在一些實施例中，突變 CH3 域包含突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350I。

【0613】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、E357Q、

K439E 及 T350V。

【0614】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399Q、K439E、E357Q。

【0615】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、S354K。

【0616】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、S354W。

【0617】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、Y349R。

【0618】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、T350L。

【0619】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、R355W。

【0620】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、Q355W。

【0621】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、P395I。

【0622】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、P395G。

【0623】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、P395E。

【0624】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、P352K。

【0625】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、

E357Q、P352D。

【0626】在一些實施例中，突變 CH3 域可以包含突變 D399N、K439E、E357Q、L351D。

【0627】在一些實施例中，結合劑包含兩個多肽鏈，其中；

該兩個多肽鏈中之一個包含第一個二聚化域（DD_1），該第一個二聚化域包含突變 CH3 域，該突變 CH3 域在根據 EU 編號對應於 D399、D/E356 及/或 K370 的位置處包含一或多個胺基酸取代，且

【0628】該兩個多肽鏈中之另一個包含第二個二聚化域（DD_2），該第二個二聚化域包含突變 CH3 域，該突變 CH3 域在根據 EU 編號對應於 D399、E357 及/或 K439 的位置處包含一或多個胺基酸取代。

【0629】在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q 及 K370E 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q 及 K439E 的突變 CH3 域。

【0630】在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）及/或該第二個二聚化域（DD_2）包含突變 CH3 域，該突變 CH3 域進一步在根據 EU 編號對應於 Y349、T350、L351、P352 及/或 S354 的位置處包含胺基酸取代。

【0631】在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399Q、D/E356Q、K370E、Y349K 及 S354K 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399Q、E357Q、K439E、Y349D 及 S354D 的突變 CH3 域。

【0632】在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351W 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及

L351R 的突變 CH3 域。

【0633】 在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 S354M 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351Y 的突變 CH3 域。

【0634】 在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350I 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350I 的突變 CH3 域。

【0635】 在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350V 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350V 的突變 CH3 域。

【0636】 在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352R 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R 的突變 CH3 域。

【0637】 在一些實施例中，該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352E 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R 的突變 CH3 域。

【0638】 根據本發明，結合劑可以由締合以形成二聚體的兩個不同的多肽構成，在本文中稱為異二聚體。

【0639】 可以藉由使兩個不同的多肽鏈（例如，鏈 A 及鏈 B）共表現來製

備異二聚體。

【0640】在一些實施例中，多肽鏈可以包含二聚化域，該二聚化域包含野生型人類 CH2 及有利於異二聚體形成的突變的人類 CH3。在一些情況下，多肽鏈有可能在單獨表現時形成同二聚體，或在與互補鏈一起表現時形成異二聚體（或同二聚體及異二聚體的混合物）。

【0641】異二聚體特別係藉由轉染一組包含 CH3 突變之多肽鏈（鏈 A 及鏈 B 例示於表 1）來製備。

表 1. 鏈 A 及鏈 B 的例示性實施例（天然人類 IgG1 CH2 及突變 IgG1 CH3）

鏈 ID	**CH3 突變**	**鏈 ID**	**CH3 突變**
鏈 A	D399N, K370E, E356Q	鏈 B	D399N, K439E, E357Q
鏈 A	D399Q, K370E, E356Q	鏈 B	D399Q, K439E, E357Q
鏈 A	D399Q, K370E, E356Q, Y349K, S354K	鏈 B	D399Q, K439E, E357Q, Y349D, S354D
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, L351Y	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, S354K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, L351H	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, S354W
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, S354M	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, L351Y
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, R355K	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, Y349R
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, S354K	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, T350L
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, T350I	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, T350I
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, T350L	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, R355W
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, T350V	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, T350V
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, T394N	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P395I
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, T394N	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P395G
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, T394N	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P395E
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352Y	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352V	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352T	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352R	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352R	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352D
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352R	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, L351R
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352L	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352G	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352E	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, L351R
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352C	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352C	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352D
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, L351W	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, L351R
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, L351T	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, P352K

鏈 ID	CH3 突變	鏈 ID	CH3 突變
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, L351A	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, L351R
鏈 A	D399N, K370E, E356Q, P352Y	鏈 B	D399N, K439E, E357Q
鏈 A	D399Q, K370E, E356Q, Y349K, S354K	鏈 B	D399N, K439E, E357Q
鏈 A	D399Q, K370E, E356Q, Y349K, S354K	鏈 B	D399N, K439E, E357Q, L351R
可以將突變引入人類 IgG 之 CH3 域。根據 EU 編號，對胺基酸殘基進行編號			

【0642】 視鏈 A 與鏈 B 之比率而定，亦有可能在兩個此類多肽鏈共表現時形成同二聚體。

【0643】 因此，在一些情況下，多肽鏈 A 與多肽鏈 B 的共表現可能因此產生鏈 A 及鏈 B 的異二聚體、鏈 A 的同二聚體、鏈 B 的同二聚體及其混合物。鏈 A 及/或鏈 B 的殘餘單體亦可能存在。由於單體、異二聚體及同二聚體均含有抗原結合域，因此混合物之每個組分均可能具有一定的活性水準。

【0644】 因此，包含本文所揭示的 CH3 突變的單體、異二聚體及同二聚體以及此類單體、異二聚體及/或同二聚體的混合物亦涵蓋在本發明中。

【0645】 在其他實施例中，本文揭示之多肽鏈可以包含突變的二聚化域，其包含此項技術中已知的有利於異二聚體形成的突變。

【0646】 舉例而言，本發明之多肽鏈可以包含本文揭示的式 I、式 II、式 III、式 IIIa 及式 IIIb、式 IV、式 V、式 VI、式 VII 或式 VIII 中列出的組態及此項技術中已知有利於異二聚體形成的突變。

【0647】 此類突變之例示性實施例揭示於例如 Ha, J-H 等人（《免疫學前沿（Front Immunol）》, 2016; 7:394）或 Godar M 等人 （《關於治療性專利的專家意見（Expert Opinion on Therapeutic patents）》, 2018; 28(3):251-276），其全部內容以引用的方式併入，且包括例如杵臼（Knob-into-hole）第一個 CH3 域突變 T366Y 及第二個 CH3 域突變 Y407T，第一個 CH3 域突變 T366W 及第二個 CH3 域突變 T366S、L368A、Y407V，或第一個 CH3 域突變 S354C、T366W 及第二個 CH3 域突變 Y349C、T366S、L368A、Y407V）、DD/KK 突變（第一個 CH3 域突變

K409D、K392D，第二個 CH3 域突變 D399K、E356K）,不對稱再工程化技術（第一個 CH3 域突變 E356K、E357K、D399K 及第二個 CH3 域突變 K439E、K370E、K409D）、BiMAb 突變（第一個 CH3 域突變 K249E、K288E，第二個 CH3 域突變 E236K、D278K）、XmAb 突變（第一個 CH3 域突變 S364H、F405A，第二個 CH3 域突變 Y349T、T394F）、DuoBody 突變（第一個 CH3 域突變 F405L，第二個 CH3 域突變 K409R）、Azymetric 突變（第一個 CH3 域突變 T350V、L351Y、S400E、F405A、Y407V，第二個 CH3 域突變 T350V、T366L、N390R、K392M、T394W），Biclonics 突變（第一個 CH3 域突變 T366K（+L351K），第二個 CH3 域突變 L351D 或 Y349、L368 或 Y349+R355 處的 E 或 D），ZW1 突變（第一個 CH3 域突變 T350V、L351Y、F405A、Y407V，第二個 CH3 域突變 T350V、T366L、K392L、T394W）、7.8.60 突變（第一個 CH3 域突變 K360D、D399M、Y407A，第二個 CH3 域突變 E345R、Q347R、T366V、K409V）、EW-RVT 突變（第一個 CH3 域突變 K360E、K409W 及第二個 CH3 域突變 Q347R、D399V、F405T）、EW-RVTs-s 突變（第一個 CH3 域突變 K360E、K409W、Y349C 及第二個 CH3 域突變 Q347R、D399V、F405T、S354C），SEED 突變（IgG1 CH3 上第一個 CH3 域突變 IgA 衍生的 45 個殘基及 IgA CH3 上第二個 CH3 域突變 IgG1 衍生的 57 個殘基），A107 突變（第一個 CH3 域突變 K370E、K409W，第二個 CH3 域突變 E357N、D399V、F405T）等。

連接子（L）

【0648】本文揭示之多肽鏈的不同模組可以經由連接子相互締合。

【0649】在一些實施例中，用於接合多肽鏈的一或多個模組的連接子不係可切割的連接子。

【0650】在一例示性實施例中，緊鄰二聚化域之 C 端定位的連接子（Lc）不包含可切割的連接子。

【0651】在另一例示性實施例中，位於兩個抗原結合域之間的連接子中之至少一個不包含可切割的連接子。

【0652】在其他實施例中，用於接合多肽鏈的一或多個模組的連接子可以包括不可切割的連接子。

【0653】在一例示性實施例中，緊鄰二聚化域之 C 端定位的連接子係不可切割的連接子。

【0654】在另一例示性實施例中，位於兩個抗原結合域之間的連接子中之至少一個係不可切割的連接子。

【0655】在另一例示性實施例中，緊鄰二聚化域之 C 端定位的連接子及接合位於二聚化域之 C 端的前兩個抗原結合域的連接子係不可切割的連接子。

【0656】在一些實施例中，緊鄰二聚化域之 N 端的連接子可較佳包含抗體的鉸鏈區。

【0657】在一些實施例中，鉸鏈區係天然鉸鏈區。

【0658】在一些實施例中，天然鉸鏈區係天然 IgG1 鉸鏈區。在一些實施例中，天然鉸鏈區係天然人類 IgG1 鉸鏈區。

【0659】在一些實施例中，天然鉸鏈區係天然 IgG2 鉸鏈區。在其他實施例中，天然鉸鏈區係天然人類 IgG2 鉸鏈區。

【0660】在一些實施例中，天然鉸鏈區係天然 IgG3 鉸鏈區。在其他實施例中，天然鉸鏈區係天然人類 IgG3 鉸鏈區。

【0661】在一些實施例中，天然鉸鏈區係天然 IgG4 鉸鏈區。在一些實施例中，天然鉸鏈區係天然人類 IgG4 鉸鏈區。

【0662】在一些實施例中，鉸鏈區係突變鉸鏈區。

【0663】在一些實施例中，突變鉸鏈區係突變 IgG1 鉸鏈區。在一些實施例中，突變鉸鏈區係突變人類 IgG1 鉸鏈區。

【0664】 在一些實施例中，突變鉸鏈區係突變 IgG2 鉸鏈區。在其他實施例中，突變鉸鏈區係突變人類 IgG2 鉸鏈區。

【0665】 在一些實施例中，突變鉸鏈區係突變 IgG3 鉸鏈區。在其他實施例中，突變鉸鏈區係突變人類 IgG3 鉸鏈區。

【0666】 在一些實施例中，突變鉸鏈區係突變 IgG4 鉸鏈區。在一些實施例中，突變鉸鏈區係突變人類 IgG4 鉸鏈區。

【0667】 在一些實施例中，多肽鏈的所有模組經由不可切割的連接子連接。

【0668】 不可切割的連接子之例示性實施例包括在蛋白質表現期間或在製造製程期間保持基本完整之彼等。如本文所用，「基本上完整」意謂連接子切割在給定溶液或組合物的 20%或更少、15%或更少、10%或更少、7.5%或更少、5%或更少、4%或更少、3%或更少、2%或更少、1%或更少的總多肽含量中發生。

【0669】 不可切割的連接子的其他例示性實施例亦包括不包含人類或動物血液或血清中存在的一或多種蛋白酶的特異性切割位點的連接子。

【0670】 不可切割的連接子的其他例示性實施例亦包括在向個體投與結合劑後在投與後至少一、二、三、四、五、六、十二、二十四、四十八小時或更長時間保持其完整性的連接子。

【0671】 在進一步的例示性實施例中，連接子包含不可切割的連接子及可切割的連接子。

【0672】 在一些實施例中，連接子係不可切割的。

【0673】 在一些情況下，可切割的連接子可用於在活體內釋放與本發明之多肽鏈連接的藥物（例如，細胞生長抑制分子、細胞毒性分子、化學治療劑等）或標記。

【0674】 可切割的連接子之例示性實施例在例如 US2019/0010242 中提供，並且包括對蛋白酶切割敏感的連接子，該蛋白酶通常係細胞外蛋白酶，諸如由腫

瘤或活化的免疫效應細胞產生的蛋白酶，並且包括具有可由蛋白酶特異性切割的位點的連接子，該等蛋白酶選自 ADAMS、ADAMTS，例如 ADAMS；ADAMS；ADAM10；ADAM12；ADAM15；ADAM17/TACE；ADAMDEC1；ADAMTS1；ADAMTS4；ADAMTS5；天冬胺酸蛋白酶，例如 BACE 或腎素；天冬胺酸組織蛋白酶，例如組織蛋白酶 D 或組織蛋白酶 E；凋亡蛋白酶，例如凋亡蛋白酶 1、凋亡蛋白酶 2、凋亡蛋白酶 3、凋亡蛋白酶 4、凋亡蛋白酶 5、凋亡蛋白酶 6、凋亡蛋白酶 7、凋亡蛋白酶 8、凋亡蛋白酶 9、凋亡蛋白酶 10 或凋亡蛋白酶 14；半胱胺酸組織蛋白酶，例如組織蛋白酶 B、組織蛋白酶 C、組織蛋白酶 K、組織蛋白酶 L、組織蛋白酶 S、組織蛋白酶 V/L2、組織蛋白酶 X/Z/P；半胱胺酸蛋白酶，例如克魯茲蛋白酶（Cruzipain）；天冬醯胺內肽酶（Legumain）；Otubain-2；KLK，例如 KLK4、KLK5、KLK6、KLK7、KLK8、KLK10、KLK11、KLK13 或 KLK14；金屬蛋白酶，例如穿膜肽酶（Meprin）；腦啡肽酶（Neprilysin）；PSMA；BMP-1；MMP，例如 MMP1、MMP2、MMP3、MMP7、MMP8、MMP9、MMP10、MMP11、MMP12、MMP13、MMP14、MMP15、MMP16、MMP17、MMP19、MMP20、MMP23、MMP24、MMP26 或 MMP27、絲胺酸蛋白酶，例如活化蛋白 C、組織蛋白酶 A、組織蛋白酶 G、凝乳酶、凝血因子蛋白酶（例如 FVIIa、FIXa、FXa、FXIa、FXIIa）、彈性蛋白酶、顆粒酶 B、胍基苯甲酸酯酶、HtrA1、人類嗜中性球彈性蛋白酶、乳鐵蛋白、Marapsin、NS3/4A、PACE4、血纖維蛋白溶酶、PSA、tPA、凝血酶、中性蛋白酶、uPA；II 型跨膜絲胺酸蛋白酶（TTSP），例如 DESC1、DPP-4、FAP、肝素（Hepsin）、基質酶-2、基質酶、TMPRSS2、TMPRSS3 或 TMPRSS4；及其任何組合。在一些實施例中，本發明之多肽鏈在對應於 Lc 的位置不包括此類連接子。

【0675】 連接子之例示性實施例包括可撓性連接子、剛性連接子、螺旋連接子及其組合。舉例而言，連接子論述於 Chen X 等人（《先進藥物輸送評論（Adv

Drug Deliv Rev.)》 2013; 65(10):1357-1369）中，其全部內容以引用的方式併入本文中。

【0676】 在一些實施例中，鉸鏈區或其一部分可用於將模組連接至二聚化域並且在本文中被視為連接子。鉸鏈區可衍生自天然抗體（人類或動物來源）或合成抗體。鉸鏈區可以例如自諸如 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 的 IgG 獲得。鉸鏈區之例示性實施例在 SEQ ID NO:98、SEQ ID NO:121、SEQ ID NO:125 及 SEQ ID NO:129 中提供。

【0677】 在一些情況下，與天然鉸鏈區相比，鉸鏈區可以具有一或多個胺基酸取代、胺基酸插入及/或胺基酸缺失。突變鉸鏈區包括例如與天然 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 鉸鏈區的序列 80%至 99%一致的序列（突變鉸鏈區）。突變鉸鏈區之例示性及非限制性實施例包括 IgG4 的鉸鏈區，其中 S228 經 P 替換（EU 編號）（Angal, S 等人,《分子免疫學（Mol Immunol）》 30, 105-108, 1993）。SEQ ID NO:118-120、122-124、126-128 及 130-132 中提供了突變鉸鏈的其他例示性實施例。

【0678】 可撓性連接子通常由小的極性胺基酸如蘇胺酸或絲胺酸及甘胺酸構成。可撓性連接子之例示性及非限制性實施例包括 GS 連接子（甘胺酸/絲胺酸重複序列），例如$(GGGS)_n(GGGGS)_m$、$(GS)_n$、$(G_4S)_n$、$(GGS)_n$、$(GGGS)_n$、$(GGGGS)_n$、$(GGSG)_n$、$(GGGSS)_n$，其中 n 及 m 可以係整數，諸如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更大，諸如 15、20 或 25。

【0679】 可撓性連接子的具體例示性及非限制性實施例包括包含由 SEQ ID NO:100、SEQ ID NO:101、SEQ ID NO:102、SEQ ID NO:103 或 SEQ ID NO:104 中所述之胺基酸序列組成之彼等。

【0680】 應當理解，SEQ ID NO:104 可以由式$(GGGGS)_n$表示，其中 n 係選自 1 至 10 的整數，或者由式 $GGGGSX_1$ 表示，其中 X_1 不存在，或者若存在，則

為 SEQ ID NO:104 的胺基酸殘基 1 至 5 的 1 至 9 個重複。

【0681】 本發明之剛性連接子通常由富含脯胺酸的序列$(XP)_n$組成，其中 X 表示任何胺基酸，較佳 Ala、Lys 或 Glu，且 n 係整數，諸如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 等（Chen X 等人, 2013）。

【0682】 剛性連接子的具體例示性及非限制性實施例包括包含由 SEQ ID NO:105、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:107 或 SEQ ID NO:108 中所述之胺基酸序列組成之彼等。

【0683】 應當理解，SEQ ID NO:108 可由式$(X(PAPAP))_nKA$表示，其中 n 係選自 1 至 10 的整數，其中 X 存在或不存在，且若存在，則為 A，或者，SEQ ID NO:108 可由式$(XPAPAP)X_2KA$表示，其中 X 可存在或不存在，且若存在，則為 A；並且其中 X_2 不存在或若存在，則為 SEQ ID NO:108 的胺基酸殘基 1 至 6 的 1 至 9 個重複。

【0684】 螺旋連接子有時可以表徵為剛性的，但在本文中被分成不同的連接子家族。螺旋連接子之例示性實施例論述於 Chen X 等人, 2013 中，並且包括例如由帶正電荷及帶負電荷的胺基酸殘基側接的丙胺酸殘基的重複。

【0685】 螺旋連接子的具體例示性及非限制性實施例包括由 SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:111 及 SEQ ID NO:112 中所述之胺基酸序列組成之彼等。

【0686】 應當理解，SEQ ID NO:112 可以由式 $X(EAAAK)_nX_2$ 表示，其中 n 係選自 1 至 10，更佳 2-5 的整數，其中 X 及 X_2 獨立地存在或不存在，並且若存在，則較佳為 A。或者，SEQ ID NO:112 可由式 $X(EAAAK)X_3X_2$ 表示，其中 X 及 X_2 獨立地存在或不存在，且若存在，則較佳為 A；且 X_3 不存在，或若存在，則為 SEQ ID NO:112 的胺基酸殘基 2 至 6 的 1 至 9 個重複。

【0687】 在一例示性實施例中，緊鄰二聚化域之 C 端的連接子（在**式 II 至**

VIII 中標識為 L_{c1}）可以包含可撓性連接子、剛性連接子或螺旋連接子。可特別選擇以佔據此位置的連接子包括例如且不限於包含 SEQ ID NO:100-109、SEQ ID NO:111 或 SEQ ID NO:112 中所述之胺基酸序列或由其組成的連接子，其中 n 為 1。

【0688】 在一例示性實施例中，接合位於二聚化域 C 端的前兩個抗原結合域的連接子（在**式 II 至 VIII** 中標識為 L_{c2}）可以包含可撓性連接子、剛性連接子或螺旋連接子。可以特別選擇以佔據此位置的連接子包括例如且不限於包含 SEQ ID NO:100-110 或 SEQ ID NO:112 中所述之胺基酸序列或由其組成的連接子，其中 n 係 1。

【0689】 本發明亦提供了在 SEQ ID NO:100 至 112 中之任一者的 N 端或 C 端中的一端或兩端具有 1 至 10 個胺基酸（以及包含在 1 及 10 之內的任何範圍或值，諸如 1 至 5）之添加的連接子。此等額外的胺基酸殘基可以各自獨立地選自任何胺基酸殘基。此等額外的胺基酸殘基較佳形成不可切割的序列。

【0690】 本發明亦提供了在 SEQ ID NO:100 至 112 中之任一者的 N 端或 C 端中的一端或兩端具有 1、2、3、4 或 5 個胺基酸（以及包含在 1 及 5 內的任何值）之缺失的連接子。

【0691】 合適的連接子可以包含例如胺基酸序列，包含約 3 至約 50、約 3 至約 40、約 3 至約 30、約 3 至約 25、約 3 至約 20、約 3 至約 15、約 3 至約 10 個胺基酸殘基。

【0692】 在例示性實施例中，每個連接子的長度可獨立地在約 5 至約 50 個範圍內的胺基酸殘基，包括例如約 5 至約 40 個胺基酸殘基、約 10 至約 40 個胺基酸殘基、約 20 至約 40 個胺基酸殘基、約 20 至約 35 個胺基酸殘基、約 25 至約 30 個胺基酸殘基以及包含及包括此類範圍的任何子範圍。

【0693】 在一些實施例中，包含 SEQ ID NO:104、SEQ ID NO:108 或 SEQ

ID NO:112 中所述之胺基酸序列的連接子可以具有「n」值，較佳地 1 至 10，更佳地 2-5，包括 2、3、4 或 5。

結合劑

【0694】 本發明之結合劑涵蓋例如本文揭示之抗原結合域。

【0695】 本發明之結合劑涵蓋例如本文揭示之多肽鏈。

【0696】 本發明之結合劑涵蓋例如本文揭示之多肽鏈的二聚體。

【0697】 本發明之結合劑涵蓋例如本文揭示之多肽鏈的多聚體。

【0698】 本發明之結合劑可以具有以下型式：抗體及其抗原結合片段、抗體樣分子（Fc-、CH3-融合物等）、與蛋白質支架的融合物、免疫細胞調節劑等。

【0699】 在一些實施例中，結合劑包含抗體或其抗原結合片段。

【0700】 在一些實施例中，結合劑包含抗體樣分子。

【0701】 在一些實施例中，結合劑可以與蛋白質支架融合。

【0702】 在一些實施例中，結合劑包含免疫細胞調節劑。

【0703】 因此，在一些實施例中，結合劑包括抗體及其抗原結合片段，諸如且不限於來自駱駝科或鯊魚的單域抗體；人類抗體，包括 IgG（包括人類 IgG1、人類 IgG2、人類 IgG3、人類 IgG4））、人類 IgM、人類 IgA（包括人類 IgA1 及人類 IgA2）、人類 IgE、人類 IgD；動物抗體，包括例如 IgG（IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG2c、IgG3、IgG4）、IgM、IgA、IgE 及 IgD。

【0704】 在其他實施例中，結合劑包括抗原結合片段，例如且不限於 Fab、Fab'、$F(ab')_2$、互補決定區、可變區，包括 VH、VHH、VL 等。

【0705】 結合劑亦包括免疫細胞調節劑，例如雙重親和性再靶向分子（DART）、嵌合抗原受體（CAR）構築體、雙特異性 T 細胞接合劑構築體（BiTE）、雙特異性殺手細胞接合劑（BiKE）、含有 scFv 或 VHH 的三特異性殺手細胞接合劑（TriKE）。

【0706】結合劑亦包括與蛋白質支架的融合物，包括錨蛋白重複蛋白、葡萄球菌蛋白-A 的 Z-域、III 型纖連蛋白、扭結菌素（knottin）等。結合劑之例示性實施例包括單特異性、雙特異性（對稱或不對稱）三特異性或多特異性抗體以及單價、二價、三價或多價抗體、單鏈 FV（scFV）及衍生物，諸如雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體、串聯二-scFvs、串聯三-scFvs、scFV-Fc、微型抗體（scFV-CH3）、串聯雙功能抗體、二-雙功能抗體、雙體等，VH 或 VHH 及衍生物，諸如串聯雙特異性或多特異性 VHH、二價 VHH-Fc 融合物、VHH-鉸鏈-CH2-CH3 融合物、二價 CH3 融合物、VHH 五體、十體等。

【0707】在一些實施例中，本發明之結合劑可以具有 2020 年 12 月 18 日申請之 PCT/CA2020/051753 中所揭示的式 Ia、式 Ib、式 Ic、式 II、式 III、式 IV、式 V、式 VI、式 VII 或式 VIII 及其類似式或本文所揭示之式 I、式 II、式 III、式 IIIa 及式 IIIb、式 IV、式 V、式 VI、式 VII 或式 VIII 的型式。

【0708】本發明之結合劑可以藉由具有相同構型（具有相同或不同胺基酸序列）或具有不同構型的兩個多肽鏈組裝而形成，其中相同或不同構型包括本文所揭示之式 I、式 II、式 III、式 IIIa 及式 IIIb、式 IV、式 V、式 VI、式 VII 或式 VIII 中所述之構型。

【0709】本發明之結合劑可以包含例如一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 I 之胺基酸序列：

$$X\text{-}[(Ab_a)\text{-}(L_b)]_m\text{-}(DD)\text{-}[(L_c)\text{-}(Ab_d)]_n\text{-}Y$$

其中 m 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 n 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 m 及 n 不同時地係 0；

其中 Ab_a、Ab_d 各自表示抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）；

其中 X 或 Y 獨立地存在或不存在，且包含胺基酸序列；

其中 L_b、L_c 各自獨立地包含一或多個連接子；且

其中 DD 表示二聚化域。

【0710】在一些實施例中，L_b 可能不存在。在一些實施例中，L_{b2} 及/或 L_{b3} 可能不存在。

【0711】在一些實施例中，L_c 可能不存在。在一些實施例中，L_{c1}、L_{c2} 及/或 L_{c3} 可能不存在。

【0712】在一些實施例中，L_b 及 L_c 可能不存在。

【0713】在一些實施例中，多肽鏈包含超過一個抗原結合域。

【0714】在一些實施例中，多肽鏈包含兩個或更多個抗原結合域。

【0715】在一些實施例中，多肽鏈包含三個或更多個抗原結合域。

【0716】在一些實施例中，多肽鏈包含四個或更多個抗原結合域。

【0717】在一些實施例中，多肽鏈包含五個或更多個抗原結合域。

【0718】在一些實施例中，多肽鏈包含六個或更多個抗原結合域。

【0719】在一些實施例中，多肽鏈包含在一個與十二個之間的抗原結合域。

【0720】在一些實施例中，結合劑可以包含在一個與十二個之間的抗原結合域，諸如在一個與兩個之間，在一個與三個之間，在一個與四個之間，在一個與五個之間，在一個與六個之間，在一個與七個之間，在一個與八個之間，在一個與九個之間，在一個與十個之間，在一個與十一個之間，在一個與十二個之間，在兩個與三個之間，在兩個與四個之間，在兩個與五個之間，在兩個與六個之間，在兩個與七個之間，在兩個與八個之間，在兩個與九個之間，在兩個與十個之間，在兩個與十一個之間，在兩個與十二個之間，在三個與四個之間，在三個與五個之間，在三個與六個之間，在三個與七個之間，在三個與八個之間，在三個與九個之間，在三個與十個之間，在三個與十一個之間，在三個與十二個之間，在四

個與五個之間，在四個與六個之間，在四個與七個之間，在四個與八個之間，在四個與九個之間，在四個與十個之間，在四個與十一個之間，在四個與十二個之間，在五個與六個之間，在五個與七個之間，在五個與八個之間，在五個與九個之間，在五個與十個之間，在五個與十一個之間，在五個與十二個之間，在六個與七個之間，在六個與八個之間，在六個與九個之間，在六個與十個之間，在六個與十一個之間，在六個與十二個之間，在七個與八個之間，在七個與九個之間，在七個與十個之間，在七個與十一個之間，在七個與十二個之間，在八個與九個之間，在八個與十個之間，在八個與十一個之間，在八個與十二個之間，在九個與十個之間，在九個與十一個之間，在九個與十二個之間，在十個與十一個之間，在十個與十二個或在十一個與十二個之間。

【0721】在一些實施例中，結合劑包含一個多肽鏈。

【0722】在一些實施例中，結合劑包含兩個多肽鏈。

【0723】在一些實施例中，結合劑包含三個多肽鏈。

【0724】在一些實施例中，結合劑包括四個多肽鏈。

【0725】在一些實施例中，結合劑包括五個多肽鏈。

【0726】在一些實施例中，結合劑包括六個多肽鏈。

【0727】在一些實施例中，結合劑包括七個多肽鏈。

【0728】在一些實施例中，結合劑包含八個多肽鏈。

【0729】在一些實施例中，結合劑包含九個多肽鏈。

【0730】在一些實施例中，結合劑包括十個多肽鏈。

【0731】在一些實施例中，結合劑包含超過十個多肽鏈。

【0732】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 II 的多肽鏈：X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y（式 II）。

【0733】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 III 的多肽鏈：X-

(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 III）。

【0734】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 IV 的多肽鏈：X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y（式 IV）。

【0735】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 V 的多肽鏈：X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 V）。

【0736】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 VI 的多肽鏈：X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y（式 VI）。

【0737】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 VII 的多肽鏈：X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 VII）。

【0738】在一些實施例中，結合劑包含至少一個具有式 VIII 的多肽鏈：X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y（式 VIII）。

【0739】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 1（ABD1）。

【0740】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 2（ABD2）。

【0741】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 3（ABD3）。

【0742】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$$X\text{-}(Ab_{a1})\text{-}(L_{b1})\text{-}(DD)\text{-}(L_{c1})\text{-}(Ab_{d1})\text{-}(L_{c2})\text{-}(Ab_{d2})\text{-}Y$$（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 1（ABD1），Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 2（ABD2），且 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 3（ABD3）。

【0743】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$$X\text{-}(Ab_{a1})\text{-}(L_{b1})\text{-}(DD)\text{-}(L_{c1})\text{-}(Ab_{d1})\text{-}(L_{c2})\text{-}(Ab_{d2})\text{-}Y$$（式 III）；

其中 Ab_{a1} 表示抗原結合域 1（ABD1），Ab_{d1} 表示抗原結合域 2（ABD2），且 Ab_{d2} 表示抗原結合域 3（ABD3）。

【0744】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列，其中 Ab_{a1} 係與 DR2 結合的抗原結合域，Ab_{d1} 係與 PD-1 結合的抗原結合域，且 Ab_{d2} 係與 CD47 結合的抗原結合域。

【0745】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列，其中 Ab_{a1} 係與 DR2 結合的抗原結合域，Ab_{d1} 係與 CD47 結合的抗原結合域，且 Ab_{d2} 係與 PD-1 結合的抗原結合域。

【0746】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 IIIa 之胺基酸序列：

$$X\text{-}(ABD1)\text{-}(L_{b1})\text{-}(DD)\text{-}(L_{c1})\text{-}(ABD2)\text{-}(L_{c2})\text{-}(ABD3)\text{-}Y$$（式 IIIa）。

【0747】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，該一或多個多肽鏈各自獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 IIIb 之胺基酸序列：

X-(ABD1)-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(ABD3)-(L_{c2})-(ABD2)-Y（式 IIIb）。

