

权利要求书

1. 一种双特异性融合蛋白，所述融合蛋白的结构是在全长的免疫球蛋白 G(IgG)的铰链区通过可选的肽接头插入第二结合结构域，所述 IgG 的 Fab 区为第一结合结构域；插入第二结合结构域后的所述 IgG 的重链为所述融合蛋白的重链，所述 IgG 的轻链为所述融合蛋白的轻链；所述第二结合结构域选自人受体、配体或所述受体、配体的片段和片段组合；其中，所述受体、配体为在天然信号通路中会形成二聚化或多聚化结构以活化或抑制信号通路的受体或配体，且所述第二结合结构域与所述第一结合结构域靶向不同的靶点。
2. 根据权利要求 1 所述的融合蛋白，其特征在于，所述第一结合结构域靶向结合免疫检查点分子或肿瘤抗原。
3. 根据权利要求 2 所述的融合蛋白，其特征在于，所述免疫检查点分子包括 PD-1、PD-L1、CTLA-4、LAG-3、FGL1、TIM-3、Galectin-9、TIGIT、CD155、CD47；所述肿瘤抗原包括 Claudin 18.2、HER-2、Mesothelin、BCMA、SSTR2、GPRC5D、PSMA、FCRH5、CD33、CD123、CD20、A33、CEA、CD28、DLL3、EGFR、VEGFR、VEGFR2、VEGF-A、Nectin-4、FGFR、C-met、RANKL、PDGF、PDGFR、PDGFR α 、DLL4、Ang-1、Ang-2。
4. 根据权利要求 3 所述的融合蛋白，其特征在于，所述第二结合结构域靶向结合人 TGF- β 、CTLA-4、VEGF、LAG3、CD27、4-1BB、OX40、CD47、FGL1、TLT-2、CD28、HGF、CSF1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12、GITR、EGF、ICOSL。
5. 根据权利要求 4 所述的融合蛋白，其特征在于，所述受体或配体为人 TGF- β 受体(TGF- β R)、CD80、CD86、VEGFR、VEGF-trap、FGL1、CD70、4-1BBL、OX40L、SIRP α 、B7-H3、C-met、CSF1R、CXCR2、CXCR3、CXCR4、GITRL、EGFR、ICOS。
6. 根据权利要求 4 所述的融合蛋白，其特征在于，所述第一结合结构域和所述第二结合结构域选自以下组合：
- (1)所述第一结合结构域靶向结合 PD-L1，所述第二结合结构域靶向结合人 TGF- β 、VEGF、FGL1、CD47、CD155、HGF、CSF1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12、EGF 或 ICOSL；或
- (2)所述第一结合结构域靶向结合 PD-1，所述第二结合结构域靶向结合人 CTLA-4、VEGF、HGF、EGF、CD28、LAG3、CD27、4-1BB 或 OX40；

或

(3)所述第一结合结构域靶向结合 CTLA-4, 所述第二结合结构域靶向结合人 CD28、VEGF、HGF、EGF、LAG3、CD27、4-1BB 或 OX40; 或

5 (4)所述第一结合结构域靶向结合 LAG-3, 所述第二结合结构域靶向结合人 CD28、VEGF、HGF、EGF、CTLA-4、CD27、4-1BB 或 OX40; 或

(5)所述第一结合结构域靶向结合 FGL1, 所述第二结合结构域靶向结合人 TGF- β 、VEGF、CD47、CD155、HGF、CSF1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12、EGF 或 ICOSL; 或

10 (6)所述第一结合结构域靶向结合 TIM-3, 所述第二结合结构域靶向结合人 VEGF、HGF、EGF、LAG3、CD27、4-1BB 或 OX40; 或

(7)所述第一结合结构域靶向结合 Galectin-9, 所述第二结合结构域靶向结合人 TGF- β 、VEGF、CD47、CD155、HGF、CSF1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12、EGF 或 ICOSL; 或

