



(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 202330610 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 08 月 01 日

(21)申請案號：111138087

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 10 月 06 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

(30)優先權：2021/10/08 歐洲專利局

21201712.3

(71)申請人：丹麥商珍美寶股份有限公司 (丹麥) GENMAB A/S (DK)

丹麥

(72)發明人：沙堤杰 大衛 SATIJN, DAVID P.E. (NL)；恩格伯特 派翠克 ENGELBERTS, PATRICK (NL)；肯珀 克里斯特爾 KEMPER, KRISTEL (NL)；布雷吉 伊斯爾 BREIJ, ESTHER C.W. (NL)；奧斯蒂迪 西蒙 OOSTINDIE, SIMONE (NL)；阿萊德希 法西德 ALEMDEHY, FARSHID (BE)

(74)代理人：林志剛

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：60 項 圖式數：27 共 253 頁

(54)名稱

結合至 CD 3 0 及 CD 3 之抗體

(57)摘要

本發明關於結合至 CD3 及 CD30 之多特異性抗體。本發明進一步提供包含本發明之抗體之醫藥組成物、編碼該抗體之核酸、生產該抗體之宿主細胞、生產該抗體之方法、及該抗體之用途，特別用於癌症治療。

The invention relates to multispecific antibodies binding to CD3 and CD30. The invention further provides pharmaceutical compositions comprising antibodies of the invention, nucleic acids encoding the antibodies, host cells that produce the antibodies, methods of producing the antibodies and uses of the antibodies, in particular for cancer therapy.

【發明摘要】

【中文發明名稱】

結合至 C D 3 0 及 C D 3 之抗體

【英文發明名稱】

ANTIBODIES BINDING TO CD30 AND CD3

【中文】

本發明關於結合至 CD3 及 CD30 之多特異性抗體。本發明進一步提供包含本發明之抗體之醫藥組成物、編碼該抗體之核酸、生產該抗體之宿主細胞、生產該抗體之方法、及該抗體之用途，特別用於癌症治療。

【英文】

The invention relates to multispecific antibodies binding to CD3 and CD30. The invention further provides pharmaceutical compositions comprising antibodies of the invention, nucleic acids encoding the antibodies, host cells that produce the antibodies, methods of producing the antibodies and uses of the antibodies, in particular for cancer therapy.

【指定代表圖】 無
【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

結合至CD30及CD3之抗體

【英文發明名稱】

ANTIBODIES BINDING TO CD30 AND CD3

【技術領域】

本發明關於結合至CD30及CD3之多特異性抗體。本發明進一步提供包含抗體之醫藥組成物、編碼抗體之核酸、生產抗體之宿主細胞、生產抗體之方法、及抗體之用途，特別用於癌症治療。

【先前技術】

亦稱為Ki-1或TNFRSF8之CD30為120 kD跨膜糖蛋白受體且為腫瘤壞死因子受體(TNFR)超級家族的一員(Smith等人之(1994) Cell 76: 959-962)。CD30為單程I型膜蛋白，在其細胞外結構域中具有六個富集半胱氨酸的重複序列(Durkop等人之(1992) Cell 68: 421-427)。另外，已於患有發炎疾病(包括潰瘍性結腸炎(UC))(Giacomelli等人之Clin Exp Immunol. 1998;111:532-5)及CD30陽性血液惡性腫瘤(Josimovic-Alasevic等人之(1989) Eur J Immunol)的患者之血清中檢測出可溶性形式的CD30 (sCD30)。sCD30代表CD30之細胞外部分以細胞膜錨定之金屬蛋白酶(諸如

