



(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 201809013 A

(43) 公開日：中華民國 107 (2018) 年 03 月 16 日

(21) 申請案號：106118737

(22) 申請日：中華民國 106 (2017) 年 06 月 06 日

(51) Int. Cl. : C07K19/00 (2006.01)

A61K38/16 (2006.01)

A61K47/68 (2017.01)

(30) 優先權：2016/06/06 美國

62/346,386

(71) 申請人：艾斯克立必恩股份有限公司 (中華民國) ASCLEPIUMM TAIWAN CO., LTD (TW)  
新北市五股區凌雲路一段 45 號(72) 發明人：陳銘哲 CHEN, MIN-CHE (TW)；劉雅娟 LIU, YA-CHUAN (TW)；張博皓 CHANG,  
PO-HAO (TW)；蔡亞萍 TSAI, YA-PING (TW)；陳君瑋 CHEN, CHUN-WEI  
(TW)；李佩宜 LEE, PEI-YI (TW)

(74) 代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：33 項 圖式數：10 共 99 頁

(54) 名稱

用於藥物遞送之抗體融合蛋白

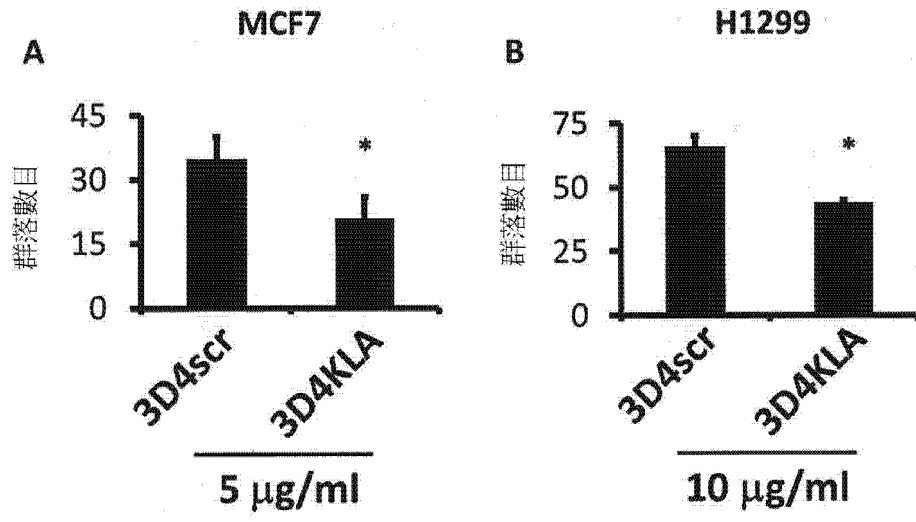
ANTIBODY FUSION PROTEINS FOR DRUG DELIVERY

(57) 摘要

本發明係關於抗體融合蛋白。特定言之，本發明係關於用於胞內及核內藥物遞送之抗體融合蛋白。本發明之融合蛋白可用作肽穿透系統，其特異性地結合至各種目標以將效應肽遞送穿過生物障壁。

The invention relates to antibody fusion proteins. Particularly, the invention relates to antibody fusion proteins for intra-cellular and intra-nucleus drugs delivery. The fusion protein of the invention can be used as a peptide penetration system that specifically binds to various targets for the delivery of effector peptides across a biological barrier.

指定代表圖：



【圖3】

## 【發明說明書】

### 【中文發明名稱】

用於藥物遞送之抗體融合蛋白

### 【英文發明名稱】

ANTIBODY FUSION PROTEINS FOR DRUG DELIVERY

### 【技術領域】

本發明係關於抗體融合蛋白。特定言之，本發明係關於用於胞內及核內藥物遞送之抗體融合蛋白。本發明之抗體融合蛋白具有雙功能目標以結合胞外表面標記物及達成胞內目標調整。

### 【先前技術】

在靶向治療選項中，抗體-藥物結合物(ADC)作為最有前景的選項出現。ADC為單株抗體，其經設計成選擇性地將強效細胞毒性藥物遞送至抗原表現細胞內。用於將藥物連接至抗體之ADC的若干組分(包括抗體、連接子、細胞毒性藥物有效負載及連接位點之選擇)對ADC活性而言係至關重要的。用於製造ADC之細胞毒性藥物(或有效負載)通常經由半胱胺酸或離胺酸殘基結合至抗體。此產生每一抗體具有非均一數目之藥物的ADC。每一抗體對應的藥物之數目通常被稱作藥物與抗體的比率(DAR)，對於IgG1抗體而言，該比率可在0與8個藥物之間變化。具有0個藥物之抗體為無效的且與ADC競爭結合至抗原表現細胞。每一抗體具有8個藥物之抗體具有降低的活體內穩定性，此可能促成非目標相關毒性(non-target related toxicities)。即使具有均一化學計量之純化ADC也將攜帶結合至多個位點之藥物且因此為特有實體之複雜混合物。早期非同質ADC存在阻礙臨床發展之穩定性、藥物動力學及功效問題。儘管化學位點選擇性抗體

結合之最新進展(包括使用經工程改造之半胱胺酸殘基、非天然胺基酸、及藉由醣基轉移酶及麩醯胺酸轉移酶之酶結合)導致形成更同質的ADC，但是各方法之間存在若干差別，包括對於抗體基因修飾、在結合中使用酶、及結合位點編號/位置的要求。

WO 2009/025846提供可激活結合多肽(ABP)，其含有目標結合部分(TBM)、遮蔽部分(MM)及可裂解部分(CM)，且表明ABP呈現可激活構形，以使得相比於在能夠裂解CM之裂解劑存在下CM裂解之後，TBM中之至少一者更難以接近未裂解之目標。US 2016/0185875揭示一種能夠選擇性地在目標細胞或組織內激活以治療其中之病症的鉸鏈抗體。鉸鏈抗體包括一個功能抗體、兩個抑制結構域及四個可裂解連接子。然而，這兩個專利公開案之有效負載無法達成滿意效果，所以需要研發具有更高有效負載之藥物遞送系統。

### 【發明內容】

本發明使用包含抗體及一或多個細胞穿透效應肽(CPEP)之抗體融合蛋白，其同時靶向所關注之目標且遞送肽有效負載以用於胞內及核內治療。相比使用化學修飾策略，本發明之抗體融合蛋白不僅簡化均一生產，而且不含任何作為有效負載之化學藥物或用於結合之經修飾化學連接子。

本發明提供一種融合蛋白，其包含：(a)抗體或其抗原結合片段(Ab)，其能夠靶向胞外表面標記物；及(b)融合至(a)之Ab或融合在(a)之Ab內部的一或多個細胞穿透效應肽(CPEP)，其中一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、一個或兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端呈(EP-PCD-CL)、(PCD-EP-CL)、(EP-PCD-CL-PAD)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(CL-PCD-EP)、

(CL-EP-PCD)、(PAD-CL-PCD-EP)或(CL-EP-PCD-CL-PAD)配置，此時CPEP融合至(a)之Ab的末端；或一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端呈(CL-PCD-EP-CL)、(CL-EP-PCD-CL)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(PAD-CL-EP-PCD-CL)、(CL-EP-PCD-CL-PAD)或(CL-PCD-EP-CL-PAD)配置，此時CPEP用其兩個末端融合在Ab的內部。

在一個實施例中，一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、一個或兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及結合至胞內目標之效應肽(EP)；該CPEP自N端至C端呈(EP-PCD-CL)、(PCD-EP-CL)、(EP-PCD-CL-PAD)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(CL-PCD-EP)、(CL-EP-PCD)、(PAD-CL-PCD-EP)或(CL-EP-PCD-CL-PAD)配置，此時CPEP融合至抗體或其抗原結合片段之末端。

在另一實施例中，一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及結合至胞內目標之效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端呈(CL-PCD-EP-CL)、(CL-EP-PCD-CL)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(PAD-CL-EP-PCD-CL)、(CL-EP-PCD-CL-PAD)或(CL-PCD-EP-CL-PAD)配置，此時CPEP用其兩個末端融合在抗體或其抗原結合片段的內部。亦即，CPEP以上述配置中之任一配置整合至抗體或其抗原結合片段(Ab)內。在一個實施例中，CPEP融合在Ab之重鏈的內部。

在另一實施例中，CPEP融合至Ab之重鏈的末端或內部。

在例示性實施例中，本文的第13頁第2段描述較佳抗體。在一個實施

例中，抗體包含具有SEQ ID NO:24之胺基酸序列的重鏈及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列。在一些實施例中，抗體之抗原結合片段為Fab片段、Fab'片段、Fd片段、Fd'片段、Fv片段、dAb片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、單鏈片段、雙功能抗體或線抗體。

在一些實施例中，一或多個CPEP融合至Ab之N端或C端，或融合在Ab內部。

PCD具有包含5至20個或其任何中間範圍之連續鹼性胺基酸之序列。在一個實施例中，聚陽離子肽係選自由以下組成之群：聚離胺酸、聚精胺酸、聚鳥胺酸、聚組胺酸、及陽離子多醣或其混合物。在另一實施例中，聚陽離子肽為包含選自由以下組成之群之聚陽離子中的至少兩者的組合物：離胺酸、精胺酸、聚離胺酸、聚精胺酸、聚鳥胺酸、聚組胺酸及陽離子多醣。在一較佳實施例中，聚陽離子肽組合物由離胺酸及精胺酸組成。在另一實施例中，聚陽離子肽為均聚物或共聚物，或其混合物。

EP為結合至胞內目標之蛋白有效負載。EP之實施例描述於本文之第16頁第3段中。用於本發明之例示性融合蛋白中的較佳EP及其序列列出於本文之第17頁第2段中。

本發明之CPEP的可裂解連接子(CL)為包含複數個胺基酸殘基的可裂解連接子。舉例而言，CL可包括約4至約100個之間的胺基酸，或約6至約30個之間的胺基酸。CL可包括胺基酸殘基，且可為約4至約30個之間，或約4至約10個之間的胺基酸殘基的肽鏈。CL可藉由細胞環境中所發現之條件裂解，諸如酸性條件，其可在癌細胞及癌組織或還原環境附近發現，如可於低氧或局部缺血細胞及組織附近發現；可藉由在具有待治療病症之細胞(諸如，患病、凋亡或壞死細胞及組織)的表面上發現或在細胞附近釋放

的蛋白酶或其他酶類裂解；或可藉由其他條件或因子裂解。用於裂解CL之例示性酶類包括(但不限於)本文之第19頁第3段中所描述者。在一些實施例中，CL係選自本文之第20頁第2段中所描述者。

CPEP可視情況包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)。在一個實施例中，當CPEP具有聚陰離子結構域(PAD)時，CPEP為可激活性細胞穿透效應肽(ACPEP)。PAD為具有包含4至20個酸性胺基酸(較佳5至9個酸性胺基酸)之序列的聚陰離子肽。PAD可有效形成自組裝之聚陰離子-聚陽離子相互作用以防止ACPEP穿過細胞膜。在一些實施例中，PAD具有包含4至20個或其任何中間範圍之連續酸性胺基酸的序列。

在一些實施例中，當CPEP融合至(a)之Ab的末端時，本發明之融合蛋白自N端至C端具有以下配置：(EP-PCD-CL)-Ab、(PCD-EP-CL)-Ab、(EP-PCD-CL-PAD)-Ab、(PAD-CL-PCD-EP-CL)-Ab、Ab-(CL-PCD-EP)、Ab-(CL-EP-PCD)、Ab-(PAD-CL-PCD-EP)或Ab-(CL-EP-PCD-CL-PAD)。

在一些其他實施例中，當CPEP用其兩個末端融合在Ab內部時，本發明之融合蛋白自N端至C端具有以下配置：Ab<sup>N</sup>-(CL-PCD-EP-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(CL-EP-PCD-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(PAD-CL-PCD-EP-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(PAD-CL-EP-PCD-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(CL-EP-PCD-CL-PAD)-Ab<sup>C</sup>或Ab<sup>N</sup>-(CL-PCD-EP-CL-PAD)-Ab<sup>C</sup>，其中Ab<sup>N</sup>為Ab之N端片段且Ab<sup>C</sup>為Ab之C端片段。

本發明之融合蛋白具有雙官能目標以結合胞外表面標記物及達成胞內目標調整。本發明之融合蛋白的效應肽可藉由在特定條件存在下或在特定環境中裂解CL而進入目標細胞內。在較佳實施例中，CL在生理條件下

可裂解。此CL之裂解可藉由特定病理性信號或與需要融合蛋白遞送之細胞相關的特定環境來強化或實現。CL可由特異性的酶裂解，使得細胞攝取可靶向至特定位置，其中可得到該等條件。在CL裂解之後，融合蛋白之PCD-EP或EP-PCD部分自Ab釋放。

在一些實施例中，本發明之融合蛋白包含具有選自SEQ ID NO. 9、13、15、17、19、21或23之胺基酸序列的重鏈序列及具有選自SEQ ID NO. 11之胺基酸序列的輕鏈序列。

本發明亦提供用於將效應肽遞送至細胞內之組合物。在一個實施例中，組合物包含本發明之融合蛋白及藥理學上適合之載劑。

本發明亦提供用於將效應肽遞送至細胞內或細胞核內之方法，其包含向個體投與本發明之融合蛋白或包含本發明之融合蛋白的組合物。

#### 【圖式簡單說明】

圖1展示ASC生物藥物之MoA (作用機制)的示意圖。步驟1. 抗體識別細胞表面標記物。步驟2. 用微環境蛋白酶(例如MMP及ADAM等)裂解CPEP內部之可裂解連接子，且隨後開啟CPEP之細胞穿透功能。步驟3. 由CPP/PCD攜帶之細胞毒性肽(自ASC生物藥物切割下之肽)連同疾病治療功能進入細胞質及/或核中。

圖2A至圖2C展示ASC生物藥物之MoA研究。A中，流動式細胞測量術表明ASC生物藥物可識別目標細胞。B及C，使用流動式細胞測量術及免疫螢光法，結果展示聚陽離子結構域3D4S9會被裂解且內化入人類乳房腺癌MCF7細胞中。