【0748】 在一些實施例中，結合劑包含兩個相同的多肽鏈。

【0749】 在一些實施例中，結合劑的兩個多肽鏈可以具有**式 II** 中所述的組態（具有相同或不同的胺基酸序列）。

【0750】 在一些實施例中，結合劑的兩個多肽鏈可以具有**式 III** 中所述的組態（具有相同或不同的胺基酸序列）。

【0751】 在一些實施例中，結合劑的兩個多肽鏈可以具有**式 IIIa** 中所述的組態（具有相同或不同的胺基酸序列）。

【0752】 在一些實施例中，結合劑的兩個多肽鏈可以具有**式 IIIb** 中所述的組態（具有相同或不同的胺基酸序列）。

【0753】 在一些實施例中，一個多肽鏈可以具有**式 IIIa** 中所述的組態，一個多肽鏈可以具有**式 IIIb** 中所述的組態（其中抗原結合域具有相同或不同胺基酸序列）。

【0754】 在一些實施例中，多肽鏈中之一者可以具有**式 II** 中所述的組態，而另一者可以具有**式 III** 中所述的組態。

【0755】 在一些實施例中，多肽鏈中之一者可以具有**式 II** 中所述的組態，而另一者具有**式 IV** 中所述的組態。

【0756】 在一些實施例中，多肽鏈中之一者可以具有**式 III** 中所述的組態，而另一者具有**式 IV** 中所述的組態。

【0757】 在一些實施例中，多肽鏈中之一者可以具有**式 IV** 中所述的組態，而另一者具有**式 IV** 中所述的組態。

【0758】 在一些實施例中，本發明之結合劑係單特異性的或多特異性的。

【0759】 單特異性結合劑涵蓋對給定抗原的單個抗原決定基具有特異性的結合劑。

【0760】 單特異性結合劑之例示性實施例包括包含一個抗原結合域的結合劑。單特異性結合劑的另一例示性實施例包括包含超過一個抗原結合域的結合劑，但抗原結合域具有相同 CDR 及構架區。結合劑鏈的又一個例示性實施例包括包含超過一個抗原結合域的結合劑，但抗原結合域具有相同的 CDR 及不同的構架區。單特異性結合劑的另一例示性實施例包括包含抗原結合域的結合劑，該等抗原結合域的一或多個 CDR 的胺基酸序列不同（例如，一或多個 CDR 中之保守取代），而不影響其與相同的抗原或抗原決定基結合的能力。

【0761】 多特異性結合劑涵蓋對超過一種抗原決定基（相同抗原或不同抗原的抗原決定基）或超過一種抗原具有特異性的結合劑。舉例而言，多特異性多肽鏈或結合劑因此可以具有超過一個抗原結合域，其中至少兩個與不同的抗原或抗原決定基結合。

【0762】 本發明之結合劑因此可以係雙特異性的、三特異性的、四特異性的、五特異性的、六特異性的等。在一些實施例中，每個抗原結合域可以對給定的抗原係特異性的。在一些實施例中，給定結合劑的兩個或更多個抗原結合域可以對相同或不同抗原具有特異性。在一些實施例中，給定結合劑的三個或更多個抗原結合域可以對相同或不同抗原具有特異性。在一些實施例中，給定結合劑的四個或更多個抗原結合域可以對相同或不同抗原具有特異性。在一些實施例中，給定結合劑的五個或更多個抗原結合域可以對相同或不同抗原具有特異性。在一些實施例中，給定結合劑的六個或更多個抗原結合域可以對相同或不同抗原具有特異性。特異性可能取決於給定結合劑中存在的抗原結合域的數目。

【0763】 多特異性結合劑之例示性非限制性實施例包括由多特異性多肽鏈構成之彼等。多特異性結合劑的其他例示性非限制性實施例包括具有不同特異性的兩個抗原結合域之彼等。多特異性結合劑的其他例示性非限制性實施例包括具有超過兩個抗原結合域之彼等，該等抗原結合域與兩種不同的抗原、蛋白質

結合或與相同抗原或蛋白質上的兩種不同抗原決定基結合。

【0764】 在一些實施例中，本發明之結合劑係單價或多價的。

【0765】 多價結合劑之例示性非限制性實施例包括由多價多肽鏈構成的結合劑。多價結合劑的其他非限制性例示性實施例包括由超過一個單價多肽鏈構成的結合劑。

【0766】 根據本發明，雙特異性結合劑可以係二價或多價的，此取決於其所含有的抗原結合域的數目。雙特異性結合劑之例示性非限制性實施例包括包含形成二聚體的兩個相同雙特異性多肽鏈之彼等。

單特異性結合劑之例示性實施例

【0767】 如本文所示，本發明之結合劑可以係單特異性的。

【0768】 本文提供了單特異性結合劑之例示性及非限制性例示性實施例。

【0769】 舉例而言，結合劑可以僅包含一個抗原結合域。或者，結合劑可以包含超過一個相同的抗原結合域。

【0770】 單特異性結合劑之例示性實施例包括本文揭示的抗原結合域，包括本文揭示的 ABD1、ABD2、ABD3 或重鏈。

【0771】 在例示性實施例中，單特異性結合劑可以包含本文揭示的抗原結合域及二聚化域。

【0772】 在整個說明書中提供了二聚化域之例示性實施例並且包括但不限於 CH3 域（包括天然 CH3 域及天然人類 CH3 域、突變 CH3 域）亦可以包括 CH2 域（天然 CH2 域或突變 CH2 域）。

【0773】 在一些實施例中，二聚化域係抗體的 Fc 區或其一部分。

【0774】 在一些實施例中，二聚化域亦可以包含抗體的鉸鏈區或其一部分。在一些實施例中，鉸鏈區或其部分係人類鉸鏈區或其部分。

【0775】 在一些實施例中，結合劑可以包含 ABD1 及二聚化域。

【0776】在一些實施例中，結合劑可以包含 ABD2 及二聚化域。

【0777】在一些實施例中，結合劑可以包含 ABD3 及二聚化域。

【0778】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0779】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0780】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0781】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0782】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0783】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0784】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0785】在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID

NO:56 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0786】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0787】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含具有與 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈及二聚化域。

【0788】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含與 SEQ ID NO:71 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列。

【0789】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含與 SEQ ID NO:72 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列。

【0790】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含與 SEQ ID NO:73 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列。

【0791】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含與 SEQ ID NO:74 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列。

【0792】 在一些例示性實施例中，本發明之結合劑可以包含與 SEQ ID NO:75 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列。

【0793】 本文提供單特異性結合劑的其他例示性實施例。

多特異性結合劑的例示性實施例

【0794】 如本文所述，本發明之結合劑可以係多特異性的。

【0795】 本文提供了多特異性結合劑的例示性及非限制性例示性實施例。

【0796】 舉例而言，在一些實施例中，結合劑可以包含超過一個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係如本文所述的抗原結合域 1（ABD1）及至少一個抗原結合域係能夠與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域。

【0797】 在其他實施例中，結合劑可以包含超過一個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係如本文所述的抗原結合域 1（ABD1），至少一個抗原結合域係能夠與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域，並且至少一個抗原結合域係能夠與在免疫細胞表面表現的蛋白質結合的抗原結合域。

【0798】 在其他實施例中，結合劑可以包含超過一個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係如本文所述的抗原結合域 1（ABD1），至少一個抗原結合域係能夠與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域，並且至少一個抗原結合域係能夠與在腫瘤細胞表面表現的蛋白質結合的抗原結合域。

【0799】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）及至少一個抗原結合域 2（ABD2）。

【0800】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）及至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【0801】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 2（ABD2）及至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【0802】 在一些實施例中，結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）、至少一個抗原結合域 2（ABD2）及至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【0803】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:7 中所述

之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0804】在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0805】在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0806】在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0807】在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:35 中所述

之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0808】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0809】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0810】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個抗原結合域，其中至少一個抗原結合域係抗原結合域 1（ABD1），並且包含具有如 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列的重鏈，至少一個抗原結合域係抗原結合域 2（ABD2），並且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，並且至少一個抗原結合域係抗原結合域 3（ABD3），並且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【0811】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:77 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、

95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:77 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:77 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:77 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0812】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:78 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:78 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:78 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:78 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0813】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:79 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:79 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:79 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:79 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0814】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:80 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:80 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:80 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、

99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:80 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0815】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:81 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:81 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:81 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:81 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0816】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:82 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:82 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:82 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:82 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0817】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:83 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:83 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:83 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:83 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0818】在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多

肽鏈具有與 SEQ ID NO:85 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:85 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:85 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:85 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0819】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:86 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:86 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:86 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:86 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0820】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:87 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:87 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有與 SEQ ID NO:87 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:87 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0821】 在一些實施例中，結合劑包含一或多個多肽鏈，其中至少一個多肽鏈具有與 SEQ ID NO:88 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:88 中所述之胺基酸序列的一個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具

有與 SEQ ID NO:88 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列的兩個多肽鏈。在其他實施例中，結合劑包含具有 SEQ ID NO:88 中所述之胺基酸序列的兩個多肽鏈。

【0822】 本文提供了多特異性結合劑的其他例示性實施例，包括在表 7 中。

【0823】 在一些實施例中，本發明之結合劑包含結合 DR2 的抗原結合域、結合 PD1 的抗原結合域及結合 CD47 的抗原結合域。在一些實施例中，本發明之結合劑可能能夠使 T 細胞接近表現 DR2 的腫瘤細胞，可能能夠恢復 T 細胞功能及/或可能能夠經由阻斷 SIRPα/CD47 相互作用來增強巨噬細胞功能。在本發明之一些實施例中，結合劑可以經由抗體依賴性細胞介導之細胞毒性（ADCC）發揮其抗腫瘤活性。

變體

【0824】 本文揭示之序列的變體亦涵蓋在本發明中。

【0825】 本發明涵蓋的變體包括可以包含在一或多個位置插入一或多個胺基酸殘基、在一或多個位置缺失一或多個胺基酸殘基或在一或多個位置取代一或多個胺基酸殘基的變體（保守或非保守取代）。

【0826】 舉例而言，天然存在的殘基根據共同的側鏈特性分為幾組。可以藉由將來自下列組（組 1 至組 6）之一的胺基酸替換為同一組的另一胺基酸來進行保守取代。非保守替換將需要將此等組中之一個成員替換為另一個成員。

（組 1）疏水性：正白胺酸、甲硫胺酸（Met）、丙胺酸（Ala）、纈胺酸（Val）、白胺酸（Leu）、異白胺酸（Ile）

（組 2）中性親水性：半胱胺酸（Cys）、絲胺酸（Ser）、蘇胺酸（Thr）、天冬醯胺（Asn）、麩醯胺酸（Gln），

（第 3 組）酸性：天冬胺酸（Asp）、麩胺酸（Glu）

（第 4 組）鹼性：組胺酸（His）、離胺酸（Lys）、精胺酸（Arg）

（第 5 組）影響鏈取向的殘基：甘胺酸（Gly）、脯胺酸（Pro）；及

（第 6 組）芳族：色胺酸（Trp）、酪胺酸（Tyr）、苯丙胺酸（Phe）

【0827】保守取代的其他例示性實施例在「較佳取代」標題下的表 2 中顯示。若此類取代導致不希望的性質，則可以引入更實質性的變化，在表 2 中命名為「例示性取代」，或如下文參考胺基酸類別進一步描述的，並篩選產物。

【0828】熟習此項技術者將認識到，與其他胺基酸相比，某些胺基酸帶正電荷較少、呈中性、帶負電荷或具有減少的電荷。胺基酸可以根據胺基酸的等電點所指示的淨電荷進行分類。等電點係胺基酸分子的平均淨電荷為零時的 pH 值。當 pH>pI 時，胺基酸帶淨負電荷，且當 pH<pI 時，胺基酸帶淨正電荷。在一些實施例中，抗體的量測 pI 值介於約 3 與 9 之間（例如 3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5 及 9）以及介於兩者之間的任何值。在一些實施例中，抗體的量測 pI 值介於約 4 與 7 之間（例如 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0）以及介於兩者之間的任何值。胺基酸之例示性等電點顯示在下表 2 中。通常具有帶正電荷的側鏈的胺基酸包括例如精胺酸（R）、組胺酸（H）及離胺酸（K）。具有帶負電荷的側鏈的胺基酸包括例如天冬胺酸（D）及麩胺酸（E）。具有極性性質的胺基酸包括例如絲胺酸（S）、蘇胺酸（T）、天冬醯胺（N）、麩醯胺酸（Q）及半胱胺酸（C）、酪胺酸（Y）及色胺酸（W）。非極性胺基酸包括例如丙胺酸（A）、纈胺酸（V）、異白胺酸（I）、白胺酸（L）、甲硫胺酸（M）、苯丙胺酸（F）、甘胺酸（G）及脯胺酸（P）。

【0829】在一些實施例中，抗體的等電點經由胺基酸取代進行改變。參見例如 US20110076275。在一些實施例中，修改構成抗體之多肽的等電點會引起抗體半衰期之變化。

表 2. 例示性胺基酸取代

原始殘基	例示性取代	保守取代	pI（等電點）
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val	6.0
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys	10.76
Asn (N)	Gln, His, Lys, Arg, Asp	Gln	5.41
Asp (D)	Glu, Asn	Glu	2.77
Cys (C)	Ser, Ala	Ser	5.07
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn	5.65
Glu (E)	Asp, Gln	Asp	3.22
Gly (G)	Ala	Ala	5.97
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg,	Arg	7.59
Ile (I)	Leu、Val、Met、Ala、Phe、正白胺酸	Leu	6.02
Leu (L)	正白胺酸、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile	5.98
Lys (K)	Arg、Gln、Asn	Arg	9.74
Met (M)	Leu、Phe、Ile	Leu	5.74
Phe (F)	Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Tyr	5.48
Pro (P)	Ala	Ala	6.30
Ser (S)	Thr	Thr	5.58
Thr (T)	Ser	Ser	5.60
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr	5.89
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe	5.66
Val (V)	Ile、Leu、Met、Phe、Ala、正白胺酸	Leu	5.96

【0830】 通常，可變鏈之間的相似性及一致性程度在本文中使用 Blast2 序列程式（Tatiana A. Tatusova, Thomas L. Madden (1999),「Blast2 序列-用於比較蛋白質及核苷酸序列的新工具（Blast 2 sequences - a new tool for comparing protein and nucleotide sequences）」,《FEMS 微生物學快報（FEMS Microbiol Lett.）》174:247-250）使用預設設置，亦即 blastp 程式、BLOSUM62 矩陣（開放間隙 11 及擴展間隙罰分 1；間隙×兌落 50，預期 10.0，字長 3）及活化的過濾器測定。

【0831】 因此一致性百分比將指示與原始肽相比一致並且可能佔據相同或相似位置的胺基酸。

【0832】 相似性百分比將指示相同的胺基酸及與在相同或相似位置的原始肽相比經保守胺基酸取代替換的胺基酸。

【0833】 因此，本發明之變體可以包含與原始或參考序列或原始序列的一部分至少 70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、

89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或 100%一致的序列。

【0834】在一些實施例中，具有與給定胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%一致性或小於 100%一致的胺基酸序列之多肽鏈可以具有通常位於互補決定區之外的胺基酸取代、添加或缺失。

【0835】在一些實施例中，變體可以與本文揭示之序列具有至少 80%的序列一致性。在其他實施例中，變體可以與本文揭示之序列具有至少 85%的序列一致性。在又一些實施例中，變體可以與本文揭示之序列具有至少 90%的序列一致性。在進一步的實施例中，變體可以與本文揭示之序列具有至少 95%的序列一致性。在其他實施例中，變體可以與本文揭示之序列具有至少 99%的序列一致性。

【0836】變體之例示性實施例包括多肽鏈或結合劑，其包含衍生自天然抗體但包含一、二、三、四、五、六、七、八、九、十個或更多個的胺基酸差異（包括胺基酸取代、插入或缺失）的鉸鏈區、Fc、CH3、CH2/CH3 區。

【0837】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以因此包含與天然抗體之鉸鏈區至少 80%一致、至少 85%一致、至少 90%一致、至少 95%一致、至少 99%一致的突變鉸鏈區。

【0838】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以因此包含與天然抗體之 Fc 至少 80%一致的突變 Fc 部分。

【0839】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以因此包含與天然抗體之 CH2 域至少 80%一致、至少 85%一致、至少 90%一致、至少 95%一致、至少 99%一致的突變 CH2 域。

【0840】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以因此包含與天然抗體之 CH3 域至少 80%一致、至少 85%一致、至少 90%一致、至少 95%一致、至少 99%

一致的突變 CH3 域。

【0841】在一些實施例中，本發明之多肽鏈可以因此包含與天然抗體之 CH2/CH3 域至少 80%一致、至少 85%一致、至少 90%一致、至少 95%一致、至少 99%一致的突變 CH2/CH3 域。

製造多肽鏈的核酸、載體、套組、細胞及方法

【0842】本發明之核酸分子可以係單股或雙股的。本文揭示的核酸分子可以包含去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、修飾的去氧核糖核苷酸或修飾的核糖核苷酸。本發明之核酸分子可以包括例如 DNA。

【0843】特別提供了編碼一或多個模組或整個多肽鏈的 DNA 區段及載體。

【0844】DNA 區段及/或載體可以在單獨的小瓶中提供並作為套組出售。

【0845】特別考慮的係包含允許定向組裝模組的序列的 DNA 區段組及併入 DNA 區段或整個多肽鏈的選殖載體。

【0846】DNA 區段及載體可以作為用於組裝能夠表現本文揭示之多肽鏈或結合劑的 DNA 構築體的套組的一部分提供。

【0847】該套組可至少包含一或多個 DNA 區段或載體，其允許使用者產生如本文所揭示包含在位置 356、357、370、399 及/或 439 處具有胺基酸取代的突變二聚化域之多肽鏈（根據 EU 編號系統）。

【0848】由於遺傳密碼的固有簡併性，可以生產及使用編碼相同、基本相同或功能等同的胺基酸序列的 DNA 序列。本發明之核苷酸序列可以使用此項技術中公知的方法進行工程化，以便出於多種目的改變核苷酸序列，包括但不限於對基因的選殖、加工及/或表現產物進行修飾。藉由基因片段及合成寡核苷酸的隨機片段化及 PCR 重組進行的 DNA 改組可用於工程化核苷酸序列。舉例而言，寡核苷酸介導之定點誘變可用於引入產生新限制性位點、改變醣基化模式、改變密碼子偏好、產生剪接變體等的突變。本發明涵蓋編碼本文所述多肽鏈的密碼子

最佳化的核酸。

【0849】 本文揭示之多肽鏈及結合劑可以藉由熟習此項技術者熟悉的多種方法製備，包括藉由重組 DNA 方法或藉由活體外轉錄/轉譯。

【0850】 一般而言，本文所述之多肽鏈由插入表現載體的核酸序列表現，亦即含有用於在特定宿主中對插入的編碼序列進行轉錄及轉譯控制的元件的載體。此等元件可以包括調節序列，諸如強化子、組成型及誘導型啟動子，以及 5' 及 3'非轉譯區。

【0851】 熟習此項技術者已知的多種表現載體/宿主細胞系統可用於表現本文所述之多肽鏈。在結合劑由不同的多肽鏈構成的情況下，每個此類多肽鏈可以由單獨的表現載體或由獨特的表現載體提供。根據本發明，結合劑的兩條鏈可以由單個載體或由單獨的載體（載體組）編碼。

【0852】 多肽通常在哺乳動物細胞中表現。對於重組蛋白的長期生產，可以使用穩定的表現系統，其中 DNA 區段被整合至宿主細胞基因體中或藉由使用可選擇標記物以游離基因組形式保持。可以根據宿主細胞類型調節插入序列的表現或以所需方式加工表現的多肽的能力來選擇宿主細胞類型。具有特定細胞機制及轉譯後活動特徵機制的不同宿主細胞（例如，CHO、HeLa、MDCK、HEK293 及 W138）可自美國典型培養物保藏中心（ATCC）市售獲得，並且可以選擇以確保表現多肽的正確修飾及加工。

【0853】 可以使用其他類型的表現系統。此等類型包括，例如，微生物，諸如用重組噬菌體、質體或黏接質體 DNA 表現載體轉型的細菌；用酵母表現載體轉型的酵母；用桿狀病毒載體感染的昆蟲細胞系統；用病毒或細菌表現載體轉型的植物細胞系統；或動物細胞系統。

【0854】 因此，本發明係關於用編碼本文所述多肽鏈中之至少一種的載體、核酸、載體組或核酸組轉型或轉染的經分離細胞。因此，本發明亦關於能夠或表

現本文所揭示之多肽鏈或結合劑的經分離細胞。

【0855】 本發明亦關於一種製造結合劑之方法。該方法可以包含向細胞（例如，哺乳動物細胞）提供編碼本文所揭示之一或多種多肽鏈的載體或載體組，且允許表現。

【0856】 該方法亦可以包含自細胞或細胞碎片中純化結合劑。

【0857】 在一些實施例中，製造方法允許達到至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 99%（二聚體）之純度水準。

【0858】 在一些實施例中，結合劑之純度水準係在 80.0%至 99.9%之間。

【0859】 在一些實施例中，結合劑之純度水準係在 95.0%至 99.9%之間。

【0860】 在一些實施例中，結合劑之純度水準至少係 90.0+/- 5.0%。

【0861】 在一些實施例中，結合劑之純度水準至少係 95.0+/- 5.0%。

【0862】 在一些實施例中，結合劑之純度水準等於或高於 95%。

【0863】 在一些實施例中，結合劑之純度水準係 97.0+/- 1.0%。

【0864】 在一些實施例中，結合劑之純度水準等於或高於 97%。

【0865】 在一些實施例中，結合劑之純度水準係 99.0+/- 1.0%。

【0866】 在一些實施例中，結合劑之純度水準等於或高於 99%。

【0867】 在一些實施例中，由細胞產生之結合劑的效價可以係 0.1 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 0.5 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 1 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 2 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 3 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 4 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 5 g/L 或更大。在某些情況下，由細胞產生之結合劑的效價可以係 6 g/L 或更大。通常，同二聚體藉由用載體轉染細胞而製成，該載體包含編碼本文所揭示之一種多肽鏈

的核酸序列。收集的上清液可能含有同二聚體或單體及/或同二聚體之混合物。

【0868】 通常，異二聚體係藉由用至少兩種類型的載體（載體組）共轉染細胞來製備的，每種載體包含編碼兩個不同多肽鏈的核酸序列。鏈 A 與鏈 B 之適當比率通常取決於自每個個別的質體獲得的蛋白質表現水準，並且可以自例如約 1:10 至約 10:1 變化。對於本文揭示的一些構築體，特別較佳約 1:1 的 DNA 比率。

【0869】 異二聚體亦可以藉由用編碼兩個多肽鏈的單一載體轉染細胞來製備。收集的上清液可含有異二聚體或單體、異二聚體及/或同二聚體的混合物。

【0870】 本發明之製備多肽鏈的方法可以進一步包含自包含的混合物中分隔或分離單體、同二聚體及異二聚體的步驟。可以例如藉由尺寸排阻層析法或在標籤的幫助下或藉由熟習此項技術者已知的其他方法來純化及分離同二聚體或異二聚體。

【0871】 該方法亦可以包含自雜質中分離及/或純化結合劑的步驟。

【0872】 因此，本發明之方法將產生包含同二聚體、異二聚體或單體異二聚體及/或同二聚體的混合物的組合物。

【0873】 在一些例示性實施例中，組合物可主要包含同二聚體。在一例示性實施例中，該組合物可以包含比率為至少約 80%、至少 85%、至少 90%、至少 99%或 100%的同二聚體。

【0874】 在其他例示性實施例中，組合物可以主要包含異二聚體。在一例示性實施例中，該組合物可以包含比率為至少約 80%、至少 85%、至少 90%、至少 99%或 100%的異二聚體。

綴合物

【0875】 本發明之多肽鏈或結合劑可以綴合，例如，與治療部分（用於治療目的）或與可偵測部分（亦即，用於偵測或診斷目的）或與允許延長半衰期的

蛋白質綴合或附著在奈米粒子上。在一些情況下，治療或可偵測部分可以連接至多肽鏈的至少一個胺基酸殘基。

【0876】 在一例示性實施例中，本發明之多肽鏈或結合劑與治療部分綴合，諸如且不限於化學療劑、細胞介素、細胞毒劑、抗癌藥（例如小分子）等。

【0877】 治療部分可以包括，例如且不限於，釔-90、銖-47、銪-186、碘-131、碘-125 及熟習此項技術者認可的許多其他物質（例如，鐿（例如，Lu^{177}）、鉍（例如，Bi^{213}）、銅（例如，Cu^{67}））、5-氟尿嘧啶、阿德力黴素（adriamycin）、抗癌妥（irinotecan）、紫杉烷（taxane）、假單胞菌內毒素（pseudomonas endotoxin）、蓖麻毒素（ricin）、澳瑞他汀（auristatin）（例如，單甲基澳瑞他汀 E、單甲基澳瑞他汀 F）、美登醇（maytansinoid）（例如，美登素（mertansine））及其他毒素。

【0878】 在另一例示性實施例中，本發明之多肽鏈或結合劑與可偵測部分綴合，該可偵測部分包括例如且不限於可藉由光譜、光化學、生物化學、免疫化學、化學及/或其他物理手段偵測的部分。可偵測部分可以使用此項技術中熟知的方法直接及/或間接（例如經由鍵聯，諸如且不限於 DOTA 或 NHS 鍵聯）與多肽鏈或結合劑偶聯。可以使用多種可偵測部分，選擇取決於所需的靈敏度、綴合的容易程度、穩定性要求及可用的儀器。合適的可偵測部分包括但不限於螢光標記、放射性標記（例如且不限於 ^{125}I、In^{111}、Tc^{99}、I^{131} 並包括用於 PET 掃描儀的正電子發射同位素等）、核磁共振活性標記、發光標記、化學發光標記、發色團標記、酶標記（例如且不限於辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶等）、量子點及/或奈米顆粒。可偵測部分可以引起及/或產生可偵測信號，從而允許偵測來自可偵測部分的信號。

醫藥組合物

【0879】 包含本發明之多肽鏈或結合劑的醫藥組合物亦涵蓋在本發明中。醫藥組合物亦可以包含醫藥學上可接受之載劑。

【0880】 在一些實施例中，醫藥組合物包含如本文揭示的綴合之多肽鏈或綴合之結合劑。在一些實施例中，醫藥組合物包含與治療部分綴合之多肽鏈或結合劑。在一些實施例中，醫藥組合物包含與可偵測標記綴合之多肽鏈或結合劑。

【0881】 除了活性成分之外，醫藥組合物可以含有醫藥學上可接受之載劑，包含水、PBS、鹽溶液、明膠、油、醇及其他賦形劑及促進將活性化合物加工成可在醫藥學上使用之製劑的助劑。在其他情況下，可以對此類製劑進行滅菌。

【0882】 如本文所用，「醫藥組合物」係指治療有效量的藥劑以及醫藥學上可接受之稀釋劑、防腐劑、增溶劑、乳化劑、佐劑及/或載劑。如本文所用，「治療有效量」係指為給定病狀及投藥方案提供治療效果的量。此類組合物係液體或凍乾或以其他方式乾燥的調配物，並且包括各種緩衝液含量（例如，Tris-HCl、乙酸鹽、磷酸鹽）、pH 及離子強度的稀釋劑；防止表面吸收的添加劑，諸如白蛋白或明膠；清潔劑（例如，Tween 20、Tween 80、Pluronic F68、膽汁酸鹽）。增溶劑（例如甘油、聚乙烯甘油）；抗氧化劑（例如抗壞血酸、焦亞硫酸鈉）；防腐劑（例如硫柳汞、苯甲醇、對羥基苯甲酸酯）；填充劑或張力調節劑（例如乳糖、甘露醇）；如聚乙二醇的聚合物與蛋白質的共價連接；與金屬離子的錯合；或將材料摻入諸如聚乳酸、聚乙醇酸、水凝膠等聚合化合物微粒製劑之中或之上，或摻入脂質體、微乳液、膠束、單層或多層囊泡、紅血球翳或球形質體之上。此類組合物將影響物理狀態、溶解度、穩定性、活體內釋放速率及活體內清除速率。控制釋放或持續釋放組合物包括在親脂儲槽（例如脂肪酸、蠟、油）中之調配物。本發明亦涵蓋塗有聚合物（例如泊洛沙姆（poloxamer）或泊洛沙胺（poloxamine））的微粒組合物。本發明之組合物的其他實施例結合用於各種投藥途徑的微粒形式的保護性塗層、蛋白酶抑制劑或滲透增強劑，包括非經腸、經肺、經鼻、經口、經陰道、直腸途徑。在一個實施例中，醫藥組合物係非經腸、癌旁、經黏膜、經皮、肌肉內、靜脈內、皮內、皮下、腹膜內、心室內、顱內及腫瘤內投與的。

【0883】 此外，如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑」或「醫藥載劑」係此項技術中已知的並且包括但不限於 0.01-0.1 M 或 0.05 M 磷酸鹽緩衝液或 0.8% 鹽水。此外，此類醫藥學上可接受之載劑可以係水性或非水性溶液、懸浮液及乳液。非水溶劑的實例係丙二醇；聚乙二醇；植物油，諸如橄欖油；及可注射的有機酯，諸如油酸乙酯。水性載劑包括水、醇/水溶液、乳液或懸浮液，包括鹽水及緩衝介質。非經腸載體包括氯化鈉溶液、林格氏葡萄糖、葡萄糖及氯化鈉、乳酸林格氏或非揮發性油。靜脈內載體包括流體及營養補充劑、電解質補充劑，諸如基於林格氏葡萄糖之彼等，等等。亦可以存在防腐劑及其他添加劑，諸如抗微生物劑、抗氧化劑、整理劑、惰性氣體等。

【0884】 對於任何化合物，最初可以在細胞培養分析中或在諸如小鼠、大鼠、兔、狗或豬的動物模型中估計治療有效劑量。動物模型亦可用於確定濃度範圍及投藥途徑。接著可以使用此類資訊來確定用於人類投藥的有用劑量及途徑。此等技術為熟習此項技術者所熟知，並且治療有效劑量係指改善症狀或病狀的活性成分之量。治療效果及毒性可以藉由細胞培養或實驗動物中之標準醫藥程序來確定，例如藉由計算及對比 ED_{50}（50%群體中治療有效的劑量）及 LD_{50}（50%群體致死的劑量）統計。上述任何醫藥組合物可應用於任何需要治療的個體，包括但不限於哺乳動物，諸如犬、貓、牛、馬、兔、猴，且尤其係人類。

【0885】 本文所述的醫藥組合物可藉由多種途徑投與，包括但不限於經口、靜脈內、肌肉內、動脈內、髓內、鞘內、心室內、經皮、皮下、腹膜內、鼻內、腸內、局部、舌下、或直腸方式。

【0886】 在一些實施例中，醫藥組合物由純度水準在 80.0%至 99.9%之間的結合劑製成。因此，在一些實施例中，醫藥組合物包含基本上不含雜質的結合劑。舉例而言，醫藥組合物包含純度至少為 90.0+/-5.0%的結合劑。在其他實例中，醫藥組合物包含純度至少為 95.0+/-5.0%的結合劑。在其他實施例中，醫藥

組合物包含純度至少為 99.0+/-1.0%的結合劑。

【0887】 在一些實施例中，醫藥組合物包含在如本文所述的一或多種應激條件下在溶液中穩定的結合劑。

使用方法

【0888】 本發明之多肽鏈及結合劑可用於治療病症或疾病。

【0889】 在一些實施例中，多肽鏈及結合劑可以用於使治療劑及/或診斷劑靶向目標細胞、循環蛋白或組織。

【0890】 在一些實施例中，多肽鏈及結合劑可以與治療性部分綴合，且用於治療方法。

【0891】 在一些實施例中，多肽鏈及結合劑可以與可偵測部分綴合，並用於偵測或診斷方法。

【0892】 在一些實施例中，本發明之多肽鏈及結合劑可以用於在活體內靶向腫瘤。

【0893】 在一些實施例中，多肽鏈及結合劑用於在活體內促進腫瘤消退及/或減小腫瘤體積。

【0894】 因此，本發明之多肽鏈及結合劑可以用於癌症治療。

【0895】 本發明之方法可以包含向有需要的個體投與本文所揭示之多肽鏈、結合劑或混合物或包含該多肽鏈、結合劑或混合物的醫藥組合物的步驟。

【0896】 在一些實施例中，多肽鏈及結合劑與化學療劑組合使用。

【0897】 根據本發明，有需要的個體可以係人類。進一步根據本發明，有需要的個體可以係動物。

【0898】 在一些實施例中，特別考慮治療由新抗原的表現引起的或與之相關的病症或疾病。

【0899】 在某些實施例中，特別考慮治療由抗原的過表現引起的或與之相

關的病症或疾病。

【0900】 在一些實施例中，該病症或疾病可以係癌症。

【0901】 在其他實施例中，該病症或疾病可以係感染。

【0902】 在其他實施例中，該病症或疾病可以係免疫失調。

【0903】 在其他實施例中，該病症或疾病可以係代謝紊亂。

【0904】 在一些實施例中，結合劑經靜脈內投與。

【0905】 在一些實施例中，結合劑藉由輸注投與。

【0906】 本發明之多肽鏈及結合劑可以用於偵測目的。

【0907】 特定目標的偵測可以藉由以下方式在活體外進行：將含有或懷疑含有目標的樣品與包含針對此類目標的抗原結合域之多肽鏈或結合劑接觸，並使用偵測裝置來量化與陽性或陰性結合相關的信號。