15 (8)所述第一结合结构域靶向结合 TIGIT, 所述第二结合结构域靶向结合人 TGF- β 、HGF、EGF 或 VEGF; 或

(9)所述第一结合结构域靶向结合 CD155, 所述第二结合结构域靶向结合人 TGF- β 、VEGF、HGF、EGF、CD47 或 CD155; 或

20 (10)所述第一结合结构域靶向结合 Claudin 18.2、HER-2、mesothelin、BCMA、SSTR2、GPCR5D、PSMA、FCRH5、CD33、CD123、CD20、A33、CEA、CD28、DLL3、EGFR、VEGFR、VEGFR2、VEGF-A、Nectin-4、FGFR、C-met、RANKL、PDGF、PDGFR、PDGFR α 、DLL-4、Ang-1、Ang-2, 所述第二结合结构域靶向结合人 CTLA-4, TGF- β 、VEGF、FGL1、LAG3、4-1BB、OX40、CD27、CD28、CD47、CD155、HGF、CSF1、CXCL1、CXCL2、CXCL3、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8、CXCL9、CXCL10、CXCL12、EGF 或 ICOSL。

7. 根据权利要求 6 所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述第一结合结构域和所述受体、配体选自以下组合:

30 (1)所述第一结合结构域靶向结合 PD-L1, 所述受体、配体选自 TGF- β RII、VEGFR、LAG-3、SIRP α 、TIGIT、C-MET、CSF1R、CXCR2、CXCR3、CXCR4、EGFR 或 ICOS; 或

(2)所述第一结合结构域靶向结合 PD-1, 所述受体、配体选自人 CD80、CD86、VEGFR、c-MET、EGFR、FGL1、CD70、4-1BBL 或 OX40L; 或

(3)所述第一结合结构域靶向结合 CTLA-4, 所述受体、配体选自人 CD80、CD86、VEGFR、c-MET、EGFR、FGL1、CD70、4-1BBL 或 OX40L; 或

5 (4)所述第一结合结构域靶向结合 LAG-3, 所述受体、配体选自人 VEGFR、c-MET、EGFR、CD80、CD86、CD70、4-1BBL 或 OX40L; 或

(5)所述第一结合结构域靶向结合 FGL1, 所述受体、配体选自人 TGF- β R2、VEGFR、SIRP α 、TIGIT、c-MET、CSF1R、CXCR2、CXCR3、CXCR4、EGFR 或 ICOS; 或

10 (6)所述第一结合结构域靶向结合 TIM-3, 所述受体、配体选自人 VEGFR、c-MET、EGFR、FGL1、CD70、4-1BBL 或 OX40L; 或

(7)所述第一结合结构域靶向结合 Galectin-9, 所述受体、配体选自人 TGF- β R2、VEGFR、SIRP α 、TIGIT、c-MET、CSF1R、CXCR2、CXCR3、CXCR4、EGFR 或 ICOS; 或

15 (8)所述第一结合结构域靶向结合 TIGIT, 所述受体、配体选自人 TGF- β R2、c-MET、EGFR 或 VEGFR; 或

(9)所述第一结合结构域靶向结合 CD155, 所述受体、配体选自人 TGF- β R2、VEGFR、c-MET、EGFR、SIRP α 或 TIGIT; 或

20 (10)所述第一结合结构域靶向结合 Claudin 18.2、HER-2、mesothelin、BCMA、SSTR2、GPCR5D、PSMA、FCRH5、CD33、CD123、CD20、A33、CEA、CD28、DLL3、EGFR、VEGFR、VEGFR2、Nectin-4、FGFR、c-MET、RANKL、PDGF、PDGFR、PDGFR α 、DLL4、Ang-1 或 Ang-2, 所述受体、配体选自人 CTLA-4, CD80, CD86, TGF- β R2、VEGFR、FGL1、LAG3、4-1BB、OX40、CD27、CD28、CD70、c-MET、SIRP α 、TIGIT、CSF1R、CXCR2、CXCR3、CXCR4、EGFR 或 ICOS。
25

8. 根据权利要求 1-7 中任一项所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述受体、配体的片段包括受体或配体的胞外区片段、结合结构域片段。