圖3A及圖3B展示3D4KLA降低人類乳房腺癌MCF7及人類非小細胞肺癌H1299細胞內的轉化活性。用3D4KLA處理之人類乳房腺癌MCF7



(A)及人類非小細胞肺癌H1299細胞(B)內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖4A至圖4F展示3D4S9會降低不同細胞株內的轉化活性。用3D4S9處理之人類乳房腺癌MDA-MB-231 (A)、人類乳房腺癌SKBR3 (B)、人類乳房腺癌MCF7 (C)、人類肺癌A549 (D)、人類非小細胞肺癌H1299 (E)及人類胰臟癌PANC-1細胞(F)內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖5展示3D4rS9降低人類肺癌A549細胞內的轉化活性。用3D4rS9處理之人類肺癌A549細胞內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖6A及圖6B展示3D4rS9-A降低人類乳房腺癌SKBR3及人類肺癌A549細胞內的轉化活性。用3D4rS9-A處理之人類乳房腺癌SKBR3 (A)及人類肺癌A549細胞(B)內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖7展示3D4rS9-D降低人類肺癌A549細胞內的轉化活性。用3D4rS9-D處理之人類肺癌A549細胞內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖8展示3D4rS9- $\Delta$ D6降低人類乳房腺癌SKBR3細胞內的轉化活性。用3D4rS9- $\Delta$ D6處理之人類乳房腺癌SKBR3細胞內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖9展示3D4Fc-rS9降低人類肺癌A549細胞內的轉化活性。用3D4Fc-rS9處理之人類肺癌A549細胞內之軟瓊脂群落形成活性降低。

圖10A至圖10C展示3D4S9減少使用人類胰臟癌PANC-1細胞之NOD/SCID小鼠內的異種移植腫瘤生長。3D4scr或3D4S9以30 mg/kg之劑量一週兩次腹膜內給藥，持續3週。在處死小鼠之後，移除腫瘤且量測其質量。相比於3D4scr對照組內231 ( $\pm$ 150) mm<sup>3</sup>的腫瘤體積，攜帶用3D4S9治療之人類PANC-1腫瘤異種移植的小鼠在三週之後具有84 ( $\pm$ 40) mm<sup>3</sup>的腫瘤體積。3D4S9治療減小異種移植腫瘤體積達60% (A)。

相比於3D4scr對照組內0.66 ( $\pm 0.3$ ) g的腫瘤重量，攜帶用3D4S9治療之人類PANC-1腫瘤異種移植的小鼠在三週之後具有0.13 ( $\pm 0.02$ ) g的腫瘤重量。3D4S9治療減小異種移植腫瘤重量達80% (B)。小鼠在處死之前稱重。攜帶用3D4scr或3D4S9治療之人類PANC-1腫瘤異種移植的小鼠具有幾乎相同的體重(C)。

### 【實施方式】

在以下描述中，使用許多術語且提供以下定義以有助於理解所主張之主題。在本文中未明確定義之術語係根據其普通及一般含義使用。

在多個實施例中，本文所述之抗體、結合片段及聚核苷酸藉由其各別多肽或聚核苷酸序列描述。除非另外指示，否則多肽序列以N至C定向提供；聚核苷酸序列採取5'至3'定向。對於多肽序列而言，可使用基因編碼胺基酸之習知的三字母或一字母縮寫。

用於本發明中之肽的縮寫如下：

Ab：抗體或其抗原結合片段；

CPEP：穿透效應肽；

PAD：聚陰離子結構域；

CL：可裂解連接子；

PCD：聚陽離子結構域；

EP：效應肽；

Ab<sup>N</sup>：抗體或其抗原結合片段(Ab)之N端片段；及

Ab<sup>C</sup>：抗體或其抗原結合片段(Ab)之C端片段。

除非另外規定，否則術語「一(a/an)」意指「一或多個」。

除非本文另外清楚指示，否則術語「或」在本文中用以意指術語

「及/或」且可與術語「及/或」互換地使用。

在此申請案通篇中，術語「約」用於指示包括固有誤差變化之值。

如本文所使用，術語「有效負載」係指EP。EP為結合至胞內目標之肽或蛋白有效負載。

如本文所使用，術語「核酸」、「核酸序列」、「核苷酸序列」、「聚核苷酸序列」及「聚核苷酸」可互換使用。其係指任何長度之核苷酸(去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸)之聚合形式或其類似物。聚核苷酸可為單股或雙股，且若為單股，則可為編碼股或非編碼(反義)股。聚核苷酸可包含經修飾之核苷酸，諸如甲基化核苷酸及核苷酸類似物。

如本文所使用，術語「胺基酸」指示通式 $\text{NH}_2\text{CHR}\text{COOH}$ 之有機化合物，其中R可為任何有機基團。具體言之，術語胺基酸可指天然及非天然(人造)胺基酸，諸如Aib= $\alpha$ -胺基異丁酸；tBuAla=第三丁基丙胺酸；Thr-OBzl=蘇胺酸苯甲酯；5Ava=5-胺基戊酸；Asp=D=天冬胺酸；Ala=A=丙胺酸；Arg=R=精胺酸；Asn=N=天冬醯胺；Gly=G=甘胺酸；Glu=E=麩胺酸；Gln=Q=麩醯胺；His=H=組胺酸；Ile=I=異白胺酸；Leu=L=白胺酸；Lys=K=離胺酸；M=甲硫胺酸；Mamb=(3-胺甲基)苯甲酸；Mamp=Met=(3-胺甲基)苯乙酸；Nle=正白胺酸；Nva=正纈胺酸；Phe=F=苯丙胺酸；Pro=P=脯胺酸；Ser=S=絲胺酸；Thr=T=蘇胺酸；Trp=W=色胺酸；Tyr=Y=酪胺酸；及Val=V=纈胺酸。

如本文所使用，術語「穿透肽」係指任何促進物質移位穿過生物障壁之肽。生物障壁之實例包括(但不限於)緊密結合部及質膜。細胞穿透肽(CPP或PCD)能夠穿透細胞膜且將不同貨物(cargo)移位至細胞中。

如本文所使用，術語「多肽」及「蛋白」在本文中可互換使用，用

於指胺基酸殘基之聚合物。該等術語適用於胺基酸聚合物，其中一或多個胺基酸殘基為相應天然存在之胺基酸的人工化學模擬物，以及適用於天然存在之胺基酸聚合物及非天然存在的胺基酸聚合物。除非另外指示，否則特定多肽序列亦隱含地涵蓋其經保守修飾之變體。

如本文所使用，術語「抗體」係指完整抗體、單株抗體或多株抗體。術語「抗體」亦涵蓋諸如雙特異性抗體之多特異性抗體。人類抗體通常由兩個輕鏈及兩個重鏈組成，該等輕鏈及重鏈各自包含可變區及恆定區。輕鏈可變區包含側接構架區之3個CDR，在本文中被標識為CDRL1或L1、CDRL2或L2及CDRL3或L3。重鏈可變區包含側接構架區之3個CDR，在本文中被標識為CDRH1或H1、CDRH2或H2及CDRH3或H3。本發明之人類化抗體的CDR可使用Kabat及Chotia定義標識。

如本文所使用，術語「可激活」或「可切換」係指可激活的細胞穿透效應肽(ACPEP)在天然或未裂解狀態(亦即，第一構形)下呈現未結合至目標的第一層級，及在裂解狀態(亦即，第二構形)下呈現結合至目標的第二層級。

如本文所使用，如本文所用之術語「投與(administer/administering/to administer)」係指給予或供應藥物，包括活體內投與以及活體外直接向組織投與。

如本文所使用，術語「醫藥學上可接受」係指化合物及組合物適合向人類及/或動物投與而不會有與合理的效益/風險比相稱的過度不良副作用，諸如毒性、刺激及/或過敏反應。

如本文所使用，術語「個體」及「患者」在本文中可互換使用且應理解為係指溫血動物，尤其哺乳動物。此術語之範疇及含義內之動物的非

限制性實例包括天竺鼠、狗、貓、大鼠、小鼠、馬、山羊、牛、綿羊、動物園動物、非人類靈長類動物及人類。

如本文所使用，術語「有效量」係指當以本發明概念之方式使用時，足以呈現可偵測之治療效果而不會有與合理的益處/風險比相稱的過度不良副作用(諸如毒性、刺激及過敏反應)的融合蛋白或肽的量。

如本文所使用，術語「治療有效量」係指足以呈現可偵測之治療效果之融合蛋白或肽的量，當向哺乳動物或其他個體投與以治療疾病時，該量足以實現疾病的此種治療。

如本文所用，術語「治療(treatment/treating)」及其類似術語涵蓋對哺乳動物，尤其人類之疾病的任何治療，且包括：(a)預防疾病在易患該疾病但尚未診斷患有該疾病之個體中發生；(b)抑制疾病，即遏制其發展；及(c)減輕疾病，即引起疾病消退。

本發明提供一種用作肽穿透系統之融合蛋白，其特異性地結合至各種目標以將效應肽遞送穿過生物障壁。本發明之融合蛋白可彌補此項技術內存在之缺陷，諸如低效、活性物質之生物性質的改變、殺滅目標細胞、生物障壁之不可逆破壞及/或待用於人類個體中之高風險。本發明之融合蛋白呈現未改變之生物活性物質(諸如效應肽)的高效非侵襲性遞送。

在一個態樣中，本發明提供一種融合蛋白，其包含：

- (a) 抗體或其抗原結合片段(Ab)，其能夠靶向胞外表面標記物；及
- (b) 融合至(a)之Ab或融合在(a)之Ab內部的一或多個細胞穿透效應肽(CPEP)，

其中一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、一個或兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N

端至C端呈(EP-PCD-CL)、(PCD-EP-CL)、(EP-PCD-CL-PAD)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(CL-PCD-EP)、(CL-EP-PCD)、(PAD-CL-PCD-EP)或(CLEP-PCD-CL-PAD)配置，此時CPEP融合至(a)之Ab的末端，或

一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端呈(CLEP-PCD-EP-CL)、(CLEP-PCD-CL)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(PAD-CL-EP-PCD-CL)、(CLEP-PCD-CL-PAD)或(CLEP-PCD-EP-CL-PAD)配置，此時CPEP用其兩個末端融合在Ab的內部。

將一或多個CPEP融合至抗體或其抗原結合片段，或融合在抗體或其抗原結合片段的內部。用於本發明中之抗體或其抗原結合片段特異性地結合至表現所關注目標的任何細胞或細胞群體上的所關注目標。例示性目標包括(但不限於)胺基酸序列(例如，多肽、肽及蛋白質)、多醣、寡醣、碳水化合物及脂質。目標之特定非限制性種類包括受體及抗原。目標包括結合至抗原、受體或配位體之受體，其包括激素、生長因子、分化簇(統稱為CD分子或CD標記物)、激素及生長因子類似物，及激素、激素類似物、生長因子、生長因子類似物之片段，及生長因子及類似物之片段。抗原目標包括病毒、細菌、真菌及寄生物抗原。抗原目標亦包括腫瘤相關抗原(TAA)。在一個實施例中，目標為胞外目標。例示性較佳胞外目標包括(但不限於)下表中所列舉者。

<b><math>\alpha</math>4<math>\beta</math>1整合素</b>	<b>EPHA2</b>	<b>胰島素受體</b>
<b><math>\alpha</math>4<math>\beta</math>7整合素</b>	<b>ERBB3/HER3</b>	<b>鋸齒狀蛋白1 (Jagged1)</b>
<b><math>\alpha</math>5<math>\beta</math>1整合素</b>	<b>FAP纖維母細胞激活蛋白<math>\alpha</math></b>	<b>鋸齒狀蛋白2</b>
<b><math>\alpha</math>v<math>\beta</math>3整合素</b>	<b>IgE受體Ig之Fc片段</b>	<b>路易斯(y)抗原</b>
<b><math>\alpha</math>v<math>\beta</math>5整合素</b>	<b>FGF-2</b>	<b>間皮素</b>
<b>鈣網膜蛋白</b>	<b>FGFR1</b>	<b>MUC1</b>
<b>CD105</b>	<b>FGFR2</b>	<b>Na/K ATPase</b>

CD11a	FGFR3	NGF
CD172A	FGFR4	Notch1
CD19	葉酸受體	Notch2
CD20	醣蛋白IIb/IIIa	Notch3
CD22	醣蛋白IIb/IIIa受體	Notch4
CD25	GP130	PDGF-AA
CD28	HER2/neu	PDGF-BB
CD3	HGF	PDGFR- $\alpha$
CD30	IFN- $\alpha$	PDGFR- $\beta$
CD40	IFN- $\beta$	磷脂酰肌醇聚糖F (PIGF)
CD40L	IFN- $\gamma$	前列腺幹細胞抗原 (PSCA)
CD41	IgE	PSMA
CD44	IGF	RSV F蛋白
CD52	IL11	神經鞘胺醇1磷酸酯
CD64	IL12	TGF- $\beta$
CD80	IL13	TNF- $\alpha$
緊密連接蛋白-3 (Claudin-3)	IL15	TRAIL-R1
緊密連接蛋白-4	IL17	TRAIL-R2
c-Met	IL18	運鐵蛋白
補體C3	IL1B	運鐵蛋白受體
補體C5	IL1R	TrkA
CSF1	IL2	TrkB
CSF1R	IL21	VCAM-1
CTLA-4	IL23	VEGF-A
CXCR-4	IL23R	VEGF-B
DLL4	IL29	VEGF-C
DSG2	IL2R	VEGF-D
DSG3	IL4	VEGFR1
EGFR	IL4R	VEGFR2
EpCAM	IL6	VEGFR3

結合至目標之例示性抗體包括(但不限於)下表中所列舉者。

抗體名稱	目標	抗體名稱	目標
阿昔單抗(abciximab)	CD41	戈利木單抗(golimumab)	TNF- $\alpha$
阿布里單抗(abrilumab)	整合素 $\alpha$ -4 $\beta$ -7	英利昔單抗(infliximab)	TNF- $\alpha$
阿達木單抗(adalimumab)	TNF- $\alpha$	伊匹單抗(ipilimumab)	CTLA-4