【0908】 樣品可能來源於哺乳動物（例如人類）。樣品可以係自哺乳動物獲得的組織樣品或細胞培養上清液。

【0909】 在一些實施例中，樣品可以係自哺乳動物獲得的血清樣品、血漿樣品、血液樣品、精液或腹水。

【0910】 特定目標的偵測可以在體內藉由將包含此類目標的抗原結合域之多肽鏈或結合劑投與個體並使用偵測裝置量化與陽性或陰性結合相關的信號來進行。

【0911】 在偵測到樣品或個體中存在目標時，可以將藥物（例如，本文揭示的抗體、小分子、多肽鏈或結合劑）投與個體。

【0912】 除了在本發明中描述及提供的實施例之外，亦特別考慮了以下非限制性實施例。

【0913】 **表 3**、**表 4**、**表 5** 及**表 6** 說明了 VHH 本身具有生物學活性（例如，作為與二聚化域的融合物）並作為如**表 7** 中例示的多聚體、多價及/或多特異性

結合劑的一部分。

實例

實例 1-動物免疫接種及免疫庫構建

【0914】藉由用人類抗原、編碼該等人類抗原之 cDNA 質體及/或過表現該等人類抗原之細胞對羊駝（*Vicugna pacos*）或駱馬（*llama glama*）進行免疫接種來產生單域抗體。

【0915】例如，抗 DR2 單域抗體係藉由用包括人類 DR2 蛋白、人類 DR2 cDNA 質體及人類 DR2 過表現細胞系，亦即 SH-SY5Y-D2 細胞在內的 DR2 抗原對羊駝進行免疫接種而產生的。抗 PD-1 單域抗體係藉由用包括人類 PD-1 蛋白、人類 PD-1 cDNA 質體及人類 PD-1 過表現細胞系，亦即 CHO-PD1 細胞在內的 PD-1 抗原對羊駝進行免疫接種而產生的。在抗 CD47 之情況下，單域抗體係藉由用包括人類 CD47 蛋白、人類 CD47 cDNA 及人類 PBMC（經活化）在內的 CD47 抗原對美洲駝進行免疫接種而產生的。

【0916】在針對抗原對重建免疫庫進行噬菌體顯示淘選之後，自純系中發現了單域抗體之序列。

【0917】編碼 VHH 之 DNA 片段通常被次選殖至構築體中，用於多肽鏈的表現（例如，參見**表 6** 或**表 7**）及活體外及活體內測試。

【0918】亦藉由用 HEWL 特異性 VHH 取代一或多個 VHH 來產生對照。

實例 2-結合劑之轉染、表現及純化

多肽鏈在 ExpiCHO 或 Expi293 細胞中之轉染及表現

【0919】使用 ExpiCHO™表現系統（Thermo Fisher，目錄號 A29133）或 Expi293™表現系統（Thermo Fisher，目錄號 A14635）在 2.5 mL 或 400 mL 的培養體積中自 DNA 構築體表現蛋白質二聚體（例如同二聚體或異二聚體）。

【0920】簡而言之，在轉染之前，使新解凍的 CHO 細胞在培養中恢復兩個

或更多個繼代。接著，每 3-4 天對細胞進行繼代，直至細胞達至 4×10^6-6×10^6 個細胞/毫升，此時在預熱至 37℃的 ExpiCHO™表現培養基中將其稀釋至 2×10^5-3×10^5 個細胞/毫升。在轉染的前一天，將細胞稀釋至 3×10^6-4×10^6 個細胞/毫升，且在轉染的當天，將細胞進一步稀釋至 6.×10^6 個細胞/毫升。1 μg DNA/mL 的培養體積用冷的 OptiPRO™培養基（100 μL 用於 2.5 mL 的培養體積；16 mL 用於 400 mL 的培養體積）稀釋。將 ExpiFectamine™ CHO 試劑（8 μL 用於 2.5 mL 的培養體積；1280 μL 用於 400 mL 的培養體積）加入至含有 DNA 之培養基中，且在室溫下與 ExpiFectamine™/DNA 複合物一起培育 1-5 分鐘。接著，在渦旋的同時將 DNA 複合物轉移至培養物中（按 6×10^6 個細胞/毫升）。細胞在 37℃下在 8%的 CO_2 及 80%的濕度下在振盪下（INFORS HT 振盪器，125 rpm）進行培育。轉染開始後 18-22 小時，向細胞中加入 ExpiCHO™飼養物（0.6 mL 用於 2.5 mL 的培養體積；96 mL 用於 400 mL 的培養體積）及 ExpiCHO™增強劑（15 μL 用於 2.5 mL 的培養體積；2.4 mL 用於 400 mL 的培養體積）。將細胞放回 INFORS HT 培育箱，設定在 37℃、8%的 CO_2 及 80%的濕度，以 125 rpm 振盪（25 mm 軌道）。轉染後 8 天，在 4000×g 離心 30 分鐘，澄清上清液。上清液用 Nalgene™ Rapid-Flow™無菌拋棄式過濾單元 1000 mL 過濾單元（Thermo Scientific，目錄號 567-0020）進行過濾滅菌，並儲存在 4℃或冷凍以備之後分析。

【0921】 在轉染前，使新解凍的 HEK293 細胞在培養中恢復兩個或更多個繼代。接著，每 3-4 天對細胞進行繼代，直至細胞達至 3×10^6-5×10^6 個細胞/毫升，此時在預熱至 37℃的 Expi293™ 表現培養基中稀釋至 3×10^5-5×10^5 個細胞/毫升。在轉染的前一天，細胞被稀釋至 2.5×10^6-3×10^6，且在轉染當天，細胞被進一步稀釋至 3×10^6 個活細胞/毫升。用 Opti-MEM™ I 減血清培養基稀釋 1 μg DNA/mL 的培養體積，得到 150 μL 最終體積用於 2.5 mL 的培養體積以及 24 mL 用於 400 mL 的培養體積。將 ExpiFectamine™ 293 試劑（8 μL 用於 2.5 mL 的培養體積；

1.3 mL 用於 400 mL 的培養體積）加入培養基 Opti-MEM™ I 減血清培養基（140 µL 用於 2.5 mL 培養體積；22.5 mL 用於 400 mL 培養體積），在室溫下培育 5 分鐘。將稀釋的 ExpiFectamine™加入稀釋的 DNA 中，且在室溫下培育 15 分鐘。在渦旋的同時將 ExpiFectamine™/DNA 溶液逐滴轉移至培養物中（按 3×10^6 個細胞/毫升）。細胞在 37℃、8%的 CO_2 及 80%的濕度下培育且隔夜振盪（INFORS HT 振盪器，125 rpm）。轉染開始後 18-22 小時，向細胞中加入 ExpiFectamine™ 293 轉染增強劑 1（15 µL 用於 2.5 mL 的培養體積；2.4 mL 用於 400 mL 的培養體積）及 ExpiFectamine™ 293 轉染增強劑 2（50 µL 用於 2.5 mL 的培養體積；24 mL 用於 400 mL 的培養體積）。將細胞放回 INFORS HT 培育箱，設定在 37℃、8%的 CO_2 及 80%的濕度，以 125 rpm 振盪（25 mm 軌道）。轉染後 5 天，在 4000×g 離心 30 分鐘，澄清上清液。上清液用 Nalgene™ Rapid-Flow™無菌拋棄式過濾單元 1000 mL 過濾單元（Thermo Scientific，目錄號 567-0020）進行過濾滅菌，並儲存在 4℃或冷凍以備之後分析。

純化

【0922】根據上清液的體積，使用 3 mL MabSelect™ SuRe™樹脂（GE Healthcare，目錄號 17-5438-02）與重力管柱或 40 mL MabSelect™ SuRe™樹脂與 AKTA PURE（GE Healthcare, Piscataway, NJ）對蛋白質進行純化。樹脂用 0.5 M NaOH 培育隔夜，且在注射前用 pH 7.4 的 Tris-base 緩衝液（50 mM Tris-HCl，150 mM NaCl，pH 7.4）進行平衡。將上清液施加在重力管柱上或以 5 毫升/分鐘的速度施加在 40 mL 管柱上。樹脂管柱以 10 毫升/分鐘的流速用 pH 7.4 的 Tris-base 緩衝液以 3 CV（管柱體積）洗滌。蛋白質用 3 CV 的 0.1 M pH 3 的檸檬酸以 10 毫升/分鐘溶離。將根據層析圖的視覺輸出（280 nm 下的吸光度）確定有蛋白質的溶離份彙集在一起。彙集的溶離份用 pH 9.0 的 1 M Tris-HCl 中和，以達至 pH 約 5-6，接著轉移至磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）pH 6.0 緩衝液中，該緩衝液由

PBS 10X pH 7.2（15 mM 磷酸二氫鉀，1552 mM 氯化鈉，27 mM 磷酸二氫鈉，ThermoFisher，目錄號 70013073）製備而來。

【0923】 對於自重力管柱純化的蛋白質，藉由樣品濃縮器進行緩衝液交換，或對於自 AKTA PURE 純化的蛋白質，藉由透析或藉由脫鹽管柱進行緩衝液交換。用樣品濃縮器 VivaSpin 2, 50 kDa MWCO（GE Healthcare，目錄號 28932257）藉由在 4℃下以 3,500-4,000×g 離心，接著用 pH 6 的 PBS 稀釋，達至 4 倍，且重複進行，直至樣品達至 200 倍，從而濃縮自重力管柱純化的蛋白質。使用 7 kDa 分子量截止的透析管（ThermoFisher，目錄號 68799），在 4 L pH 6 的 PBS 中在 4℃下進行透析隔夜。另一方面，將脫鹽管柱用 0.5 M NaOH 培育隔夜，並用 PBS pH 6 平衡。將體積為 15 mL 的中和蛋白樣品以 0.5 毫升/分鐘加載至 HiPrep 26/10 脫鹽管柱（GE Healthcare，目錄號 17-5087-02）中，接著用 2 CV 的 pH 6 的 PBS 溶離蛋白。重複加載及溶離步驟，直至沒有自親和管柱溶離的中和蛋白樣品為止。將根據層析圖的視覺輸出（280 nm 下的吸光度）確定有蛋白質的溶離份彙集在一起。

【0924】 使用 Nalgene™ Rapid-Flow™無菌拋棄式過濾單元 150 mL 過濾單元（Thermo Scientific，目錄號 565-0010）對樣品進行過濾滅菌。最終的蛋白質樣品用 Pierce™ 雙辛酸蛋白質分析套組（ThermoFisher，目錄號 23227）進行定量，並用 Endosafe® LAL 試劑卡匣（Charles River，目錄號 PTS2005）測試內毒素量。最終的蛋白質樣品在還原或非還原條件下在 SDS-PAGE 凝膠上進行分析。

【0925】 在 CHO 細胞中生產結合劑，接著用蛋白 A 親和層析法繼而尺寸排除層析法（SEC）進行習知的兩步純化，得到在 95.5%至 99.5%（二聚體）範圍內的純度。

【0926】 在尺寸排除層析法（SEC）及 SDS caliper 之後，發現 KC020 的純度高於 97%。對前三個純系的 DNA 序列進行驗證；發現 KC020 的電荷概況及

醣基化概況與單株抗體相似。下表代表為開發細胞系而選擇的三個代表性純系 14 天後的 KC020 效價。

純系 ID	第 14 天效價（g/L）	純度>97%（根據 SEC）	純度>97%（根據 SDS_Caliper_nR）
22	5.13	√	√
6	6.45	√	√
21	6.59	√	√

SDS-PAGE 及西方墨點法

【0927】 使用 NuPAGE™ LDS 樣品緩衝液（ThermoFisher，目錄號 NP0007）及 NuPAGE™樣品還原劑（ThermoFisher，目錄號 NP0004）或不使用還原劑，在還原或非還原條件下製備樣品進行 SDS-PAGE 分析。藉由在 70℃下加熱 10 分鐘使在還原條件下的樣品變性。將樣品（16 μL）及 BSA 標準品一起加載至 3-8%的 Tris-乙酸迷你凝膠（1.5 mm，15 孔）上。使用 X-Cell SureLock™迷你凝膠裝置在 125 伏下進行電泳持續約 1 小時。凝膠使用 GelCode™染色試劑（Thermo Fisher，目錄號 24594）進行染色。

【0928】 對於西方墨點分析，根據製造商的說明書，使用 iBlot™系統（Thermo Fisher，目錄號 IB301031）將蛋白質轉移至硝酸纖維素膜上。

【0929】 用抗五 His-HRP 抗體進行 His 標籤的偵測。簡而言之，膜藉由以下方式阻斷：在 20 mL 的 Qiagen 阻斷緩衝液（Qiagen，目錄號 1018862）中在室溫下振盪培育 1 小時，接著在 20 mL 的 Starting Blocking™ T20（PBS）阻斷液（Thermo Fisher，目錄號 37528）中在室溫下振盪培育 1 小時。用 1× TBS Tween™-20 洗滌膜三次，每次 10 分鐘。將膜與先前在阻斷緩衝液中 1:2000 稀釋的抗五 His-HRP（Qiagen，目錄號 1014992）在室溫下振盪培育 1 小時。用 1× TBS Tween™-20 洗滌膜三次，每次 10 分鐘。根據製造商的說明書，使用 Super Signal™ West Pico PLUS（Thermo Fisher，目錄號 34080）對信號進行可視化。使用 Azure Biosystem 成像系統記錄影像。

【0930】 此等實驗結果表明，本發明的結合劑（同二聚體或異二聚體）可在細胞中有效表現、純化，並且本文揭示的多肽鏈的型式可使結合劑（同二聚體或異二聚體）的產量達至公克/公升的範圍（數據未顯示）。

實例 3-包含一或多個抗 D2 抗原結合域的結合劑之活體外及活體內測試

細胞系

【0931】 OCI-AML3 細胞係人類起源的急性骨髓性白血病細胞，在 PBMC 依賴性細胞毒性分析中用作目標細胞。THP-1 係一種單核細胞系，衍生自急性單核球白血病患者。THP-1 細胞被用作 PBMC 依賴性細胞毒性分析中之目標細胞。

【0932】 NCI-H82、NCI-H69 及 NCI-H510A 係人類小細胞肺癌（SCLC）細胞系，用於免疫缺乏小鼠的 SCLC 異種移植腫瘤模型。NCI-H82、NCI-H69 及 NCI-H510A 過表現多巴胺受體 D2，且在本文中尤其用作 D2 靶向研究的模型。

【0933】 NCI-H727 細胞係人類非小細胞肺癌（NSCLC）細胞，用於免疫缺乏小鼠模型的 NSCLC 異種移植腫瘤模型。D2 已顯示出在 NCI-H727 細胞中係上調的。

【0934】 PANC1 係一種人類胰臟細胞系，用於免疫缺乏小鼠模型中之異種移植腫瘤模型。

蛋白脂質體的產生

【0935】 為了確定抗 D2 結合劑之結合特異性，用 CellFree Science 的 ProteoLiposome BD 套組（CellFree Science，目錄號 CFS-CPLE-BD）按照補充方案產生呈現人類 D2 的蛋白脂質體。

【0936】 簡而言之，轉錄反應藉由以下方式建立：將所需體積的無核酸水、5×轉錄緩衝液、NTP 混合物、核糖核酸酶抑制劑、SP6 RNA 聚合酶及質體 DNA 混合在 1.5 mL 管中，在 37℃下培育六小時。為了建立轉譯反應，按照指示製備 mRNA 混合物、飼養緩衝液、WEPRO7240、肌酸激酶及大豆磷脂（asolectin）脂

質體的混合物。轉譯反應藉由以下方式建立：將轉譯反應混合物加入 slide-A-Lyzer 微型透析裝置（Thermo Scientific，目錄號 69570）中，在 15℃下培育 72 小時。

【0937】 蛋白脂質體藉由用 PBS 洗滌，並在 15000 rpm，4℃下離心 10 分鐘來純化。重複洗滌步驟 3 次後，將收穫的蛋白脂質體重懸於適量的 PBS 中，且在-80℃下儲存。

【0938】 藉由 ELISA 評估抗 D2 結合劑（例如表 6）與呈現人類 D2 的蛋白脂質體（**圖 1**、**圖 25**、**圖 26**）的結合。簡而言之，將含有目標蛋白的蛋白脂質體或空脂質體塗佈在 96 孔盤上。將盤蓋上，且在 4℃下放置隔夜。第二天，盤用 PBS 洗滌一次，且用阻斷緩衝液在室溫下阻斷 1 小時。結合劑以指定的濃度測試，在阻斷緩衝液中稀釋，且在 37℃下培育 1 小時。培育後，盤用洗滌緩衝液洗滌三次。盤用以 1:5000 稀釋的抗人類 Fc-HRP（Sigma-Aldrich，目錄號 AP113P）在室溫下培育 1 小時，接著用 PBS-T 洗滌緩衝液洗滌三次。用 SuperSignal™ ELISA Pico 化學發光受質（Thermofisher，目錄號 37069）顯影。在 SpectraMax™ i3x 多模式微盤讀取器（Molecular Devices）上讀取盤。

【0939】 **圖 1** 呈現出此種實驗的代表性結果，其表明所測試的抗 D2 結合劑與 D2 蛋白脂質體特異性結合（EC50 為 0.1488 nM），並且具有非常高的親和力。

GPCR BRET 分析

【0940】 評估了各種抗 D2 結合劑對 D2 下游信號傳導的影響（**圖 2**）。轉染前，將 HEK293 細胞維持在補充有 1%青黴素/鏈黴素及 10%胎牛血清的杜爾貝寇改良伊戈爾培養基（Dulbecco's Modified Eagle Medium，DMEM）中。所有的轉染均使用了聚乙烯亞胺（PEI）轉染試劑。HEK293 細胞與 hDR2 及一個生物感測器進行共轉染。轉染的 DNA 總量保持不變，每毫升待轉染的細胞培養物為

1 μg。PEI 與 DNA 之比（μg:μg）被固定為 3:1。首先將 DNA 及 PEI 分別在 150 mM NaCl 中稀釋。每個試管中之稀釋劑體積對應於待轉染的細胞培養體積的 5%。一旦 DNA 及 PEI 被稀釋，將含有 PEI 的溶液加入至 DNA 溶液中，並立即將 DNA/PEI 混合物渦旋 5 秒。DNA/PEI 混合物在室溫下培育至少 20 分鐘，以使 DNA/PEI 複合物形成。在培育過程中，HEK293 細胞被分離、計數並重新懸浮在培養基中。培育期結束時，將 DNA/PEI 混合物加入細胞中。最後將細胞以 35000 的密度分佈在 96 孔盤中。

【0941】 在轉染後 48 小時，進行 BRET 實驗，在促效劑測試模式下偵測 D2 的下游信號傳導。自 96 孔盤中吸出培養基，並用 50 μl 漢克平衡鹽溶液（Hank's Balanced Salt Solution）緩衝液替換。在 HEK239 細胞中進行分析時，每孔加入 10 μl 的 10 μM e-Coelenterazine Prolume Purple，最終濃度為 1 μM。使用 HP D300 數位分配器將多巴胺加入每個孔中作為陽性對照。每個生物感測器以 16 個濃度分析多巴胺。將抗體手動添加至每個孔中（每孔最終濃度為 1 μM）。用每個生物感測器以 8 個濃度一式兩份地分析抗 D2 結合劑。細胞與多巴胺在室溫下培育 10 分鐘，且抗體在室溫下培育 60 分鐘。在 Synergy NEO 盤讀取器上以 0.4 秒的積分時間收集 BRET 信號。

【0942】 在轉染了各種 G 蛋白感測器的 GPCR BRET 分析中，各種抗 D2 結合劑之 EC50 呈現於**圖 2** 中。將多巴胺用作陽性對照以顯示 GPCR 與包括 Gαz、Gαi2、GαoA 及 Barr2 在內的 G 蛋白的反應。出乎意料的是，包括 KC011、KC012、KC013 及 KC014 在內的所有抗 D2 結合劑均經由 Gαz 顯示出特異性的 GPCR 信號傳導。結果表明，抗 D2 結合劑與 D2 上的獨特抗原決定基結合，並啟動高度特異的信號傳導路徑。

RNAseq 及 qRT-PCR 驗證

【0943】 經由使用次世代定序技術評估處理後的全球轉錄圖譜，在活體外

在 NCI-H69 細胞中研究了 KC013 的作用機制。對懸浮 NCI-H69 細胞進行收集，並以 5×10^6 個細胞/毫升的濃度重新懸浮。將每 2 mL 完全培養基中之 1000 萬個細胞轉移至 6 孔盤的孔中。將 KC013 及陰性對照 KC018（其中 VHH 部分經 SEQ ID NO:114 中所述之抗 4HEM VHH 置換）以 1.0 μM 的最終濃度加入至適當的孔中。將細胞放回 37℃，5% CO2 的培育箱中，且處理 3 小時。培育期結束後，用 QiaShredder 管柱將細胞勻漿化，且按照製造商的方案，使用 RNeasy RNA 分離套組自被破壞的細胞裂解液中分離出總 RNA。總共 500 ng 的總 RNA 被快速冷凍並轉移至 Genome Quebec 進行分析。

【0944】使用 Agilent 生物分析儀評估 RNA 的完整性。使用 NEB mRNA 標準 NEBNext Ultra II 套組（NEB，目錄號 E7645S）製備庫，結合 mRNA 富集步驟及 Illumina 庫 QC 評估。樣品在 NovaSeq 6000 PE100 儀器（Illumina）上定序，每個樣品 2500 萬個讀段。讀段被映射至 ENSEMBL GRCh38（智人）86 版人類參考基因體序列及註釋中。此產生了 58,051 個基因的計數數據。在至少 3 個樣品中不超過 1 個計數/百萬（CPM）的基因（亦即最小的群體規模）被過濾掉，剩下 14,983 個基因用於下游分析。

【0945】使用在 KC013 處理相對於 KC018 陰性對照之間 0.05 的最大錯誤發現率（FDR），構築基因清單。使用 Enrichr（Icahn School of Medicine, Mount Sinai; http://amp.pharm.mssm.edu/Enrichr/）進行富集度分析。使用 PANTHER 資料庫（University of Southern California；http://pantherdb.org）使用費雪精準檢定（Fischer's exact test）及 FDR 多重檢定校正，且重點分析基因本體（Gene Ontology，GO）生物路徑及蛋白質類別，從而進行過度代表分析。使用的基因清單由以下組成：191 個上調基因及 634 個下調基因，合計為 825 個明顯改變的基因（FDR<0.05）（**圖 3**）。路徑分析使用 Ingenuity 路徑分析（IPA，Qiagen）進行（**圖 4A 及 B**）。使用 Log2 變換之轉錄本讀段計數（FDR<0.05，825 個基因）構築熱

圖，進行全連接叢聚及皮爾遜距離量測（Pearson distance measurement）。

【0946】RNA-Seq 資料的路徑分析顯示，相對於陰性對照（KC018）處理的細胞，包括 NCI-H69 及 NCI-H82 SCLC，幾個癌症相關的路徑下調，包括 CREB、Wnt 及 mTOR 信號傳導路徑，並經由多個信號傳導路徑活化 p53。

【0947】使用三種不同的細胞系，包括 NCI-H69（**圖 5A**）、NCI-H82（**圖 5B**）及 HEK-D2（**圖 5C**），藉由定量逆轉錄酶-PCR（qRT-PCR）驗證 RNA-Seq 資料的路徑分析。簡而言之，懸浮細胞在 T175 燒瓶中的完全培養基中生長。細胞以每孔 5×10^6 個細胞/毫升接種在三個 6 孔盤中，且用 1.0 μM 的 KC013 或 1.0 μM 的 KC018 一式三份地處理 3 小時及 6 小時。在規定的培育期後，在每個時間點將複製體刮下，並轉移至 15 mL 法爾康管（falcon tube）中。細胞用 1× PBS 洗滌兩次，且細胞集結粒在液氮中急速冷凍，且儲存在-80℃以備下游分析。根據製造商的說明書，使用 Quick-RNA Miniprep Plus 套組（Cedarlane，目錄號 R1057）提取總 RNA。藉由使用 NanoPhotometer 在 260 及 280 nm 下量測吸光度，對每個樣品回收的 RNA 量進行量化。根據製造商的說明書，用 iScript™逆轉錄超混物（Reverse Transcription Supermix）使用 1 μg RNA 進行逆轉錄。接著用含有 40 ng/mL 糖原的 ddH2O 將得到的 cDNA 進行 1:20 的稀釋。

【0948】使用相對標準曲線法，在 iQTM5 即時 PCR 系統中使用 SsoAdvanced Universal IT SYBR Green 進行基因表現分析。最終反應體積為 96 孔盤的每孔 10 μl，含有 1× SYBR green 混合物、200 nM 最終引子濃度、2 μl cDNA 及 ddH2O。目標基因的 qRT-PCR 的原始資料被收集為螢光信號跨越背景水準（亦即臨限值）所需的循環數。此等值被稱為週期臨限值或 Ct 值。為了確定用 KC013 與 KC018 處理後目標基因的相對基因表現量，採用了多個內部對照基因的幾何平均值方法，接著採用下面描述的 ΔΔCt 計算方法。Vandesompele J.等人.《基因體生物學（Genome Biology）》 2002 及 Hellemans 等人.《基因體生物學》, 2007

詳細描述了此方法。最終資料以基因表現的倍數變化表示，相對於選定的常見內源性參考基因且相對於對照結合劑歸一化。資料呈現為在 3 個技術重複中進行的 3 次生物重複的平均值。結果係在一式三份地進行至少 3 次的分析中的代表性資料。

【0949】 NCI-H69 細胞在用 KC013 處理後的基因表現的變化藉由熱圖繪示（**圖 3**），顏色及強度變化代表個別基因表現的變化。此實驗結果表明，用 KC013 處理後，觀察到計數總共 825 個明顯改變的基因（FDR<0.05），其中 634 個基因被下調。

【0950】 **圖 4** 表示自 RNAseq 結果的 PANTHER 分析中得出的下調信號傳導路徑及蛋白質類別。下調最多的信號傳導路徑包括 Wnt 路徑、促性腺釋放激素（GnRH）路徑及鈣黏蛋白信號傳導路徑（**圖 4A**）。藉由 PANTHER 分析，下調最多的蛋白質類別係基因特異性轉錄調節因子（**圖 4B**）。Wnt 路徑及鈣黏蛋白信號傳導路徑被認為在腫瘤細胞的生存、增殖、腫瘤形成及惡化中起著重要作用。異常的 Wnt 信號傳導路徑已被證明在許多癌細胞的啟動中藉由調節癌症幹細胞（CSC）發揮了關鍵作用。此等路徑及轉錄調節因子的下調表明 KC013 之抗腫瘤機制。

【0951】 與 RNAseq 圖譜一致，在 NCI-H69 細胞（**圖 5A**）、NCI-H82 細胞（**圖 5B**）及 HEK-D2 細胞（**圖 5C**）中，Wnt 路徑、mTOR 路徑及 cAMP 路徑的特定信號傳導組分在用 KC013 處理後顯示出下調。

CB-17 Fox Chase SCID 小鼠中之單劑量 PK

【0952】 CB-17 Fox Chase SCID 小鼠（6-8 週大，雌性），購自 University Health Network（UHN, Toronto, ON），用於 PK 研究。小鼠被安置在 UHN 的動物設施的無病原體環境中。動物工作係根據加拿大動物護理委員會（Canadian Council on Animal Care，CCAC）的指導準則及 UHN 的動物護理委員會（Animal

Care Committee）批准的動物使用方案（Animal Use Protocol）進行的。簡而言之，小鼠被分為 2 個實驗組（6 隻/組），且每組小鼠藉由靜脈注射（**圖 6A**）或腹腔內注射（**圖 6B**）接受 30 mg/kg 單劑量的曲妥珠單抗（Trastuzumab）（UHN 藥店）或 KC013。在每項研究中，在注射後 0.083 小時（僅用於 PK 靜脈內研究）、1 小時（僅用於 PK 腹腔內研究）、3 小時、6 小時、1 天、3 天、7 天、10 天、15 天、21 天及 28 天採集血液樣品。將血液樣品離心，收集血清樣品且將其儲存在-80℃下，直至其被分析。如下所述，藉由定量的酶聯免疫吸附分析法（ELISA）量測小鼠血清中曲妥珠單抗及 KC013 的濃度。藥物動力學資料分析採用 Phoenix WinNonlin 軟體（Certara）利用非房室法進行。

【0953】 小鼠血清中之抗體藉由定量 ELISA 法進行量化（**圖 6**）。簡而言之，使用小鼠抗人類 IgG 抗體（Bio-rad，目錄號 MCA878G，使用 1/200 稀釋度）在 4℃下塗佈 96 孔盤隔夜。第二天，將盤洗滌三次，且用 2%的 BSA 在室溫下阻斷 1 小時。同時，將標準品（STD，Bio-rad，目錄號 MCA6092）、品質控制品（QC）及每個血清樣品均在含有 1%小鼠血清的洗滌緩衝液中稀釋。在 96 孔盤中加入 100 µl STD、QC 及稀釋的血清樣品，並在室溫下培育 2 小時。洗滌三次後，盤用二級抗體（山羊抗人類 Fc 抗體，1/5000 稀釋度，Cedarlane，目錄號 109-035-098）在室溫下培育 1 小時。在每孔加入 100 µl 偵測受質之前，將盤洗滌三次。當最高 STD 讀數在 650 nm 波長下達至 0.9-1.1 時，向每孔加入 50 µl 停止液以停止反應。在 450 nm 波長下讀取盤以量測抗體。

【0954】 此等實驗的結果表明，KC013 的 IV 注射（**圖 6A**）顯示 T1/2 為 214 小時，而 IP 注射（**圖 6B**）顯示 T1/2 為 159 小時。針對 KC013 獲得的 Cmax 與全尺寸人類抗體曲妥珠單抗相似。此數據表明，抗 D2 結合劑在 SCID 小鼠中的半衰期很長。

CB-17 Fox Chase SCID 小鼠中之腫瘤預防模型

[0955] CB-17 Fox Chase SCID 小鼠（6-8 週大，雌性）購自查爾斯河實驗室（Charles River Laboratories）（St. Constant, QC）或 UHN（Toronto, ON）。動物飼養及動物工作的準則與上述相同。

[0956] 抗 D2 結合劑之功效係在各種腫瘤預防模型中評估的，亦即 NCI-H510A（圖 7C，圖 8）、NCI-H727（圖 7A，圖 8）、PANC1（圖 8）及 NCI-H69（圖 7B，圖 8）。對於每個模型，將含腫瘤細胞（NCI-H510A 為 800 萬個細胞/小鼠，NCI-H727 為 600 萬個/小鼠，PANC1 為 500 萬個/小鼠，或 NCI-H69 為 300 萬個/小鼠）的 DPBS 皮下注射（s.c.）至小鼠的右腹中。細胞接種後一天，將接種各細胞系的小鼠隨機分為 2 個實驗組（10 隻或 5 隻/組），且每組小鼠接受 16 mg/kg ip. KC018（陰性對照）或 KC013，每週兩次，共八週。用游標卡尺量測腫瘤體積，且每週對小鼠進行一次或兩次稱重。腫瘤體積用下式計算：½(長×寬^2)。為了計算腫瘤生長抑制百分比（TGI），將 KC013 處理組與其各自的陰性對照進行比較。TGI 按下式計算：$TGI(\%) = 100 \times \left[1 - \frac{\text{治療組在}(\text{終點日期})\text{的平均體積} - \text{治療組在}(\text{分期日期})\text{的平均體積}}{\text{對照組在}(\text{終點日期})\text{的平均體積} - \text{對照組在}(\text{分期日期})\text{的平均體積}}\right]$