9. 根据权利要求 7 所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述第一结合结构域靶向结合 PD-L1; 所述第二结合结构域为人 TGF- β R2 片段; 或所述第一结合
30 结构域靶向结合 PD-1, 所述第二结合结构域选自人 CD80 ECD、CD80 IgV 区、人 CD80IgVIgC、VEGFR1 ECD、VEGFR2 ECD 或 VEGFR1 的第 2 个细胞外

区域和 VEGFR2 的第 3 个细胞外区域组合；或所述第一结合结构域靶向结合 Claudin 18.2 或 HER-2、EGFR，所述第二结合结构域选自人 CD80 ECD、CD80 IgV 区、人 CD80IgVIgC、VEGFR1 ECD、VEGFR2 ECD 或 VEGFR1 的第 2 个细胞外区域和 VEGFR2 的第 3 个细胞外区域组合。

5 10. 根据权利要求 9 所述的融合蛋白，其特征在于，所述第二结合结构域选自：

(1) 包含 SEQ ID NO:31、131 或 132 所示序列的人 TGF- β RII 或包含与 SEQ ID NO:31、131 或 132 所示序列相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列或与 SEQ ID NO:31、131 或 132 所示序列相比具有 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个或 10 个氨基酸替换或缺失后的氨基酸序列；或

(2) 包含 SEQ ID NO:32 或 133 所示序列的 CD80 ECD 或包含与 SEQ ID NO:32 或 133 所示序列相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列或与 SEQ ID NO:32 或 133 所示序列相比具有 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个或 10 个氨基酸替换或缺失后的氨基酸序列；或

(3) 包含 SEQ ID NO:33 所示序列的 VEGFR1 的第 2 个细胞外区域和 VEGFR2 的第 3 个细胞外区域片段组合或包含与 SEQ ID NO:33 所示序列相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列或与 SEQ ID NO:33 所示序列相比具有 1 个、2 个、3 个、4 个、5 个、6 个、7 个、8 个、9 个或 10 个氨基酸替换或缺失后的氨基酸序列。

11. 根据权利要求 9 或 10 所述的融合蛋白，其特征在于，所述第一结合结构域靶向结合 PD-L1，所述 IgG 的 Fab 中重链可变区的 CDR 和/或所述轻链可变区的 CDR 与如下序列限定的抗体具有相同的 CDR 序列或在如下序列限定的抗体的 CDR 上进行 1-2 个氨基酸替换，所述序列限定的抗体为：

(1) 重链可变区氨基酸序列为 SEQ ID NO:66 所示；和/或

(2) 轻链可变区氨基酸序列为 SEQ ID NO:67 所示。

12. 根据权利要求 11 所述的融合蛋白，其特征在于，所述 IgG 的 Fab 中重链可变区的 CDR 和/或所述轻链可变区的 CDR 如下所示：

(1) 重链可变区 CDR1 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:1-5 及对 SEQ ID NO:1-5 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；CDR2 氨基酸序列选自 SEQ

ID NO:6-10 及对 SEQ ID NO: 6-10 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；
CDR3 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:11-15 及对 SEQ ID NO: 11-15 进行 1 或 2
个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或

(2)轻链可变区 CDR1 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:16-20 及对 SEQ ID NO:
16-20 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；CDR2 氨基酸序列选自
SEQ ID NO: 21-25 及对 SEQ ID NO: 21-25 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基
酸序列；CDR3 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:26-30 及对 SEQ ID NO: 26-30 进
行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列。

13.根据权利要求 12 所述的融合蛋白，其特征在于：

(1)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 1, 6, 11 或对 SEQ ID
NO:1, 6, 11 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或轻链可变
区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 16, 21, 26 或对 SEQ ID NO: 16,
21, 26 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；或

(2)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 2, 7, 12 或对 SEQ ID
NO:2, 7, 12 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或轻链可变
区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 17, 22, 27 或对 SEQ ID NO: 17,
22, 27 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；或

(3)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 3, 8, 13 或对 SEQ ID
NO:3, 8, 13 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或轻链可变
区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 18, 23, 28 或对 SEQ ID NO: 18,
23, 28 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；或