阿德木單抗(adecatumumab)	EpCAM	盧姆珠單抗(lumretuzumab)	ERBB3
阿柏西普(aflibercept)	VEGF	馬帕木單抗(mapatumumab)	TRAIL-R1
阿侖單抗(alemtuzumab)	CD52	那他珠單抗(natalizumab)	$\alpha$ -4整合素
阿瑪西單抗(amatuximab)	間皮素	尼妥珠單抗(nimotuzumab)	EGFR
阿特珠單抗(atezolizumab)	PD-L1	尼沃單抗(nivolumab)	PD-1
艾維路單抗(avelumab)	PD-L1	奧馬珠單抗(omalizumab)	IgE Fc區
巴利昔單抗(basiliximab)	CD25	帕利珠單抗(palivizumab)	RSV蛋白 F
巴維昔單抗(bavituximab)	磷脂醯絲胺酸	帕尼單抗(panitumumab)	EGFR
貝伐單抗(bevacizumab)	VEGF-A	帕特里單抗(patritumab)	HER3
卡妥索單抗(catumaxomab)	EpCAM, CD3	培立珠單抗(pembrolizumab)	PD-1
西妥昔單抗(cetuximab)	EGF受體	帕妥珠單抗(pertuzumab)	HER2
達利珠單抗(daclizumab)	CD25	蘭比珠單抗(ranibizumab)	VEGF-A
德諾單抗(denosumab)	RANK配位體	利妥昔單抗(rituximab)	CD20
杜里土單抗(duligotumab)	HER3	塞庫金單抗(secukinumab)	IL17A
艾庫組單抗(eculizumab)	補體蛋白C5	塞里班單抗(seribantumab)	HER3
依決洛單抗(edrecolomab)	EpCAM	他尼珠單抗(tanezumab)	NGF
艾法珠單抗(efalizumab)	CD11a	托珠單抗(tocilizumab)	IL-6受體
埃吉姆單抗(egemtumab)	HER3/ErbB3	托西莫單抗(tositumomab)	CD20
厄妥索單抗(ertumaxomab)	HER2/neu, CD3	曲妥珠單抗(trastuzumab)	HER2/neu
依那西普(etanercept)	TNF- $\alpha$	曲美單抗(tremelimumab)	CTLA-4
埃達珠單抗(etaracizumab)	$\alpha$ -v $\beta$ -3 整合素	優特克單抗(ustekinumab)	IL-12及IL-23
艾托珠單抗(etrolizumab)	整合素 $\alpha$ 4 $\beta$ 7及 $\alpha$ E $\beta$ 7之 $\beta$ 7次單位	維多珠單抗(vedolizumab)	整合素 $\alpha$ 4 $\beta$ 7
非吉單抗(figitumumab)	IGF-1受體	沃洛昔單抗(volociximab)	$\alpha$ 5 $\beta$ 1整合素
		紮魯姆單抗(zalutumumab)	EGFR

在其他實施例中，抗體為阿特珠單抗、艾維路單抗、培立珠單抗、杜里土單抗、帕妥珠單抗或紮魯姆單抗、西妥昔單抗、利妥昔單抗、曲妥珠單抗。在一個實施例中，抗體包含具有SEQ ID NO:24之胺基酸序列的重鏈及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列。

抗體之抗原結合片段係指包含完整抗體之組分子集且保持抗體之抗原結合性質的蛋白。抗體之抗原結合片段通常將包含至少一個可變域。可變域可為任何尺寸或胺基酸組成且一般將包含與一或多個構架序列相鄰或



同框之至少一個CDR。在具有與VL域相關聯之VH域的抗原結合片段中，VH及VL域可在任何適合之配置內相對於彼此定位。舉例而言，可變區可為二聚體且含有VH-VH、VH-VL或VL-VL二聚體。或者，抗體之抗原結合片段可含有單體VH或VL域。在一些實施例中，抗體之抗原結合片段為Fab片段、Fab'片段、Fd片段、Fd'片段、Fv片段、dAb片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、單鏈片段、雙功能抗體或線抗體。

在一個實施例中，一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、一個或兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端呈(EP-PCD-CL)、(PCD-EP-CL)、(EP-PCD-CL-PAD)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(CL-PCD-EP)、(CL-EP-PCD)、(PAD-CL-PCD-EP)或(CL-EP-PCD-CL-PAD)配置，此時CPEP融合至抗體或其抗原結合片段之末端。

在另一實施例中，一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端呈(CL-PCD-EP-CL)、(CL-EP-PCD-CL)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(PAD-CL-EP-PCD-CL)、(CL-EP-PCD-CL-PAD)或(CL-PCD-EP-CL-PAD)配置，此時CPEP用其兩個末端融合在抗體或其抗原結合片段的內部。亦即，CPEP整合入呈上述配置中之任一者的抗體或其抗原結合片段(Ab)內。

本發明之CPEP的可裂解連接子(CL)為包含複數個胺基酸殘基的可裂解連接子。CPEP可包含一個或兩個CL。兩個CL可為相同的或不同的。當CPEP不具有PAD時，CL需要將抗體或其抗原結合片段與PCD-EP或EP-PCD連接。當CPEP具有PAD時，CL用以將酸性部分PAD與鹼性部分PCD

連接。舉例而言，CL可包括約4至約100個之間的胺基酸，或約6至約30個之間的胺基酸。CL可包括胺基酸殘基，且可為約4至約30個之間，或約4至約10個之間的胺基酸殘基的肽鍵。

PCD為具有包含5至20個鹼性胺基酸(較佳7至12個鹼性胺基酸)之序列的聚陽離子肽，其可有效地將CPEP傳輸穿過至少一個哺乳動物細胞之膜。亦發現聚陽離子肽具有核定位能力。PCD具有包含5至20個或其任何中間範圍之連續鹼性胺基酸之序列。在一個實施例中，PCD包含7至12個連續鹼性胺基酸。在一個實施例中，鹼性胺基酸在pH為6.0時帶正電荷。在一個實施例中，聚陽離子肽係選自由以下組成之群：聚離胺酸、聚精胺酸、聚鳥胺酸、聚組胺酸及陽離子多醣或其混合物。在另一實施例中，聚陽離子肽為包含選自由以下組成之群之聚陽離子中的至少兩者的組合物：離胺酸、精胺酸、聚離胺酸、聚精胺酸、聚鳥胺酸、聚組胺酸及陽離子多醣。在一較佳實施例中，聚陽離子肽組合物由離胺酸及精胺酸組成。在另一實施例中，聚陽離子肽為均聚物或共聚物，或其混合物。聚陽離子肽均聚物包含相同陽離子單體之單一重複單元。聚陽離子肽共聚物包含不同陽離子單體或不同陽離子聚合物。在一個實施例中，聚陽離子肽共聚物可包含陽離子單體之混合物、聚陽離子均聚物之混合物或聚陽離子共聚物之混合物。在一些實施例中，PCD包括非標準胺基酸，例如羥基離胺酸、鎖鏈素、異鎖鏈素或其他非標準胺基酸。

EP為結合至胞內目標之蛋白有效負載。在一個實施例中，EP為蛋白或功能蛋白之肽片段酶域。例示性EP包括(但不限於)下表中所列舉者。

<b>AKT</b>	<b>散亂蛋白(Dishevelled)</b>	<b>HSP70</b>	<b>NBS1</b>
<b>澱粉狀蛋白-β</b>	<b>E-鈣黏素(E-cadherin)</b>	<b>HSP90</b>	<b>P53</b>
<b>APAF1</b>	<b>ERK</b>	<b>IKBK6</b>	<b>PKA</b>
<b>ARF</b>	<b>EZH2</b>	<b>ITPR3</b>	<b>PKC</b>

<b>Bcl-2</b>	<b>GNAS</b>	<b>KLA</b>	<b>RAF</b>
<b>BCL9</b>	<b>GRB7</b>	<b>LAP</b>	<b>Slug</b>
<b>β-索脛素(catenin)</b>	<b>HIF-1</b>	<b>LFA-1</b>	<b>Smac/DIABLO</b>
<b>BH3 helix</b>	<b>組蛋白 H3</b>	<b>MAPK8IP1</b>	<b>Stat3</b>
<b>CDKN2B</b>	<b>組蛋白H4</b>	<b>MDM2</b>	<b>存活素(Survivin)</b>
<b>環孢素(Cyclosporin)A</b>	<b>HSP60</b>	<b>MEK</b>	<b>XIAP</b>

用於本發明之例示性融合蛋白中的較佳EP及其序列列出於下表中。

效應肽名稱 (PD)	效應肽序列 (N'至C'端)	融合蛋白
加擾對照	L H C K S F A S G (SEQ ID NO:1)	3D4scr
KLA	K L A K L A K K L A K L A K (SEQ ID NO:2)	3D4KLA
S9	K H S S G C A F L (SEQ ID NO:3)	3D4S9
rS9	K H S P A C A F L (SEQ ID NO:4)	3D4rS9, 3D4rS9-A, 3D4rS9-D, 3D4rS9-ΔD6, 3D4Fc-rS9

CPEP可視情況包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)。在一個實施例中，當CPEP具有聚陰離子結構域(PAD)時，CPEP為可激活的細胞穿透效應肽(ACPEP)。ACPEP呈現與目標蛋白的可激活結合(可切換結合)。藉由經由蛋白酶-可裂解連接子將細胞穿透肽融合至聚陰離子肽結構域來阻斷細胞穿透肽之全身性細胞攝取，從而經由形成分子內髮夾結構中和該聚陽離子結構域。為了特異性，設計連接子以使得其被某些酶裂解。在投與之後，具有本發明之ACPEP的融合蛋白行進至腫瘤，其中ACPEP被蛋白酶裂解且積聚在目標組織內。

PAD為具有包含4至20個酸性胺基酸(較佳5至9個酸性胺基酸)之序列的聚陰離子肽。PAD能有效形成自組裝之聚陰離子-聚陽離子相互作用以防止ACPEP穿過細胞膜。在一些實施例中，PAD具有包含4至20個或其任何中間範圍之連續酸性胺基酸的序列。在一個實施例中，PCD包含5至9個連續酸性胺基酸。在一個實施例中，酸性胺基酸在pH為6.0時帶負電荷。

在一個實施例中，酸性胺基酸具有pKa低於6.0之側鏈。酸性胺基酸之非限制性實例包括天冬胺酸、麩胺酸、磷絲胺酸及磷酸蘇胺酸。在一特定實施例中，PAD包含5至9個連續麩胺酸鹽、天冬氨酸鹽或其混合物。在一些實施例中，PAD包含一或多個D-胺基酸。在一特定實施例中，PAD由D-胺基酸組成。在一些實施例中，PAD為6個連續天冬胺酸鹽。在一些實施例中，PCD包括非標準胺基酸，例如羥基離胺酸、鎖鏈賴氨酸、異鎖鏈素或其他非標準胺基酸。部分A可包括經修飾之胺基酸。

在一些實施例中，當CPEP融合至(a)之Ab的末端時，本發明之融合蛋白自N端至C端具有以下配置：(EP-PCD-CL)-Ab、(PCD-EP-CL)-Ab、(EP-PCD-CL-PAD)-Ab、(PAD-CL-PCD-EP-CL)-Ab、Ab-(CL-PCD-EP)、Ab-(CL-EP-PCD)、Ab-(PAD-CL-PCD-EP)或Ab-(CL-EP-PCD-CL-PAD)。

在一些其他實施例中，當CPEP用其兩個末端融合在Ab的內部時，本發明之融合蛋白自N端至C端具有以下配置：Ab<sup>N</sup>-(CL-PCD-EP-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(CL-EP-PCD-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(PAD-CL-PCD-EP-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(PAD-CL-EP-PCD-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(CL-EP-PCD-CL-PAD)-Ab<sup>C</sup>或Ab<sup>N</sup>-(CL-PCD-EP-CL-PAD)-Ab<sup>C</sup>，其中Ab<sup>N</sup>為Ab之N端片段且Ab<sup>C</sup>為Ab之C端片段。在CPEP用其兩個末端融合在Ab內部的情況下，CPEP整合至Ab內的關注位置中，從而使得本發明之融合蛋白自N端至C端包含抗體N端片段、CPEP及抗體C端片段。抗體N端片段及抗體C端片段之尺寸視CPEP整合入的位置而變化。

在另一實施例中，CPEP融合至Ab之重鏈的末端或內部。

本發明之融合蛋白具有雙官能目標以結合胞外表面標記物及達成胞

內目標調整。本發明之融合蛋白的效應肽可藉由在特定條件存在下或在特定環境中裂解CL而進入目標細胞內。在較佳實施例中，CL在生理條件下可裂解。此CL之裂解可得到強化或可藉由特定病理信號或與需要融合蛋白遞送之細胞相關的特定環境來實現。CL可藉由特異性酶裂解，從而使得細胞攝取可以靶向至得到該等條件之特定位置。在CL裂解之後，融合蛋白之PCD-EP或EP-PCD部分自Ab釋放。

在一些實施例中，CL可藉由細胞環境中所發現之條件裂解，諸如酸性條件，其可在癌細胞及癌組織或還原環境附近發現，如可於低氧或局部缺血細胞及組織附近發現；可藉由在具有待治療病症之細胞(諸如，患病、凋亡或壞死細胞及組織)的表面上發現或在細胞附近釋放的蛋白酶或其他酶類裂解；或可藉由其他條件或因子裂解。

用於CL裂解之例示性酶類包括(但不限於)下表中所列舉者。

<b>ADAM10</b>	<b>組織蛋白酶A</b>	<b>MMP15</b>
<b>ADAM12</b>	<b>組織蛋白酶B</b>	<b>MMP16</b>
<b>ADAM15</b>	<b>組織蛋白酶C</b>	<b>MMP17</b>
<b>ADAM17</b>	<b>組織蛋白酶D</b>	<b>MMP19</b>
<b>ADAM9</b>	<b>組織蛋白酶E</b>	<b>MMP2</b>
<b>ADAMTS1</b>	<b>組織蛋白酶H</b>	<b>MMP20</b>
<b>ADAMTS14</b>	<b>組織蛋白酶K</b>	<b>MMP23</b>
<b>ADAMTS2</b>	<b>組織蛋白酶L</b>	<b>MMP24</b>
<b>ADAMTS4</b>	<b>組織蛋白酶S</b>	<b>MMP25</b>
<b>ADAMTS5</b>	<b>組織蛋白酶Z</b>	<b>MMP26</b>
<b>β-分泌酶1</b>	<b>FAP</b>	<b>MMP28</b>
<b>卡斯蛋白酶1</b>	<b>弗林蛋白酶(Furin)</b>	<b>MMP3</b>
<b>卡斯蛋白酶10</b>	<b>顆粒酶B</b>	<b>MMP7</b>
<b>卡斯蛋白酶11</b>	<b>人類嗜中性球彈性蛋白酶</b>	<b>MMP8</b>
<b>卡斯蛋白酶12</b>	<b>天冬醯胺內肽酶(Legumain)</b>	<b>MMP9</b>
<b>卡斯蛋白酶13</b>	<b>間質蛋白酶 1</b>	<b>腦啡肽酶</b>
<b>卡斯蛋白酶14</b>	<b>間質蛋白酶2</b>	<b>纖維蛋白溶酶</b>