[0957] TV 第 z 天代表個別動物在確定的研究日（第 z 天）的腫瘤體積，而 TV 第 x 天代表個別動物在分期日（第 x 天）的腫瘤體積。

[0958] 統計學檢定係藉由司徒頓 t 檢定（student t-test）（雙尾）進行的。

[0959] 如圖 7 所示，與對照組相比，KC013 在 NCI-H727 腫瘤預防模型中顯示 49%的腫瘤生長抑制率（圖 7A），在 NCI-H69 腫瘤預防模型中顯示 46%的腫瘤生長抑制率（圖 7B），以及在 NCI-H510A 腫瘤預防模型中顯示 77%的腫瘤生長抑制率（圖 7C）。

[0960] 如圖 8 所示，KC013、KC012 及 KC014 在所有的腫瘤預防 SCLC 腫瘤模型中表現出普遍的腫瘤生長抑制作用，其中 KC013 比其他抗 D2 結合劑獲得最好的活體內功效。由於所有此等抗 D2 結合劑在 BRET 分析中致動了獨特

的 Gαz 信號，在 SCLC 腫瘤模型中取得的活體內功效可能與腫瘤細胞中之特定 Gαz 信號有關。活體內功效亦可以用下調的信號傳導路徑來解釋，此等信號傳導路徑對腫瘤的惡化很重要。

實例 4-包含一或多個抗 PD1 及抗 CD47 抗原結合域的結合劑之活體外及活體內測試

ELISA 結合分析

【0961】 包含抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域的結合劑與重組人類或食蟹獼猴 PD-1（Cedarlane，目錄號 HPLC-10377-H08H-100）或重組人類或食蟹獼猴 CD47（Cedarlane，目錄號 12283-H08H-200 及 90869-C08H）的結合藉由 ELISA 評估（**圖 9A**，**圖 9B**，**圖 9C**，**圖 9D**，**圖 22**，**圖 23**）。帕博利珠單抗被用作 PD1 結合分析的陽性對照。單株抗 CD47 抗體（純系 B6H12）被用作 CD47 結合分析的陽性對照（Biolegend，目錄號 401401）。

【0962】 簡而言之，將重組蛋白塗佈在 96 孔盤上。將盤蓋上，且在 4℃下放置隔夜。第二天，盤用 PBS 洗滌一次，且用阻斷緩衝液在室溫下阻斷 1 小時。結合劑以指定的濃度測試，在阻斷緩衝液中稀釋，且在 37℃下培育 1 小時。培育後，盤用洗滌緩衝液洗滌三次。盤用以 1:5000 稀釋的抗人類 Fc-HRP（Sigma-Aldrich，目錄號 AP113P）在室溫下培育 1 小時，接著用 PBS-T 洗滌緩衝液洗滌三次。用 SuperSignal™ ELISA Pico 化學發光受質（Thermofisher，目錄號 37069）顯影。在 SpectraMax™ i3x 多模式微盤讀取器（Molecular Devices）上讀取盤。

【0963】 如**圖 9A** 所示，抗 PD1 結合劑 KC009 有效地與人類、食蟹獼猴及大鼠重組 PD1 蛋白結合。KC009 的跨物種結合活性意味著用食蟹獼猴及大鼠作為 KC009 的毒性模型的可行性。

【0964】 KC036 與帕博利珠單抗的結合進行了比較。KC036 及帕博利珠單抗均被稀釋為 1/5，自 500 nM 開始。如**圖 9B** 所示，藉由 ELISA，KC036 與帕博

利珠單抗的結合類似。陰性對照 KC036 沒有與 PD-1 重組蛋白結合。

【0965】 KC015 與抗 CD47 抗體 B6H12（ThermoFisher，目錄號 14-0479-82）的結合進行了比較。KC015 及 B6H12 抗體均被稀釋為 1/5，自 50 nM 開始。如**圖 9C** 所示，藉由 ELISA，KC015 顯示出比純系 B6H12 更高的結合親和力。陰性對照 KC016 沒有與 CD47 重組蛋白結合。

【0966】 如**圖 9C 及 9D** 所示，抗 CD47 結合劑有效地與人類及食蟹獼猴的 CD47 重組蛋白結合，而陰性對照則對此兩種 CD47 重組蛋白均沒有結合。

藉由流動式細胞測量術測定結合劑之血球結合

【0967】 為了評估 KC015 對各種血球亞型的結合活性，自兩個健康供體收集新鮮血液至 Becton Dicinson Vacutainer。對於白血球的製備，在每 1 mL 新鮮血液中加入 10 mL 的 1×紅血球裂解緩衝液（eBiosceince，00-4300-54），且在室溫下培育 15 分鐘。接著將細胞懸浮液在室溫下以 300 g 離心 5 分鐘，接著用 PBMC 培養基（(RPMI+10%熱不活化 FBS）再洗滌一次。在用結合劑進行染色之前，對白血球數目進行計數。

【0968】 對於紅血球（RBC）的製備及染色，將新鮮血液轉移至 15 mL 錐形底聚丙烯試管中，並與 PBS 洗滌緩衝液（PBS+2%熱不活化 FBS）混合。試管在室溫下以 800 g 離心 10 分鐘，關閉制動器。自試管底部收集紅血球，重新懸浮在 PBS 洗滌緩衝液（PBS+2%熱不活化 FBS）中，並在用結合劑染色前計算細胞數目。

【0969】 對於血小板細胞的製備，將新鮮血液轉移至 15 mL 錐形底聚丙烯試管中，並與 PBS 洗滌緩衝液（PBS+2%熱不活化 FBS）混合。試管在室溫下以 800 g 離心 10 分鐘，關閉制動器。自試管的頂部收集富含血小板的血漿（血漿體積的 2/3）。將富含血小板的血漿轉移至 9 mL 的 PBS 洗滌緩衝液中，且在室溫下以 1250 g 離心 15 分鐘，並關閉制動器。在用結合劑進行染色之前，對血小板細

胞數目進行計數。

【0970】 將 Fc 受體阻斷抗體以 1/100 的稀釋度加入細胞懸浮液中，並在冰上培育 10 分鐘。將一級結合劑以一系列的抗體濃度加入細胞懸浮液中，且在冰上培育 30 分鐘。用 PBS 洗滌緩衝液洗滌細胞一次，隨後用二級偵測抗體染色。T 細胞亦用 CD3 標記物抗體（Biolegend，557705）進行染色。單核球用 CD14 抗體（Biolegend，301814）染色。顆粒球群係根據 FSC 及 SSC 來圈選的。紅血球用 CD235ab 抗體（Biolegend，306620）染色。血小板用 CD41 抗體（Biolegend，303704）染色。所有細胞均用 7-AAD（BD，559925）染色，稀釋度為 1/100，隨後用細胞計數器 FACSCantoII 分析。

【0971】 如**圖 9E** 所示，KC015 與人類 T 細胞有效結合，但與 RBC 及血小板的結合效率較低。

FACS 結合分析細胞

【0972】 藉由流動式細胞測量術評估結合劑與細胞的結合。為了確定包含抗 PD-1 抗原結合域的結合劑之結合特異性，在結合分析中使用了 CHO 親代及 CHO-PD-1 細胞系(**圖 10**)。簡而言之，將 1×10^5 個細胞與 Fc 受體阻斷抗體(1/100 稀釋度，Cedarlane，目錄號 422302）在室溫下培育 10 分鐘。包含抗 PD-1 抗原結合域的結合劑在 FACS 染色緩衝液中稀釋至 20 μg/mL，且加入細胞中並與細胞一起在冰上培育 30 分鐘。PD-1 抗體（純系 EH12.2H7，Biolegend）被用作陽性對照。用 FACS 染色緩衝液洗滌三次後，將識別人類 Fc 區之 APC 結合的二級抗體（(Cedarlane，目錄號 409306）與細胞混合。染色 30 分鐘後，將細胞洗滌三次，接著重新懸浮至 100 μl 7-胺基-放線菌素 D（7-AAD）溶液（1/500 稀釋度，BD Bioscience，目錄號 559925）中。利用 BD FACSCanto™ II 流式細胞儀（BD Bioscience）分析細胞。經由對單細胞及活細胞的圈選，用 FlowJo 分析數據。

【0973】 如**圖 10** 所示，KC036 僅與 CHO-PD1 細胞結合，而不與非表現 PD1

之細胞（CHO 親代細胞）結合，證明了抗 PD-1 模組 KC009 之高特異性。

PBMC 介導之細胞毒性分析

【0974】 PBMC 介導之細胞毒性係藉由流動式細胞測量術來評估的。簡而言之，腫瘤細胞（THP-1 或 OCI-AML3）在 37℃下用 CellTrace violet 染色 10 分鐘。將細胞洗滌並與人類 PBMC（Cedarlane，目錄號 70025.1）按 5:1 的比率混合。加入抗 CD3 抗體或 CD33 雙特異性 T 細胞接合劑（BiTE，G&P Bioscience，目錄號 FLC2032）以活化 T 細胞。在相應的孔中加入指定濃度的結合劑，以確定抗 PD-1 模組對細胞毒性的影響。培育 48 或 72 小時後，洗滌細胞三次，接著用 100 µl 7-AAD 溶液（1/100 稀釋度，BD Bioscience，目錄號 559925）重新懸浮。利用 BD FACSCanto™ II 流式細胞儀（BD Bioscience）分析細胞。藉由僅對單細胞及活細胞進行圈選，用 FlowJo 分析數據。

【0975】 如**圖 11** 所示，KC036（SEQ ID NO:94）藉由增加 T 細胞依賴性細胞毒性顯示出檢查點抑制（CPI）活性，達至與陽性對照帕博利珠單抗及納武單抗相似的水準。

PD-1/PD-L1 阻斷生物分析

【0976】 在發光 NFAT-RE 報導系統中，使用 PD-1/PD-L1 阻斷分析（Promega，目錄號 J1255）評估包含抗 PD-1 抗原結合域的結合劑之阻斷活性，並與陽性對照進行比較。將 PD-L1 aAPC/CHO-K1（目標）細胞解凍並以推薦的密度接種至 96 孔盤中，並使其在盤上黏附隔夜。第二天，將結合劑在分析緩衝液（含 10%低 IgG FBS 的 Ham's F12 培養基）中稀釋至 350 nM，並進行八次 2.5 倍的連續稀釋。傾倒 96 孔盤之培養基，且將 40 µl 稀釋的結合劑及 40 µl Jurkat（效應）細胞加入盤中。盤在 37℃下培育 6 小時。將 Bio-Glo 螢光素酶分析緩衝液及受質合併，並將 80 µl 溶液轉移至每個孔中。將盤在室溫下培育 5 分鐘，且使用盤讀取器量測發光。

【0977】 此等實驗結果表明，KC036 達至了與帕博利珠單抗相似的活體外 CPI 活性，表明結合劑可以藉由恢復「衰竭」T 細胞之 T 細胞功能來誘導抗腫瘤活性（**圖 12**）。

【0978】 KC036 的抗 PD1 抗原結合域被表 4 中所列的其他抗 PD-1 抗原結合域所取代，其方式與本文所述相似。

實例 5-包含一或多個抗 CD47 抗原結合域的結合劑之活體外及活體內測試

【0979】 對包含抗 D2 及抗 CD47 抗原結合域（KC040）或抗 D2、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域（SEQ ID NO:70）的結合劑對 HEK293T 或 HEK293T-CD47KO 細胞（CD47 剔除）（**圖 13**）或在初級人類 T 細胞（PBMC，StemCell）（**圖 14**）中之結合進行測試。

【0980】 如**圖 13** 所示，包含抗 CD47 模組的結合劑與親代 HEK293T 細胞結合，而不與 CD47 剔除細胞（HEK293T-CD47KO）結合。

【0981】 如**圖 14** 所示，包含抗 CD47 模組的結合劑與初級人類 T 細胞結合。

T 細胞活化分析

【0982】 在有（**圖 16**）或沒有刀豆球蛋白 A（ConA，Cedarlane，14951-250）（**圖 15A**）之情況下，進行包含抗 CD47 模組的結合劑誘導多株 T 細胞活化的能力。簡而言之，在有或沒有 10 μg/mL ConA 之情況下，將 PBMC 與指定濃度的結合劑培育 24 小時。將盤離心，且將細胞與 Fc 受體阻斷抗體（Biolegend，1/200 稀釋度）在冰上培育 10 分鐘。再次將盤離心，且細胞用 APC 綴合的抗 CD3（Cedarlane，目錄號 300312）及 FITC 綴合的抗 CD69 抗體（Biolegend，目錄號 310904，1/500 稀釋）在冰上染色 30 分鐘。將細胞洗滌三次，接著在 100 μl 7-AAD 溶液（BD Bioscience，1/100 稀釋）中重新懸浮。利用 BD FACSCanto™ II 流式細胞儀（BD Bioscience）分析細胞。藉由僅對單細胞及活細胞進行圈選，用

FlowJo 分析數據。

PBMC 介導之細胞毒性分析

【0983】 藉由流動式細胞測量術評估 PBMC 介導之細胞毒性（**圖 15B**）。簡而言之，腫瘤細胞（THP-1 或 OCI-AML3）在 37℃下用 CellTrace violet 染色 10 分鐘。將細胞洗滌並與 PBMC 按 5:1 的比率混合。加入抗 CD3 抗體或 CD33 雙特異性 T 細胞接合劑（BiTE，G&P Bioscience，目錄號 FLC2032）以活化 T 細胞。在相應的孔中加入指定濃度的結合劑，以確定 CD47 對細胞毒性的影響。培育 48 或 72 小時後，洗滌細胞三次，接著用 100 µl 7-AAD 溶液（1/100 稀釋度，BD Bioscience，目錄號 559925）重新懸浮。利用 BD FACSCanto™ II 流式細胞儀（BD Bioscience）分析細胞。藉由僅對單細胞及活細胞進行圈選，用 FlowJo 分析數據。

【0984】 如**圖 15** 所示，包含抗 CD47 模組的結合劑沒有活化 T 細胞（**圖 15A**），亦沒有介導針對 THP-1 腫瘤細胞的 T 細胞依賴性細胞毒性（**圖 15B**）。雖然結合劑顯示與 HEK293T 及初級 T 細胞結合，但其在活體外沒有活化 T 細胞，此可能導致在不活化 T 細胞之情況下，免疫細胞重定向的安全性更好。

【0985】 如**圖 16** 所示，刀豆球蛋白 A 介導之 T 細胞活化不受包含抗 CD47 模組的結合劑之影響。刀豆球蛋白 A 係一種超級抗原，經由 TCR-MHC 複合物導致 T 細胞的活化。此等結果表明，抗 CD47 模組並不干擾經由 TCR-MHC 複合物誘導的 T 細胞活化。

CD47/SIRPα 阻斷生物分析

【0986】 使用發光報導系統中之 CD47/SIRPα 阻斷分析評估包含抗 CD47 抗原結合域的結合劑之阻斷活性，並與作為陽性對照的 B6H12 抗體（Promega，目錄號 CS316013）進行比較。將 CD47 CHO-K1 目標細胞解凍並重新懸浮在含有 10% FBS 的 Ham's F12 培養基中。細胞懸浮液以 96 孔盤每孔 100 µL 的 CD47

CHO-K1 細胞分配，並在 37℃、5% CO_2 下培育隔夜。第二天，在分析緩衝液（含 2% FBS 的 RMPI-1640 培養基）中製備測試分子的 1.5 倍連續稀釋液。去除細胞培養基，且將 50 μL 連續稀釋的抗體加入相應的孔中。將 SIRPα 效應細胞解凍並重新懸浮於分析緩衝液中。細胞懸浮液以每孔 75 μL 的 SIRPα 細胞懸浮液分配。在 37℃、5% CO_2 下，將盤培育四小時。在 4 小時培育結束時，每孔加入 75 μL 的 Bio-Glo-NL 螢光素酶分析試劑，且 5-10 分鐘後使用 Spectra Max ix3 盤讀取器量測發光。

【0987】 如**圖 17** 所示，KC015（SEQ ID NO:75）藉由阻斷 CD47 與 SIRPα 之間的相互作用表現出檢查點抑制（CPI）活性。陰性對照（KC016：SEQ ID NO:76）沒有顯示任何 CPI 活性。

實例 6-包含抗 DR2、PD-1 及 CD47 抗原結合域的結合劑之活體外及活體內測試

在 NCG 小鼠中建立腫瘤模型

【0988】 為了確定多價及多特異性結合劑之抗腫瘤功效，研究中使用了人類化 NCG 小鼠的既定腫瘤模型（**圖 18**，**圖 22**）。簡而言之，NCG 小鼠（5-6 週大，雌性）購自查爾斯河實驗室（St. Constant, QC）。將 DPBS 中之腫瘤細胞（NCI-H82 為 800 萬個細胞/小鼠）皮下（s.c.）注射至小鼠的右腹。一旦腫瘤生長至 100 mm^3，小鼠被隨機分為實驗組（10 或 9 隻小鼠/組）。靜脈內（i.v.）注射人類 PBMC（1000 萬個細胞）。第二天，每組小鼠藉由腹膜內（i.p.）接受結合劑（28mg/kg）處理，每週兩次，共八個劑量。用游標卡尺量測腫瘤體積，且每週對小鼠進行兩次稱重。腫瘤體積及腫瘤生長抑制的計算方法與上述相同（方法部分中之「CB-17 Fox Chase SCID 小鼠中之腫瘤預防腫瘤模型」）。統計學檢定係藉由司徒頓 t 檢定（雙尾）進行的。

【0989】 如**圖 18** 所示，包含抗 D2、抗 PD-1 及抗 CD47 抗原結合域的結合

劑顯示 TGI 為 52%。該結果意味著三特異性結合劑可以在活體內抑制腫瘤生長。本文揭示的包含抗 CD47 抗原結合域的結合劑有望提供比其他活化性抗體更好的免疫細胞重定導的安全性。

活體外 T 細胞募集分析

【0990】 為了測試靶向腫瘤抗原（D2）及 T 細胞的結合劑是否能募集 T 細胞並為 T 細胞與腫瘤細胞搭橋，在結合劑存在之情況下，將 T 細胞與 NCI-H69 細胞集群共同培養。

【0991】 簡而言之，對含有抗 D2 模組、抗 PD1 模組及/或抗 CD47 模組的各種結合劑，以及此種模組組合的變化，量化了 T 細胞募集至 NCI-H69 SCLC 細胞集群中之水準（**圖 19**）。懸浮的 NCI-H69 細胞被收集並轉移至 12 孔盤中，並返回至 37℃、5% CO_2 培育箱中 72 小時，以便生長更大的細胞集群。72 小時後，向 NCI-H69 細胞中加入 5.0×10^5 個 PBMC 及結合劑（最終濃度為 25 μg/mL）。將盤放回 37℃、5% CO_2 的培育箱中 24 小時，以使 T 細胞募集至 NCI-H69 細胞集群中。

【0992】 24 小時後，將每個孔之培養基轉移至微型離心管中，並使用台式微型離心機對每個管進行短暫的離心，進行 5 秒的脈衝旋轉。分離上清液，並將集結粒重新懸浮在 150 μL 流動緩衝液（含 5 mM EDTA 之 PBS）中。使用明視野顯微鏡評估集結粒及上清液級份，以確保有效分離大細胞集群。將微型離心管中重新懸浮的集結粒轉移至 96 孔盤中。將盤在 1200 RPM 下離心，使細胞集結，倒置盤以去除上清液，且每孔每 100 μL 流動緩衝液加入 2 μL Human TruStain FcX Block（BD Bioscience，目錄號 559925），且在冰上培育 10 分鐘。將盤在 1200 RPM 下離心，使細胞集結，且以每孔每 100 μL 流動緩衝液 0.5 μL 加入 APC 綴合之抗人類 CD3（Cedarlane，目錄號 300312）及 FITC 綴合之抗人類 CD69 抗體（Cedarlane，目錄號 310904），包括單獨孔中之適當同型對照。加入螢光標記的

抗體後，蓋上盤並在冰上培育 30 分鐘。培育期結束後，將盤在 1200 RPM 下離心，使細胞集結，且用 150μl 流動緩衝液進行洗滌。將盤在 1200 RPM 下離心，使細胞集結，並重新懸浮在每孔每 100 μL 流動緩衝液含 1.0 μL 7-AAD 的 7-AAD 溶液中。

【0993】 細胞群體藉由流動式細胞測量術進行分析。原始讀數係在 BD FACSCanto II 機器上收集的。共收集了 100,000 個事件用於數據分析。藉由對 7-AAD 陰性細胞（PerCP-Cy5.5）的圈選來評估總活細胞群體。藉由對 CD3 陽性細胞（APC）的圈選來評估總 T 細胞群體，且藉由對 CD3（APC）及 CD69（FITC）雙陽性細胞的圈選來評估活化的 T 細胞群。對 CD3（APC）及 CD69（FITC）平均螢光強度（MFI）進行定量，並在各處理組之間進行比較。本報導中描述的所有樣品均以一式三份進行測試。結果代表平均值+/-標準差。

【0994】 如**圖 19** 所示，發現結合劑在活體外有效地募集 T 細胞進入 NCI-H69 細胞集群。

CB-17 Fox Chase SCID 小鼠中之腫瘤預防腫瘤模型

【0995】 如實例 3 所述，在腫瘤預防模型中測試了包含抗 D2 模組的結合劑。

【0996】 簡而言之，結合劑（KC020；SEQ ID NO:77，KC022；SEQ ID NO:79，KC023；SEQ ID NO:80，KC024；SEQ ID NO:81，KC025；SEQ ID NO:82，KC026；SEQ ID NO:83）在接種 NCI-H82 細胞的腫瘤預防模型中進行了測試，與 NCG 小鼠類似，除了人類 PBMC 及 NCI-H82 細胞以 1:5 之比率共同植入（**圖 20A-B** 及 **圖 24C**）。

【0997】 如**圖 20B** 所示，與其他具有 KC009 及 KC010 的 D2 模組相比，含有 KC001、KC009 及 KC010（SEQ ID NO:77）的結合劑顯示了 74%的最佳功效（**圖 20A&B**）。KC001 功效數據的優越性亦與作為 VHH-鉸鏈-CH2-CH3 的 D2 功

效數據一致（**圖 20**），其中 KC001（KC013；SEQ ID NO:73）在包括 NCI-H69、NCI-H510A 及 NCI-H727 在內的幾個腫瘤模型中顯示出最佳功效。

KC015 在 PBMC 預植入模型中之活體內功效

【0998】使用 PBMC 預植入 NCI-H82 異種移植腫瘤模型，在 NCG 小鼠中評估 KC015 的抗腫瘤活性（**圖 21A**）。KC020 的抗腫瘤活性亦在 PBMC 預植入 NCI-H69、RKO 及 SCLC-21H 異種移植腫瘤模型中進行了研究（**圖 21B**）。簡而言之，NCG 小鼠（5-6 週大，雌性）購自查爾斯河實驗室（St. Constant, QC）。在腫瘤細胞植入前 3 天，將 1000 萬個 PBMC 植入至 NCG 小鼠中。在 PBMC 植入後 10 天開始處理，每週兩次，共 8 個劑量。研究中使用的陰性對照係 PBS。腫瘤體積用下式計算：½(長度×寬度 ^{2})。為了計算腫瘤生長抑制百分比（TGI），將處理組與各自的陰性對照組進行比較。TGI 的計算方法如本文所述。統計學檢定係藉由司徒頓 t 檢定（雙尾）進行的。

【0999】在研究結束時，將動物處死，且收集腫瘤及肝臟進行轉移分析。

【1000】此等實驗的結果顯示，KC015（SEQ ID NO:75）在 PBMC 預植入模型中抑制了 NCI-H82 腫瘤生長。KC020（SEQ ID NO:77）在人類 PBMC 預植入的癌症模型中抑制了 NCI-H69、RKO 及 SCLC-21H 異種移植腫瘤生長。

KC015 在 SCID 小鼠中的既定腫瘤模型中之活體內功效

【1001】在 SCID 小鼠中的既定 MDA-MB-231 腫瘤模型中評估了 KC015 結合劑之抗腫瘤功效（**圖 21C**）。將 PBS 中之腫瘤細胞（500 萬個細胞/小鼠）皮下（s.c.）注射至 SCID 小鼠（5-6 週齡，雌性；查爾斯河實驗室（St. Constant, QC））的右腹。一旦腫瘤長至 100 mm^3，將小鼠隨機分為實驗組（9 隻/組）。第二天，每組小鼠藉由腹膜內（i.p.）接受結合劑（8 mg/kg）處理，每週一次，共八個劑量。用游標卡尺量測腫瘤體積，且每週對小鼠進行兩次稱重。腫瘤體積及腫瘤生長抑制的計算方法與上述相同。統計學檢定係藉由司徒頓 t 檢定（雙尾）進行的。

【1002】 如**圖 21C** 所示，既定 MDA-MB-231 腫瘤模型在用 KC015 處理後沒有生長，表明在此種腫瘤模型中具有強力的抗腫瘤活性。

結合劑之 IgG4 與 IgG1 型式之活體內功效。

【1003】 IgG4 通常用於治療性抗體，以避免 ADCC 效應，ADCC 效應在此種情況下可能導致 T 細胞殺死及細胞因子釋放風暴。為了確定包含 IgG4 CH3 域的結合劑之抗腫瘤功效，如上所述，使用人類化 NCG 小鼠中的既定腫瘤模型。

【1004】 如**圖 22** 所示，結合劑的 IgG4 及 IgG1 型式之間沒有明顯差異（比較 KC021（SEQ ID NO:78）及 KC027：SEQ ID NO:85）。

結合劑在帶瘤小鼠模型中之生物分佈的微型 PET/CT 成像

【1005】 進行了結合劑之放射性標記及其生物分佈的微型 PET/CT 成像(**圖 23**)。首先使用 Amicon® Ultra-4 離心過濾器（MWCO 30 kDa，UFC803008）用 0.1 M 碳酸鈉，pH 9.0 進行緩衝交換，製備結合劑。接著藉由與 14 倍莫耳過量的對異硫氰基苄基去鐵胺（p-NCS-Bz-DFO，Macrocyclics）反應，用去鐵胺（DFO）修飾結合劑。簡而言之，20-40 μL 20 mM（15 μg/μL）的 p-NCS-Bz-DFO 於無水 DMSO 中之溶液與 4-7 mg 結合劑（3-4 mg/mL，在 0.1 M NaHCO3 緩衝液中，pH 9.0）在 37℃下反應 30 分鐘，在 Excella E24 混合器（New Brunswick Scientific）上以 300 rpm 混合。反應物被分成小的等分試樣，以避免抗體的交聯及聚集。反應 30 分鐘後，藉由超濾除去多餘的 p-NCS-Bz-DFO，在 Amicon Ultra-4 離心過濾裝置（Millipore，30 kDa 截止值）上重複 4 次，使用過量的 0.25 M 乙酸鈉緩衝液，pH 5.5，在 5000×g 下離心 5 分鐘。在還原（2-巰基乙醇）及非還原條件下，在 4-20% Tris-HCl 凝膠（Bio-Rad）上藉由十二烷基硫酸鈉聚丙烯醯胺凝膠電泳（SDS-PAGE）評估 DFO 結合劑之純度及均勻性。

【1006】 在 DFO 綴合後，藉由以下方案用 ^{89}Zr 對結合劑進行放射性標記。作為草酸鹽的 ^{89}Zr 購自華盛頓大學（Washington University）（St. Louis, MO），並

與 2 M $NaCO_3$，pH 10.0 培育 3 分鐘，以中和溶液。接著，加入含有 32 mM 龍膽酸（5 mg/mL）及 0.5 M 的 4-(2-羥乙基)-1-哌嗪乙磺酸（HEPES 緩衝液）的 0.25 M 乙酸鈉緩衝液，pH7.0，接著加入包含 D2、PD-1 及 CD47 特異性抗原結合域的結合劑（KC020；SEQ ID NO:77）（1-5.0 mg/ml）。放射性標記在室溫下進行 60-90 分鐘，比活性為 0.28 mCi/mg。放射性化學純度藉由即時薄層矽膠層析法（ITLC-SG）量測，在含 22 mM 檸檬酸之 20 mM Na_2CO_3，pH 5.0 中顯影。

【1007】 放射性標記後，[^{89}Zr]-DFO 結合劑被注射至有 2 種不同類型異種移植的小鼠（NCI-H69 及 NCI-H82）中。小鼠使用異氟醚（Fresenius Kabi Canada Ltd.）麻醉（5%誘導，1.5-2%維持），接著靜脈內注射[^{89}Zr]-DFO 結合劑，且接受 200 μL、2.86 ± 0.2 MBq 及 30 mg/Kg。使用 Mediso nanoScan® SPECT/CT/PET 82S 系統在注射後 24 小時、96 小時及 144 小時對動物進行成像。

【1008】 如**圖 23A** 及**圖 23B** 中所示，發現放射性標記的結合劑在 NCI-H69 及 NCI-H82 異種移植模型的腫瘤中均有積累，表明結合劑係經由腫瘤抗原募集的。

實例 7-在 hCD34+人類化 NCG 小鼠模型中對結合劑進行活體內測試

【1009】 hCD34+人類化 NCG 小鼠購自查爾斯河實驗室。腫瘤植入前一天藉由流動式細胞測量術評估 HSC 植入水準。將小鼠隨機分為 2 組，且將 NCI-H69 細胞皮下（s.c）移植至每個動物的右腹（每隻動物 800 萬個細胞）。一旦腫瘤達至平均 100 mm^3 的體積，陰性對照及測試物品藉由 IP 注射投與，每週兩次。腫瘤體積、腫瘤生長抑制（TGI）百分比及統計分析按實例 3 所述進行。

【1010】 在研究結束時，將動物處死，且收集腫瘤及肝臟進行轉移分析。

【1011】 **圖 24A-B** 所呈現之此等實驗結果顯示，KC020（SEQ ID NO:77）減少了 NCI-H69 細胞在 hCD34+人類化 NCG 小鼠模型中向肝臟的轉移。**圖 24C** 的結果亦顯示了 KC020（SEQ ID NO:77）在 NCI-H82/PBMC 共同植入模型中之

功效。

實例 8-在其他實性瘤中測試結合劑

【1012】為了確定包括 KC013、KC011、KC012 及 KC014 在內的抗 D2 結合劑在 NCI-H510A 及人類小細胞肺癌的 NCI-H727 s.c.預防性異種移植模型中之抗腫瘤功效，雌性 SCID 小鼠購自 Charle River 實驗室，且在 4-6 週大時用於研究。對於 NCI-H510a 細胞，在每隻動物的右腹皮下（s.c）植入細胞，每隻小鼠 800 萬個細胞。對於 NCI-H727 細胞，在每隻動物的右腹皮下（s.c）植入細胞，每隻小鼠 100 萬及 600 萬個細胞。第二天，藉由靜脈內注射投與對照及測試物品，每週一次。腫瘤體積、腫瘤生長抑制（TGI）百分比及統計分析按實例 3 所述進行。

【1013】為了評估抗 D2 結合劑在人類胰臟癌的 PANC1 s.c.預防性異種移植模型中之功效，雌性 SCID 小鼠購自查爾斯河實驗室，且在 4-6 週大時用於研究。在每隻動物的右腹皮下（s.c）植入細胞，每隻 500 萬個。細胞植入後一天開始處理。陰性對照抗體及測試物品藉由腹膜內注射投與，每週一次。腫瘤體積、腫瘤生長抑制（TGI）百分比及統計分析按實例 3 所述進行。

實例 9-穩定性研究

【1014】製備濃度為 20 mg/mL（+/-0.5）的純化結合劑溶液，並分兩批進行分離。一批儲存在-80℃（無壓力條件），另一批提交給各種壓力條件，包括攪拌三天（25℃），凍融五個循環，40℃儲存兩週，或低 pH（3.5）處理 4 小時及 48 小時。如實例 3 及 4 所述，測試兩個批次與含 D2 的蛋白脂質體（**圖 25A** 及**圖 26A**）、與重組 PD-1（Cedarlane，目錄號 10377-H08H-50）（**圖 25B** 及**圖 26B**）或與重組 CD47（Cedarlane，目錄號 12283-H08H-200）（**圖 25C** 及**圖 26C**）的結合。

【1015】**圖 25** 及**圖 26** 中呈現之結果表明，KC020 與其目標的結合不受測

試的壓力條件的影響。

【1016】 此外，在此等條件下，溶液的生物物理特性（溶解性及聚集性）沒有明顯變化。

【1017】 對其他幾種結合劑亦得到了類似的結果（數據未顯示）。

實例 10-在 SCLC 的 NCI-H82 尾靜脈轉移模型中測試結合劑

【1018】 NCG 小鼠（5-6 週大，雌性）購自查爾斯河實驗室（St. Constant, QC）。NCG 小鼠經由尾靜脈注射接種 50,000 個 NCI-H82 細胞。小鼠在藉由腹膜內注射進行腫瘤細胞注射之前 24 小時接受 KC020 處理。KC020 每兩週投與一次，共 8 個劑量。在整個研究的持續期間，監測動物的體重下降及整體健康狀況。總的來說，與媒劑處理的陰性對照組相比，KC020 處理明顯延長了靜脈內移植 NCI-H82 SCLC 的小鼠的生存期（**圖 27**）。

【1019】 在活體內生物發光成像研究中，共 20 隻 NCG 小鼠被隨機分為 4 組，包括 PBS 組、KC020 3 mg/kg 組、KC020 10 mg/kg 組及 KC020 30 mg/kg 組。在第 0 天，所有小鼠接受一次 KC020 或 PBS 的處理。對於 KC020 3 mg/kg 組，小鼠在 KC020 處理前一天接受一次 10 mg/kg 的人類 IgG 處理。將 NCI-H82-螢光素酶細胞經由尾靜脈注射接種至 NCG 小鼠中，每隻小鼠 100,000 個細胞。所有小鼠每週用 PBS 或 KC020 處理兩次，共 8 個劑量。腫瘤細胞接種後三週進行生物發光成像，每週一次。在成像之前，小鼠用 DPBS 中 15 mg/mL 的螢火蟲螢光素酶受質，經由腹膜內注射給予，投與體積為 200 μL。此實驗結果顯示，即使在所有測試劑量下，包括最低劑量 3 mg/kg，KC020 處理均能防止腫瘤的發展。

【1020】 本文呈現的結果尤其表明，本發明的結合劑與其每個目標結合並表現出活體外 CPI 活性，在人類癌症的預防性及既定異種移植模型中顯示出活體內腫瘤抑制功效，在人類癌症的尾靜脈模型中防止轉移發展並延長小鼠生存期。此外，本發明的結合劑在製造細胞系中以非常高的產量生產，並在加速穩定

性測試中表現出良好的穩定性。

【1021】本文描述的實施例及實例係說明性的，且並不意謂限制申請專利範圍的範圍。本發明人打算將上述實施例的變化，包括替代物、修改及等同物，均包含在申請專利範圍中。本申請案中列出的引文以引用的方式併入本文中。

參考文獻

【1022】本申請案通篇提及之所有專利、專利申請案及公開案均以引用的方式併入本文中。

Angal, S. *et al*., A Single Amino Acid Substitution Abolishes the Heterogeneity of Chimeric Mouse/human IgG4 Antibody, Mol Immunol 30, 105-108, 1993

Chen X *et al*., Fusion Protein Linkers: Properties, Design and Functionality, Adv Drug Deliv Rev. 2013; 65(10):1357-1369.