TACE/ADAM17 和 ADAM10) 的切割產物 (Nagata 等人之 PNAS 2005 ; Hansen 等人之 FASEB, 2004)。

在正常組織中，CD30表現主要局限於活化之 T 和 B 淋巴細胞亞群 (Bowen 等人之 (1996) J Immunol. 156:442-9 ; Shanebeck 等人之 (1995) Eur J Immunol. 25:2147-53)。已在多種淋巴球性腫瘤中檢測出 CD30 表現。經典的霍奇金氏 (Hodgkin) 淋巴瘤 (cHL) 和退行性大細胞淋巴瘤 (ALCL) 顯示高的 CD30 表現水平。典型地在 cHL 中發現的大多數李-斯二氏 (Reed-Sternberg) (RS) 細胞特別地對 CD30 呈陽性 (Frizzera 等人之 (1992) Semin. Diagn. Pathol. 9: 291-296)。

例如，靶向 CD30 之抗體-藥物共軛體倫妥昔單抗維朵汀 (brentuximab vedotin) (BV ; SGN-35) 已用於或已建議用於治療癌症，諸如 cHL、ALCL 和 CTCL (Younes 等人之 J Clin Oncol. 2012 Jun 20;30(18):2183-9 ; Pro 等人之 Blood. 2017 Dec 21;130(25):2709-2717 ; Shea 等人之 Curr Hematol Malig Rep. 2020 Feb;15(1):9-19)。正在開發四價雙特異性 CD30xCD16A 抗體 AFM13 作為 cHL 和 CD30 陽性淋巴瘤的經 NK 細胞媒介之免疫療法 (Rothe 等人之 Blood. 2015 Jun 25;125(26):4024-31)。

此外，正在開發用於 cHL 和 CD30 陽性淋巴瘤的靶向 CD30 之 CAR-T 細胞療法。其他的 CD30 抗體已說明於 WO2003059282 (Medarex)、US8257706 (Seattle genetics)、US20100239571 (Seattle genetics)、WO2007040653 (US government & Health) 和 WO20160177846 (Affimed) 中。

Pohl等人(1993 Int. J. Cancer, 54: 820-827)說明由生產CD30單株抗體HRS-3之融合瘤細胞與生產CD3單株抗體OKT-3之融合瘤細胞融合產生之CD3xCD30雙特異性抗體OKT-3/HRS-3(雜交融合瘤技術)。

WO2008119567說明CD30及CD3跨物種特異性雙特異性單鏈分子的產生及特性。

US20200095330說明自兩種抗CD30選殖株(命名為8D10和10C2)與抗CD3(Orthoclone OKT-3)之化學異源共軛生成之CD3xCD30雙特異性抗體。

然而，該等CD3xCD30雙特異性抗體中沒有一者於臨床環境中進行過測試。

因此，對改進的靶向CD30之癌症療法有需求。對有效、安全、具有良好的可製造性及/或具有長的保存期限之靶向CD30之化合物有需求。

【發明內容】

本發明關於結合人類和食蟹猴CD30及CD3之T細胞接合抗體。本發明人發現一些CD30結合抗體係以雙價(單株)型式很好地結合至表現CD30之細胞，但以具有單價CD30結合之雙特異性型式展現強力降低的結合及細胞毒性。鑑定出具有強力單價CD30結合以及極佳的腫瘤細胞毒殺之雙特異性抗體。此外，鑑定出具有功能性失活的Fc主鏈之雙特異性抗體，因為其極佳的穩定性及溶解性而適合於開發成醫藥產品。