卡斯蛋白酶2	穿膜肽酶(Meprin)A	PSA
卡斯蛋白酶3	穿膜肽酶B	PSMA
卡斯蛋白酶4	MMP1	S3-4A 絲胺酸蛋白酶
卡斯蛋白酶5	MMP10	絲胺酸蛋白酶第二型穿膜絲胺酸蛋白酶
卡斯蛋白酶6	MMP11	TACE
卡斯蛋白酶7	MMP12	TMPRSS2
卡斯蛋白酶8	MMP13	TMPRSS4
卡斯蛋白酶9	MMP14	uPA

用於本發明之例示性融合蛋白中的較佳CL及其序列列出於下表中。

可裂解連接子 (CL)	可裂解連接子序列(N'至C'末端)	融合蛋白
CL1	KPLGLAR (SEQ ID NO:5)	3D4scr, 3D4KLA, 3D4S9, 3D4rS9, 3D4rS9-A, 3D4rS9-D, 3D4rS9-ΔD6
CL2	PLGLAG (SEQ ID NO:6)	3D4scr, 3D4KLA, 3D4S9, 3D4rS9, 3D4rS9-A, 3D4rS9-D, 3D4rS9-ΔD6
CL3	KPLGLAG (SEQ ID NO:7)	3D4Fc-rS9

在一些實施例中，本發明之融合蛋白展示於下表中。各融合蛋白之核苷酸及胺基酸序列亦列於下表中。因此，在一些實施例中，本發明之融合蛋白包含具有選自SEQ ID NO. 9、13、15、17、19、21及23之胺基酸序列的重鏈序列及具有選自SEQ ID NO. 11之胺基酸序列的輕鏈序列。因此，本發明之融合蛋白包含：

3D4KLA：具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4S9：具有SEQ ID NO:13之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9：具有SEQ ID NO:15之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9-ΔD6：具有SEQ ID NO:17之胺基酸序列的重鏈，及具有

SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9-A：具有SEQ ID NO:19之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9-D：具有SEQ ID NO:21之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；或

3D4Fc-rS9：具有(SEQ ID NO:23)之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列。

抗體	重鏈及輕鏈之核酸序列及胺基酸
<b>3D4KLA</b>	<p style="text-align: center;"><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgacgtctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaag  atctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgagg  caggctccaggaaaggctttaaagtggatggctctggatgaacaccaactggagag  tcaatataatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc  agtactgcctatcttgcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc  tgtgcaagatactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca  gctagcaccaagggcccctcggctctccccctggcaccctcctccaagagcacctct  gggggacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg  gtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta  cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg  ggcaccacagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggac  aagaaagcagagcccaaactctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagat  gacgacgatgatgacaaacctgggctggccagacgcccggagaaggagacgcagg  cggagaaaactggcaaagcttgccaagaaactcgccaagcttgctaaccactgggc  ctggcgggcgccactgaactcctggggggaccgtcagtccttcttcccccaaaa  cccaaggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggac  gtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtg  cataatgccaagacaaagccgaggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtc  agcgtcctcaccgtcctgaccaggactggctgaatggcaaggactacaagtgaag  gttccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagg  cagccccgagaaccacaggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccagg  aaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtg  gagtgggagagcaatgggcagcgggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctg  gactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtgg  cagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactac</p>

acgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:8)

Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F  
 T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S  
 I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N  
 N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S  
 T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D  
 Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S  
 G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P  
 S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P D D D D D  
D K P L G L A R R R R R R R R R R R K L A K L A K K L A K L  
A K P L G L A G A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L  
 M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D  
 G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L  
 H Q D W L N G K D Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K  
 A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T R N Q V S L T C  
 L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P  
 V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C  
 S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:9)

輕鏈

Gacatcaagatgaccagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc  
 actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctgggtccagcag  
 aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagatggg  
 gtcccatcaagggttcagtgggcagtggtatctgggcaagatTTTTCTCTCACCATCAGC  
 agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg  
 tacaggttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggtgcaccatct  
 gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttggtg  
 tgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagggtggataac  
 gccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagc  
 acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa  
 gtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcaciaaagagcttc  
 aacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)

D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I  
 N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V  
 P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y  
 C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F  
 I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K  
 V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S



	<p>L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4S9</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgcagtcctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaag atctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgagg caggctccaggaaaggctttaagtggatggctctggatgaacaccaactggagag tcaatataatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc agtactgcctatattgcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc tgtgcaagatactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca gctagcaccaagggcccctcggctctccccctggcaccctcctccaagagcacctct gggggacagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg gtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggtgtccta cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttg ggcaccagacctaactctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggac aagaaagcagagcccaaactcttgtagacaaaactcacacatgccaccgtgccagat gacgacgatgatgacaaaccactgggcctggccagacgccggagaaggagacgcagg cggagaaaacattccagcggctgcgcatttctgccactgggcctggcggggcacct gaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaacccaaggacaccctc atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtgggtgggtggacgtgagccacgaagac cctgaggtcaagttcaactggtagcgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagaca aagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcacctc ctgcaccaggactggctgaatggcaaggactacaagtgaaggtctccaacaaagcc ctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaacca caggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaggaaccaggtcagcctg acctgcctgggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgggagagcaat gggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcc ttcttctctacagcaagctcacctgggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtc ttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc tcctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:12)</p> <p>Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P <u>D D D D D</u> <u>D K P L G L A R R R R R R R R R R R K H S S G C A F L P L G</u></p>

	<p><b>L A G</b> A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T  P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H  N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L  N G K D Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P  R E P Q V Y T L P P S R D E L T R N Q V S L T C L V K G F  Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D  G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E  A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:13)</p>
	<p style="text-align: center;"><b>輕鏈</b></p> <p>Gacatcaagatgacccagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc  actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctgggtccagcag  aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagatggg  gtcccatcaagggtcagtgggcagtggtatctgggcaagatTTTTctctcaccatcagc  agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg  tacacgttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggtgcaccatct  gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtttgtg  tgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagggtggataac  gccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagc  acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa  gtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttc  aacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)</p> <p>D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I  N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V  P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y  C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F  I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K  V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S  L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S  P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4rS9</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgcagtcctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaag  atctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgagg  caggctccaggaaaggctttaagtggtatgggtctggatgaacaccaactggagag  tcaatatatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc  agtactgcctatTTgcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc  tgtgcaagatactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca  gctagcaccaagggcccatcggctctccccctggcaccctcctccaagagcacctct  gggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg</p>

gtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta  
 cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg  
 ggcaccagacactacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggac  
 aagaaagcagagcccaaacttctgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagat  
 gacgacgatgatgacaaaccactgggcctggccagacgccggagaaggagacgcagg  
 cggagaaaacattccccgcctgcgcatttctgccactgggcctggcggggcgcacct  
 gaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaacccaaggacaccctc  
 atgatctcccggaccctgaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagac  
 cctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagaca  
 aagccgcgggaggagcagtacaacagcagcgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtc  
 ctgcaccaggactggctgaatggcaaggactacaagtgaaggtctccaacaaagcc  
 ctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaacca  
 caggtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaggaaccaggtcagcctg  
 acctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgaggagcaat  
 gggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctcc  
 ttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtc  
 ttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctc  
 tcctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:14)

Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F  
 T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S  
 I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N  
 N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S  
 T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D  
 Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S  
 G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P  
 S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P D D D D D  
D K P L G L A R R R R R R R R R R R K H S P A C A F L P L G  
L A G A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T  
 P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H  
 N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L  
 N G K D Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P  
 R E P Q V Y T L P P S R D E L T R N Q V S L T C L V K G F  
 Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D  
 G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E  
 A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:15)

輕鏈

Gacatcaagatgaccagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc  
 actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctattttaagctgggtccagcag

	<p>aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagatggg  gtcccatcaagggttcagtgggcagtggtatctgggcaagatTTTTTctctcaccatcagc  agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg  tacacgttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatct  gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttggtg  tgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataac  gccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagc  acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa  gtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttc  aacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)</p> <p>D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I  N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V  P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y  C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F  I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K  V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S  L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S  P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4rS9- ΔD6</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgcagtctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaag  atctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgagg  caggctccaggaaaggctttaagtggatgggtctggatgaacaccaactggagag  tcaatatatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc  agtactgcctatTTTgcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc  tgtgcaagataactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca  gctagcaccaagggcccatcggctcttccccctggcaccctcctccaagagcacctct  gggggacagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccggtgagc  gtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta  cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttg  ggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggac  aagaaagcagagcccaaactcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgcccaaaa  ccactgggcctggccagacgccggagaaggagacgcaggcggagaaaacattcccc  gcctgcgcatttctgccactgggcctggcggggcgcacctgaactcctggggggaccg  tcagtcttctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccct  gaggtcacatgcgtgggtgggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaac  tggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcag  tacaacagcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctg  aatggcaaggactacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgag</p>

aaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacacctgcc  
 ccatccccgggatgagctgaccaggaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaaggc  
 ttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaac  
 tacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaag  
 ctcccggtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatg  
 catgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa  
 (SEQ ID NO:16)

Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F  
 T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S  
 I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N  
 N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S  
 T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D  
 Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S  
 G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P  
 S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P K P L G L  
A R R R R R R R R R R K H S P A C A F L P L G L A G A P E  
 L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V  
 V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P  
 R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K D Y K  
 C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y  
 T L P P S R D E L T R N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A  
 V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y  
 S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y  
 T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:17)

輕鏈

Gacatcaagatgaccagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc  
 actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctgggtccagcag  
 aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagatggg  
 gtcccatcaagggtcagtgaggcagtgatctgggcaagatTTTTCTCTCACCATCAGC  
 agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg  
 tacaggttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatct  
 gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttggtg  
 tgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagggtggataac  
 gccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagc  
 acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa  
 gtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcaciaaagagcttc  
 aacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)

	<p>D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I  N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V  P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y  C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F  I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K  V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S  L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S  P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4rS9- A</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgcagtcctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaag  atctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgagg  caggctccaggaaaggctttaaagtggatggctctggatgaacaccaactggagag  tcaatataatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc  agtactgcctatcttgagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc  tgtgcaagatactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca  gctagcaccaagggcccatcggctctccccctggcaccctcctccaagagcacctct  gggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg  gtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta  cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg  ggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaagggtggac  aagaaagcagagcccaaactcttgtagacaaaactcacacatgccaccgtgccagca  cctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaaccaaggacacc  ctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggtgggtggacgtgagccacgaa  gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaag  aaaaggacgacgacgatgacgataagcctctgggcctggccagacggcggagaaga  agaaggcgcagacggaagcacagccctgcctgctgttttctgcccactgggcctggcg  ggccgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacgtcctg  caccaggactggctgaatggcaaggactacaagtgcaaggtctccaacaaagccctc  ccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacag  gtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaggaaccaggtcagcctgacc  tgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggg  cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc  ttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcc  ctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:18)</p> <p>Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F  T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S  I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N</p>

	<p>N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S  T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D  Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S  G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P  S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L  G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V  D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K <u>D D D</u>  <u>D D D K P L G L A R R R R R R R R R R R</u> <u>K H S P A C A F L P</u>  <u>L G L A G</u> R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N  G K D Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R  E P Q V Y T L P P S R D E L T R N Q V S L T C L V K G F Y  P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G  S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A  L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:19)</p>
	<p><b>輕鏈</b></p>
	<p>Gacatcaagatgaccagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc  actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctgggtccagcag  aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagatggg  gtcccatcaagggtcagtgggcagtggtctgggcaagatTTTTCTCTCaccatcagc  agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg  tacacgttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggtgcaccatct  gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtttgtg  tgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagggtggataac  gcctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagc  acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa  gtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcaciaaagagcttc  aacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)</p> <p>D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I  N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V  P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y  C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F  I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K  V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S  L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S  P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4rS9- D</b></p>	<p><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgcagtcctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaag  atctcctgcaaggcttctgggtataccttcaciaactatggaatgaactgggtgagg</p>

caggctccaggaaaggcctttaagtggatgggtctggatgaacaccaacactggagag  
tcaatatatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc  
agtactgcctatgtgcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc  
tgtgcaagatactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca  
gctagcaccaagggcccatcggctcttccccctggcaccctcctccaagagcacctct  
gggggacacagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccggtgacg  
gtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta  
cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttg  
ggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggac  
aagaaagcagagcccaaactcttgtgacaaaactcacacatgccaccgtgccagca  
cctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaaccaaggacacc  
ctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctgtgggtgggacgacgacgatgac  
gataagcctctgggcctggccagacggcggagaagaagaaggcgcagacggaagcac  
agccctgctgctgttttctgccactgggcctggcgggctgagccacgaagaccct  
gaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaaagacaaag  
ccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtgggtcagcgtcctcaccgtcctg  
caccaggactggctgaatggcaaggactacaagtgcaaggtctccaacaaagccctc  
ccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacag  
gtgtacaccctgccccatcccgggatgagctgaccaggaaccagggtcagcctgacc  
tgctgggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtgaggagcaatggg  
cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttc  
ttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttc  
tcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctcc  
ctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:20)

Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F  
T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S  
I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N  
N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S  
T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D  
Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S  
G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P  
S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L  
G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V  
D D D D D D K P L G L A R R R R R R R R R R K H S P A C A  
F L P L G L A G V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N  
A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N  
G K D Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R  
E P Q V Y T L P P S R D E L T R N Q V S L T C L V K G F Y