Conrath, K.E. *et al*., Camel Single-Domain Antibodies as Modular Building Units in Bispecific and Bivalent Antibody Constructs. J. Biol. Chem. 2001, 276, 7346-7350.

Coppieters, K. *et al.*, Formatted Anti-Tumor Necrosis Factor alpha VHH Proteins Derived from Camelids Show Superior Potency and Targeting to Inflamed Joints in a Murine Model of Collagen-induced Arthritis. Arthritis Rheum. 2006, 54, 1856-1866.

Detallea L, *et al.,* Generation and Characterisation of ALX-0171, a Potent Novel Therapeutic Nanobody for the Treatment of Respiratory Syncytial Virus infection. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 60(1) 2015

De Vlieger et al., Single-domain Antibodies and their Formatting to Combat Viral Infections, Antibodies 8(1), 1-22, 2019

Duggan S. Caplacizumab: First Global Approval. Drugs (2018) 78:1639–1642

Fleischmann R, *et al*., A Novel Individualized Treatment Approach in Open-Label Extension Study of Ozoralizumab (ATN-103) in Subjects with Rheumatoid Arthritis

on a Background of Methotrexate. Abstract 1311, ACR/ARHP Annual Meeting (2012).

Fridy PC, *et al*., A Robust Pipeline for Rapid Production of Versatile Nanobody Repertoires. Nat Methods. 2014 December; 11(12): 1253–1260.

Godar M *et al*. Therapeutic Bispecific Antibody Formats: a Patent Applications Review (1994-2017) Expert Opinion on Therapeutic patents, 2018; 28(3):251-276

Ha, J-H *et al*. Immunoglobulin Fc Heterodimer Platform Technology: From Design to Applications in Therapeutic Antibodies and Proteins, Front Immunol, 2016; 7:394.

Hamers-Casterman C, *et al*., Naturally-occurring Antibodies Devoid of Light-chains. Nature 1993, 363:446-448.

Hmila, I. *et al*., VHH, Bivalent Domains and Chimeric Heavy Chain-only Antibodies with High Neutralizing Efficacy for Scorpion Toxin AahI'. Mol. Immunol. 2008, 45, 3847-3856.

Hultberg, A *et al*., Llama-derived Single Domain Antibodies to Build Multivalent, Super Potent and Broadened Neutralizing Anti-viral Molecules. PLoS One 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0017665.

Jähnichen S, *et al*, CXCR4 Nanobodies (VHH-based single variable domains) Potently Inhibit Chemotaxis and HIV-1 Replication and Mobilize Stem Cells. Proc Natl Acad Sci USA. (2010) 107: 20565–20570.

Kovalenko OV *et al*. Atypical Antigen Recognition Mode of a Shark Immunoglobulin New Antigen Receptor (IgNAR) Variable Domain Characterized by Humanization and Structural Analysis, J Biol Chem. 2013, 288:17408-17419

Muyldermans,S and Smider, 2016. Distinct Antibody Species: Structural Differences Creating Therapeutic Opportunities. Current Opinion in Immunology

2016, 40:7–13

Muyldermans, S *et al.*, 1994. Sequence and Structure of VH Domain From Naturally Occurring Camel Heavy Chain Immunoglobulins Lacking Light Chains. Protein Eng. 7: 1129–1135.

Saunders K.O., Conceptual Approach to Modulating Antibody Effector Functions and Circuation Half-Life, Front. Immunol. 10:1296, 2019.

Schoen P, *et al.*, Anti-RANKL Nanobody® ALX-0141 Shows Sustained Biomarker Inhibition in a Phase I Study in Healthy Postmenopausal Women. DOI: 10.1530/boneabs.1.PP135 (2013)

Simmons, D.P *et al.*, Dimerisation Strategies for Shark IgNAR Single Domain Antibody Fragments. J. Immunol. Methods 2006, 315, 171-184.

Svecova D, *et al.*, A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase 1 Study of Multiple Ascending Doses of Subcutaneous M1095, an Anti-Interleukin-17A/F Nanobody®, in Moderate-to-Severe Psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Mar 26.

Tatusova, T. A, et al. (1999), BLAST 2 Sequences, a New Tool for Comparing Protein and Nucleotide Sequences, FEMS Microbiol Lett. 174:247-250)

Van Roy M, *et al.*, The Preclinical Pharmacology of the High Affinity Anti-IL-6R Nanobody® ALX-0061 Supports its Clinical Development in Rheumatoid Arthritis. Arthritis Research & Therapy (2015) 17:135

Vincke C. *et al.* General Strategy to Humanize a Camelid Single-Domain Antibody and Identification of a Universal Humanized Nanobody Scaffold, J.Biol Chem. 2009, 284(5):3273-3284

Vu, K. B., *et al.*, 1997. Comparison of Llama VH Sequences from Conventional

and Heavy Chain Antibodies. Mol. Immunol. 34: 1121–1131.

【1023】

序列表

表 3-抗 D2 VHH 序列

抗 DR2 VHHs	CDR1	CDR2	CDR3
KC001 (Kabat CDRs)	ITAMN (SEQ ID NO:1)	GISSSGKITYQDSVKG (SEQ ID NO:2)	WAGARDAI (SEQ ID NO:3)
KC001 (IMGT CDRs)	EIIFSITA (SEQ ID NO:4)	ISSSGKI (SEQ ID NO:5)	NTWAGARDAI (SEQ ID NO:6)
KC001 (VHH) (SEQ ID NO:7)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQREL VAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYC NTWAGARDAIWGQGTQVTVSS		
KC002 (Kabat CDRs)	NKDMG (SEQ ID NO:8)	AIAKNNGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:9)	LTHRGASKFNY (SEQ ID NO:10)
KC002 (IMGT CDRs)	GDRITNKD (SEQ ID NO:11)	IAKNNGST (SEQ ID NO:12)	AGLTHRGASKFNY (SEQ ID NO:13)
KC002 (VHH) (SEQ ID NO:14)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDRITNKDMGWVRQAPGKGLE WVSAIAKNNGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAV YYCAGLTHRGASKFNYWGQGTLVTVSS		
KC003 (Kabat CDRs)	RHAMS (SEQ ID NO:15)	DIRSGDGGDGGTSYADS VKG (SEQ ID NO:16)	GLWKILPST (SEQ ID NO:17)
KC003 (IMGT CDRs)	GFTFSRHA (SEQ ID NO:18)	IRSGDGGDGGT (SEQ ID NO:19)	ALGLWKILPST (SEQ ID NO:20)
KC003 (VHH) (SEQ ID NO:21)	QVQLQESGGGLAPPGGSLRLSCAASGFTFSRHAMSWVRQAPGKGLE WVSDIRSGDGGDGGTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPE DTAVYYCALGLWKILPSTRGRGTQVTVSS		
KC004 (Kabat CDRs)	QRAMS (SEQ ID NO:22)	DIKSTGETSYADSVKG (SEQ ID NO:23)	GLWKILPSV (SEQ ID NO:24)
KC004 (IMGT CDRs)	GLTFSQRA (SEQ ID NO:25)	IKSTGET (SEQ ID NO:26)	ALGLWKILPSV (SEQ ID NO:27)
KC004 (VHH) (SEQ ID NO:28)	QVQLQESGGGLVHPGGSLRLSCAASGLTFSQRAMSWVRQAPGKGLE WISDIKSTGETSYADSVKGRFTISRDNARNTVYLQMNSLKPEDTAVY YCALGLWKILPSVRGRGTQVTVSS		
KC005 (Kabat CDRs)	LRSMG (SEQ ID NO:29)	VITSSAASTNYADSVKG (SEQ ID NO:30)	RGASRWYGTPSDY (SEQ ID NO:31)
KC005 (IMGT CDRs)	GSSLSLRS (SEQ ID NO:32)	ITSSAAST (SEQ ID NO:33)	NFRGASRWYGTPSDY (SEQ ID NO:34)
KC005 (VHH) (SEQ ID NO:35)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKMRE LVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPEDTAVY YCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSS		
KC006 (Kabat CDRs)	LRSMG (SEQ ID NO:36)	VITSSAASTNYADSVKG (SEQ ID NO:37)	RGASRWYGTPSDY (SEQ ID NO:38)

抗 DR2 VHHs	CDR1	CDR2	CDR3
KC006 (IMGT CDRs)	GSSLSLRS (SEQ ID NO:39)	ITSSAAST (SEQ ID NO:40)	NFRGASRWYGTPSDY (SEQ ID NO:41)
KC006 (VHH) (SEQ ID NO:42)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKMR ELVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPEDTAV YYCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSS		
KC007 (Kabat CDRs)	QRAMS (SEQ ID NO:43)	DIRSTGDTSYADSVKG (SEQ ID NO:44)	GLWKILPSA (SEQ ID NO:45)
KC007 (IMGT CDRs)	GFAFSQRA (SEQ ID NO:46)	IRSTGDT (SEQ ID NO:47)	ALGLWKILPSA (SEQ ID NO:48)
KC007 (VHH) (SEQ ID NO:49)	QVQLQESGGGLVQPGGSLLLSCAASGFAFSQRAMSWVRQAPGKGLE WVSDIRSTGDTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVY YCALGLWKILPSARGRGTQVTVSS		
KC008 (Kabat CDRs)	QRAMS (SEQ ID NO:50)	DIRSTGDTSYA DSVKG (SEQ ID NO:51)	GLWKILPSA (SEQ ID NO:52)
AKC008 (IMGT CDRs)	GFTFSQRA (SEQ ID NO:53)	IRSTGDT (SEQ ID NO:54)	ALGLWKILPSA (SEQ ID NO:55)
KC008 (VHH) (SEQ ID NO:56)	QVQLQESGGGLVQPGGSLLLSCAASGFTFSQRAMSWVRQAPGKGLE WVSDIRSTGDTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVY YCALGLWKILPSARGRGTQVTVSS		

【1024】

表 4-抗 PD-1 VHH

抗 PD-1 VHHs	CDR1	CDR2	CDR3
KC009 (Kabat CDRs)	RSSMS (SEQ ID NO:57)	IISSSGIITHYSDSVKG (SEQ ID NO:58)	VLDDDSGDY (SEQ ID NO:59)
KC009 (IMGT CDRs)	GFTFSRSS (SEQ ID NO:60)	ISSSGIIT (SEQ ID NO:61)	NAVLDDDSGDY (SEQ ID NO:62)
KC009 (VHH) (SEQ ID NO:63)	QVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKE RDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDT AVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSS		

表 5-抗 CD47 VHH

抗 CD47 VHHs	CDR1	CDR2	CDR3
KC010 (Kabat CDRs)	VNDIR (SEQ ID NO:64)	RITGGGRTDYADSV KG (SEQ ID NO:65)	WGRGY (SEQ ID NO:66)
KC010 (IMGT CDRs)	RFDFSVND (SEQ ID NO:67)	ITGGGRT (SEQ ID NO:68)	WGRGY (SEQ ID NO:69)
KC010 (VHH) (SEQ ID NO:70)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNER ELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDT AVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS		

表 6-包含一個抗原結合域的多肽鏈的例示性實施例（VHH-鉸鏈-CH2-CH3）

（可以包含或不包含 His 標籤）

SEQ ID NO:（特異性）	序列
KC011 (DR2) (SEQ ID NO:71)	QVQLQESGGGLAPPGGSLRLSCAASGFTFSRHAMSWVRQAPGKGL EWVSDIRSGDGGDGGTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKP EDTAVYYCALGLWKILPSTRGRGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
KC012 (DR2) (SEQ ID NO:72)	QVQLQESGGGLVHPGGSLRLSCAASGLTFSQRAMSWVRQAPGKGL EWISDIKSTGETSYADSVKGRFTISRDNARNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCALGLWKILPSVRGRGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
KC013 (DR2) (SEQ ID NO:73)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQRE LVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVY YCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
KC014 (DR2) (SEQ ID NO:74)	QVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDRITNKDMGWVRQAPGKGL EWVSAIAKNNGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAGLTHRGASKFNYWGQGTLVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAP ELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
KC015 (CD47) SEQ ID NO:75	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNERE LVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDTAV YYCWGRGYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVF LFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO: （特異性）	序列
KC016 **(HEWL)** SEQ ID NO:76	DVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAR EGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSED TAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

表 7-包含三個抗原結合域的多肽鏈的例示性實施例（可以包含或不包含 His 標籤）

SEQ ID NO: （特異性）	序列
KC020 SEQ ID NO:77 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQR ELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTA VYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPAPAPAPKAQ VQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKER DLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDTA VYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNEREL VARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDTAV YYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC021 SEQ ID NO:78 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQR ELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTA VYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGKAPAPAPAPAPKAQ VQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKER DLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDTA VYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQV QLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNEREL VARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDTAV YYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC022 SEQ ID NO:79 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKM RELVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPED TAVYYCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCP

SEQ ID NO: （特異性）	序列
	PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPA PAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHR QAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNS LKPEDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQ APGNERELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNN LKPEDTAVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC023 SEQ ID NO:80 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKM RELVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPED TAVYYCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPA PAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHR QAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNS LKPEDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQ APGNERELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNN LKPEDTAVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC024 SEQ ID NO:81 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLVQPGGSLLLSCAASGFTFSQRAMSWVRQAPGKG LEWVSDIRSTGDTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLKPED TAVYYCALGLWKILPSARGRGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPAPAPAPK AQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGK ERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPED TAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNER ELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDT AVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC025 SEQ ID NO:82 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLAPPGGSLRLSCAASGFTFSRHAMSWVRQAPGKG LEWVSDIRSGDGGDGGTSYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSL KPEDTAVYYCALGLWKILPSTRGRGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS

SEQ ID NO: （特異性）	序列
	LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPAPAP APKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQA PGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLK PEDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPG NERELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKP EDTAVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC026 SEQ ID NO:83 (DR2;PD1;CD47)	QVQLQESGGGLVHPGGSLRLSCAASGLTFSQRAMSWVRQAPGKG LEWISDIKSTGETSYADSVKGRFTISRDNARNTVYLQMNSLKPEDT AVYYCALGLWKILPSVRGRGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPEL LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPAPAPAPKA QVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKE RDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDT AVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQ VQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNERE LVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDTA VYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC040 SEQ ID NO:84 (DR2;HEWL; CD47)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQR ELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTA VYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPAPAPAPKAD VQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKARE GVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSED TAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWY RQAPGNERELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQM NNLKPEDTAVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC027 SEQ ID NO:85 (D2;PD1;CD47) (IgG4)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQR ELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTA VYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSESKYGPPCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK GLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ EGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKAPAPAPAPAPKAQVQL QESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKERDLV

SEQ ID NO: （特異性）	序列
	AIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYV CNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLQ ESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNERELVARI TGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDTAVYYC WGRGYWGQGTQVTVSS
KC028 SEQ ID NO:86 (D2;PD1;CD47) (IgG4)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKM RELVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPED TAVYYCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSSESKYGPPCPPCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKAPAPAPAPA PKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAP GKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKP EDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSQVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGN ERELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPE DTAVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC029 SEQ ID NO:87 (D2;PD1;CD3)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKM RELVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPED TAVYYCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPA PAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHR QAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNS LKPEDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIYKSFDMGWYRQ APGKQRDLVAVIGSRGNNRGRTNYADSVKGRFTISRDGTGNTVYL LMNKLRPEDTAIYYCNTAPLVAGRPWGRGTLVTVSS
KC030 SEQ ID NO:88 (D2;PD1;CD3)	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSSLSLRSMGWYRQGPGKM RELVAVITSSAASTNYADSVKGRFTISFDNAKNTMYLQMNSLTPED TAVYYCNFRGASRWYGTPSDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPA PAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHR QAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNS LKPEDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO:（特異性）	序列
	GGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIYKSFDMGWYRQAPGKQRDLVAVIGSRGNNRGRTNYADSVKGRFTISRDGTGNTVYLLMNKLRPEDTAIYYCNTAPLVAGRPWGRGTLVTVSS
KC031 SEQ ID NO:89 (HEWL-HEWL-HEWL)	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKEPKIPQPQPKPQPQPQPGGSGSAEAAAKAPKAPEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSS
KC032 SEQ ID NO:90 (D2;HEWL;HEWL)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQRELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGKEPKIPQPQPKPQPQPQPGGSGSAEAAAKAPKAPEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSS
KC033 SEQ ID NO:91 (D2;HEWL;CD3)	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQRELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGKAPAPAPAPAPKAQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIYKSFDMGW

SEQ ID NO: （特異性）	序列
	YRQAPGKQRDLVAVIGSRGNNRGRTNYADSVKGRFTISRDGTGNT VYLLMNKLRPEDTAIYYCNTAPLVAGRPWGRGTLVTVSS
KC034 SEQ ID NO:92 (HEWL;HEWL; CD3)	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKA REGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKS EDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGK APAPAPAPAPKAQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYM TWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNM AYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQ VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS GDIYKSFDMGWYRQAPGKQRDLVAVIGSRGNNRGRTNYADSVKG RFTISRDGTGNTVYLLMNKLRPEDTAIYYCNTAPLVAGRPWGRGT LVTVSS
KC035 SEQ ID NO:93 (HEWL;HEWL; HEWL)	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKA REGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKS EDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGK APAPAPAPAPKAQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYM TWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNM AYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQ VTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAA SGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRF TISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSS YDYWGQGTQVTVSS
KC036 SEQ ID NO:94 (HEWL;PD1; HEWL)	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKA REGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKS EDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCD KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQ MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGK APAPAPAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSS MSWHRQAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTV YLQMNSLKPEDTAVYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGG SGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYM TWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNM

SEQ ID NO: （特異性）	序列
	AYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSS
KC037 (D2;PD1:HEWL) SEQ ID NO:95	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASEIIFSITAMNWYRQAPGKQRELVAGISSSGKITYQDSVKGRFTISKDNAKNTLYLQMNSLKPEDTAVYYCNTWAGARDAIWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGKAPAPAPAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSS
KC038 SEQ ID NO:96 (HEWL;PD1:CD47)	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESLSLSPGKAPAPAPAPAPKAQVQLQESGGGWVQPGGSLRLSCVASGFTFSRSSMSWHRQAPGKERDLVAIISSSGIITHYSDSVKGRFTISRDNAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYYVCNAVLDDDSGDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASRFDFSVNDIRWYRQAPGNERELVARITGGGRTDYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNLKPEDTAVYYCWGRGYWGQGTQVTVSS
KC039 SEQ ID NO:97 (HEWL;HEWL;HEWL)	QVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKAPAPAPAPAPKAQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSQVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSS

SEQ ID NO:98（天然人類 IgG1 鉸鏈區）

EPKSCDKTHTCPPCP

SEQ ID NO:99（連接子-HL1）

EPKIPQPQPKPQPQPQPGGSGSAEAAAKAPKAP

SEQ ID NO:100（可撓性連接子-FL2）

GGGGSGGGGS

SEQ ID NO:101（可撓性連接子-FL18）

GGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO:102（可撓性連接子-FL4）

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO:103（可撓性連接子-FL5）

GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS

SEQ ID NO:104（可撓性連接子）

$(GGGGS)_n$，其中 n 係選自 1 至 10 之整數

SEQ ID NO:105（剛性連接子-RL5）

PAPAPKA

SEQ ID NO:106（剛性連接子-RL7）

APAPAPAPAPKA

SEQ ID NO:107（剛性連接子-RL12）

APAPAPAPAPAPAPAPAPAPKA

SEQ ID NO:108（剛性連接子）

$(X(PAPAP))_nKA$，其中 n 係選自 1 至 10 之整數，其中 X 存在或不存在，且係 A

SEQ ID NO:109（螺旋連接子-RL1）

AEAAAKEAAAKA

SEQ ID NO:110（螺旋連接子-RL2）

AEAAAKEAAAKEAAAKA

SEQ ID NO:111（螺旋連接子-RL4）

AEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKA

SEQ ID NO:112（螺旋連接子

$X(EAAAK)_nY$，其中 n 係選自 1 至 10、更佳 2-5 之整數，其中 X 及 Y 獨立地存在或不存在且較佳係 A

SEQ ID NO:113 抗 HEWL VHH（KC017）

XVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSTDSIEYMTWFRQAPGKAREGVAALYTHTGNTYYTDSVKGRFTISQDKAKNMAYLRMDSVKSEDTAIYTCGATRKYVPVRFALDQSSYDYWGQGTQVTVSS

其中 X 係 E 或 Q

SEQ ID NO:114 抗 4HEM VHH（KC018 的 VHH 部分）

XVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASESTFSNYAMGWFRQAPGPEREFVATISQTGSHTYYRNSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNNMKPEDTAVYYCAAGDNYYYTRTYEYDYWGQGTQVTVSS

其中 X 係 E 或 Q

SEQ ID NO:115 抗 CD3 VHH（KC019）

XVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDIYKSFDMGWYRQAPGKQRDLVAVIGSRGNNRGRTNYADSVKGRFTISRDGTGNTVYLLMNKLRPEDTAIYYCNTAPLVAGRPWGRGTLVTVSS

其中 X 係 E 或 D

SEQ ID NO:116 天然人類 IgG1 CH3

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

SEQ ID NO:117 天然人類 IgG1 CH2

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAK

SEQ ID NO:118 突變人類 IgG1 鉸鏈區

EPKSSDKTHTCPPCP

SEQ ID NO:119 突變人類 IgG1 鉸鏈區

EPKSSDKTHTSPPSP

SEQ ID NO:120 突變人類 IgG1 鉸鏈區

DKTHTCPPC

SEQ ID NO:121 天然人類 IgG2 鉸鏈區

ERKCCVECPPCP

SEQ ID NO:122 突變人類 IgG2 鉸鏈區

ERKSSVECPPCP

SEQ ID NO:123 突變人類 IgG2 鉸鏈區

ERKSSVESPPCP

SEQ ID NO:124 突變人類 IgG2 鉸鏈區

ERKSSVESPPSP

SEQ ID NO:125 天然人類 IgG3 鉸鏈區

ELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKS CDTPPPCPRCP

SEQ ID NO:126 突變人類 IgG3 鉸鏈區

EPKSSDTPPPCPRCP

SEQ ID NO:127 突變人類 IgG3 鉸鏈區

EPKSSDTPPPSPRCP

SEQ ID NO:128 突變人類 IgG3 鉸鏈區

EPKSSDTPPPSPRSP

SEQ ID NO:129 天然人類 IgG4 鉸鏈區

ESKYGPPCPSCP

SEQ ID NO:130 突變人類 IgG4 鉸鏈區

ESKYGPPCPPCP

SEQ ID NO:131 突變人類 IgG4 鉸鏈區

ESKYGPPSPSCP

SEQ ID NO:132 突變人類 IgG4 鉸鏈區）

ESKYGPPSPSSP

SEQ ID NO:133 信號肽

MEWSWVFLFFLSVTTGVHS

SEQ ID NO:134 抗原決定基標籤

HHHHHH

SEQ ID NO:135 天然人類 IgG1 恆定區

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:136 突變 CH3 域（鏈 A-突變 D399N；K370E；E356Q）

GQPREPQVYTLPPSRQEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGK

SEQ ID NO:137 突變 CH3 域（鏈 B-突變 D399N；K439E；E357Q）

GQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQESL
SLSPGK

SEQ ID NO:138 突變人類 IgG1 恆定區（鏈 A-突變 D399N；K370E；E356Q）

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRQEMTKNQVSLTCLVEGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:139 突變人類 IgG1 恆定區（鏈 B-突變 D399N；K439E；E357Q）

APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLNSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN
HYTQESLSLSPGK

SEQ ID NO:140 突變人類 IgG4 恆定區

APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV
EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP

ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQ

KSLSLSLGK

【序列表】

<110> 加拿大商木曾路生物科技公司(KISOJI BIOTECHNOLOGY, INC.)

<120> 靶向腫瘤及/或免疫細胞之結合劑

<130> KJB-004TW1

<140> TW 111112543
<141> 2022-03-31

<150> PCT/CA2022/050442
<151> 2022-03-25

<150> 63/301,305
<151> 2022-01-20

<150> 63/249,784
<151> 2021-09-29

<150> 63/168,606
<151> 2021-03-31

<160> 151

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 1
Ile Thr Ala Met Asn
1 5

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 2

Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 3
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 3
Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile
1 5

<210> 4
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 4
Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr Ala
1 5

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 5
Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile
1 5

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 6
Asn Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile
1 5 10

<210> 7
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 7
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 8
<211> 5
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 8
Asn Lys Asp Met Gly
1 5

<210> 9
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 9
Ala Ile Ala Lys Asn Asn Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 10
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 10
Leu Thr His Arg Gly Ala Ser Lys Phe Asn Tyr
1 5 10

<210> 11
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 11
Gly Asp Arg Ile Thr Asn Lys Asp

1 5

<210> 12
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 12
Ile Ala Lys Asn Asn Gly Ser Thr
1 5

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

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 13
Ala Gly Leu Thr His Arg Gly Ala Ser Lys Phe Asn Tyr
1 5 10

<210> 14
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 14
Gln 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 Asp Arg Ile Thr Asn Lys
20 25 30

Asp Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ala Lys Asn Asn Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Leu Thr His Arg Gly Ala Ser Lys Phe Asn Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 15
Arg His Ala Met Ser
1 5

<210> 16
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 16
Asp Ile Arg Ser Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Thr Ser Tyr Ala Asp
1 5 10 15

Ser Val Lys Gly
20

<210> 17
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 17
Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Thr
1 5

<210> 18
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 18
Gly Phe Thr Phe Ser Arg His Ala
1 5

<210> 19
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 19
Ile Arg Ser Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Thr
1 5 10

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 20
Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Thr
1 5 10

<210> 21
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 21
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Pro Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg His
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Asp Ile Arg Ser Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Thr Ser Tyr Ala
50 55 60

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65 70 75 80

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Thr Arg Gly
100 105 110

Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 22
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 22
Gln Arg Ala Met Ser
1 5

<210> 23
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 23
Asp Ile Lys Ser Thr Gly Glu Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 24
Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Val
1 5

<210> 25
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 25
Gly Leu Thr Phe Ser Gln Arg Ala
1 5

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 26
Ile Lys Ser Thr Gly Glu Thr
1 5

<210> 27
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 27
Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Val
1 5 10

<210> 28
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 28
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Gln Arg
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ser Asp Ile Lys Ser Thr Gly Glu Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Val Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 29
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 29
Leu Arg Ser Met Gly
1 5

<210> 30
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 30
Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 31
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 31
Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 32
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 32
Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg Ser
1 5

<210> 33
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 33
Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr
1 5

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 34
Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 35
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 35
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
20 25 30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 36
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 36
Leu Arg Ser Met Gly
1 5

<210> 37
<211> 17

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 37
Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 38
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 38
Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 39
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 39
Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg Ser
1 5

<210> 40
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 40

Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr
1 5

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 41
Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 42
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 42
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
20 25 30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
100 105 110

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

<210> 43
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 43
Gln Arg Ala Met Ser
1 5

<210> 44
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 44
Asp Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 45
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 45
Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Ala
1 5

<210> 46
<211> 8
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 46
Gly Phe Ala Phe Ser Gln Arg Ala
1 5

<210> 47
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 47
Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr
1 5

<210> 48
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 48
Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Ala
1 5 10

<210> 49
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 49
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Leu Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe Ser Gln Arg

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Asp Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 50
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 50
Gln Arg Ala Met Ser
1 5

<210> 51
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 51
Asp Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 52
Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Ala
1 5

<210> 53
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 53
Gly Phe Thr Phe Ser Gln Arg Ala
1 5

<210> 54
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 54
Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr
1 5

<210> 55
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 55
Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Ala
1 5 10

<210> 56
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 56
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Leu Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gln Arg
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Asp Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 57
Arg Ser Ser Met Ser
1 5

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 58
Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 59
Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr
1 5

<210> 60
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 60
Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser
1 5

<210> 61
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 61
Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr
1 5

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 62
Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 63
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser
20 25 30

Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val
35 40 45

Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys
85 90 95

Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 64
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 64
Val Asn Asp Ile Arg
1 5

<210> 65
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 65
Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
1 5 10 15

<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 66
Trp Gly Arg Gly Tyr
1 5

<210> 67
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 67
Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp
1 5

<210> 68
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 68
Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr
1 5

<210> 69
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 69
Trp Gly Arg Gly Tyr
1 5

<210> 70
<211> 111
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 70
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn
20 25 30

Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp
85 90 95

Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

<210> 71
<211> 353
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 71
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Pro Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg His
20 25 30

```
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Asp Ile Arg Ser Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Thr Ser Tyr Ala
    50                  55                  60

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65                  70                  75                  80

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
                85                  90                  95

Tyr Tyr Cys Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Thr Arg Gly
            100                 105                 110

Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
        115                 120                 125

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
    130                 135                 140

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
145                 150                 155                 160

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                165                 170                 175

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
            180                 185                 190

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
        195                 200                 205

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
    210                 215                 220

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
```