(4)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 4, 9, 14 或对 SEQ ID
NO:4, 9, 14 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或轻链可变
区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 19, 24, 29 或对 SEQ ID NO: 19,
24, 29 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；或

(5)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 5, 10, 15 或对 SEQ
ID NO: 5, 10, 15 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或轻链
可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 20, 25, 30 或对 SEQ ID NO:
20, 25, 30 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列。

14.根据权利要求 13 所述的融合蛋白，其特征在于，重链可变区 CDR 1-3
氨基酸序列为 SEQ ID NO: 3, 8, 13；和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序
列为 SEQ ID NO: 18, 23, 28。

15. 根据权利要求 14 所述的融合蛋白，其特征在于：

(1)重链可变区的序列如 SEQ ID NO:66 所示，或与 SEQ ID NO:66 具有相同的 CDR 1-3 且与 SEQ ID NO:66 相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%的序列；和/或

5 (2)轻链可变区的序列如 SEQ ID NO:67 所示，或与 SEQ ID NO:67 具有相同的 CDR 1-3 且与 SEQ ID NO:67 相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%的序列。

16. 根据权利要求 15 所述的融合蛋白，其特征在于：

10 (1)所述融合蛋白的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:72 所示或与 SEQ ID NO:72 相比同一性大于 90%、95%、96%、97%、98%、99%的序列；

(2)所述融合蛋白的轻链氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:73 所示或与 SEQ ID NO:73 相比同一性大于 90%、95%、96%、97%、98%、99%的序列。

17. 根据权利要求 16 所述的融合蛋白，其特征在于：

15 (1)所述融合蛋白的重链氨基酸序列与 SEQ ID NO:72 相比具有 1-15 个氨基酸位点突变或具有替换的肽接头；

(2)所述融合蛋白的轻链氨基酸序列与 SEQ ID NO:73 相比具有 1-10 个氨基酸位点突变。

20 18. 根据权利要求 9 所述的融合蛋白，其特征在于，所述第一结合结构域靶向结合 PD-1，所述 IgG 的 Fab 中重链可变区的 CDR 和/或所述轻链可变区的 CDR 与如下序列限定的抗体具有相同的 CDR 序列或在如下序列限定的抗体的 CDR 上进行 1-2 个氨基酸替换，所述序列限定的抗体为：

(1)重链可变区氨基酸序列为 SEQ ID NO:64 所示；和/或

(2)轻链可变区氨基酸序列为 SEQ ID NO:65 所示。

25 19. 根据权利要求 18 所述的融合蛋白，其特征在于，所述 IgG 的 Fab 中重链可变区的 CDR 和/或所述轻链可变区的 CDR 如下所示：

30 (1)重链可变区 CDR1 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:34-38 及对 SEQ ID NO:34-38 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；CDR2 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:39-43 及对 SEQ ID NO:39-43 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；CDR3 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:44-48 及对 SEQ ID NO:44-48 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列；和/或

(2)轻链可变区 CDR1 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:49-53 及对 SEQ ID NO: 49-53 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; CDR2 氨基酸序列选自 SEQ ID NO: 54-58 及对 SEQ ID NO: 54-58 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; CDR3 氨基酸序列选自 SEQ ID NO:59-63 及对 SEQ ID NO: 59-63 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列。

20. 根据权利要求 19 所述的融合蛋白, 其特征在于:

(1)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 34, 39, 44 或对 SEQ ID NO: 34, 39, 44 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 49, 54, 59 或对 SEQ ID NO: 49, 54, 59 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 或

(2)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 35, 40, 45 或对 SEQ ID NO: 35, 40, 45 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 50, 55, 60 或对 SEQ ID NO: 50, 55, 60 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 或

(3)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 36, 41, 46 或对 SEQ ID NO: 36, 41, 46 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 51, 56, 61 或对 SEQ ID NO: 51, 56, 61 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 或

(4)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 37, 42, 47 或对 SEQ ID NO: 37, 42, 47 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 52, 57, 62 或对 SEQ ID NO: 52, 57, 62 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 或