	<p>P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:21)</p>
	<p><b>輕鏈</b></p>
	<p>Gacatcaagatgacccagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctgggtccagcag aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagatggg gtcccatcaagggtcagtgggcagtggtatctgggcaagatTTTTCTCTCaccatcagc agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg tacacgttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggtgcaccatct gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttggtg tgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagggtgataac gccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagc acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa gtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttc aacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)</p>
	<p>D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4Fc- rS9</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>重鏈</b></p> <p>cagatccagttggtgcagtcctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtc atctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtgagg caggctccaggaaaggctttaagtggatggtctggatgaacaccaactggagag tcaatataatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctctgcc agtactgcctatTTGcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacatatttc tgtgcaagataactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtctcctca gctagcaccaagggcccatcggcttccccctggcaccctcctccaagagcacctct gggggcacagcggccctgggctgcctggtcaaggactactccccgaaccggtgacg gtgtcgtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtccta cagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgccctccagcagcttg ggcaccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaacaccaaggtggac aagaaagcagagcccaaactcttgtagacaaaactcacacatgccaccgtgccagca cctgaactcctggggggaccgtcagtccttcttccccccaaaaccaaggacacc</p>

ctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggtggtggacgtgagccacgaa  
gaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaag  
aaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacc  
gtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggactacaagtgaaggtctccaacaaa  
gccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaa  
ccacaggtgtacaccctgccccatccccgggatgagctgaccaggaaccaggtcagc  
ctgacctgctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagc  
aatgggcagccggagaaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggc  
tccttctcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaac  
gtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagc  
ctctccctgtctccgggtaaagacgacgacgatgacgataagcctctgggcctggcc  
ggacggcggagaagaagaaggcgcagacggaagcacagccctgcctgcgcttttctg  
(SEQ ID NO:22)

Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T F  
T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G E S  
I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N N L N  
N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V S S A S  
T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D  
Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S  
G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V N H K P  
S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L  
G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V  
D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E  
E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K D Y K C K  
V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L  
P P S R D E L T R N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E  
W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K  
L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q  
K S L S L S P G K D D D D D D K P L G L A G R R R R R R R R  
R R K H S P A C A F L  
(SEQ ID NO:23)

輕鏈

Gacatcaagatgaccagctctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtc  
actatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctggttccagcag  
aaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgctgcaaacagattggtagatggg  
gtcccatcaaggttcagtgggcagtgatctgggcaagatttttctctcaccatcagc  
agccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagtttccg

tacacgttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacggtggctgcaccatct  
 gtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttg  
 tgcttctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataac  
 gccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagc  
 acctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaa  
 gtctacgcctgcaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaagagcttc  
 aacaggggagagtgt (SEQ ID NO:10)

D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D I  
 N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D G V  
 P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G I Y Y  
 C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A P S V F  
 I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K  
 V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S  
 L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S  
 P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)

在表中，標記下劃線之胺基酸為酸性結構域(PAD)；標記短橫下劃線之胺基酸為裂解連接子(CL)；標記雙下劃線之胺基酸為鹼性結構域(PCD)；且標記點下劃線之胺基酸為效應狀(EP)。

融合蛋白之製備可藉由任何用於製備蛋白質的通用方法進行，諸如蛋白質之化學合成、使用包含(攜載)編碼融合蛋白之各組分之聚核苷酸的表現(重組)載體(在合適宿主細胞內)的蛋白表現及其類似方法。

本發明之融合蛋白可根據習知之公眾已知的基因工程技術製造。因此，舉例而言，必要時擴增編碼Ab之DNA及編碼CPEP之DNA中之每一者，彼等DNA彼此結合，將所得DNA插入至細胞表現載體中，且用載體轉染宿主細胞以表現融合蛋白，由此可製造本發明之融合蛋白。DNA之擴增可藉由例如PCR方法進行。擴增DNA的結合可例如藉由重疊延伸PCR方法進行。亦可設計待表現之融合蛋白的胺基酸序列以便直接製備人工合成基因。表現載體較佳包括用於促進表現效率之啟動子，及用於自培養上清液輕易回收經表現之融合蛋白的分泌信號序列，諸如抗體重鏈信號序列或抗體κ鏈信號序列。至於表現宿主細胞，可使用哺乳動物細胞、酵

母、動物細胞、昆蟲細胞、植物細胞、細菌細胞(大腸桿菌等)等。其中，動物細胞為較佳的，且CHO細胞、HEK293細胞等為尤其較佳的。

對於熟習此項技術者而言，顯而易見的係如此定義之融合蛋白可藉由肽及蛋白質之已知化學合成方法合成。融合蛋白可藉由化學肽合成方法合成，尤其使用利用適合樹脂作為載體之固相肽合成技術。或者，融合蛋白可藉由肽之化學合成方法以連續蛋白形式合成。或者，蛋白之個別片段(結構域)可分別合成，且隨後藉由一個肽片段之胺基端自第二肽之羧基末端的縮合經由肽鍵一起組合在一個連續肽中。此等技術為習知的且熟知的。

本發明亦提供用於將效應肽遞送至細胞內之組合物。在一個實施例中，組合物包含本發明之融合蛋白及藥理學上適合之載劑。此等組合物通常製備為液態溶液或懸浮液，然而，亦涵蓋固體形式，諸如錠劑、丸劑、粉末及其類似物。本發明之融合蛋白可與醫藥學上可接受且可與該融合蛋白相容的賦形劑混合。適合之賦形劑為例如水、生理鹽水、右旋糖、甘油、乙醇及其類似物或其組合。此外，組合物可含有少量輔助物質，諸如潤濕劑或乳化劑、pH緩衝劑及其類似物。此外，組合物可含有各種輔料(可誘導或增加針對抗原或免疫原之體液及/或細胞免疫反應之化合物)。若需要投與口服形式之組合物，則可添加各種增稠劑、調味劑、稀釋劑、乳化劑、分散助劑或結合劑及其類似物。本發明之組合物可含有任何此等額外成份，從而提供呈適合於投與之形式的組合物。

本發明之組合物(製劑、調配物等)可藉由熟習此項技術者熟知之多種適合手段中的任一者投與，包括但不限於藉由非經腸(包括例如動脈內、靜脈內、肌內、皮下)、經體表(包括真皮、經皮、皮下等)、經口、經

鼻、經黏膜(包括舌下)及腔內途徑(諸如陰道內、子宮頸內、子宮內、陰莖內及鼻內)。在一些實施例中，投與模式為藉由注射、皮內或經口。

本發明亦提供用於將效應肽遞送至細胞內及/或細胞核內之方法，其包含向個體投與本發明之融合蛋白或包含本發明之融合蛋白的組合物。因此，本發明提供一種本發明之融合蛋白在製造用於將效應肽遞送至細胞內及/或細胞核內之藥物中的用途。視待藉由融合蛋白遞送之效應肽而定，本發明之融合蛋白可經投與以用於癌症、纖維化、發炎疾病、代謝障礙、免疫系統病症、傳染病、抗老化及酶替代療法。融合蛋白可達成胞內及核內藥物遞送。前述實例用來進一步說明本發明之特定實施例，但不應解釋為以任何方式限制本發明。

## 實例

### 實例1 本發明之生物藥物遞送技術的作用機制

圖1展示用於癌症治療之此種創新生物藥物遞送技術ASC (抗體開啟細胞毒性(Antibody Switched-on Cytotoxicity))生物平台之作用機制(MOA)的示意圖，該ASC生物平台利用靶向細胞表面之抗體(步驟1)；及隨後在腫瘤微環境中激活CPEP (步驟2)，且CPP (細胞穿透肽)/PCD將作為細胞毒性肽有效負載之EP遞送至細胞內(步驟3)。

### 實例2 ASC生物藥物表現及純化

各ASC生物藥物之基因係經重新DNA合成或基於PCR合成，且選殖成經修飾之哺乳動物表現載體。基於抗-DSG2抗體(3D4)產生ASC生物藥物(3D4scr、3D4KLA、3D4S9、3D4rS9、3D4rS9- $\Delta$ D6、3D4rS9-A、3D4S9-D及3D4Fc-rS9)。亦基於抗-DSG2抗體(3D4)產生具有無細胞毒性之EP的3D4scr作為陽性對照。3D4及3D4scr之核苷酸及胺基酸序列列於

下表1中。各ASC生物藥物之核苷酸及胺基酸序列描述於先前序列表中(參見第20頁第3段)。遵循製造商說明書，利用Expi293™表現系統(Thermo Fisher Scientific)藉由短暫基因表現來表現ASC生物藥物。藉由蛋白A親和力純化(GE Healthcare)自Expi293™上清液純化ASC生物藥物。在用pH 8.0之0.1 M Tris及pH 8.0之10 mM Tris洗滌蛋白A樹脂之後，用pH 3.0之0.1 M甘胺酸溶離ASC生物藥物，隨後藉由每1 mL溶離液添加0.1 mL之pH 8.0之1 M Tris-HCl來快速調節樣品pH。隨後，使用PD-10 (Nap-10)去鹽管柱(Desalting Column) (GE Healthcare)將蛋白溶液與PBS緩衝交換，且最後使用Vivaspin蛋白濃縮器旋轉管柱(Vivaspin Protein Concentrator Spin Column) (GE Healthcare)濃縮。所得ASC生物藥物包括3D4scr、3D4KLA、3D4S9、3D4rS9、3D4rS9- $\Delta$ D6、3D4rS9-A、3D4S9-D及3D4Fc-rS9。

表1

抗體	重鏈及輕鏈之核酸序列及胺基酸
<b>3D4</b> (抗-DSG2)	<b>重鏈</b>
	Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T
	F T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G
	E S I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N
	N L N N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V
	S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G
	C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P
	A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I
	C N V N H K P S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P
	P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R
	T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E
	V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q
	D W L N G K D Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A
	K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T R N Q V S L T C
	L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P
	P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F

	<p>S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (SEQ ID NO:24)</p>
	<p><b>輕鏈</b></p>
	<p>D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D          I N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D          G V P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G          I Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A          P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y          P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S          K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V          T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)</p>
<p><b>3D4scr</b></p>	<p><b>重鏈</b></p>
	<p>cagatccagttggtgcagctctggacctgagctgaagaagcctggagagacagtcaa          gatctcctgcaaggcttctgggtataccttcacaaactatggaatgaactgggtga          ggcaggctccaggaaaggctttaagtggatggctctggatgaacaccaactgga          gagtcaatataatgctgaggagttcaagggacggtttgtcttctctttggatacctc          tgccagtagtgcctatttgcagatcaacaacctcaacaatgaggacacggctacat          atttctgtgcaagatactgggacacctattggggccaaggcaccactctcacagtc          tcctcagctagcaccaagggccatcggcttccccctggcaccctcctccaagag          cacctctgggggcacagcggccctgggctgcctgggtcaaggactactccccgaac          cggtgacgggtgctggtggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgcacacctcccg          gctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtgggtgaccgtgcctc          cagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaaca          ccaaggtggacaagaagcagagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcca          ccgtgccagatgacgacgatgatgacaaacctgggcctggccagacgcccggag          aaggagacgcaggcgggagactgcattgcaaatcctttgcaagcggccactgggcc          tggcgggcgcacctgaactcctggggggaccgtcagctcttctcttcccccaaaa          cccaaggacacctcatgatctccggaccctgaggtcacatgctgtggtggtgga          cgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggagg          tgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtg          gtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggactacaagtg          caaggtctccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaacctctccaaagcca          aagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggatgagctg          accaggaaccaggtcagcctgacctgcctgggtcaaggcttctatcccagcgcacat          cgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctc          ccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaag          agcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgca          caaccactacagcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa (SEQ ID NO:25)</p>

Q I Q L V Q S G P E L K K P G E T V K I S C K A S G Y T  
 F T N Y G M N W V R Q A P G K A L K W M V W M N T N T G  
 E S I Y A E E F K G R F V F S L D T S A S T A Y L Q I N  
 N L N N E D T A T Y F C A R Y W D T Y W G Q G T T L T V  
 S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G  
 C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P  
 A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I  
 C N V N H K P S N T K V D K K A E P K S C D K T H T C P  
 P C P D D D D D D K P L G L A R R R R R R R R R R L H C  
K S F A S G P L G L A G A P E L L G G P S V F L F P P K  
 P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K  
 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V  
 V S V L T V L H Q D W L N G K D Y K C K V S N K A L P A  
 P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L  
 T R N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q  
 P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K  
 S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S  
 L S P G K (SEQ ID NO:26)

輕鏈

Gacatcaagatgaccagtcctccatcttccatgtagatgcatctctaggagagagagt  
 cactatcacttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctggttccagc  
 agaaaccagggaaatctcctaagaccctgatctatcgtgcaaacagattggtagat  
 ggggtcccatcaaggttcagtgagtgatctgggcaagatttttctctcaccat  
 cagcagccttgagtatgaagatatgggaatttattattgtctacagtatgatgagt  
 ttccgtacacgttcggaggggggaccaagctggaaatcaaacgtacgggtggctgca  
 ccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctc  
 tgttggtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaagg  
 tggataacgcctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagc  
 aaggacagcacctacagcctcagcagcacctgacgctgagcaaagcagactacga  
 gaaacacaaagtctacgcctgccaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtca  
 caaagagcttcaacaggggagagtggt (SEQ ID NO:10)

D I K M T Q S P S S M Y A S L G E R V T I T C K A S Q D  
 I N S Y L S W F Q Q K P G K S P K T L I Y R A N R L V D  
 G V P S R F S G S G S G Q D F S L T I S S L E Y E D M G  
 I Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K L E I K R T V A A  
 P S V F I F P P S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y  
 P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S



K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V
T H Q G L S S P V T K S F N R G E C (SEQ ID NO:11)

標記下劃線之胺基酸為酸性結構域(PAD)；標記短橫下劃線之胺基酸為裂解連接子(CL)；  
標記雙下劃線之胺基酸為鹼性結構域(PCD)；且標記點下劃線之胺基酸為效應肽(EP)。

### 實例3 藉由流動式細胞測量術之ASC生物藥物分析

收集細胞( $1 \times 10^6$  /ml)且將細胞再懸浮在具有2% FBS且含有2mM EDTA之PBS中，且與1  $\mu\text{g/ml}$  IgG、3D4scr、3D4KLA或3D4S9在4°C下一起培育30分鐘。細胞用PBS洗滌兩次，且隨後在4°C下添加次級FITC結合抗體(Alexa Fluor 488山羊抗人類IgG)持續30分鐘。將樣品用PBS洗滌兩次，且使用流動式細胞測量術分析。每樣品分析10000個細胞事件。圖2A展示藉由流動式細胞測量術測得之表面結合ASC生物藥物且結果展示ASC生物藥物識別目標細胞。