225 230 235 240

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
245 250 255

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
260 265 270

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
275 280 285

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
290 295 300

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
305 310 315 320

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
325 330 335

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
340 345 350

Lys

<210> 72
<211> 349
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 72
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Gln Arg
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Ser Asp Ile Lys Ser Thr Gly Glu Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Val Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
115 120 125

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
130 135 140

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
145 150 155 160

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
165 170 175

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
180 185 190

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
195 200 205

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
210 215 220

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
225 230 235 240

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
245 250 255

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
260 265 270

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
275 280 285

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
290 295 300

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
305 310 315 320

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
325 330 335

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340 345

<210> 73
<211> 348
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 73
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val

35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245 250 255

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340 345

<210> 74
<211> 352
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 74
Gln 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 Asp Arg Ile Thr Asn Lys
20 25 30

Asp Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

```
Ser Ala Ile Ala Lys Asn Asn Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp 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 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Gly Leu Thr His Arg Gly Ala Ser Lys Phe Asn Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
        115                 120                 125

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
    130                 135                 140

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
145                 150                 155                 160

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
                165                 170                 175

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
            180                 185                 190

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
        195                 200                 205

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
    210                 215                 220

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
225                 230                 235                 240

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
                245                 250                 255
```

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
260 265 270

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
275 280 285

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
290 295 300

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
305 310 315 320

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
325 330 335

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340 345 350

<210> 75
<211> 343
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 75
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn
20 25 30

Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp
85 90 95

Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
100 105 110

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
115 120 125

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
130 135 140

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
145 150 155 160

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
165 170 175

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
180 185 190

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
195 200 205

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
210 215 220

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
225 230 235 240

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
245 250 255

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

260 265 270

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
275 280 285

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
290 295 300

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
305 310 315 320

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
325 330 335

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
340

<210> 76
<211> 359
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 76
Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
85 90 95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
100 105 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
355

<210> 77
<211> 604
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 77
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245 250 255

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro
340 345 350

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly
355 360 365

Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala
370 375 380

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala
385 390 395 400

Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile
405 410 415

Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
420 425 430

Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser
450 455 460

Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly

465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
485 490 495

Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
500 505 510

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile Arg
515 520 525

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile
530 535 540

Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
545 550 555 560

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
565 570 575

Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg Gly
580 585 590

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
595 600

<210> 78
<211> 604
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 78
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245 250 255

Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro
340 345 350

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly
355 360 365

Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala
370 375 380

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala
385 390 395 400

Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile
405 410 415

Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
420 425 430

Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser
450 455 460

Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
485 490 495

Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
500 505 510

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile Arg
515 520 525

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile
530 535 540

Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
545 550 555 560

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
565 570 575

Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg Gly
580 585 590

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
595 600

<210> 79
<211> 610
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 79

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        115                 120                 125

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
145                 150                 155                 160

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
                165                 170                 175

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
```

180 185 190

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
195 200 205

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
210 215 220

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
225 230 235 240

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
245 250 255

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
260 265 270

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
275 280 285

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
290 295 300

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
305 310 315 320

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
325 330 335

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
340 345 350

Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val
355 360 365

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
370 375 380

Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met
385 390 395 400

Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile
405 410 415

Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly
420 425 430

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln
435 440 445

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala
450 455 460

Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
485 490 495

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
500 505 510

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe
515 520 525

Ser Val Asn Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg
530 535 540

Glu Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp
545 550 555 560

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
565 570 575

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr

580 585 590

Tyr Cys Trp Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
595 600 605

Ser Ser
610

<210> 80
<211> 610
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 80
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
20 25 30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp
115 120 125

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
145 150 155 160

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
165 170 175

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
180 185 190

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
195 200 205

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
210 215 220

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
225 230 235 240

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
245 250 255

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
260 265 270

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
275 280 285

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
290 295 300

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
305 310 315 320

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
325 330 335

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
340 345 350

Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val
355 360 365

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
370 375 380

Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met
385 390 395 400

Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile
405 410 415

Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly
420 425 430

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln
435 440 445

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala
450 455 460

Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
485 490 495

Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
500 505 510

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe
515 520 525

Ser Val Asn Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg
530 535 540

Glu Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp
545 550 555 560

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr
565 570 575

Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
580 585 590

Tyr Cys Trp Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
595 600 605

Ser Ser
610

<210> 81
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 81
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Leu Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gln Arg
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Asp Ile Arg Ser Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

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

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
115 120 125

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
130 135 140

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
145 150 155 160

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
165 170 175

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
180 185 190

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
195 200 205

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
210 215 220

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
225 230 235 240

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
245 250 255

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

260 265 270

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
275 280 285

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
290 295 300

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
305 310 315 320

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
325 330 335

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala
340 345 350

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser
355 360 365

Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val
370 375 380

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln
385 390 395 400

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly
405 410 415

Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
420 425 430

Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
435 440 445

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp
450 455 460

Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
465 470 475 480

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
485 490 495

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
500 505 510

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile
515 520 525

Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg
530 535 540

Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
545 550 555 560

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
565 570 575

Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg
580 585 590

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
595 600 605

<210> 82
<211> 609
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 82
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Pro Pro Gly Gly
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg His
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

Ser Asp Ile Arg Ser Gly Asp Gly Gly Asp Gly Gly Thr Ser Tyr Ala
    50                  55                  60

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn
65                  70                  75                  80

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
                85                  90                  95

Tyr Tyr Cys Ala Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Thr Arg Gly
            100                 105                 110

Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
        115                 120                 125

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
    130                 135                 140

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
145                 150                 155                 160

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
                165                 170                 175

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
            180                 185                 190

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
        195                 200                 205

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
    210                 215                 220
```

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
225 230 235 240

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
245 250 255

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
260 265 270

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
275 280 285

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
290 295 300

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
305 310 315 320

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
325 330 335

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
340 345 350

Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln
355 360 365

Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
370 375 380

Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser
385 390 395 400

Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile
405 410 415

Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg
420 425 430

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met
435 440 445

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val
450 455 460

Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
465 470 475 480

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
485 490 495

Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
500 505 510

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser
515 520 525

Val Asn Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu
530 535 540

Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
545 550 555 560

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
565 570 575

Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
580 585 590

Cys Trp Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
595 600 605

Ser

<210> 83
<211> 605
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 83

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Gln Arg
            20                  25                  30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45

Ser Asp Ile Lys Ser Thr Gly Glu Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Leu Gly Leu Trp Lys Ile Leu Pro Ser Val Arg Gly Arg Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys
        115                 120                 125

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
    130                 135                 140

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
145                 150                 155                 160
```

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
165 170 175

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
180 185 190

Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
195 200 205

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
210 215 220

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
225 230 235 240

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
245 250 255

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
260 265 270

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
275 280 285

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
290 295 300

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
305 310 315 320

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
325 330 335

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala
340 345 350

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser

355 360 365

Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val
370 375 380

Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln
385 390 395 400

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly
405 410 415

Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
420 425 430

Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
435 440 445

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp
450 455 460

Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
465 470 475 480

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val
485 490 495

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
500 505 510

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile
515 520 525

Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg
530 535 540

Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
545 550 555 560

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
565 570 575

Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg
580 585 590

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
595 600 605

<210> 84
<211> 613
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 84
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245 250 255

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro
340 345 350

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
355 360 365

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
370 375 380

Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala
385 390 395 400

Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly
405 410 415

Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln
420 425 430

Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro
450 455 460

Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
465 470 475 480

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
485 490 495

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly
500 505 510

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg
515 520 525

Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
530 535 540

Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp
545 550 555 560

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
565 570 575

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr
580 585 590

Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
595 600 605

Val Thr Val Ser Ser
610

<210> 85
<211> 601
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 85
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
115 120 125

Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
130 135 140

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
145 150 155 160

Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
165 170 175

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
180 185 190

Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
195 200 205

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
210 215 220

Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
225 230 235 240

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
245 250 255

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
260 265 270

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
275 280 285

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
290 295 300

Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
305 310 315 320

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
325 330 335

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
340 345 350

Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp
355 360 365

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe
370 375 380

Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys
385 390 395 400

Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His
405 410 415

Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
420 425 430

Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
435 440 445

Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr

450 455 460

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
465 470 475 480

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu
485 490 495

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
500 505 510

Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile Arg Trp Tyr Arg
515 520 525

Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly
530 535 540

Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
545 550 555 560

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys
565 570 575

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg Gly Tyr Trp Gly
580 585 590

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
595 600

<210> 86
<211> 607
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 86
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

```
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
        115                 120                 125

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
    130                 135                 140

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
145                 150                 155                 160

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
                165                 170                 175

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
            180                 185                 190

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
        195                 200                 205
```

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
210 215 220

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
225 230 235 240

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
245 250 255

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
260 265 270

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
275 280 285

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
290 295 300

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
305 310 315 320

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
325 330 335

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Ala
340 345 350

Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln
355 360 365

Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
370 375 380

Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His
385 390 395 400

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser
405 410 415

Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
420 425 430

Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
435 440 445

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp
450 455 460

Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
465 470 475 480

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
485 490 495

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
500 505 510

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn
515 520 525

Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val
530 535 540

Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
545 550 555 560

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
565 570 575

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp
580 585 590

Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
595 600 605

<210> 87
<211> 619
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 87

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
            20                  25                  30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
            100                 105                 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp
        115                 120                 125

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
    130                 135                 140

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
145                 150                 155                 160

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
```

165 170 175

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
180 185 190

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
195 200 205

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
210 215 220

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
225 230 235 240

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
245 250 255

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
260 265 270

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
275 280 285

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
290 295 300

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
305 310 315 320

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
325 330 335

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
340 345 350

Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val
355 360 365

```
Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
    370                 375                 380

Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met
385                 390                 395                 400

Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile
                405                 410                 415

Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly
            420                 425                 430

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln
        435                 440                 445

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala
    450                 455                 460

Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
465                 470                 475                 480

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
                485                 490                 495

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
            500                 505                 510

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Ile Tyr
        515                 520                 525

Lys Ser Phe Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg
    530                 535                 540

Asp Leu Val Ala Val Ile Gly Ser Arg Gly Asn Asn Arg Gly Arg Thr
545                 550                 555                 560

Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly
```

565 570 575

Thr Gly Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Lys Leu Arg Pro Glu Asp
580 585 590

Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Asn Thr Ala Pro Leu Val Ala Gly Arg Pro
595 600 605

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
610 615

<210> 88
<211> 619
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 88
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Leu Ser Leu Arg
20 25 30

Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Met Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Val Ile Thr Ser Ser Ala Ala Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Phe Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Phe Arg Gly Ala Ser Arg Trp Tyr Gly Thr Pro Ser Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp
115 120 125

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
130 135 140

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
145 150 155 160

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
165 170 175

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
180 185 190

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
195 200 205

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
210 215 220

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
225 230 235 240

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
245 250 255

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
260 265 270

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
275 280 285

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
290 295 300

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
305 310 315 320

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
325 330 335

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
340 345 350

Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val
355 360 365

Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
370 375 380

Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met
385 390 395 400

Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile
405 410 415

Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly
420 425 430

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln
435 440 445

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala
450 455 460

Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
465 470 475 480

Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
485 490 495

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
500 505 510

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Ile Tyr
515 520 525

Lys Ser Phe Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg
530 535 540

Asp Leu Val Ala Val Ile Gly Ser Arg Gly Asn Asn Arg Gly Arg Thr
545 550 555 560

Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly
565 570 575

Thr Gly Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Lys Leu Arg Pro Glu Asp
580 585 590

Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Asn Thr Ala Pro Leu Val Ala Gly Arg Pro
595 600 605

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
610 615

<210> 89
<211> 661
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 89
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
35 40 45

```
Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
                85                  90                  95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
            100                 105                 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
        115                 120                 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    130                 135                 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145                 150                 155                 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                165                 170                 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            180                 185                 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
        195                 200                 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
    210                 215                 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225                 230                 235                 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
```

245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Pro Lys Ile Pro Gln Pro Gln Pro
355 360 365

Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Pro Gly Gly Ser Gly Ser Ala Glu Ala
370 375 380

Ala Ala Lys Ala Pro Lys Ala Pro Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
385 390 395 400

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
405 410 415

Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala
420 425 430

Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly
435 440 445

Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln
450 455 460

Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser
465 470 475 480

Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro
485 490 495

Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
500 505 510

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
515 520 525

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
530 535 540

Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
545 550 555 560

Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
565 570 575

Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr
580 585 590

Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys
595 600 605

Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp
610 615 620

Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg
625 630 635 640

Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln

645 650 655

Val Thr Val Ser Ser
660

<210> 90
<211> 650
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 90
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245 250 255

Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Pro Lys Ile
340 345 350

Pro Gln Pro Gln Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln Pro Gly Gly Ser
355 360 365

Gly Ser Ala Glu Ala Ala Ala Lys Ala Pro Lys Ala Pro Glu Val Gln
370 375 380

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
385 390 395 400

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr
405 410 415

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu
420 425 430

Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg
435 440 445

Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met
450 455 460

Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr
465 470 475 480

Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp
485 490 495

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
500 505 510

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val
515 520 525

Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
530 535 540

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe
545 550 555 560

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr
565 570 575

His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
580 585 590

Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser
595 600 605

Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys
610 615 620

Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp
625 630 635 640

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
645 650

<210> 91
<211> 622
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 91
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
20 25 30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

```
Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
                85                  90                  95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
        115                 120                 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
    130                 135                 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145                 150                 155                 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
                165                 170                 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
            180                 185                 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
        195                 200                 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
    210                 215                 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225                 230                 235                 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
```

245 250 255

Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro
340 345 350

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
355 360 365

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
370 375 380

Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala
385 390 395 400

Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly
405 410 415

Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln
420 425 430

Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro
450 455 460

Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
465 470 475 480

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
485 490 495

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
500 505 510

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
515 520 525

Asp Ile Tyr Lys Ser Phe Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
530 535 540

Lys Gln Arg Asp Leu Val Ala Val Ile Gly Ser Arg Gly Asn Asn Arg
545 550 555 560

Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
565 570 575

Arg Asp Gly Thr Gly Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Lys Leu Arg
580 585 590

Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Asn Thr Ala Pro Leu Val Ala
595 600 605

Gly Arg Pro Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
610 615 620

<210> 92
<211> 633
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 92

```
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
            20                  25                  30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
        35                  40                  45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
    50                  55                  60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
                85                  90                  95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
            100                 105                 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
        115                 120                 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    130                 135                 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145                 150                 155                 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                165                 170                 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            180                 185                 190
```

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
355 360 365

Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln
370 375 380

Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp
385 390 395 400

Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg
405 410 415

Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr
420 425 430

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn
435 440 445

Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile
450 455 460

Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu
465 470 475 480

Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
485 490 495

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
500 505 510

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
515 520 525

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Ile Tyr Lys Ser
530 535 540

Phe Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu
545 550 555 560

Val Ala Val Ile Gly Ser Arg Gly Asn Asn Arg Gly Arg Thr Asn Tyr
565 570 575

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly Thr Gly
580 585 590

Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Lys Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala
595 600 605

Ile Tyr Tyr Cys Asn Thr Ala Pro Leu Val Ala Gly Arg Pro Trp Gly
610 615 620

Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
625 630

<210> 93
<211> 640
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 93
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
85 90 95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
100 105 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
355 360 365

Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln
370 375 380

Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp
385 390 395 400

Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg
405 410 415

Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr
420 425 430

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn
435 440 445

Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile
450 455 460

Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu
465 470 475 480

Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
485 490 495

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
500 505 510

Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly
515 520 525

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile
530 535 540

Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly
545 550 555 560

Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser
565 570 575

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala
580 585 590

Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr
595 600 605

Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln
610 615 620

Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
625 630 635 640

<210> 94
<211> 631
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 94
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
85 90 95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
100 105 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
355 360 365

Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln
370 375 380

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
385 390 395 400

Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
405 410 415

Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser
420 425 430

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp
435 440 445

Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
450 455 460

Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly
465 470 475 480

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
485 490 495

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
500 505 510

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
515 520 525

Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala
530 535 540

Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly
545 550 555 560

Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln
565 570 575

Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser
580 585 590

Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro
595 600 605

Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
610 615 620

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
625 630

<210> 95
<211> 620
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 95

```
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1               5                  10                  15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ile Ile Phe Ser Ile Thr
            20                  25                  30

Ala Met Asn Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

Ala Gly Ile Ser Ser Ser Gly Lys Ile Thr Tyr Gln Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
                85                  90                  95

Thr Trp Ala Gly Ala Arg Asp Ala Ile Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
            100                 105                 110

Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
        115                 120                 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
    130                 135                 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145                 150                 155                 160
```

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
245 250 255

Glu Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser
290 295 300

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
305 310 315 320

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro
340 345 350

Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly

355 360 365

Gly Gly Trp Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala
370 375 380

Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala
385 390 395 400

Pro Gly Lys Glu Arg Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile
405 410 415

Ile Thr His Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
420 425 430

Asp Asn Ala Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
435 440 445

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser
450 455 460

Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
465 470 475 480

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln
485 490 495

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
500 505 510

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu Tyr Met Thr
515 520 525

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val Ala Ala Leu
530 535 540

Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly Arg
545 550 555 560

Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr Leu Arg Met
565 570 575

Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys Gly Ala Thr
580 585 590

Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser Ser Tyr Asp
595 600 605

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
610 615 620

<210> 96
<211> 615
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 96
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
85 90 95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
100 105 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Gln Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
355 360 365

Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Trp Val Gln
370 375 380

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Phe
385 390 395 400

Ser Arg Ser Ser Met Ser Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg
405 410 415

Asp Leu Val Ala Ile Ile Ser Ser Ser Gly Ile Ile Thr His Tyr Ser
420 425 430

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asp
435 440 445

Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
450 455 460

Tyr Val Cys Asn Ala Val Leu Asp Asp Asp Ser Gly Asp Tyr Trp Gly
465 470 475 480

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
485 490 495

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly
500 505 510

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
515 520 525

Ser Arg Phe Asp Phe Ser Val Asn Asp Ile Arg Trp Tyr Arg Gln Ala
530 535 540

Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Thr Gly Gly Gly Arg
545 550 555 560

Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
565 570 575

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu
580 585 590

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Trp Gly Arg Gly Tyr Trp Gly Gln Gly
595 600 605

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
610 615

<210> 97
<211> 640
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 97
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val

35 40 45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
85 90 95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
100 105 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Glu
115 120 125

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
130 135 140

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
145 150 155 160

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
165 170 175

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
180 185 190

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
195 200 205

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
210 215 220

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
225 230 235 240

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
245 250 255

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
260 265 270

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
275 280 285

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
290 295 300

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
305 310 315 320

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
325 330 335

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
340 345 350

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala
355 360 365

Pro Lys Ala Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln
370 375 380

Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp
385 390 395 400

Ser Ile Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg
405 410 415

Glu Gly Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr
420 425 430

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn

435 440 445

Met Ala Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile
450 455 460

Tyr Thr Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu
465 470 475 480

Asp Gln Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
485 490 495

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
500 505 510

Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly
515 520 525

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile
530 535 540

Glu Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly
545 550 555 560

Val Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser
565 570 575

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala
580 585 590

Tyr Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr
595 600 605

Cys Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln
610 615 620

Ser Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
625 630 635 640

<210> 98
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 99
<211> 33
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 99
Glu Pro Lys Ile Pro Gln Pro Gln Pro Lys Pro Gln Pro Gln Pro Gln
1 5 10 15

Pro Gly Gly Ser Gly Ser Ala Glu Ala Ala Ala Lys Ala Pro Lys Ala
20 25 30

Pro

<210> 100
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 100
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 101
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 101
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 102
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 102
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

<210> 103
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 103
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25 30

<210> 104
<211> 50
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(50)
<223> 此序列可以包含1-10個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 104
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Gly Ser
50

<210> 105
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 105
Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala
1 5

<210> 106
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 106
Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala
1 5 10

<210> 107

<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 107
Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Ala Pro Lys Ala
20

<210> 108
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (19)..(19)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (25)..(25)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (31)..(31)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (37)..(37)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (43)..(43)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (49)..(49)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> MOD_RES
<222> (55)..(55)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(60)
<223> 此區域可以包含1-10個「Xaa Pro Ala Pro Ala Pro」重複單元

<400> 108
Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Xaa Pro Ala Pro
1 5 10 15

Ala Pro Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Xaa Pro
20 25 30

Ala Pro Ala Pro Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Xaa Pro Ala Pro Ala Pro
35 40 45

Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Xaa Pro Ala Pro Ala Pro Lys Ala
50 55 60

<210> 109
<211> 12
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 109
Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala
1 5 10

<210> 110
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 110
Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
1 5 10 15

Ala

<210> 111
<211> 27
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 111
Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
1 5 10 15

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala
20 25

<210> 112
<211> 52
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Ala或不存在

<220>
<221> SITE
<222> (2)..(51)
<223> 此區域可以包含1-10個「Glu Ala Ala Ala Lys」重複單元

<220>
<221> MOD_RES
<222> (52)..(52)
<223> Ala或不存在

<220>
<223> 參見申請之說明書以獲得取代及較佳實施例的詳細描述

<400> 112
Xaa Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
1 5 10 15

Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu
20 25 30

Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala
35 40 45

Ala Ala Lys Xaa
50

<210> 113
<211> 127
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)

<223> E或Q

<400> 113
Xaa Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Asp Ser Ile Glu
20 25 30

Tyr Met Thr Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ala Ala Leu Tyr Thr His Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Lys Ala Lys Asn Met Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asp Ser Val Lys Ser Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Thr Cys
85 90 95

Gly Ala Thr Arg Lys Tyr Val Pro Val Arg Phe Ala Leu Asp Gln Ser
100 105 110

Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 114
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> E或Q

<400> 114

Xaa Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Ser Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Pro Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Gln Thr Gly Ser His Thr Tyr Tyr Arg Asn Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Met Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Asp Asn Tyr Tyr Tyr Thr Arg Thr Tyr Glu Tyr Asp Tyr
100 105 110

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

<210> 115
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> E或D

<400> 115
Xaa Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Ile Tyr Lys Ser Phe
20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val
35 40 45

Ala Val Ile Gly Ser Arg Gly Asn Asn Arg Gly Arg Thr Asn Tyr Ala
50 55 60

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly Thr Gly Asn
65 70 75 80

Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Lys Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Ile
85 90 95

Tyr Tyr Cys Asn Thr Ala Pro Leu Val Ala Gly Arg Pro Trp Gly Arg
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 116
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 117
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 118
<211> 15
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 118
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10 15

<210> 119
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 119
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro
1 5 10 15

<210> 120
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 120
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
1 5

<210> 121
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 121
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 122

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 122
Glu Arg Lys Ser Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 123
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 123
Glu Arg Lys Ser Ser Val Glu Ser Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 124
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 124
Glu Arg Lys Ser Ser Val Glu Ser Pro Pro Ser Pro
1 5 10

<210> 125
<211> 62
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 125
Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
20 25 30

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu
35 40 45

Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
50 55 60

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 126
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
1 5 10 15

<210> 127
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 127
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Thr Pro Pro Pro Ser Pro Arg Cys Pro
1 5 10 15

<210> 128
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 128
Glu Pro Lys Ser Ser Asp Thr Pro Pro Pro Ser Pro Arg Ser Pro
1 5 10 15

<210> 129
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 129
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 130
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 130
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
1 5 10

<210> 131
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 131
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Ser Pro Ser Cys Pro
1 5 10

<210> 132
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 132

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

<210> 133
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 133
Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

Val His Ser

<210> 134
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成6xHis標籤

<400> 134
His His His His His His
1 5

<210> 135
<211> 217
<212> PRT
<213> 智人

<400> 135
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 136
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 136
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Gln
1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Glu Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 137
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 137
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
1 5 10 15

Gln Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asn Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 138
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 138
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

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

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

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

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

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

85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 139
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 139
Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 140
<211> 217
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<400> 140

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
```

165 170 175

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

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

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
210 215

<210> 141
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 141
Gly Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 142
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<400> 142
Glu Ala Ala Ala Lys
1 5

<210> 143
<211> 225
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(100)
<223> 此區域可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Gly Ser」重複單元

<220>
<221> SITE
<222> (101)..(225)
<223> 此區域可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 143
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40 45

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
65 70 75 80

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
85 90 95

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
165 170 175

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
180 185 190

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
195 200 205

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser
225

<210> 144
<211> 50
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(50)
<223> 此序列可以包含1-10、15、20或25個「Gly Ser」重複單元

<400> 144
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5 10 15

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
35 40 45

Gly Ser
50

<210> 145
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(125)
<223> 此序列可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 145

```
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1               5                   10                  15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            20                  25                  30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        35                  40                  45

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
65                  70                  75                  80

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
                85                  90                  95

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
            100                 105                 110