在一個態樣中，本發明關於多特異性抗體，其包含：

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列。

在進一步的態樣中，本發明關於編碼根據本發明之多特異性抗體之核酸構築體或核酸構築體之組合。

在進一步的態樣中，本發明關於包含根據本發明之核酸構築體之表現載體或遞送媒劑。

在進一步的態樣中，本發明關於能夠生產根據本發明之多特異性抗體之重組宿主細胞，其中宿主細胞包含一或多種編碼根據本發明之多特異性抗體之核酸構築體。

在進一步的態樣中，本發明關於醫藥組成物，其包含根據本發明之多特異性抗體及醫藥上可接受的載劑。

在進一步的態樣中，本發明關於用作為例如治療癌症之藥劑的根據本發明之多特異性抗體、核酸構築體、遞送媒劑或醫藥組成物。

在甚至進一步的態樣中，本發明關於生產根據本發明

之多特異性抗體之方法。

【圖式簡單說明】

[圖 1]：雙特異性 CD3xCD30 抗體及彼等單特異性、雙價 CD3 及 CD30 配對物與 SU-DHL-1 或 HDML-2 細胞之結合。

(A) bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FEAR 和 IgG1-CD30-MDX060-FEAR，(B) bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-hAC10-FEAR，(C) bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-HRS-3-FEAR，(D) BsIgG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-HeFi-I-FEAR，(E) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-T405-FEAR，(F) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-T105-FEAR，(G) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-T408-FEAR，及 (H) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 和 IgG1-CD30-HRS-3-FEAR 與 SU-DHL-1 細胞 (左圖) 或 HDLM-2 細胞 (右圖) 之劑量依賴性結合。(I) CD3xCD30 雙特異性抗體及 CD30 單特異性抗體以 1.11 $\mu\text{g}/\text{Ml}$ 之濃度與 SU-DHL-1 (左圖) 或 HDLM-2 細胞 (右圖) 之結合。用於 CD30 臂之抗體選殖株標示在 x 軸上。

所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度(MFI)值。

[圖 2]：bsG1-huCD3xCD30-MDX060與HL和ALCL細胞株之結合。bsG1-huCD3xCD30-MDX060與(A) HDLM-2 (HL)、(B) L-428 (HL)、(C) DEL (ALCL)、或(D) KI-JK (ALCL)細胞之結合係以流式細胞測量術評估。包括雙特異性抗體bsG1-huCD3xb12和bsG1-b12xCD30-MDX060及單特異性抗體IgG1-CD30-MDX060、IgG1-huCD3和IgG1-12作為對照物。如指示，所有的抗體含有FEAL及/或FERR Fc靜默及DuoBody®技術突變於其Fc結構域中。所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度(MFI)值。

[圖 3]：由CD3xCD30雙特異性抗體於試管內誘導SU-DHL-1或HDML-2細胞中的細胞毒性。CD3xCD30雙特異性抗體係於試管內細胞毒性檢定法中使用CD30陽性腫瘤細胞株SU-DHL-1細胞(左圖)或HDLM-2細胞(右圖)作為靶細胞及T細胞(CD3陽性ADCC效應子細胞IV型細胞；Clean Cells，法國蒙泰居(Montaigu))作為效應子細胞進行測試。測試以下抗體：(A) bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FEAR和IgG1-CD30-MDX060-FEAR，(B) bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR和IgG1-CD30-hAC10-FEAR，(C) bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR和IgG1-CD30-HRS-3-FEAR，(D) BsIgG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR和IgG1-CD30-HeFi-I-

FEAR，(E) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR和IgG1-CD30-T405-FEAR，(F) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR和IgG1-CD30-T105-FEAR，(G) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR和IgG1-CD30-T408-FEAR，或(H) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR和IgG1-CD30-HRS-3-FEAR。包括抗體bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR作為所有實驗中的對照物。所顯示之數據為活細胞百分比；各圖之數據係自一個代表性實驗獲得。

[圖4]：由CD3xCD30雙特異性抗體於試管內對幾種ALCL和HL細胞株誘導經T細胞媒介之細胞毒性及T細胞增殖。(A至C) CD3xCD30雙特異性抗體係於試管內細胞毒性檢定法中使用不同的ALCL和HL細胞株作為靶細胞及純化之T細胞(A、B)或ADCC效應子細胞IV型細胞(C)或作為效應子細胞進行測試。CD3xCD30雙特異性抗體含有huCD3-FEAL Fab臂或對CD3具有較低的親和性之huCD3-H101G-FEAL變異體及CD3特異性MDX060-FEAR Fab臂。包括IgG1-huCD3和IgG1-b12 (A、B)或bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FEAR和IgG1-CD30-MDX060-FEAR (C)作為對照物。所顯示之數據為百分比活細胞；各圖之數據係自一個代表性實驗獲得。(D) CFSE陽性細胞數目係以使用HDLM-2細胞(左圖)或NCEB-1細胞(右圖)作為靶細胞之細胞毒性檢定法中的絕對T細胞計數之量度評估。