收集人類乳房腺癌MCF7細胞且將其再懸浮在具有2% FBS且含有2mM EDTA之PBS中，且在4°C或37°C下與3D4S9 (1  $\mu\text{g/ml}$ )一起培育，持續各時間點(1、5、10、15、30、60、90及120分鐘)。所有細胞固定在1%多聚甲醛內10分鐘，用PBS洗滌兩次，且用初級兔抗連接子-X抗體染色。將Alexa Fluor 594山羊抗兔IgG及Alexa Fluor 488山羊抗人類IgG分別用於偵測連接子-X及ASC生物藥物。使用流動式細胞測量術分析樣品。每樣品分析10000個細胞事件。圖2B藉由流動式細胞測量術評估裂解的ASC生物藥物。

將人類乳房腺癌MCF7細胞接種在玻璃蓋玻片上48小時，且在37°C下用3D4S9處理1小時及48小時。將蓋玻片上之細胞用PBS洗滌，固定在4%多聚甲醛內，用PBS洗滌兩次，及用0.2% Triton X-100滲透化15分鐘。在用PBS洗滌之後，細胞用10% FBS阻斷1小時，隨後與兔抗連接子-X抗體一起培育。將Alexa Fluor 594山羊抗兔IgG及Alexa Fluor 488山羊抗人

類IgG分別用於可視化連接子-X及ASC生物藥物的位置。最後，將固定細胞用PBS洗滌3次，且將其核對比染色、安放及使用螢光顯微鏡或共焦顯微鏡觀測。圖2C展示螢光ICC染色。圖2B及2C之結果展示3D4S9之聚陽離子結構域裂解且內化入人類乳房腺癌MCF7細胞中。

#### 實例4 軟瓊脂群落形成分析法

細胞( $2 \times 10^3$ )用3D4scr、3D4KLA、3D4S9、3D4rS9、3D4rS9- $\Delta$ D6、3D4rS9-A、3D4S9-D或3D4Fc-rS9處理10分鐘，且隨後與生長介質中的0.35%瓊脂糖混合，在12孔板中平鋪在生長介質內之0.5%瓊脂糖之固化層的頂部上。在1-2週後，將群落用Cristal Violet (0.01%溶液)染色且用PBS洗滌，且使用顯微鏡對群落計數。3D4scr、3D4KLA、3D4S9、3D4rS9、3D4rS9- $\Delta$ D6、3D4rS9-A、3D4S9-D或3D4Fc-rS9之軟瓊脂群落形成分析法的結果展示於圖3至圖9中。結果展示用3D4KLA處理之人類乳房腺癌MCF7細胞(A)及人類非小細胞肺癌H1299 (B)中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖3)；用3D4S9處理之人類乳房腺癌MDA-MB-231 (A)、人類乳房腺癌SKBR3 (B)、人類乳房腺癌MCF7 (C)、人類肺癌A549 (D)、人類非小細胞肺癌H1299 (E)及人類胰臟腺癌PANC-1細胞(F)中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖4)；用3D4rS9處理之人類肺癌A549細胞中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖5)；用3D4rS9-A處理之人類乳房腺癌SKBR3 (A)及人類肺癌A549細胞(B)中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖6)；用3D4rS9-D處理之人類肺癌A549細胞中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖7)；用3D4rS9- $\Delta$ D6處理之人類乳房腺癌SKBR3細胞中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖8)；用3D4Fc-rS9處理之人類肺癌A549細胞中的軟瓊脂群落形成活性降低(圖9)。

將3D4<sub>sc</sub>、3D4S9、3D4KLA、3D4rS9、3D4rS9- $\Delta$ D6、3D4rS9-A、3D4rS9-D及3D4Fc-rS9用於各種癌細胞株的活體外抑制分析法中，且結果展示在下表2中。

ASC生物藥物名稱	3D4scr	3D4KLA	3D4S9	3D4rS9	3D4rS9-ΔD6	3D4rS9-A	3D4rS9-D	3D4Fc-rS9
疾病								
人類乳房腺癌	細胞株							
	MDA-MB-231	(-)	ND	(+)	ND	ND	ND	ND
	MCF7	(-)	(+)	(+)	ND	ND	ND	ND
人類肺癌	SKBR3	(-)	ND	(+)	(+)	(+)	ND	ND
	A549	(-)	ND	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
人類非小細胞肺癌	H1299	(-)	(+)	(+)	ND	ND	ND	ND
人類胰臟癌	PANC-1	(-)	ND	(+)	ND	ND	ND	ND

(-)：陰性結果，群落形成未減少；

(+)：陽性結果，群落形成顯著減少；

ND：(沒有變化)

## 實例5 腫瘤異種移植

6週大雄性非肥胖嚴重糖尿病結合免疫缺乏小鼠接收皮下注射與基質膠(Matrigel) (1:1)混合之0.1 ml PBS中的人類胰臟癌PANC1細胞株的 $2 \times 10^6$ 個細胞。當腫瘤體積達到約 $20 \text{ mm}^3$ 時，小鼠隨機分派至各治療組。經PBS稀釋之3D4scr及3D4S9 (30 mg/kg)每週兩次腹膜內注射，持續3週。在治療期結束時記錄體重以評估3D4scr及3D4S9療法的全身性毒性。用測徑規量測腫瘤尺寸且根據公式(長度 $\times$ 寬度<sup>2</sup>)/2計算腫瘤體積。

圖10A至圖10C展示3D4S9減少使用人類胰臟癌PANC1細胞之NOD/SCID小鼠內的異種移植腫瘤生長。相比於3D4scr對照組內 $231 (\pm 150) \text{ mm}^3$ 的腫瘤體積，攜帶用3D4S9治療之人類PANC1腫瘤異種移植的小鼠在三週之後具有 $84 (\pm 40) \text{ mm}^3$ 的腫瘤體積。3D4S9治療減小異種移植腫瘤體積達60% (A)。相比於3D4scr對照組內 $0.66 (\pm 0.3) \text{ g}$ 的腫瘤重量，攜帶用3D4S9治療之人類PANC1腫瘤異種移植的小鼠在三週之後具有 $0.13 (\pm 0.02) \text{ g}$ 的腫瘤重量。3D4S9治療減小異種移植腫瘤重量達80% (B)。小鼠在處死之前稱重。攜帶用3D4scr或3D4S9治療之人類PANC1腫瘤異種移植的小鼠具有幾乎相同的體重(C)。

## 【序列表】

<110> 臺灣ASCLEPIUMM 有限公司

<120> 用於藥物遞送之抗體融合蛋白

<130> A91566/CN28254

<150> US 62/346,386

<151> 2016-06-06

<160> 26

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 1

Leu His Cys Lys Ser Phe Ala Ser Gly  
1 5

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 2

Lys Leu Ala Lys Leu Ala Lys Lys Leu Ala Lys Leu Ala Lys  
1 5 10

<210> 3

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 3

Lys His Ser Ser Gly Cys Ala Phe Leu  
1 5

<210> 4  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<400> 4

Lys His Ser Pro Ala Cys Ala Phe Leu  
 1 5

<210> 5  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成序列

<400> 5

Lys Pro Leu Gly Leu Ala Arg  
 1 5

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

<220>  
 <223> 合成序列

<400> 6

Pro Leu Gly Leu Ala Gly  
 1 5

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

<220>  
 <223> 合成序列

<400> 7

Lys Pro Leu Gly Leu Ala Gly

1

5

<210> 8  
 <211> 1458  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4KLA之重鏈

<400> 8  
 cagatccagt tggatgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
 tcttgcaagg ctctcgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
 ccaggaaagg cttaaaagtg gatggctctg atgaacacca acactggaga gtcaatatat 180  
 gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240  
 ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
 gacacctatt ggggcccaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca 360  
 tcggtcttcc ccttggcacc ctcttccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420  
 tgcctgggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccttg 480  
 accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 540  
 agcgtgggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat 600  
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaactctg tgacaaaact 660  
 cacacatgcc caccgtgccc agatgacgac gatgatgaca aaccactggg cctggccaga 720  
 cgccggagaa ggagacgcag gcggagaaaa ctggcaaagc ttgccaagaa actcgccaag 780  
 cttgctaaac cactgggcct ggcgggcgca cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc 840  
 ctcttcccc caaaaccaa ggacaccctc atgatctccc ggaccctga ggtcacatgc 900  
 gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 960  
 gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt 1020  
 gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga ctacaagtgc 1080  
 aaggtctcca acaaagccct cccagcccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1140  
 cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggatgagct gaccaggaac 1200  
 caggtcagcc tgacctgct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1260  
 gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac 1320



ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac 1380  
 gtctttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc 1440  
 tccctgtctc cgggtaaa 1458

<210> 9  
 <211> 486  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4KLA之重鏈

<400> 9

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
 35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
 85 90 95

Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
 100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
 115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

145					150						155				160
Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu
				165					170					175	
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr
			180					185					190		
Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val
		195					200					205			
Asp	Lys	Lys	Ala	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro
	210					215					220				
Pro	Cys	Pro	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Pro	Leu	Gly	Leu	Ala	Arg
225						230				235					240
Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Arg	Lys	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala
				245						250					255
Lys	Leu	Ala	Lys	Leu	Ala	Lys	Pro	Leu	Gly	Leu	Ala	Gly	Ala	Pro	Glu
			260					265					270		
Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp
		275					280					285			
Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
	290					295					300				
Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
305					310					315					320
Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
				325					330					335	
Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
			340					345					350		
Leu	Asn	Gly	Lys	Asp	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
		355					360					365			

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu  
370 375 380

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Arg Asn  
385 390 395 400

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile  
405 410 415

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr  
420 425 430

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
435 440 445

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
450 455 460

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
465 470 475 480

Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
485

<210> 10  
<211> 642  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗體3D4KLA、3D4S9、3D4rS9、3D4rS9-ΔD6、3D4rS9-A、3D4rS9-D、3D4Fc-rS9、  
3D4或3D4scr之輕鏈

<400> 10  
gacatcaaga tgaccaggtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 60  
atcacttgca aggcgagtc gacattaat agctatttaa gctggttcca gcagaaacca 120  
gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg ggtcccatca 180  
aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat ttttctctca ccatcagcag ccttgagtat 240  
gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgatgagt ttccgtacac gttcggaggg 300  
gggaccaagc tggaaatcaa acgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcc 360  
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420

cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgct gccaagtcac ccatcagggc 600  
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 11  
<211> 214  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗體3D4KLA、3D4S9、3D4rS9、3D4rS9-ΔD6、3D4rS9-A、3D4rS9-D、3D4Fc-rS9、  
3D4或3D4scr之輕鏈

<400> 11

Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr Ala Ser Leu Gly  
1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr  
20 25 30

Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Thr Leu Ile  
35 40 45

Tyr Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Gln Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Tyr  
65 70 75 80

Glu Asp Met Gly Ile Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Tyr  
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser  
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
210

<210> 12  
<211> 1443  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗體3D4S9之重鏈

<400> 12  
cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
tcttgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
ccaggaaagg ctttaaagtg gatggtctgg atgaacacca aactggaga gtcaatata 180  
gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240  
ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
gacacctatt ggggccaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca 360  
tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420  
tgccctgggtca aggactactt ccccgaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccttg 480  
accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 540  
agcgtgggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccacaga cctacatctg caacgtgaat 600  
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaatcttg tgacaaaact 660  
cacacatgcc caccgtgccc agatgacgac gatgatgaca aaccactggg cctggccaga 720

cgccggagaa ggagacgcag gccgagaaaa catccagcg gctgcgcatt tctgccactg 780  
 ggcctggcgg ggcacactga actcctgggg ggaccgtcag tcttcctctt cccccaaaa 840  
 cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg 900  
 agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat 960  
 gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc 1020  
 accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggactaca agtgcaaggt ctccaacaaa 1080  
 gccctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca 1140  
 caggtgtaca cctgcccc atcccgggat gagctgacca ggaaccaggt cagcctgacc 1200  
 tgctgtgtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag 1260  
 ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc 1320  
 tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc 1380  
 gtgatgatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctcct gtctccgggt 1440  
 aaa 1443

<210> 13  
 <211> 481  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4S9之重鏈

<400> 13

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
 35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
 100 105 110  
 Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
 115 120 125  
 Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 130 135 140  
 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
 145 150 155 160  
 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
 165 170 175  
 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr  
 180 185 190  
 Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val  
 195 200 205  
 Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 210 215 220  
 Pro Cys Pro Asp Asp Asp Asp Asp Asp Lys Pro Leu Gly Leu Ala Arg  
 225 230 235 240  
 Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Lys His Ser Ser Gly Cys Ala  
 245 250 255  
 Phe Leu Pro Leu Gly Leu Ala Gly Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 260 265 270  
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 275 280 285  
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

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

Lys

<210> 14  
<211> 1443  
<212> DNA  
<213> 人工序列



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 抗體3D4rS9之重鏈

&lt;400&gt; 14

cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc	60
tcttgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct	120
ccaggaaagg ctttaaagtg gatggtctgg atgaacacca acactggaga gtcaatatat	180
gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat	240
ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg	300
gacacctatt ggggcccaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca	360
tgggtcttcc ccttggcacc ctcttccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc	420
tgccctggta aggactactt ccccgaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccttg	480
accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc	540
agcgtggatga ccgtgcctc cagcagcttg ggcaccaga cctacatctg caacgtgaat	600
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaattctg tgacaaaact	660
cacacatgcc caccgtgcc agatgacgac gatgatgaca aaccactggg cctggccaga	720
cgccggagaa ggagacgcag gccggagaaa cattccccg cctgcgcat tctgccactg	780
ggcctggcgg ggcacactga actcctgggg ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaa	840
cccaaggaca cctcatgat ctcccgacc cctgaggtca catgctggt ggtggactg	900
agccacgaag accctgaggt caagtccaac tggctacgtg acggcgtgga ggtgcataat	960
gccaaagaca agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtctc	1020
accgtctctgc accaggactg gctgaatggc aaggactaca agtgcaaggt ctccaacaaa	1080
gccctcccag ccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca	1140
caggtgtaca ccttgcctcc atcccggat gagctgacca ggaaccaggt cagcctgacc	1200
tgccctggta aaggcttcta tcccagcagc atcgccgtg agtgggagag caatgggcag	1260
ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc	1320
tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc	1380
gtgatgatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctccct gtctccgggt	1440
aaa	1443