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
        115                 120                 125
```

<210> 146

<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(75)
<223> 此序列可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Ser」重複單元

<400> 146
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
35 40 45

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
50 55 60

Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
65 70 75

<210> 147
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(100)
<223> 此序列可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 147
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
35 40 45

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
65 70 75 80

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
85 90 95

Gly Gly Gly Ser
100

<210> 148
<211> 100
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(100)
<223> 此序列可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Ser Gly」重複單元

<400> 148
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
20 25 30

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
35 40 45

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
65 70 75 80

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Gly
100

<210> 149
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成多肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(125)
<223> 此序列可以包含1-10、15、20或25個「Gly Gly Gly Ser Ser」重複單元

<400> 149
Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly
35 40 45

Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser
50 55 60

Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser
65 70 75 80

Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly
85 90 95

Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly
100 105 110

Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Ser Ser
115 120 125

<210> 150
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5)..(5)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (7)..(7)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (9)..(9)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11)..(11)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (13)..(13)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (15)..(15)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (17)..(17)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> MOD_RES
<222> (19)..(19)
<223> 任何胺基酸

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(20)
<223> 此序列可以包含1-10個「Xaa Pro」重複單元

<220>
<223> 參見申請之說明書以獲得取代及較佳實施例的詳細描述

<400> 150
Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro Xaa Pro
1 5 10 15

Xaa Pro Xaa Pro
20

<210> 151
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列之描述：合成肽

<220>
<221> SITE
<222> (1)..(25)
<223> 此序列可以包含2-5個「Gly Gly Gly Gly Ser」重複單元

<400> 151
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

【發明申請專利範圍】

【請求項 1】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含：

a. 具有 SEQ ID NO:1 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:2 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:3 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）；

b. 具有 SEQ ID NO:4 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:5 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:6 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

c. 具有 SEQ ID NO:8 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:9 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:10 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

d. 具有 SEQ ID NO:11 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:12 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:13 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

e. 具有 SEQ ID NO:15 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:16 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:17 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

f. 具有 SEQ ID NO:18 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:19 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:20 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

g. 具有 SEQ ID NO:22 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:23 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:24 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

h. 具有 SEQ ID NO:25 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:26 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:27 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

i. 具有 SEQ ID NO:29 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:30 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:31 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

j. 具有 SEQ ID NO:32 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:33 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:34 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

k. 具有 SEQ ID NO:36 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:37 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:38 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

l. 具有 SEQ ID NO:39 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:40 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:41 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

m. 具有 SEQ ID NO:43 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:44 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:45 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

n. 具有 SEQ ID NO:46 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:47 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:48 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

o. 具有 SEQ ID NO:50 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:51 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:52 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

p. 具有 SEQ ID NO:53 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:54 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:55 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

q. 具有與 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

r. 具有與 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

s. 具有與 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

t. 具有與 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

u. 具有與 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

v. 具有與 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

w. 具有與 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；或

x. 具有與 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。

【請求項 2】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含：

a. 具有 SEQ ID NO:57 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:58 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:59 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）；

b. 具有 SEQ ID NO:60 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:61 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:62 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；或

c. 具有與 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。

【請求項 3】 一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含：

a. 具有 SEQ ID NO:64 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:65 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:66 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）；

b. 具有 SEQ ID NO:67 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:68 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:69 中所述之胺基酸序列的 CDRH3，或

c. 具有與 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈。

【請求項 4】 一種包含一或多個抗原結合域之結合劑，其中該等抗原結合域中之至少一個選自：

a. 如請求項 1 所述之抗原結合域 1（ABD1）、

b. 如請求項 2 所述之抗原結合域 2（ABD2）或

c. 如請求項 3 所述之抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 5】 一種結合劑，其包含：

a. 具有 SEQ ID NO:1 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:2 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:3 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）；

b. 具有 SEQ ID NO:4 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:5 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:6 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

c. 具有 SEQ ID NO:8 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:9 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:10 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

d. 具有 SEQ ID NO:11 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:12 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:13 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

e. 具有 SEQ ID NO:15 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:16 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:17 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

f. 具有 SEQ ID NO:18 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:19 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:20 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

g. 具有 SEQ ID NO:22 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:23 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:24 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

h. 具有 SEQ ID NO:25 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:26 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:27 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

i. 具有 SEQ ID NO:29 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:30 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:31 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

j. 具有 SEQ ID NO:32 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:33 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:34 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

k. 具有 SEQ ID NO:36 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:37 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:38 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

l. 具有 SEQ ID NO:39 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:40 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:41 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

m. 具有 SEQ ID NO:43 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:44 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:45 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

n. 具有 SEQ ID NO:46 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:47 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:48 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

o. 具有 SEQ ID NO:50 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:51 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:52 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

p. 具有 SEQ ID NO:53 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:54 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:55 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

q. 具有與 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

r. 具有與 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、

95%一致的胺基酸序列的重鏈；

s. 具有與 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

t. 具有與 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

u. 具有與 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

v. 具有與 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

w. 具有與 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

x. 具有與 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

y. 具有 SEQ ID NO:57 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:58 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:59 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）；

z. 具有 SEQ ID NO:60 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:61 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:62 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

aa. 具有與 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；

bb. 具有 SEQ ID NO:64 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 1（CRDH1）、具有 SEQ ID NO:65 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 2（CDRH2）及具有 SEQ ID NO:66 中所述之胺基酸序列的重鏈互補決定區 3（CDRH3）；

cc. 具有 SEQ ID NO:67 中所述之胺基酸序列的 CRDH1、具有 SEQ ID NO:68 中所述之胺基酸序列的 CDRH2 及具有 SEQ ID NO:69 中所述之胺基酸序列的 CDRH3；

dd. 具有與 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%一致的胺基酸序列的重鏈；或

ee. a.至 dd.中之任一者的組合。

【請求項 6】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含超過一個抗原結合域。

【請求項 7】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含兩個或更多個抗原結合域。

【請求項 8】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含三個或更多個抗原結合域。

【請求項 9】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含四個或更多個抗原結合域。

【請求項 10】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含五個或更多個抗原結合域。

【請求項 11】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含六個或更多個抗原結合域。

【請求項 12】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含一個與十二個之間的抗原結合域。

【請求項 13】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該等抗原結合域中之至少一個能夠與腫瘤細胞結合。

【請求項 14】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該等抗原結合域中之至少一個能夠與免疫調節劑結合。

【請求項 15】如請求項 14 之結合劑，其中該免疫調節劑係免疫檢查點蛋白。

【請求項 16】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該等抗原結合域中之至少一個能夠與免疫細胞結合。

【請求項 17】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該等抗原結合域中之至少一個能夠與在免疫細胞表面處表現的蛋白結合。

【請求項 18】如請求項 16 或 17 之結合劑，其中該等免疫細胞包括 T 細胞、NK 細胞、單核球或巨噬細胞。

【請求項 19】一種結合劑，其包含超過一個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係如請求項 1 所述之抗原結合域 1（ABD1），且該等抗原結合域中之至少一個係能夠與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域。

【請求項 20】一種結合劑，其包含超過一個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係如請求項 1 所述之抗原結合域 1（ABD1），該等抗原結合域中之至少一個係能夠與免疫檢查點蛋白結合的抗原結合域，且該等抗原結合域中之至少一個係能夠與在免疫細胞表面處表現的蛋白結合的抗原結合域。

【請求項 21】 如請求項 15 至 20 中任一項之結合劑，其中該免疫檢查點蛋白係 PD-1。

【請求項 22】如請求項 17、18、20 或 21 中任一項之結合劑，其中該在免疫細胞表面處表現的蛋白係 CD47。

【請求項 23】如請求項 17、18、20 或 21 中任一項之結合劑，其中該在免疫細胞表面處表現的蛋白係 CD3。

【請求項 24】 如請求項 4 至 23 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）及至少一個抗原結合域 2（ABD2）。

【請求項 25】 如請求項 4 至 23 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）及至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 26】如請求項 4 至 23 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少一個抗原結合域 2（ABD2）及至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 27】如請求項 4 至 23 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少一個抗原結合域 1（ABD1）、至少一個抗原結合域 2（ABD2）及至少一個抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 28】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:7 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 29】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:14 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 30】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:21 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 31】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合

域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:28 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 32】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:35 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 33】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:42 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 34】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:49 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 35】一種結合劑，其包含一或多個抗原結合域，其中該等抗原結合

域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）且包含具有如 SEQ ID NO:56 中所述之胺基酸序列的重鏈，該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 2（ABD2）且包含具有如 SEQ ID NO:63 中所述之胺基酸序列的重鏈，且該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 3（ABD3）且包含具有如 SEQ ID NO:70 中所述之胺基酸序列的重鏈。

【請求項 36】如請求項 1 至 35 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含二聚化域。

【請求項 37】如請求項 36 之結合劑，其中該二聚化域包含抗體的恆定區或其一部分。

【請求項 38】如請求項 36 之結合劑，其中該二聚化域包含 CH3 域。

【請求項 39】如請求項 38 之結合劑，其中該 CH3 域係天然 CH3 域或突變 CH3 域。

【請求項 40】如請求項 38 或 39 之結合劑，其中該二聚化域亦包含 CH2 域。

【請求項 41】如請求項 40 之結合劑，其中該 CH2 域係天然 CH2 域或突變 CH2 域。

【請求項 42】如請求項 41 之結合劑，其中該二聚化域包含天然 CH2 域及天然 CH3 域。

【請求項 43】如請求項 41 之結合劑，其中該二聚化域包含天然 CH2 域及突變 CH3 域。

【請求項 44】如請求項 41 之結合劑，其中該二聚化域包含突變 CH2 域及天然 CH3 域。

【請求項 45】如請求項 41 之結合劑，其中該二聚化域包含突變 CH2 域及突變 CH3 域。

【請求項 46】如請求項 36 至 45 中任一項之結合劑，其中該結合劑亦包含

鉸鏈區。

【請求項 47】如請求項 46 之結合劑，其中該鉸鏈區係天然鉸鏈區或突變鉸鏈區。

【請求項 48】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該等抗原結合域位於一或多個多肽鏈上。

【請求項 49】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該等抗原結合域抗原位於同一多肽鏈上。

【請求項 50】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個多肽鏈。

【請求項 51】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個能夠組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含一或多個抗原結合域。

【請求項 52】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個能夠組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含不同的抗原結合域。

【請求項 53】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個能夠組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域。

【請求項 54】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）。

【請求項 55】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 2（ABD2）。

【請求項 56】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 57】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）及相同的抗原結合域 2（ABD2）。

【請求項 58】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）及相同的抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 59】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 2（ABD2）及相同的抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 60】如請求項 4 至 53 中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈包含相同的抗原結合域 1（ABD1）、相同的抗原結合域 2（ABD2）及相同抗原結合域 2（ABD3）。

【請求項 61】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個能夠組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈係相同的。

【請求項 62】如請求項 48 至 61 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 I 之胺基酸序列：

$$X\text{-}[(Ab_a)\text{-}(L_b)]_m\text{-}(DD)\text{-}[(L_c)\text{-}(Ab_d)]_n\text{-}Y$$

其中 m 係 0、1、2 或大於 2 之整數；其中 n 係 0、1、2 或大於 2 之整數；

其中 m 及 n 不同時地係 0；

其中 Ab_a、Ab_d 各自表示抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）；

其中 X 或 Y 獨立地存在或不存在，且包含胺基酸序列；

其中 L_b、L_c 各自獨立地包含一或多個連接子；且

其中 DD 表示二聚化域。

【請求項 63】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含一個抗原結合域。

【請求項 64】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含超過一個抗原結合域。

【請求項 65】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含兩個或更多個抗原結合域。