(5)重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 38, 43, 48 或对 SEQ ID NO: 38, 43, 48 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列; 和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 53, 58, 63 或对 SEQ ID NO: 53, 58, 63 进行 1 或 2 个氨基酸替换后的氨基酸序列。

21. 根据权利要求 20 所述的融合蛋白, 其特征在于, 重链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 36, 41, 46; 和/或轻链可变区 CDR 1-3 氨基酸序列为 SEQ ID NO: 51, 56, 61。

22. 根据权利要求 21 所述的融合蛋白, 其特征在于:

(1)重链可变区的序列如 SEQ ID NO:64 所示, 或与 SEQ ID NO:64 具有

相同的 CDR 1-3 且与 SEQ ID NO:64 相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列；和/或

(2) 轻链可变区的序列如 SEQ ID NO:65 所示，或与 SEQ ID NO:65 具有相同的 CDR 1-3 且与 SEQ ID NO:65 相比同一性大于 80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列。

23. 根据权利要求 22 所述的融合蛋白，其特征在于：

(1) 所述融合蛋白的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:68 所示或与 SEQ ID NO:68 相比同一性大于 90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列；

(2) 所述融合蛋白的轻链氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:69 所示或与 SEQ ID NO:69 相比同一性大于 90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列。

24. 根据权利要求 23 所述的融合蛋白，其特征在于：

(1) 所述融合蛋白的重链氨基酸序列与 SEQ ID NO:68 相比具有 1-15 个氨基酸位点突变或具有替换的肽接头；

(2) 所述融合蛋白的轻链氨基酸序列与 SEQ ID NO:69 相比具有 1-10 个氨基酸位点突变。

25. 根据权利要求 22 所述的融合蛋白，其特征在于：

(1) 所述融合蛋白的重链氨基酸序列如 SEQ ID NO:70 所示或与 SEQ ID NO:70 相比同一性大于 90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列；

(2) 所述融合蛋白的轻链氨基酸序列分别如 SEQ ID NO:71 所示或与 SEQ ID NO:71 相比同一性大于 90%、95%、96%、97%、98%、99% 的序列。

26. 根据权利要求 25 所述的融合蛋白，其特征在于：

(1) 所述融合蛋白的重链氨基酸序列与 SEQ ID NO:70 相比具有 1-15 个氨基酸位点突变或具有替换的肽接头；

(2) 所述融合蛋白的轻链氨基酸序列与 SEQ ID NO:71 相比具有 1-10 个氨基酸位点突变。

27. 根据权利要求 1-10 中任一项所述的融合蛋白，其特征在于：所述 IgG 为 Atezolizumab、Avelumab、Durvalumab、Nivolumab、Pembrolizumab、Cemiplimab、Ipilimumab。

28. 根据权利要求 1-27 中任一项所述的融合蛋白，其特征在于，所述第二结合结构域的 C 端或/和 N 端带有肽接头，所述肽接头由 2-30 个氨基酸组

成。

29. 根据权利要求 28 所述的融合蛋白，其特征在于，所述肽接头为：

- (1) (GGGGS)_n；或
- (2) AKTTPKLEEGEFSEAR(SEQ ID NO: 80)；或
- 5 (3) AKTTPKLEEGEFSEARV(SEQ ID NO: 81)；或
- (4) AKTTPKLGG(SEQ ID NO: 82)；或
- (5) SAKTTPKLGG(SEQ ID NO: 83)；或
- (6) SAKTTP(SEQ ID NO: 84)；或
- (7) RADAAP(SEQ ID NO: 85)；或
- 10 (8) RADAAPTVS(SEQ ID NO: 86)；或
- (9) RADAAAAGGPGS(SEQ ID NO: 87)；或
- (10) RADAAAA(SEQ ID NO: 88)；或
- (11) SAKTTPKLEEGEFSEARV(SEQ ID NO: 89)；或
- (12) ADAAP(SEQ ID NO: 90)；或
- 15 (13) DAAPTVSIFPP(SEQ ID NO: 91)；或
- (14) TVAAP(SEQ ID NO: 92)；或
- (15) TVAAPSVFIFPP(SEQ ID NO: 93)；或
- (16) QPKAAP(SEQ ID NO: 94)；或
- (17) QPKAAPSVTLFPP(SEQ ID NO: 95)；或
- 20 (18) AKTTPP(SEQ ID NO: 96)；或
- (19) AKTTPPSVTPLAP(SEQ ID NO: 97)；或
- (20) AKTTAP (SEQ ID NO: 98)；或
- (21) AKTTAPSVYPLAP (SEQ ID NO: 99)；或
- (22) ASTKGP (SEQ ID NO: 100)；或
- 25 (23) ASTKGPSVFPLAP(SEQ ID NO: 101)；或
- (24) GENKVEYAPALMALS(SEQ ID NO: 102)；或
- (25) GPAKELTPLKEAKVS(SEQ ID NO: 103)；或