<210> 15  
 <211> 481  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4rS9之重鏈

<400> 15

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
 35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
 85 90 95

Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
 100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
 115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr  
 180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val  
 195 200 205

Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 210 215 220

Pro Cys Pro Asp Asp Asp Asp Asp Asp Lys Pro Leu Gly Leu Ala Arg  
 225 230 235 240

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Lys His Ser Pro Ala Cys Ala  
 245 250 255

Phe Leu Pro Leu Gly Leu Ala Gly Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro  
 260 265 270

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser  
 275 280 285

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp  
 290 295 300

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
 305 310 315 320

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
 325 330 335

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Asp  
 340 345 350

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
 355 360 365

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
 370 375 380

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Arg Asn Gln Val Ser Leu Thr  
 385 390 395 400

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
 405 410 415

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
 420 425 430

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
 435 440 445

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
 450 455 460

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 465 470 475 480

Lys

<210> 16  
 <211> 1425  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4rS9-ΔD6之重鏈

<400> 16  
 cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
 tcttgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
 ccaggaaagg ctttaaagtg gatggtctgg atgaacacca aactggaga gtcaatatat 180  
 gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240  
 ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
 gacacctatt ggggcccaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca 360  
 tcggtcttcc ccttggcacc ctctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420  
 tgcttggtca aggactactt ccccgaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgacctg 480  
 accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtctc caggactcta ctccctcagc 540  
 agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccaga cctacatctg caacgtgaat 600  
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaatcttg tgacaaaact 660

cacacatgcc caccgtgccc aaaaccactg ggcctggcca gacgccggag aaggagacgc 720  
 aggcggagaa aacattcccc cgcctgcgca tttctgccac tgggcctggc gggcgcacct 780  
 gaactcctgg ggggaccgtc agtcttccctc ttccccccaa aacccaagga caccctcatg 840  
 atctcccgga cccctgaggt cacatgctg gttggtggacg tgagccacga agaccctgag 900  
 gtcaagttca actggtacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgcgg 960  
 gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct. gcaccaggac 1020  
 tggctgaatg gcaaggacta caagtgcaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1080  
 gagaaaacca tctccaaagc caaagggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1140  
 ccatcccggg atgagctgac caggaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1200  
 tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaag 1260  
 accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tccttcttcc tctacagcaa gctcaccgtg 1320  
 gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1380  
 cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaa 1425

<210> 17  
 <211> 475  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4rS9-AD6之重鏈

<400> 17

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
 35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr

65                               70                               75                               80  
Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
                                    85                               90                               95  
Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
                                    100                               105                               110  
Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
                                    115                               120                               125  
Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
                                    130                               135                               140  
Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
145                                      150                               155                               160  
Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
                                    165                               170                               175  
Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr  
                                    180                               185                               190  
Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val  
                                    195                               200                               205  
Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
                                    210                               215                               220  
Pro Cys Pro Lys Pro Leu Gly Leu Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
225                                      230                               235                               240  
Arg Arg Arg Lys His Ser Pro Ala Cys Ala Phe Leu Pro Leu Gly Leu  
                                    245                               250                               255  
Ala Gly Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro  
                                    260                               265                               270  
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr  
                                    275                               280                               285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn  
290 295 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg  
305 310 315 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
325 330 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Asp Tyr Lys Cys Lys Val Ser  
340 345 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys  
355 360 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp  
370 375 380

Glu Leu Thr Arg Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe  
385 390 395 400

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu  
405 410 415

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
420 425 430

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly  
435 440 445

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr  
450 455 460

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
465 470 475

<210> 18  
<211> 1440  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗體3D4rS9-A之重鏈

<400> 18  
 cagatccagt tggatgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
 tectgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
 ccaggaaagg ctttaaagtg gatggctctgg atgaacacca acactggaga gtcaatatat 180  
 gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240  
 ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
 gacacctatt ggggccaaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca 360  
 tcggtcttcc ccttggcacc ctctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420  
 tgcttggta aggactactt ccccgaccg gtgacgggtg cgtggaactc aggcgccctg 480  
 accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtctt caggactcta ctccctcagc 540  
 agcgtgggtg ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccaga cctacatctg caacgtgaat 600  
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaactctg tgacaaaact 660  
 cacacatgcc caccgtgcc agcacctgaa ctcttggggg gaccgtcagt ctctctctc 720  
 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgac tcccggacc ctgaggtcac atgcgtgggtg 780  
 gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagtccaact ggtacgtgga cggcgtggag 840  
 gtgcataatg ccaagacaaa ggacgacgac gatgacgata agcctctggg cctggccaga 900  
 cggcggagaa gaagaaggcg cagacggaag cacagccctg cctgcgcttt tctgccactg 960  
 ggccctggcgg gccgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 1020  
 gtctgcacc aggactggct gaatggcaag gactacaagt gcaaggctct caacaaagcc 1080  
 ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1140  
 gtgtacacc tgcacctc ccgggatgag ctgaccagga accaggtcag cctgacctgc 1200  
 ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1260  
 gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt ctctctctac 1320  
 agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg cagcagggga acgtctctc atgctccgtg 1380  
 atgcatgagg ctctgcacaa ccaactacag cagaagagcc tctcctgtc tccgggtaaa 1440

<210> 19  
 <211> 480  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列



&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 抗體3D4rS9-A之重鏈

&lt;400&gt; 19

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
 35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
 85 90 95

Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
 100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
 115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr  
 180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

195    200    205  
 Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
   210    215    220  
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
   225    230    235    240  
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
                                         245    250    255  
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe  
                                         260    265    270  
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Asp  
                                         275    280    285  
 Asp Asp Asp Asp Asp Lys Pro Leu Gly Leu Ala Arg Arg Arg Arg Arg  
   290    295    300  
 Arg Arg Arg Arg Arg Lys His Ser Pro Ala Cys Ala Phe Leu Pro Leu  
   305    310    315  
 Gly Leu Ala Gly Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val  
                                         325    330    335  
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Asp Tyr  
                                         340    345    350  
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr  
                                         355    360    365  
 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu  
   370    375    380  
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Arg Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys  
   385    390    395    400  
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser  
                                         405    410    415

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp  
 420 425 430

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser  
 435 440 445

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala  
 450 455 460

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 465 470 475 480

<210> 20  
 <211> 1440  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4rS9-D之重鏈

<400> 20  
 cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
 tcctgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
 ccaggaaagg ctttaaagtg gatggctctg atgaacacca aactggaga gtcaatatat 180  
 gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240  
 ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
 gacacctatt ggggcccaagg caccactctc acagtctect cagctagcac caagggccca 360  
 teggtcttcc ccctggcacc ctctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420  
 tgccctggta aggactactt ccccgaaacg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgcctg 480  
 accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtcct caggactcta ctccctcagc 540  
 agcgtggtga cegtgcctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat 600  
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaactctg tgacaaaact 660  
 cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctctggggg gaccgtcagt ctctctctc 720  
 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgata tcccggacce ctgaggtcac atgcgtggtg 780  
 gtggacgacg acgatgacga taagcctctg ggccctggcca gacggcggag aagaagaagg 840  
 cgcagacgga agcacagccc tgcctgcgct tttctgccac tgggcctggc gggcgtgagc 900

cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc 960  
 aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc 1020  
 gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag gactacaagt gcaaggtctc caacaaagcc 1080  
 ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag 1140  
 gtgtacacce tgccccatc ccgggatgag ctgaccagga accaggtcag cctgacctgc 1200  
 ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg 1260  
 gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg ctggactccg acggctcctt cttctctac 1320  
 agcaagctca ccgtggacaa gagcagggtg cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg 1380  
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1440

<210> 21  
 <211> 480  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4rS9-D之重鏈

<400> 21

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
85 90 95

Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr  
180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val  
195 200 205

Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Asp Asp Asp Asp Asp Lys Pro Leu Gly Leu  
260 265 270

Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Lys His Ser Pro Ala  
275 280 285

Cys Ala Phe Leu Pro Leu Gly Leu Ala Gly Val Ser His Glu Asp Pro  
290 295 300

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
305 310 315 320

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

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

<210> 22  
 <211> 1425  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4rFc-rS9之重鏈

<400> 22  
 cagatccagt tggatgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
 tcttgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
 ccaggaaagg ctttaaagtg gatggctctgg atgaacacca aactgggaga gtcaatatat 180  
 gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240

ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
 gacacctatt ggggccaaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca 360  
 tcggtcttcc ccctggcacc ctctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccctgggc 420  
 tgcctggtca aggactactt ccccgaaccg gtgacgggtgt cgtggaactc aggcgccctg 480  
 accagcggcg tgcacacctt cccggctgtc ctacagtctt caggactcta ctccctcagc 540  
 agcgtggtga ccgtgccctc cagcagcttg ggcacccaga cctacatctg caacgtgaat 600  
 cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaactctg tgacaaaact 660  
 cacacatgcc caccgtgccc agcacctgaa ctcttggggg gaccgtcagt ctctctcttc 720  
 cccccaaaac ccaaggacac cctcatgata tcccggaccc ctgaggtcac atgcgtggtg 780  
 gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc aagtccaact ggtacgtgga cggcgtggag 840  
 gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc 900  
 agcgtctctca ccgtcttgca ccaggactgg ctgaatggca aggactacaa gtgcaaggtc 960  
 tccaacaaag ccctcccagc ccccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1020  
 cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccgggatg agctgaccag gaaccaggtc 1080  
 agcctgacct gcctggfcaa aggccttctat cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1140  
 aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgcctggactc cgacggctcc 1200  
 ttcttctctt acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg gaacgtcttc 1260  
 tcatgctccg tgatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag cctctccctg 1320  
 tctccgggta aagacgacga cgatgacgat aagcctctgg gcctggccgg acggcggaga 1380  
 agaagaaggc gcagacggaa gcacagccct gcctgcgctt ttctg 1425

<210> 23  
 <211> 475  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4Fc-rS9之重鏈

<400> 23

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

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



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

450

455

460

Arg Arg Lys His Ser Pro Ala Cys Ala Phe Leu  
 465 470 475

<210> 24  
 <211> 444  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 抗體3D4 (抗-DSG2)之重鏈

<400> 24

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
 20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
 35 40 45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
 65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys  
 85 90 95

Ala Arg Tyr Trp Asp Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val  
 100 105 110

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser  
 115 120 125

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys  
 130 135 140

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu  
 145 150 155 160

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu  
 165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr  
 180 185 190

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val  
 195 200 205

Asp Lys Lys Ala Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro  
 210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe  
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val  
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe  
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro  
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr  
 290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Asp Tyr Lys Cys Lys Val  
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala  
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg  
 340 345 350

Asp Glu Leu Thr Arg Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly  
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro

370

375

380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser  
385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln  
405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His  
420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
435 440

<210> 25  
<211> 1443  
<212> DNA  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗體3D4scr之重鏈

<400> 25  
cagatccagt tgggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60  
tcctgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaggcaggct 120  
ccaggaaagg ctttaaagtg gatggtctgg atgaacacca aactggaga gtcaatatat 180  
gctgaggagt tcaagggacg gtttgtcttc tctttggata cctctgccag tactgcctat 240  
ttgcagatca acaacctcaa caatgaggac acggctacat atttctgtgc aagatactgg 300  
gacacctatt ggggcccaagg caccactctc acagtctcct cagctagcac caagggccca 360  
tcggtcttcc ccttggcacc ctctccaag agcacctctg ggggcacagc ggccttgggc 420  
tgcttggtca aggactactt cccgaaccg gtgacggtgt cgtggaactc aggcgccttg 480  
accagcggcg tgcacacctt cccggtgtc ctacagtctt caggactcta ctcctcagc 540  
agcgtggatga ccgtgccctc cagcagcttg ggcaccacaga cctacatctg caacgtgaat 600  
cacaagccca gcaacaccaa ggtggacaag aaagcagagc ccaaactctg tgacaaaact 660  
cacacatgcc caccgtgcc agatgacgac gatgatgaca aaccactggg cctggccaga 720  
cgccggagaa ggagacgcag gcggagactg cattgcaaat cttttgcaag cggcccactg 780  
ggcctggcgg ggcacactga actcctgggg ggaccgtcag tcttctctt cccccaaaa 840

```

cccaaggaca cccicacgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg      900
agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagctgg acggcgtgga ggtgcataat      960
gccaaagaaa agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc     1020
accgtcctgc accaggactg gctgaatggc aaggactaca agtgcaaggt ctccaacaaa     1080
gccctcccag ccccatoga gaaaaccatc tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca     1140
caggtgtaca cctgcccc atcccgggat gagctgacca ggaaccaggt cagcctgacc     1200
tgcttggtca aaggcttcta tcccagcgac atcgccgtgg agtgggagag caatgggcag     1260
ccggagaaca actacaagac cagcctccc gtgctggact ccgacggctc cttcttctc     1320
tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc     1380
gtgatgatg aggctctgca caaccactac acgcagaaga gcctctcctt gtctccgggt     1440
aaa                                                                           1443

```

<210> 26  
<211> 481  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>  
<223> 抗體3D4scr之重鏈

<400> 26

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr  
20                   25                   30

Gly Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ala Leu Lys Trp Met  
35                   40                   45

Val Trp Met Asn Thr Asn Thr Gly Glu Ser Ile Tyr Ala Glu Glu Phe  
50                   55                   60

Lys Gly Arg Phe Val Phe Ser Leu Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr  
65                   70                   75                   80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Asn Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

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

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn  
305 310 315 320

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val  
325 330 335

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Asp  
340 345 350

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys  
355 360 365

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr  
370 375 380

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Arg Asn Gln Val Ser Leu Thr  
385 390 395 400

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu  
405 410 415

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu  
420 425 430

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys  
435 440 445

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu  
450 455 460

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
465 470 475 480

Lys



201809013

## 【發明摘要】

### 【中文發明名稱】

用於藥物遞送之抗體融合蛋白

### 【英文發明名稱】

ANTIBODY FUSION PROTEINS FOR DRUG DELIVERY

### 【中文】

本發明係關於抗體融合蛋白。特定言之，本發明係關於用於胞內及核內藥物遞送之抗體融合蛋白。本發明之融合蛋白可用作肽穿透系統，其特異性地結合至各種目標以將效應肽遞送穿過生物障壁。

### 【英文】

The invention relates to antibody fusion proteins. Particularly, the invention relates to antibody fusion proteins for intra-cellular and intra-nucleus drugs delivery. The fusion protein of the invention can be used as a peptide penetration system that specifically binds to various targets for the delivery of effector peptides across a biological barrier.