【請求項 66】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含三個或更多個抗原結合域。

【請求項 67】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含四個或更多個抗原結合域。

【請求項 68】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含五個或更多個抗原結合域。

【請求項 69】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含六個或更多個抗原結合域。

【請求項 70】 如請求項 48 至 62 中任一項之結合劑，其中該多肽鏈包含在一個與十二個之間的抗原結合域。

【請求項 71】 如請求項 62 至 70 中任一項之結合劑，其中當 m 係 2 或大於 2 之整數時，該等$[(Ab_a)-(L_b)]$單元係相同的。

【請求項 72】 如請求項 62 至 70 中任一項之結合劑，其中當 m 係 2 或大於 2 之整數時，該等$[(Ab_a)-(L_b)]$單元係不同的。

【請求項 73】 如請求項 62 至 70 中任一項之結合劑，其中當 m 係大於 2 之整數時，該等$[(Ab_a)-(L_b)]$單元包含相同及不同的單元。

【請求項 74】如請求項 62 至 73 中任一項之結合劑，其中當 n 係 2 或大於 2 之整數時，該等$[(L_c)-(Ab_d)]$單元係相同的。

【請求項 75】如請求項 62 至 73 中任一項之結合劑，其中當 n 係 2 或大於 2 之整數時，該等[(L_c)-(Ab_d)]單元係不同的。

【請求項 76】如請求項 62 至 73 中任一項之結合劑，其中當 n 係 2 或大於 2 之整數時，該等[(L_c)-(Ab_d)]單元包含相同及不同的單元。

【請求項 77】 如請求項 62 至 70 中任一項之結合劑，其中當 m 係 2 或大於 2 之整數時，每個 Ab_a 相同或不同。

【請求項 78】如請求項 62 至 70 中任一項或 77 之結合劑，其中當 m 係 2 或大於 2 之整數時，每個 Ab_d 相同或不同。

【請求項 79】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 Ab_a 表示 ABD1。

【請求項 80】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 Ab_d 表示 ABD2。

【請求項 81】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 Ab_d 表示 ABD3。

【請求項 82】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 m 係 1，且 Ab_a 表示 ABD1。

【請求項 83】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 n 係 2，且 Ab_d 中之一個表示 ABD2。

【請求項 84】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 n 係 2，且 Ab_d 中之一個表示 ABD3。

【請求項 85】如請求項 62 至 78 中任一項之結合劑，其中 n 係 2，且 Ab_d 中之一個表示 ABD2，且另一個 Ab_d 表示 ABD3。

【請求項 86】 如請求項 62 至 85 中任一項之結合劑，其中 m 係 2、3、4、5 或大於 5 之整數。

【請求項 87】如請求項 62 至 86 中任一項之結合劑，其中 n 係 3、4、5 或大於 5 之整數。

【請求項 88】 如請求項 62 至 87 中任一項之結合劑，其中 L_b 係抗體或其抗

原結合片段之鉸鏈區。

【請求項 89】如請求項 62 至 88 中任一項之結合劑，其中 L_c 係剛性連接子。

【請求項 90】 如請求項 48 至 89 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含以下中之任一者之胺基酸序列：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y$（式 II）；

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）；

$X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-Y$（式 IV）；

$X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 V）

$X-(Ab_{a1})-(L_{b2})-(Ab_{a2})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y$（式 VI）；

$X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 VII）；

$X-(Ab_{a1})-(L_{b3})-(Ab_{a2})-(L_{b2})-(Ab_{a3})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-(L_{c3})-(Ab_{d3})-Y$（式 VIII）

其中 Ab_{a1}、Ab_{a2}、Ab_{a3}、Ab_{d1}、Ab_{d2}、Ab_{d3} 各自表示抗原結合域，其中該等抗原結合域中之至少一個係抗原結合域 1（ABD1）、抗原結合域 2（ABD2）或抗原結合域 3（ABD3）

其中 L_{b1} 包含一個連接子或多個連接子及/或抗體或其抗原結合片段的鉸鏈區；

其中 L_{b2}、L_{b3}、L_{c1}、L_{c2} 及 L_{c3} 各自獨立地包含一個連接子或多個連接子，且；

其中 DD 表示二聚化域。

【請求項 91】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 1（ABD1）。

【請求項 92】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 2（ABD2）。

【請求項 93】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 94】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）；

其中 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 1（ABD1），Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 2（ABD2），且 Ab_{a1}、Ab_{d1} 或 Ab_{d2} 中之一個表示抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 95】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 III 之胺基酸序列：

$X-(Ab_{a1})-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(Ab_{d1})-(L_{c2})-(Ab_{d2})-Y$（式 III）；

其中 Ab_{a1} 表示抗原結合域 1（ABD1），Ab_{d1} 表示抗原結合域 2（ABD2），且 Ab_{d2} 表示抗原結合域 3（ABD3）。

【請求項 96】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 IIIa 之胺基酸序列：

$X-(ABD1)-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(ABD2)-(L_{c2})-(ABD3)-Y$（式 IIIa）。

【請求項 97】 如請求項 48 至 90 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈中之每一個獨立地以 N 端至 C 端方式包含式 IIIb 之胺基酸序列：

X-(ABD1)-(L_{b1})-(DD)-(L_{c1})-(ABD3)-(L_{c2})-(ABD2)-Y（式 IIIB）。

【請求項 98】 如請求項 36 至 97 中任一項之結合劑，其中該二聚化域包含天然人類 IgG1 CH2 及突變 IgG1 CH3。

【請求項 99】 如請求項 97 之結合劑，其中該突變 IgG1 CH3 根據 EU 編號在對應於 D399、D/E356 及/或 K370 的位置處包含一或多個胺基酸取代或在對應於 D399、E357 及/或 K439 的位置處包含一或多個突變。

【請求項 100】 如請求項 99 之結合劑，其中該突變 IgG1 CH3 域根據 EU 編號進一步在對應於 Y349、T350、L351、P352、S354、R/Q355、T394 及/或 P395 的位置處包含一或多個胺基酸取代。

【請求項 101】 如請求項 99 或 100 中任一項之結合劑，其中該突變 CH3 域包含選自以下的突變：

d. 突變 D399N、D/E356Q、K370E；

e. 突變 D399N、K439E、E357Q；

f. 突變 D399Q、D/E356Q、K370E、Y349K 及 S354K；

g. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351W；

h. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 S354M；

i. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350I；

j. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350V；

k. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352R；

l. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352E；

m. 突變 D399Q、D/E356Q 及 K370E；

n. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351Y；

o. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351H；

p. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 R355K；

q. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 Q355K；

r. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 S354K；

s. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350L；

t. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T394N；

u. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352Y；

v. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352V；

w. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352T；

x. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352L；

y. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352G；

z. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352C；

aa. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351T；

bb. 突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351A；

cc. 突變 D399Q、E357Q、K439E、Y349D 及 S354D；

dd. 突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R；

ee. 突變 In D399N、E357Q、K439E 及 L351Y；

ff. 突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350I；

gg. 突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350V；

hh. 突變 D399Q、K439E、E357Q；

ii. 突變 D399N、K439E、E357Q、S354K；

jj. 突變 D399N、K439E、E357Q、S354W；

kk. 突變 D399N、K439E、E357Q、Y349R；

ll. 突變 D399N、K439E、E357Q、T350L；

mm. 突變 D399N、K439E、E357Q、R355W；

nn. 突變 D399N、K439E、E357Q、Q355W；

oo. 突變 D399N、K439E、E357Q、P395I；

pp. 突變 D399N、K439E、E357Q、P395G；

qq. 突變 D399N、K439E、E357Q、P395E；

rr. 突變 D399N、K439E、E357Q、P352K；

ss. 突變 D399N、K439E、E357Q、P352D；及

tt. 突變 D399N、K439E、E357Q、L351D。

【請求項 102】 如請求項 62 至 101 中任一項之結合劑，其中該等連接子中之每一個獨立地具有長度為至少 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸的殘基。

【請求項 103】 如請求項 62 至 102 中任一項之結合劑，其中該等連接子中之每一個獨立地係可撓性連接子、螺旋連接子或剛性連接子。

【請求項 104】如請求項 103 之結合劑，其中該等連接子包含可撓性連接子。

【請求項 105】 如請求項 103 之結合劑，其中該等連接子包含剛性連接子。

【請求項 106】 如請求項 90 至 105 中任一項之結合劑，其中 L_{c1}、L_{c2} 及/或 L_{c3} 係剛性連接子。

【請求項 107】 如請求項 62 至 106 中任一項之結合劑，其中該一或多個多肽鏈進一步包含抗體或其抗原結合片段之鉸鏈區。

【請求項 108】 如請求項 107 之結合劑，其中該鉸鏈區係在該二聚化域之 N 端處。

【請求項 109】 如請求項 107 或 108 之結合劑，其中該鉸鏈區係來自 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。

【請求項 110】 如前述請求項中任一項之結合劑，其中每個抗原結合域能夠

特異性地與不同抗原決定基結合。

【請求項 111】如前述請求項中任一項之結合劑，其中每個抗原結合域能夠特異性地與不同抗原結合。

【請求項 112】如前述請求項中任一項之結合劑，其中每個抗原結合域能夠特異性地與不同蛋白質結合。

【請求項 113】如請求項 50 至 112 中任一項之結合劑，其中

該兩個多肽鏈中之一個包含第一個二聚化域（DD_1），該第一個二聚化域包含突變 CH3 域，該突變 CH3 域在根據 EU 編號對應於 D399、D/E356 及/或 K370 的位置處包含一或多個胺基酸取代；

以及

該兩個多肽鏈中之另一個包含第二個二聚化域（DD_2），該第二個二聚化域包含突變 CH3 域，該突變 CH3 域在根據 EU 編號對應於 D399、E357 及/或 K439 的位置處包含一或多個胺基酸取代。

【請求項 114】如請求項 113 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q 及 K370E 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q 及 K439E 的突變 CH3 域。

【請求項 115】如請求項 113 或 114 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）及/或該第二個二聚化域（DD_2）包含突變 CH3 域，該突變 CH3 域進一步在根據 EU 編號對應於 Y349、T350、L351、P352 及/或 S354 的位置處包含胺基酸取代。

【請求項 116】如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399Q、D/E356Q、K370E、Y349K 及 S354K 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399Q、E357Q、K439E、Y349D 及 S354D 的突變 CH3 域。

【請求項 117】 如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 L351W 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R 的突變 CH3 域。

【請求項 118】 如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 S354M 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351Y 的突變 CH3 域。

【請求項 119】 如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350I 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350I 的突變 CH3 域。

【請求項 120】 如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 T350V 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 T350V 的突變 CH3 域。

【請求項 121】 如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352R 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R 的突變 CH3 域。

【請求項 122】 如請求項 115 之結合劑，其中該第一個二聚化域（DD_1）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、D/E356Q、K370E 及 P352E 的突變 CH3 域，且其中該第二個二聚化域（DD_2）包含有包含根據 EU 編號的突變 D399N、E357Q、K439E 及 L351R 的突變 CH3 域。

【請求項 123】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑係多特異性的。

【請求項 124】如請求項 123 之結合劑，其中該結合劑係雙特異性的、三特異性的或四特異性的。

【請求項 125】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑係多價的。

【請求項 126】如請求項 48 至 124 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈具有相同的價位和特異性。

【請求項 127】如請求項 48 至 125 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈具有不同的價位和特異性。

【請求項 128】如請求項 48 至 127 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈各自係抗體重鏈。

【請求項 129】如請求項 48 至 128 中任一項之結合劑，其中該結合劑係雙特異性抗體。

【請求項 130】如請求項 129 之結合劑，其中該雙特異性抗體進一步包含第一抗體輕鏈及第二抗體輕鏈。

【請求項 131】如前述請求項中任一項之結合劑，其中一或多個抗原結合域經人類化。

【請求項 132】如請求項 62 至 131 中任一項之結合劑，其中 X 或 Y 獨立地選自連接子、細胞介素、趨化介素、標籤、掩蔽域、噬菌體外殼蛋白（pIII、pVI、pV、pVII 或 pIX）、抗原結合域或其組合。

【請求項 133】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑係抗體或其抗原結合片段。

【請求項 134】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑係抗體樣分子。

【請求項135】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含蛋白支架。

【請求項136】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含免疫細胞調節劑。

【請求項137】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:77中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【請求項138】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:78中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【請求項139】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:79中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【請求項140】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:80中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【請求項141】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:81中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【請求項142】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:82中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或100%一致的胺基酸序列。

【請求項143】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與SEQ ID NO:83中所述之胺基酸序列至少75%、80%、85%、90%、

95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。

【請求項 144】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與 SEQ ID NO:85 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。

【請求項 145】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與 SEQ ID NO:86 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。

【請求項 146】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與 SEQ ID NO:87 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。

【請求項 147】一種結合劑，其包含一或多個多肽鏈，其中該等多肽鏈中之至少一個具有與 SEQ ID NO:88 中所述之胺基酸序列至少 75%、80%、85%、90%、95%、99%或 100%一致的胺基酸序列。

【請求項 148】如請求項 137 至 147 中任一項之結合劑，其中該等多肽鏈包含在該等互補決定區之外的胺基酸取代、添加或缺失。

【請求項 149】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑包含至少兩個能夠組裝形成二聚體的多肽鏈，且其中每個多肽鏈係不同的。

【請求項 150】如請求項 149 之結合劑，其中該兩個多肽鏈能夠組裝形成同二聚體。

【請求項 151】如請求項 149 之結合劑，其中該兩個多肽鏈能夠組裝形成異二聚體。

【請求項 152】一種結合劑，其選自：

a. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:77 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

b. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:78 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

c. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:79 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

d. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:80 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

e. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:81 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

f. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:82 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

g. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:83 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

h. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:85 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

i. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:86 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；

j. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:87 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑；或

k. 包含兩個各自具有如 SEQ ID NO:88 中所述之胺基酸序列之多肽鏈之結合劑。

【請求項 153】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑與治療性部分綴合。

【請求項 154】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑與可偵測部分綴合。

【請求項 155】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑與允許延長半衰期的蛋白綴合。

【請求項 156】如前述請求項中任一項之結合劑，其中該結合劑與奈米粒子連接。

【請求項 157】一種組合物，其包含如前述請求項中任一項之結合劑。

【請求項 158】如請求項 157 之組合物，其中該組合物包含單體、二聚體及其混合物。

【請求項 159】如請求項 158 之組合物，其中大於 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的該組合物包含二聚體。

【請求項 160】如請求項 158 之組合物，其中大於 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的該組合物包含同二聚體。

【請求項 161】如請求項 158 之組合物，其中大於 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或 99%的該組合物包含異二聚體。

【請求項 162】一種醫藥組合物，其包含如前述請求項中任一項之結合劑及醫藥學上可接受之載劑。

【請求項 163】如請求項 162 之醫藥組合物，其包含純度水準在 80.0%至 99.9%之間的結合劑。

【請求項 164】一種核酸或核酸組，其編碼如前述請求項中任一項之結合劑。

【請求項 165】一種載體，其包含如請求項 164 之核酸。

【請求項 166】一種細胞，其表現如前述請求項中任一項之結合劑。

【請求項 167】一種細胞，其包含如請求項 164 之核酸或如請求項 165 之載體。

【請求項 168】一種套組，其包含如請求項 1 至 156 中任一項之結合劑。

【請求項 169】一種套組，其包含如請求項 164 之核酸，或如請求項 165 之

載體或如請求項 166 或 167 之細胞。

【請求項 170】 一種治療病症或疾病之方法，其包含投與如請求項 1 至 156 中任一項之結合劑、如請求項 157 至 161 中任一項之組合物或如請求項 162 或 163 之醫藥組合物。

【請求項 171】 如請求項 170 之方法，其中該病症或疾病係癌症。

【請求項 172】 如請求項 170 或 171 之方法，其中該病症或疾病係實性瘤。

【請求項 173】 如請求項 170 至 172 中任一項之方法，其中該病症或疾病係晚期轉移性實性癌。

【請求項 174】 如請求項 170 至 172 中任一項之方法，其中該病症或疾病係血液性癌症。

【請求項 175】 如請求項 170 至 173 中任一項之方法，其中該病症或疾病係肺癌。

【請求項 176】 如請求項 175 之方法，其中該肺癌係小細胞肺癌。

【請求項 177】 如請求項 175 之方法，其中該肺癌係非小細胞肺癌。

【請求項 178】 如請求項 175 至 177 中任一項之方法，其中該肺癌係轉移性的。

【請求項 179】 如請求項 170 至 173 中任一項之方法，其中該病症或疾病係骨髓瘤。

【請求項 180】 一種製造如請求項 1 至 152 中任一項之結合劑之方法，該方法包含用一或多種載體對細胞進行轉型，該一或多種載體包含如請求項 163 之核酸或核酸組。

【請求項 181】 如請求項 180 之方法，其中該結合劑係自該等細胞純化的。

【請求項 182】 如請求項 181 之方法，其中該結合劑之純度水準係在 80.0% 至 99.9%之間。

【請求項 183】如請求項 180 至 182 中任一項之方法，其進一步包含將該結合劑與治療性部分、可偵測部分、允許延長半衰期的蛋白綴合或與奈米粒子連接。

(發明圖式)

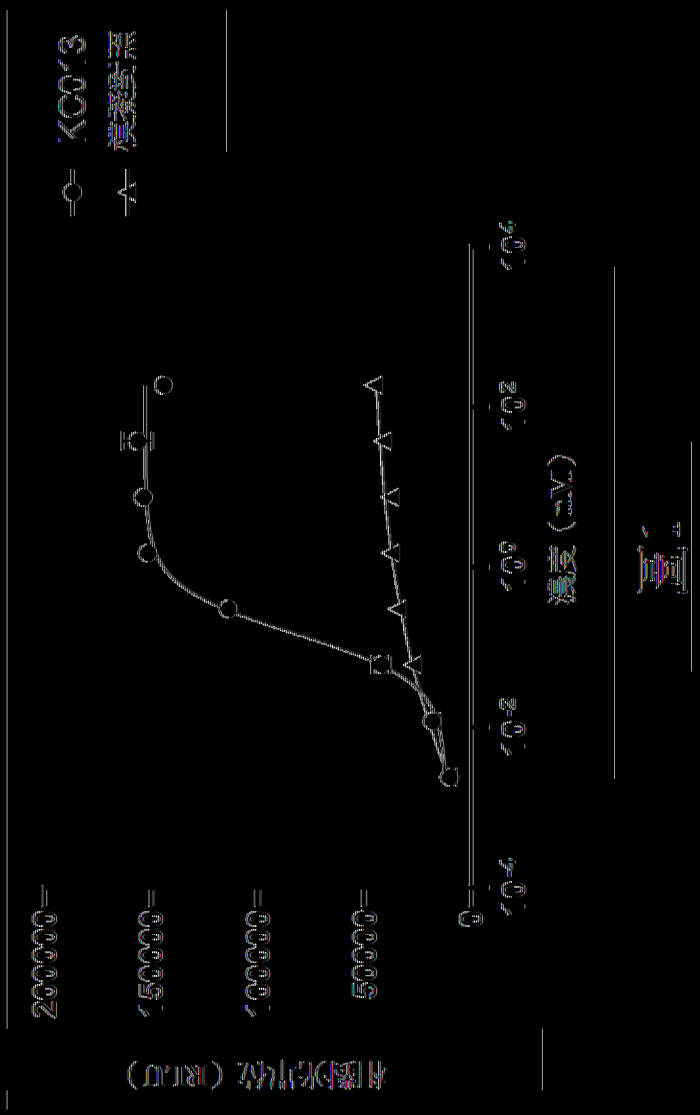

相對於時間 (arb.u.)
2,000,000
1,500,000
1,000,000
500,000
0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
電壓 (eV)
時間
陰極電壓
陽極電壓

表2

名稱	X01.8	多元族	X01.1	X01.2	X01.3	X01.4
生物族系	=Sa(sV)	=Sa(sV)	=Sa(sV)	=Sa(sV)	=Sa(sV)	=Sa(sV)
Gn1	-	9.38 9.13	- 7.04	- 7.09	6.37 6.04	7.9 6.91
Gn3	-	- -	- -	- -	- -	- -
Gn7	-	- -	- -	- -	- -	- -
Gn4/6	-	- -	- -	- -	- -	- -
Gn12	-	8.23 8.21	- -	V5 V5	- -	- -
Gn9A	-	8.98 8.64	- -	- -	- -	- -
Gn13	-	- -	- -	- -	- -	- -
Zn12	-	7.43 7.84	- -	- -	- -	- -

NS：不符合資格

圖1

(A)
(B)
(C)
XC-1
XC-2
XC-3
相對於KCO1S的變化(%)
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
-10
-12
-14
-16
-18
-20
-22
-24
-26
-28
-30
-32
-34
-36
-38
-40
-42
-44
-46
-48
-50
-52
-54
-56
-58
-60
-62
-64
-66
-68
-70
-72
-74
-76
-78
-80
-82
-84
-86
-88
-90
-92
-94
-96
-98
-100
CREEP (CF)
GRAM
NZR
ROX1
RB
VCA
VDR
VAPTOR
MCOR
RKGA
XC0'3，6小時
XC0'3，3小時
圖5

圖 9

組別	數量 (n)	劑量 (μg/kg)	小時內總發光 (μg/ml)
對照組	10	0	528
實施例 1	10	30	439
實施例 2	10	50	439

組別	數量 (n)	劑量 (μg/kg)	小時內總發光 (μg/ml)
對照組	10	0	528
實施例 1	10	30	436
實施例 2	10	50	437

(A)
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
50
60
CO13
CO13
(B)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
0
10
20
30
40
50
60
CO13
CO13
進入後天數

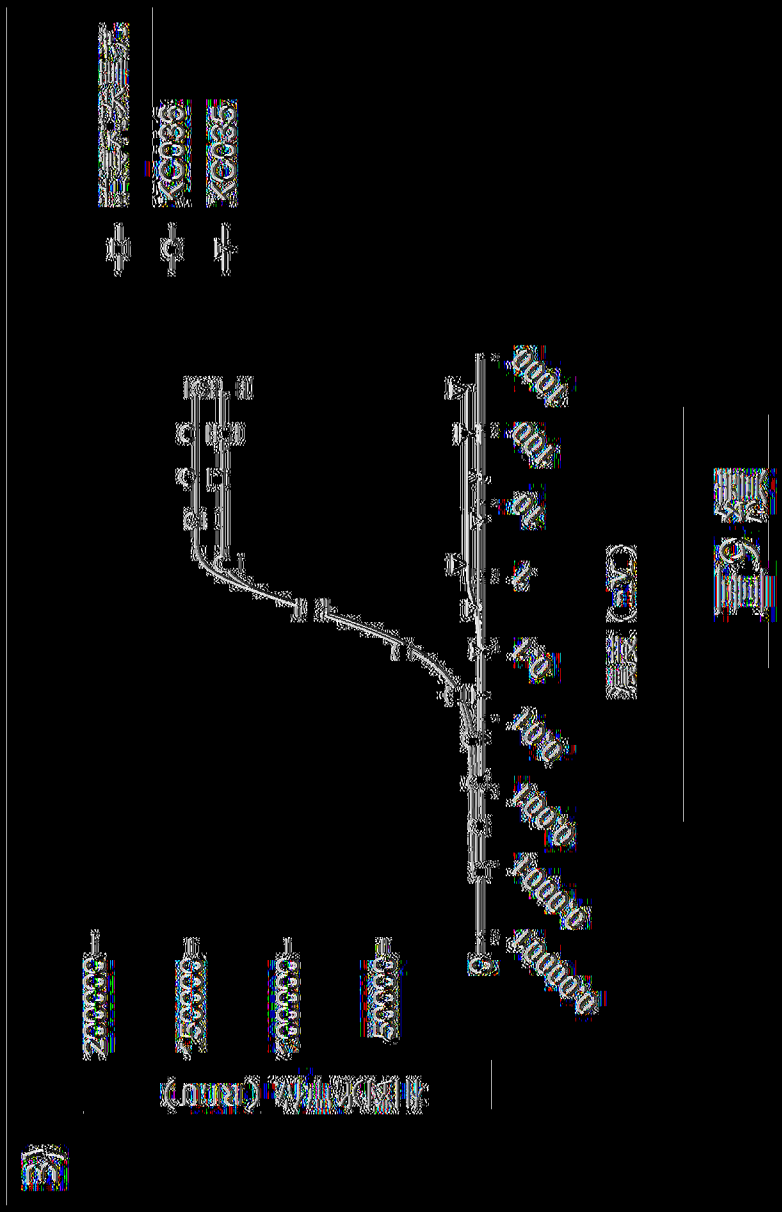
圖7

圖 5
浸入深度
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
400
350
300
250
200
150
100
50
0
比例常數 (mm²)
X01
X02

		TGI (%)				
	sdAb ID	NCI-H69	NCI-H510A	NCI-H727 (1M)	NCI-H727 (6M)	PANC1 (3M)
DR2	KC013	46	77	54	49	-29
	KC014	57	67	26	12	9
	KC011	53	76	31	-2	11
	KC012	43	61	43	35	55

圖8

XC035 3SA
XC035入氣口D'
XC035冷氣輸送口D'
XC035大氣口D'
XC036 3SA
XC036入氣口D'
XC036冷氣輸送口D'
XC036大氣口D'
相對濕度（RH%）
200000
150000
100000
50000
0
10
20
30
40
50
60
溫度（℃）
圖6



第6圖
時間（min）
0
10
20
30
40
50
60
相對於對照組（RCU）
×10^7
×10^6
×10^5
×10^4
×10^3
×10^2
×10^1
×10^0
×10^0.5
×10^0.6
×10^0.7
×10^0.8
×10^0.9
×10^1

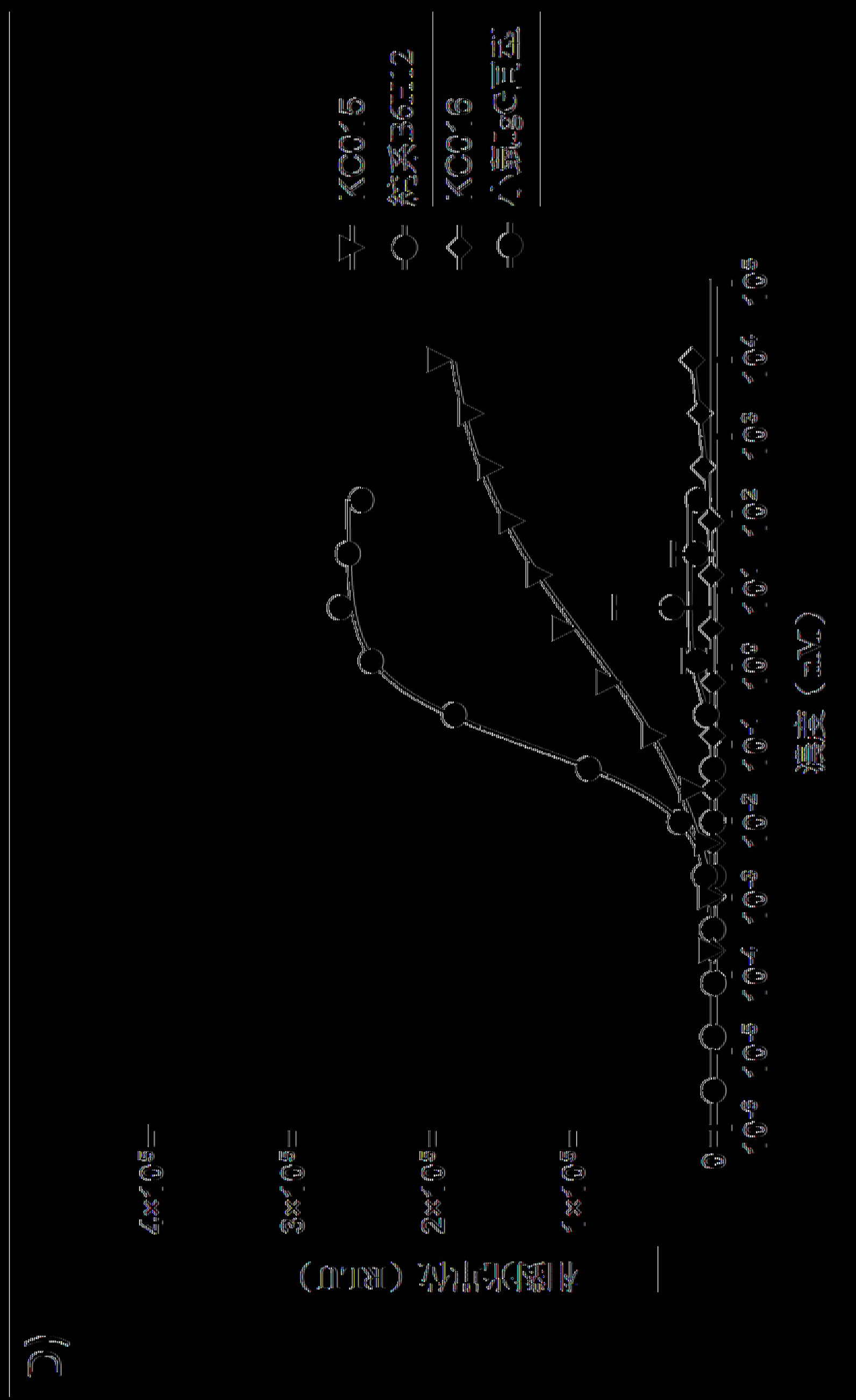

D)
4×10⁵
3×10⁵
2×10⁵
1×10⁵
0
相對發光單位（RLU）
10⁻⁶ 10⁻⁵ 10⁻⁴ 10⁻³ 10⁻² 10⁻¹ 10⁰ 10¹ 10² 10³ 10⁴ 10⁵
濃度（nM）
KC015
KC016
小鼠IgG同型

圖9續

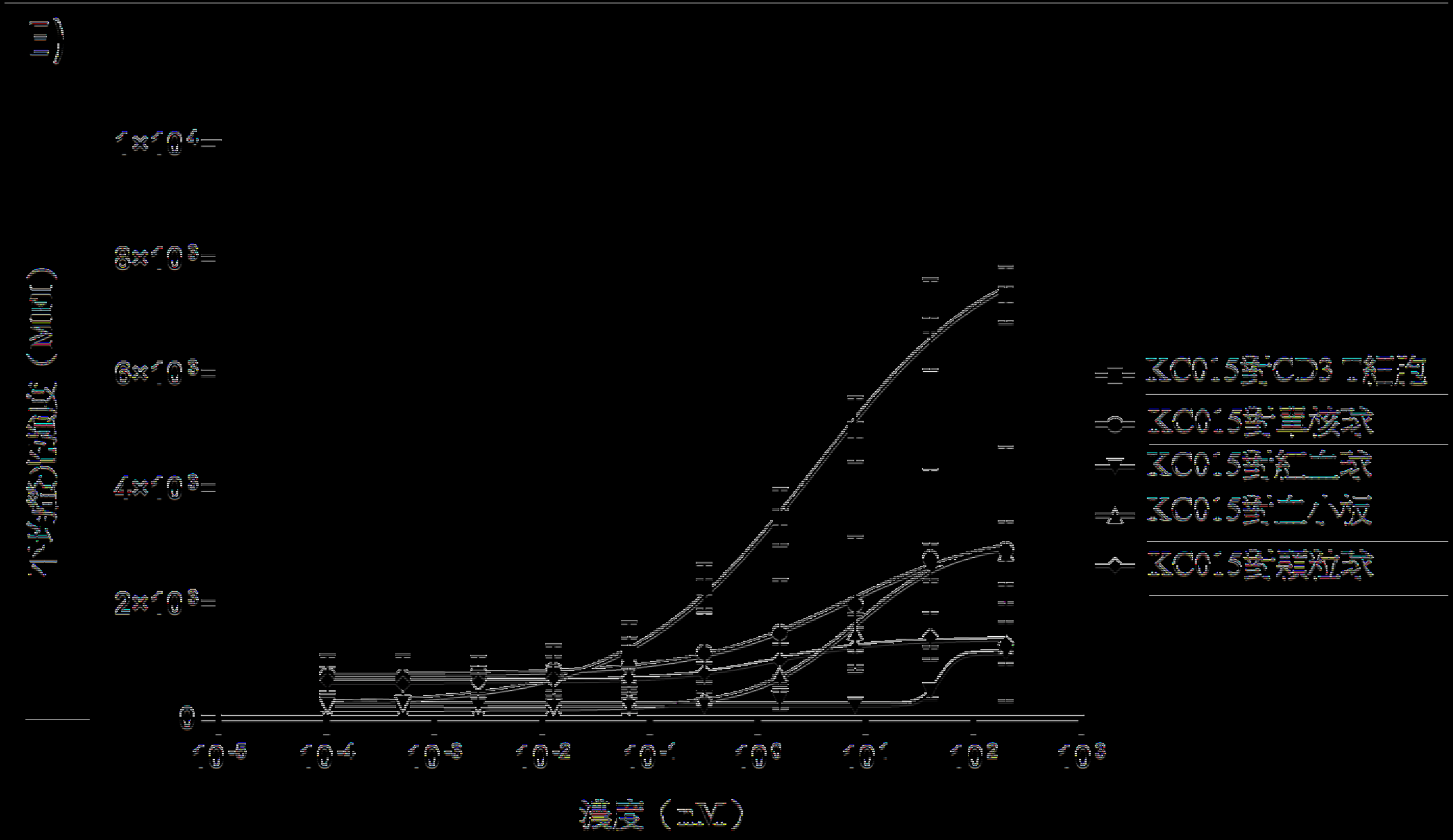

E)
平均螢光強度（MFI）
1×10⁴
8×10³
6×10³
4×10³
2×10³
0
10⁻⁵
10⁻⁴
10⁻³
10⁻²
10⁻¹
10⁰
10¹
10²
10³
濃度（nM）
KC015對CD3 T細胞
KC015對單核球
KC015對紅血球
KC015對血小板
KC015對顆粒球

圖9 續

相關係數值 (RLU)
0.0000
0.0002
0.0004
0.0006
電壓值 (V)
0.00
0.01
0.02
0.03
0.04
0.05
0.06
XC035
XC036
抗原浓度

圖 2

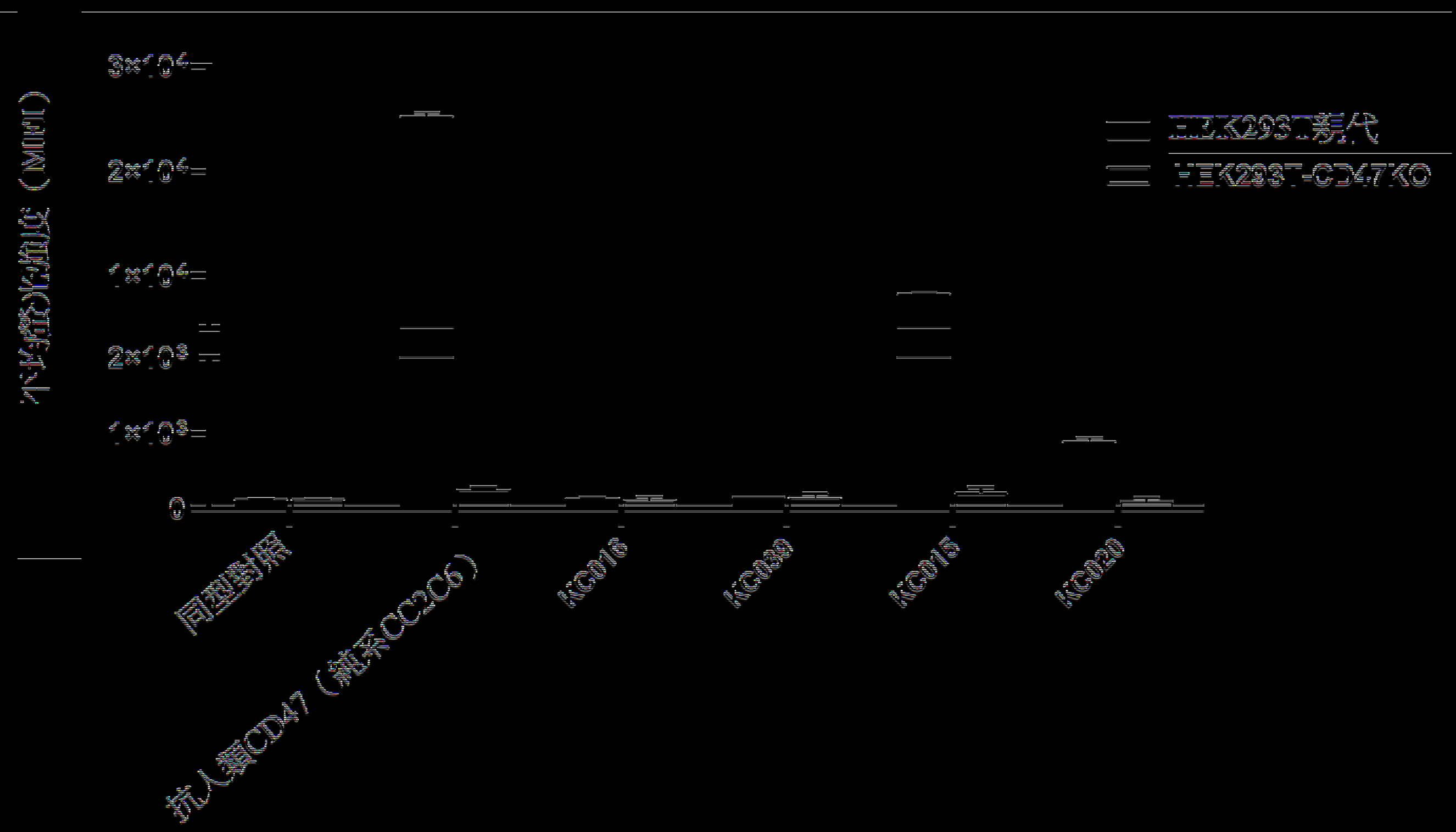

平均螢光強度（MFI）
3×10⁴
2×10⁴
1×10⁴
2×10³
1×10³
0
HEK293T親代
HEK293T-CD47KO
同型對照
抗人類CD47（純系CC2C6）
KC018
KC039
KC015
KC020

圖13

圖 1
VG = −35 V ~ 350 V
K0035
K0034
K0040
Kisobodyポンズ/Mπ
0
300
600
1200
2000

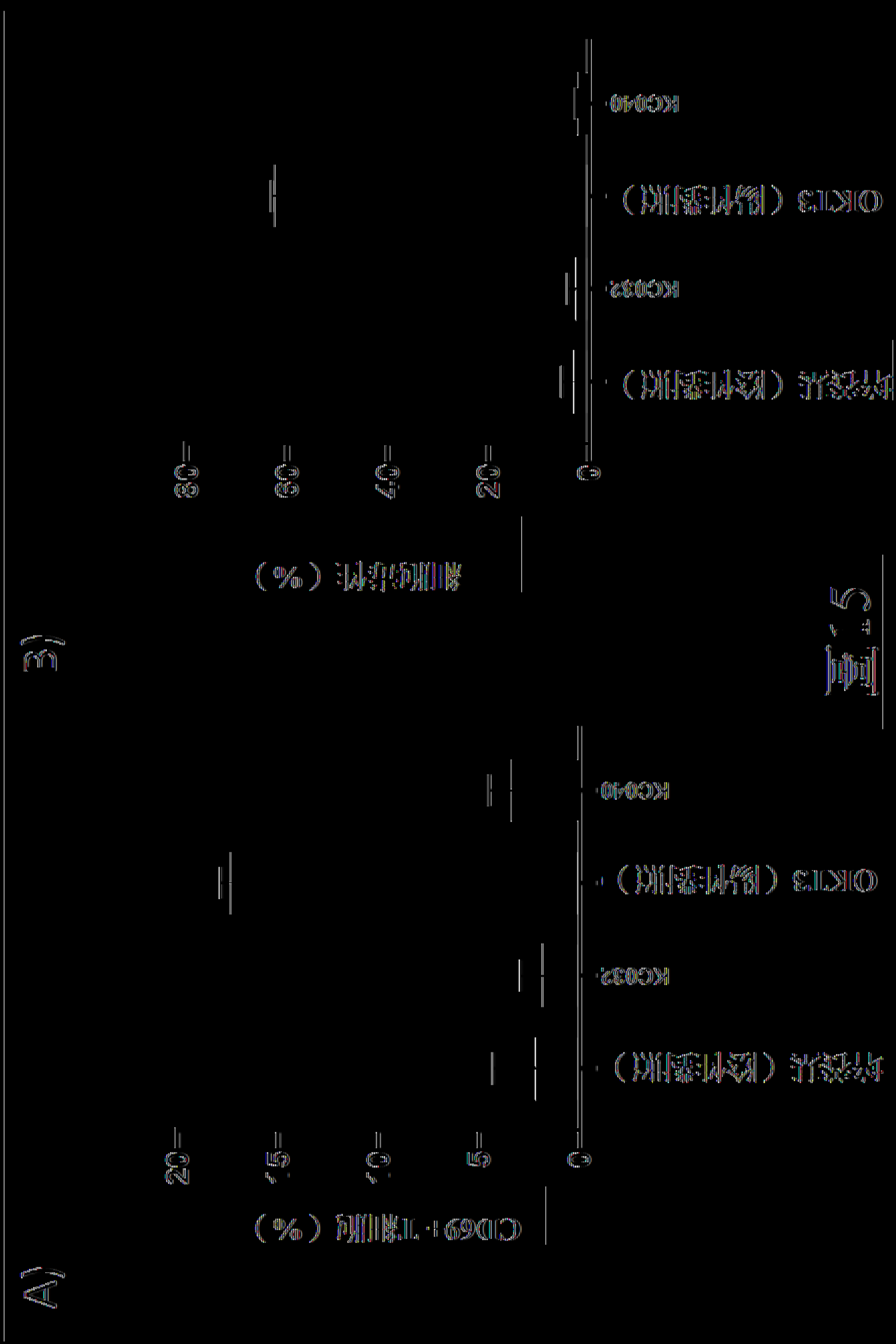

A)
CD69+ T細胞（%）
20
15
10
5
0
陰性對照（同種型對照）
KC032
OKT3（陽性對照）
KC040
B)
細胞毒性（%）
80
60
40
20
0
陰性對照（同種型對照）
KC032
OKT3（陽性對照）
KC040

圖 15

無定形二酸化珪素（%）
0
1
2
3
4
5
6
実施例
比較例1
比較例2
比較例3
比較例4
比較例5
比較例6
比較例7
比較例8
比較例9
比較例10

相關強度（dBm）
0.0002
0.0004
0.0006
0.0008
0.0010
0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
時間（μs）
X0'5
X0'6
X3'12
X3'13

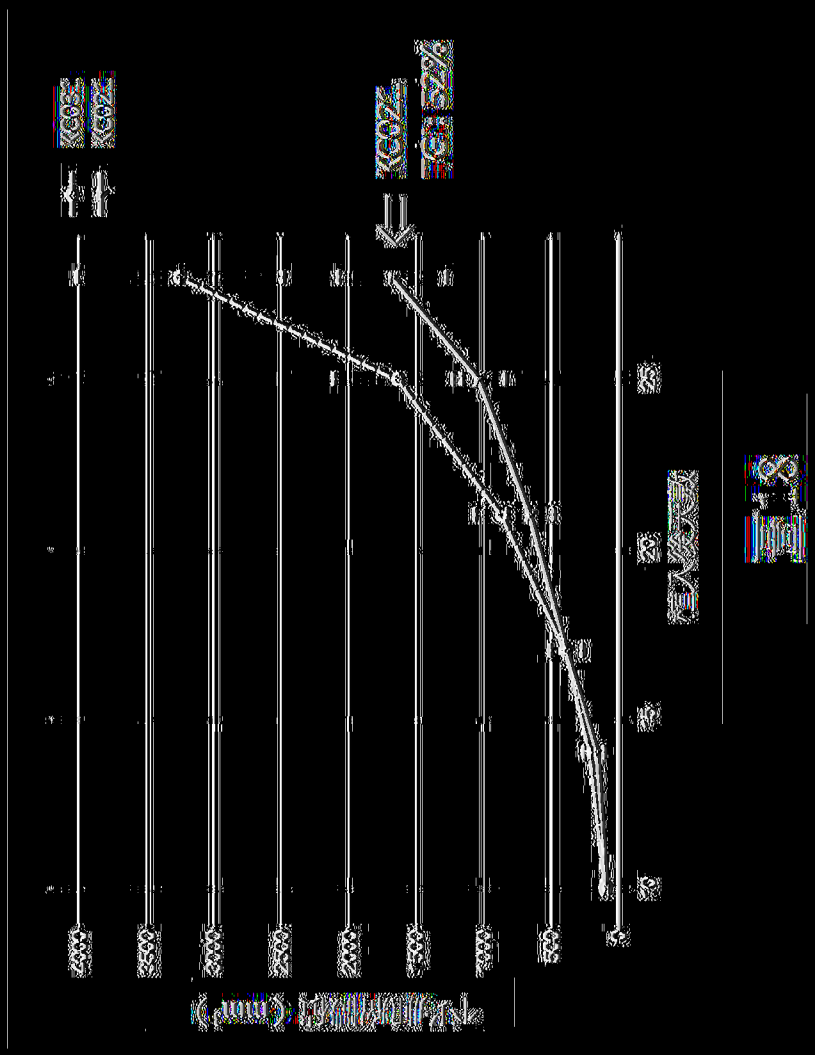
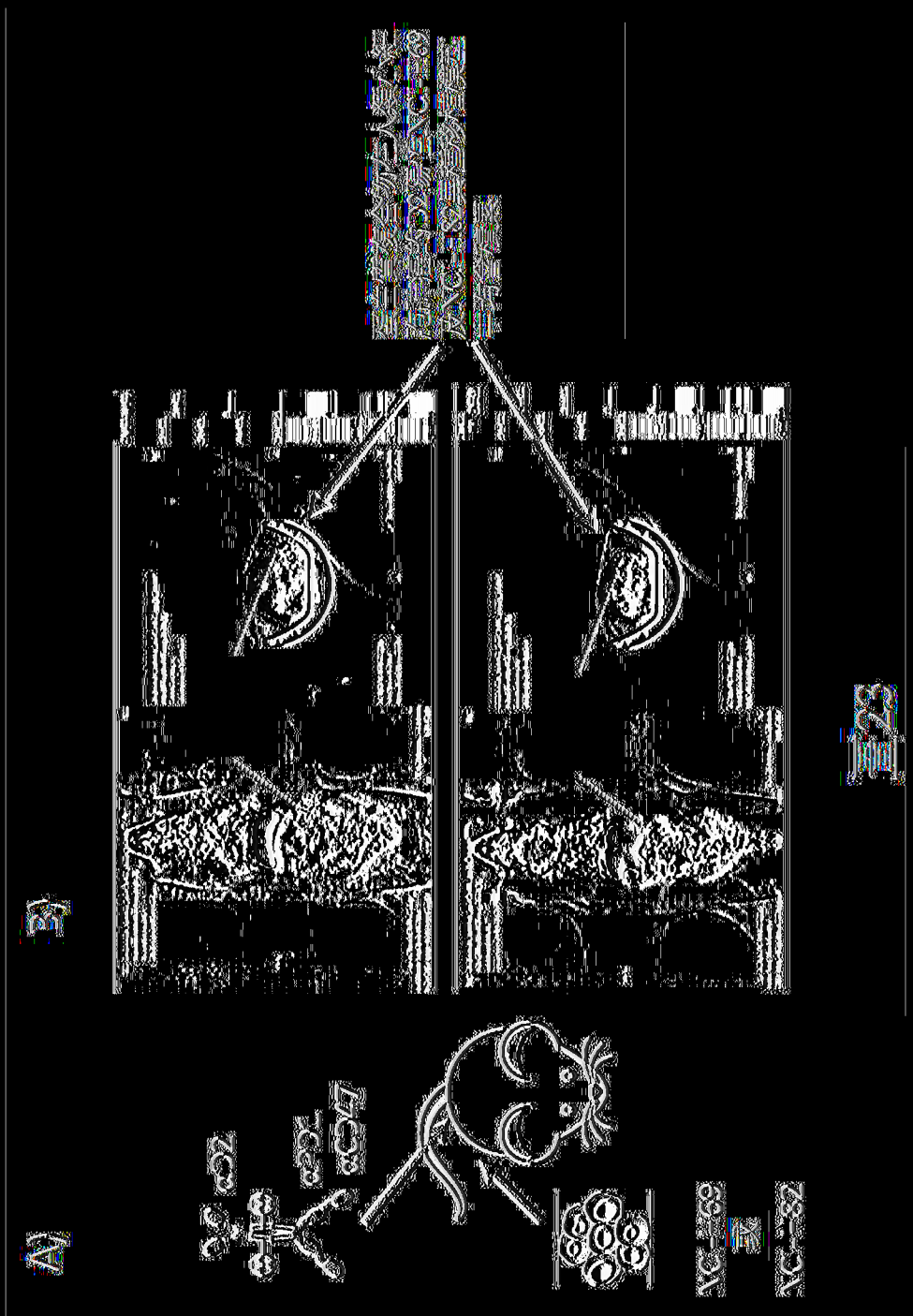
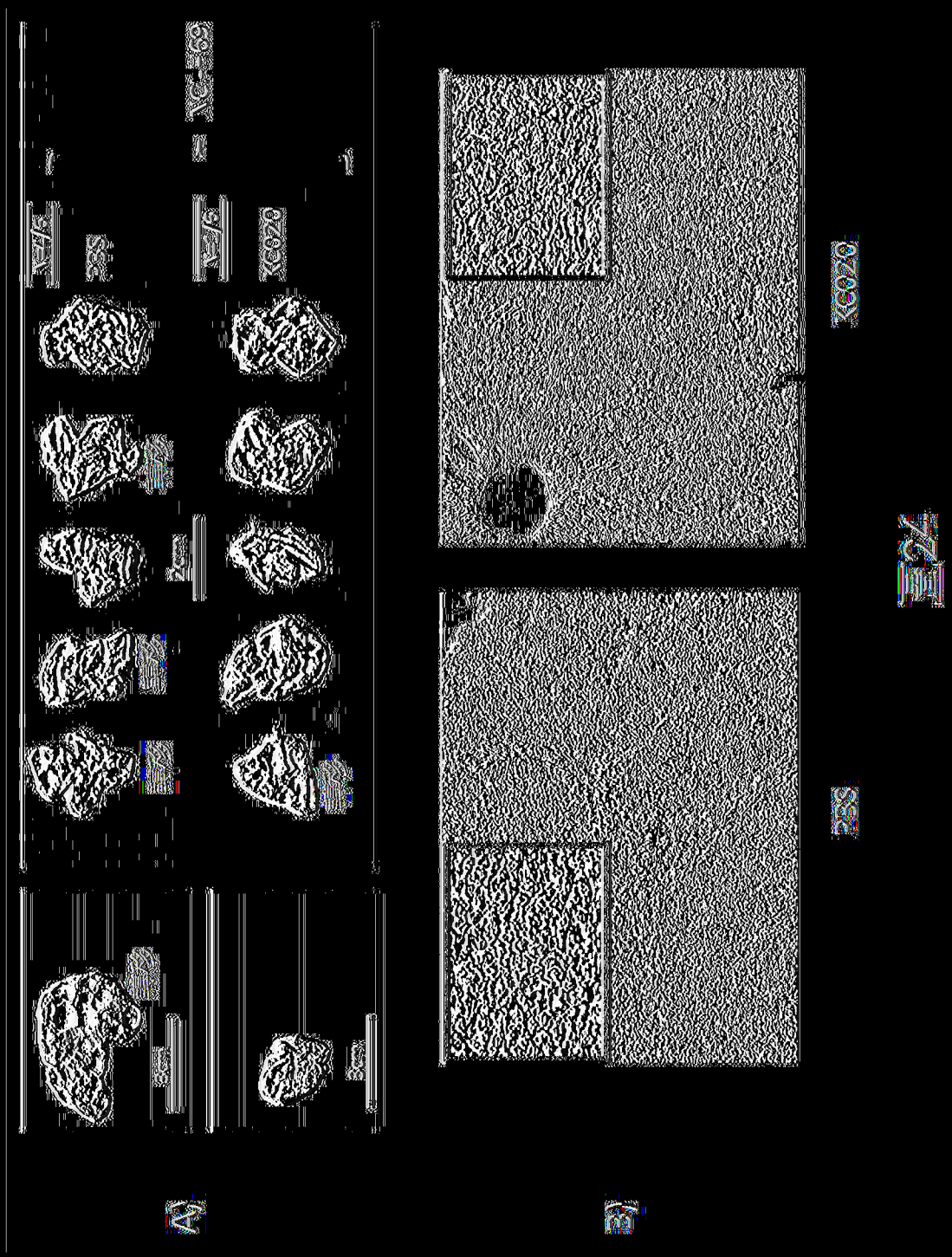


表20

客戶簡稱	客戶名稱	毛利率(%)	占比(%)
X0020	X0001	74.02	0.01
X0024	X0007	63.02	0.01
X0022	X0005	39.78	0.02
X0023	X0003	32.03	0.03
X0023	X0006	47.17	0.01
X0026	X0004	46.07	0.01





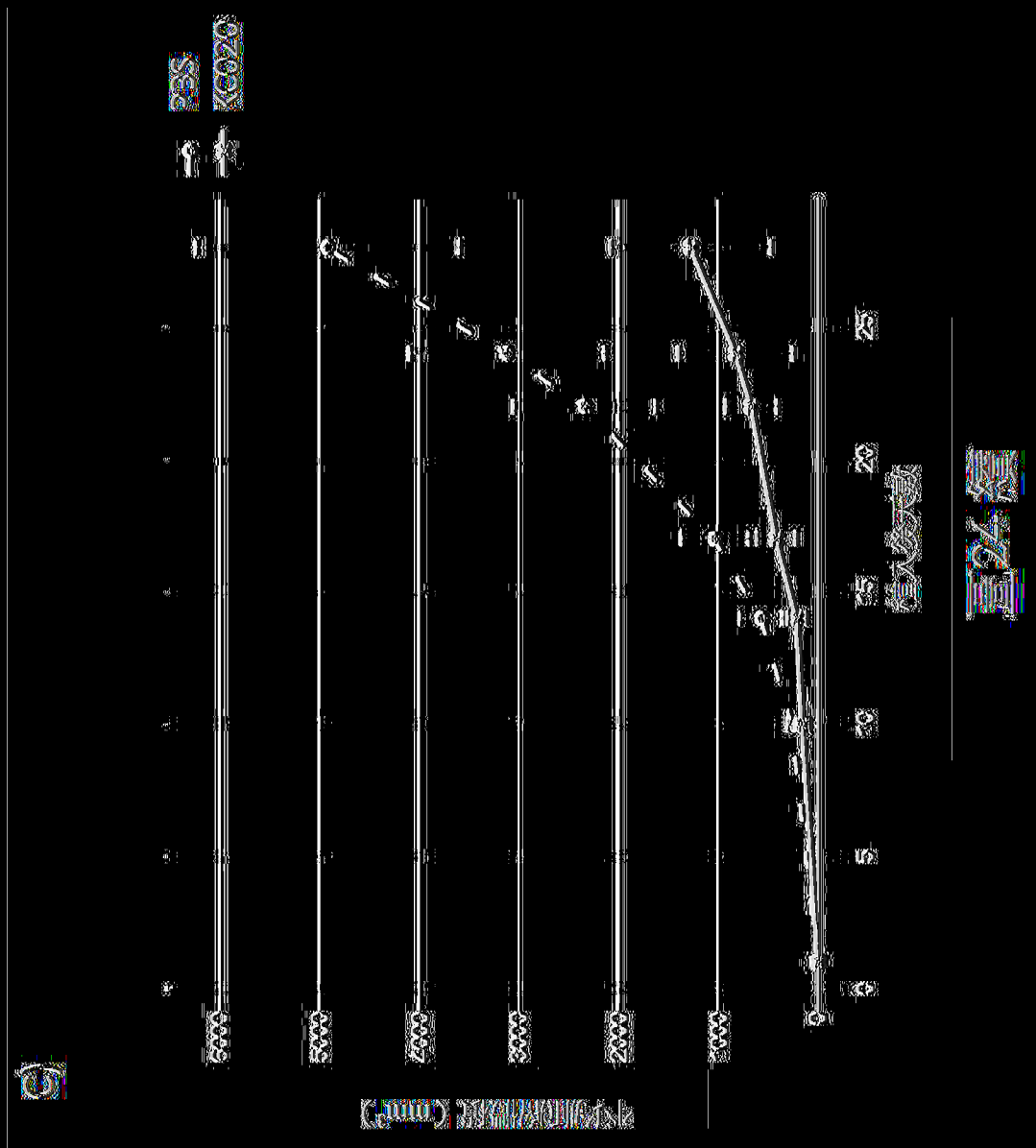


圖25

圖26

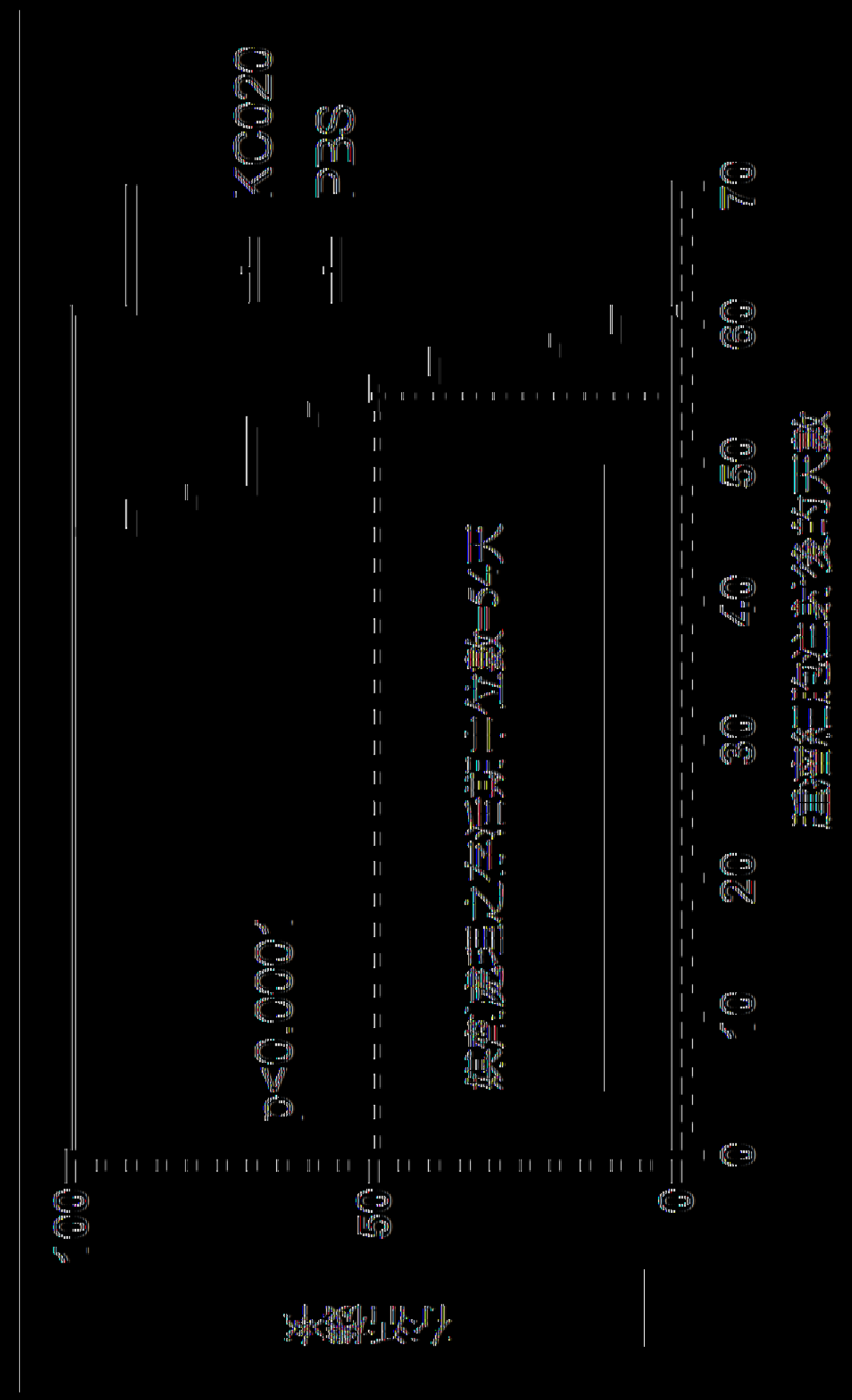

100
50
0
存活機率
p<0.0001
媒劑處理之存活期中位數=54天
KC020
PBS
0
10
20
30
40
50
60
70
腫瘤細胞注射後的天數

圖27