(26) GHEAAAVMQVQYPAS(SEQ ID NO: 104) ; 或

(27) GGGGSGGGGSGGGGSA(SEQ ID NO: 105),

其中所述 n 等于 1、2、3 或 4。

- 5 30. 根据权利要求 1-29 中任一项所述的融合蛋白, 其特征在于, 插入的所述第二结合结构域的大小不超过 300 个氨基酸。
31. 根据权利要求 1-30 中任一项所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述第二结合结构域的插入位点位于铰链区的中前部, 插入位点不影响免疫球蛋白的二硫键的形成。
- 10 32. 根据权利要求 31 所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述铰链区的中前部是指 231A 之前的部分。
33. 根据权利要求 1-32 中任一项所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述插入位点前后铰链区的部分氨基酸被替换或缺失。
34. 根据权利要求 33 所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述铰链区含有 D221G 和/或 C220V 突变。
- 15 35. 根据权利要求 1-34 中任一项所述的融合蛋白, 其特征在于, 所述 IgG 选自哺乳动物 IgG、人源化 IgG 和人 IgG, 所述哺乳动物包括小鼠、大鼠、兔; 优选的, 所述 IgG 为 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4。
36. 根据权利要求 1-35 中任一项所述的融合蛋白, 其特征在于, 该融合蛋白的 Fc 区是无糖基化的或脱糖基化的或具有降低的岩藻糖基化或是无岩藻糖基化的。
- 20 37. 分离的多核苷酸, 其编码权利要求 1-36 中任一项所述的融合蛋白。
38. 一种核酸构建体, 其包含权利要求 37 所述的多核苷酸, 优选所述核酸构建体为载体。
39. 一种宿主细胞, 其包含权利要求 37 所述的多核苷酸或者权利要求 38 所述的核酸构建体或所述载体, 优选的所述细胞是原核细胞、真核细胞、酵母细胞、哺乳动物细胞、大肠杆菌细胞或 CHO 细胞、NS0 细胞、Sp2/0 细胞、BHK 细胞。
- 25 40. 药物组合物, 包含权利要求 1-36 中任一项所述的融合蛋白以及药学上可接受的载体。
- 30 41. 用于治疗肿瘤或癌症的方法, 其包括对需要治疗或减轻的受试者施用

权利要求 1-36 中任一项的融合蛋白或权利要求 40 的药物组合物的步骤。

42. 权利要求 1-36 中任一项所述的融合蛋白、权利要求 37 所述的多核苷酸、权利要求 38 所述的核酸构建体或者所述载体、或权利要求 40 所述的药物组合物在制备用于治疗或预防肿瘤或癌症的药物中的用途。

5 43. 根据权利要求 42 所述的用途，其特征在于，所述的肿瘤或癌症包括实体瘤或非实体瘤。

44. 诊断试剂盒，其包含权利要求 1-36 中任一项所述的融合蛋白。

10 45. 权利要求 1 至 36 中任一项的融合蛋白的生产方法，该方法包括：在允许权利要求 38 所述的核酸构建体表达的条件下培养权利要求 39 所述的宿主细胞，并从培养物中回收产生的融合蛋白。