### 【指定代表圖】

圖3A

### 【代表圖之符號簡單說明】

無



## 【發明申請專利範圍】

### 【第1項】

一種融合蛋白，其包含：

- (a) 抗體或其抗原結合片段(Ab)，其能夠靶向胞外表面標記物；及
- (b) 一或多個細胞穿透效應肽(cell penetrating effector peptide；

CPEP)，其融合至(a)之Ab或融合在(a)之Ab內部，

其中一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(polyanionic domain；PAD)、一個或兩個可裂解連接子(cleavable linker；CL)、聚陽離子結構域(polycation domain；PCD)及效應肽(effector peptide；EP)，該CPEP自N端至C端係呈(CL-PCD-EP)、(CL-EP-PCD)、(PAD-CL-PCD-EP)、(CL-EP-PCD-CL-PAD)、(EP-PCD-CL)、(PCD-EP-CL)、(EP-PCD-CL-PAD)或(PAD-CL-PCD-CL-PAD)配置，此時該CPEP融合至(a)之Ab的末端，或

一個CPEP包含視情況存在之聚陰離子結構域(PAD)、兩個可裂解連接子(CL)、聚陽離子結構域(PCD)及效應肽(EP)，該CPEP自N端至C端係呈(CL-PCD-EP-CL)、(CL-EP-PCD-CL)、(PAD-CL-PCD-EP-CL)、(PAD-CL-EP-PCD-CL)、(CL-EP-PCD-CL-PAD)或(CL-PCD-EP-CL-PAD)配置，此時該CPEP用其兩個末端融合在該Ab的內部。

### 【第2項】

如請求項1之融合蛋白，其中該CPEP融合至該Ab之重鏈的末端或內部。

### 【第3項】

如請求項1之融合蛋白，其中該抗體或其抗原結合片段靶向任何以下胞外標記物：

$\alpha 4\beta 1$ 整合素	EPHA2	胰島素受體
$\alpha 4\beta 7$ 整合素	ERBB3/HER3	鋸齒狀蛋白(Jagged)1
$\alpha 5\beta 1$ 整合素	FAP 纖維母細胞激活蛋白 $\alpha$	鋸齒狀蛋白2
$\alpha v\beta 3$ 整合素	IgE受體Ig之Fc片段	路易斯(y)抗原
$\alpha v\beta 5$ 整合素	FGF-2	間皮素
鈣網膜蛋白(calretinin)	FGFR1	MUC1
CD105	FGFR2	Na/K ATPase
CD11a	FGFR3	NGF
CD172A	FGFR4	Notch1
CD19	葉酸受體	Notch2
CD20	醣蛋白IIb/IIIa	Notch3
CD22	醣蛋白IIb/IIIa受體	Notch4
CD25	GP130	PDGF-AA
CD28	HER2/neu	PDGF-BB
CD3	HGF	PDGFR- $\alpha$
CD30	IFN- $\alpha$	PDGFR- $\beta$
CD40	IFN- $\beta$	磷脂酰肌醇聚糖F (PIGF)
CD40L	IFN- $\gamma$	前列腺幹細胞抗原(PSCA)
CD41	IgE	PSMA
CD44	IGF	RSV F蛋白
CD52	IL11	神經鞘胺醇1磷酸酯
CD64	IL12	TGF- $\beta$
CD80	IL13	TNF- $\alpha$
緊密連接蛋白-3	IL15	TRAIL-R1
緊密連接蛋白-4	IL17	TRAIL-R2
c-Met	IL18	運鐵蛋白
補體 C3	IL1B	運鐵蛋白受體
補體C5	IL1R	TrkA
CSF1	IL2	TrkB
CSF1R	IL21	VCAM-1
CTLA-4	IL23	VEGF-A
CXCR-4	IL23R	VEGF-B

<b>DLL4</b>	<b>IL29</b>	<b>VEGF-C</b>
<b>DSG2</b>	<b>IL2R</b>	<b>VEGF-D</b>
<b>DSG3</b>	<b>IL4</b>	<b>VEGFR1</b>
<b>EGFR</b>	<b>IL4R</b>	<b>VEGFR2</b>
<b>EpCAM</b>	<b>IL6</b>	<b>VEGFR3</b>

#### 【第4項】

如請求項1之融合蛋白，其中該抗體係選自由以下組成之群：阿昔單抗(abciximab)、阿布里單抗(abrilumab)、阿達木單抗(adalimumab)、阿德木單抗(adecatumumab)、阿柏西普(aflibercept)、阿侖單抗(alemtuzumab)、阿瑪西單抗(amatuximab)、阿特珠單抗(atezolizumab)、艾維路單抗(avelumab)、巴利昔單抗(basiliximab)、巴維昔單抗(bavituximab)、貝伐單抗(bevacizumab)、卡妥索單抗(catumaxomab)、西妥昔單抗(cetuximab)、達利珠單抗(daclizumab)、德諾單抗(denosumab)、杜里土單抗(duligotumab)、艾庫組單抗(eculizumab)、依決洛單抗(edrecolomab)、艾法珠單抗(efalizumab)、埃吉姆單抗(elgemtumab)、厄妥索單抗(ertumaxomab)、依那西普(etanercept)、埃達珠單抗(etaracizumab)、艾托珠單抗(etrolizumab)、非吉單抗(figitumumab)、戈利木單抗(golimumab)、英利昔單抗(infliximab)、伊派利單抗(ipilimumab)、盧姆珠單抗(lumretuzumab)、馬帕木單抗(mapatumumab)、那他珠單抗(natalizumab)、尼妥珠單抗(nimotuzumab)、納武單抗(nivolumab)、奧馬珠單抗(omalizumab)、帕利珠單抗(palivizumab)、帕尼單抗(panitumumab)、帕特里單抗(patritumab)、培立珠單抗(pembrolizumab)、帕妥珠單抗(pertuzumab)、蘭比珠單抗(ranibizumab)、利妥昔單抗(rituximab)、塞庫金單抗

(secukinumab)、塞里班單抗(seribantumab)、他尼珠單抗(tanezumab)、托珠單抗(tocilizumab)、托西莫單抗(tositumomab)、曲妥珠單抗(trastuzumab)、曲美單抗(tremelimumab)、優特克單抗(ustekinumab)、維多珠單抗(vedolizumab)、沃洛昔單抗(volociximab)及紮魯姆單抗(zalutumumab)。

**【第5項】**

如請求項1之融合蛋白，其中該抗體包含：具有SEQ ID NO:24之胺基酸序列的重鏈及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列。

**【第6項】**

如請求項1至5中任一項之融合蛋白，其中該抗體之抗原結合片段為Fab片段、Fab'片段、Fd片段、Fd'片段、Fv片段、dAb片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、單鏈片段、雙功能抗體或線抗體。

**【第7項】**

如請求項1之融合蛋白，其中當該CPEP融合至(a)之Ab的末端時，該融合蛋白自N端至C端具有以下配置：(EP-PCD-CL)-Ab、(PCD-EP-CL)-Ab、(EP-PCD-CL-PAD)-Ab、(PAD-CL-PCD-EP-CL)-Ab、Ab-(CL-PCD-EP)、Ab-(CL-EP-PCD)、Ab-(PAD-CL-PCD-EP)或Ab-(CL-EP-PCD-CL-PAD)。

**【第8項】**

如請求項1之融合蛋白，其中當該CPEP用其兩個末端融合在該Ab的內部時，該融合蛋白自N端至C端具有以下配置：Ab<sup>N</sup>-(CL-PCD-EP-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(CL-EP-PCD-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(PAD-CL-PCD-EP-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(PAD-CL-EP-PCD-CL)-Ab<sup>C</sup>、Ab<sup>N</sup>-(CL-EP-PCD-CL-PAD)-Ab<sup>C</sup>或

Ab<sup>N</sup>-(CL-PCD-EP-CL-PAD)-Ab<sup>C</sup>，其中Ab<sup>N</sup>為該Ab之N端片段且Ab<sup>C</sup>為該Ab之C端片段。

**【第9項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該PCD包含5至20個連續鹼性胺基酸。

**【第10項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該PCD包含7至12個連續鹼性胺基酸。

**【第11項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該PCD係選自由以下組成之群：聚離胺酸、聚精胺酸及聚組胺酸或其混合物。

**【第12項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中PCD組合物由8至10個連續離胺酸及精胺酸組成。

**【第13項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該EP為肽片段、蛋白之酶結構域、或功能蛋白或其組合。

**【第14項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該EP為選自以下之肽片段：AKT、澱粉狀蛋白-β、APAF1、ARF、Bcl-2、BCL9、β-素烴素(catenin)、BH3螺旋體、CDKN2B、環孢素A、散亂蛋白(dishevelled)、E-鈣黏素(cadherin)、ERK、EZH2、GNAS、GRB7、HIF-1、組蛋白H3、組蛋白H4、HSP60、HSP70、HSP90、IKBKG、ITPR3、KLA、

LAP、LFA-1、MAPK8IP1、MDM2、MEK、NBS1、P53、PKA、PKC、RAF、Slug、Smac/DIABLO、Stat3、存活素(survivin)或XIAP或其組合。

**【第15項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中EP具有SEQ ID NO:2、3或4之胺基酸序列或其組合。

**【第16項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CPEP之該PAD為具有包含4至20個酸性胺基酸之序列的聚陰離子肽。

**【第17項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該PAD包含5至9個連續酸性胺基酸。

**【第18項】**

如請求項17之融合蛋白，其中該酸性胺基酸為天冬胺酸、麩胺酸、磷絲胺酸及磷酸蘇胺酸。

**【第19項】**

如請求項17之融合蛋白，其中該PAD為6至8個連續天冬胺酸及麩胺酸。

**【第20項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CPEP之該CL包含約6至約30個之間的胺基酸。

**【第21項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CPEP之該CL包含約4至

約10個之間的胺基酸殘基。

**【第22項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CL在細胞環境中可裂解。

**【第23項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CL在胞外環境中可裂解。

**【第24項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CL在癌細胞附近的酸性條件下可裂解。

**【第25項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CL可藉由以下任一者或其組合裂解：

---

ADAM10	組織蛋白酶A	MMP15
ADAM12	組織蛋白酶B	MMP16
ADAM15	組織蛋白酶C	MMP17
ADAM17	組織蛋白酶D	MMP19
ADAM9	組織蛋白酶E	MMP2
ADAMTS1	組織蛋白酶H	MMP20
ADAMTS14	組織蛋白酶K	MMP23
ADAMTS2	組織蛋白酶L	MMP24
ADAMTS4	組織蛋白酶S	MMP25
ADAMTS5	組織蛋白酶Z	MMP26
$\beta$ -分泌酶1	FAP	MMP28
卡斯蛋白酶1	弗林蛋白酶(Furin)	MMP3
卡斯蛋白酶10	顆粒酶(Granzyme) B	MMP7
卡斯蛋白酶11	人類嗜中性球彈性蛋白酶	MMP8
卡斯蛋白酶12	天冬醯胺內肽酶(Legumain)	MMP9
卡斯蛋白酶13	間質蛋白酶1	腦啡肽酶

卡斯蛋白酶14	間質蛋白酶2	纖維蛋白溶酶
卡斯蛋白酶2	穿膜肽酶(Meprin)A	PSA
卡斯蛋白酶3	穿膜肽酶B	PSMA
卡斯蛋白酶4	MMP1	S3-4A絲胺酸蛋白酶
卡斯蛋白酶5	MMP10	絲胺酸蛋白酶第二型穿膜絲 胺酸蛋白酶(hepsin)
卡斯蛋白酶6	MMP11	TACE
卡斯蛋白酶7	MMP12	TMPRSS2
卡斯蛋白酶8	MMP13	TMPRSS4
卡斯蛋白酶9	MMP14	uPA

**【第26項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CL序列包含：

KPLGLAR (SEQ ID NO:5)、PLGLAG (SEQ ID NO:6)或KPLGLAG  
(SEQ ID NO:7)或其組合。

**【第27項】**

如請求項1至8中任一項之融合蛋白，其中該CL包含一或多個如請求  
項20至26中任一項之序列。

**【第28項】**

如請求項1之融合蛋白，其包含具有選自SEQ ID NO:9、13、15、  
17、19、21及23之胺基酸序列的重鏈序列，及具有SEQ ID NO:11之胺基  
酸序列的輕鏈序列。

**【第29項】**

如請求項1之融合蛋白，其包含：

3D4KLA：具有SEQ ID NO:9之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID  
NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4S9：具有SEQ ID NO:13之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID



NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9：具有SEQ ID NO:15之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID

NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9-ΔD6：具有SEQ ID NO:17之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9-A：具有SEQ ID NO:19之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；

3D4rS9-D：具有SEQ ID NO:21之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列；或

3D4Fc-rS9：具有SEQ ID NO:23之胺基酸序列的重鏈，及具有SEQ ID NO:11之胺基酸序列的輕鏈序列。

**【第30項】**

一種用於將效應肽遞送至細胞內的組合物，其包含如請求項1至29中任一項之融合蛋白及藥理學上適合之載劑。

**【第31項】**

一種如請求項1至29中任一項之融合蛋白或如請求項30之組合物的用途，其用於製造用以將效應肽作為蛋白有效負載遞送至細胞或細胞核內之藥物。

**【第32項】**

如請求項31之用途，其中該融合蛋白或組合物經由非經腸或腔內途徑投與。

**【第33項】**

如請求項32之用途，其中該融合蛋白經投與以用於癌症、纖維化、

發炎疾病、代謝障礙、免疫系統病症、傳染病、抗老化或酶替代療法，端視欲藉由該融合蛋白遞送之該效應肽而定。