[圖5]：CD3xCD30雙特異性抗體與轉染至Expi293F細胞中的全長人類和食蟹猴CD30之結合。(A至C)單價及雙

價 CD30 抗體與野生型 Expi293F 細胞 (A) 或與經全長人類 CD30 (B) 或食蟹猴 CD30 (C) 瞬時轉染之 Expi293F 細胞之結合。將細胞與濃度遞增的下列抗體培育：IgG1-CD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FEAR 和 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR。數據係由兩個技術重複的流式細胞測量術測定之平均螢光強度 (MFI) 值呈示。(D) 抗體 IgG1-CD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 和 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 與人類 T 細胞或食蟹猴 T 細胞之結合。數據係以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度 (MFI) 值呈示。

[圖 6]：CD3xCD30 雙特異性抗體與轉染至 Expi293F 細胞中的全長人類和恆河猴 CD30 之結合。單價及雙價 CD30 抗體與經全長人類 CD30 (左圖) 或恆河猴 CD30 (右圖) 瞬時轉染之 Expi293F 細胞之結合係以流式細胞測量術評估。評估下列抗體：(A) bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR 和 IgG1-CD30-hAC10-FEAR，(C) bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR 和 IgG1-CD30-HRS-3-FEAR，(D) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR 和 IgG1-CD30-HeFi-I-FEAR，(E) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR 和 IgG1-CD30-T405-FEAR，(F) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR 和 IgG1-CD30-T105-FEAR，(G) bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR 和 IgG1-CD30-T408-FEAR，或 (H) bsIgG1-huCD3-

FEALxCD30-T215-FEAR 和 IgG1-CD30-HRS-3-FEAR。包括抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 作為所有實驗中的陰性對照物。所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度 (MFI) 值。

[圖 7]：如微差掃描螢光測定法 (DSF) 所測定之具有不同的非活化突變之抗體的熱穩定性。在溫度遞增下的構形蛋白質穩定性係由 DSF 以一式兩份評估。顯示下列抗體之熔化曲線：(A) IgG1-CD30-MDX060-FEAR 在 pH 7.4，(B) IgG1-CD30-MDX060-FERR 在 pH 7.4，(C) IgG1-huCD3-FEAL 在 pH 7.4，及 (D) BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 在 pH 7.4。

[圖 8]：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 HL 細胞株之結合。bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 HL 細胞株 L-540 (A)、KM-H2 (B) 和 L-1236 (C) 之結合係以流式細胞測量術評估。包括雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 和 bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR 及單特異性抗體 IgG1-CD30-MDX060-FERR、IgG1-huCD3-FEAL 和 IgG1-12-FEAL 作為對照物。所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度 (MFI) 值。

[圖 9]：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 ALCL 細胞株之結合。bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 ALCL 細胞株 SUP-M2 (A)、DL-40 (B)、KARPAS-299 (C)、L-82 (D) 和 SR-786 (E) 之結合係以流式細胞測量

術評估。包括雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 和 bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR 及單特異性抗體 IgG1-CD30-MDX060-FERR、IgG1-huCD3-FEAL 和 IgG1-12-FEAL 作為對照物。所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度(MFI)值。

[圖 10]：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 NHL 細胞株之結合。bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 (A) SUP-T1 (TLL)、(B) JVM-2 (MCL)、(C) HH (CTCL) 和 (D) NCEB-1 (MCL) 細胞株之結合係以流式細胞測量術評估。包括雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 和 bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR 及單特異性抗體 IgG1-CD30-MDX060-FERR、IgG1-huCD3-FEAL 和 IgG1-12-FEAL 作為對照物。所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度(MFI)值。

[圖 11]：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與轉染至 HEK293 細胞中的全長人類和恆河猴 CD30 之結合。bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與經全長人類 CD30 (A) 或恆河猴 CD30 (B) 瞬時轉染之 HEK293 細胞之結合係以流式細胞測量術評估。包括 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 作為陰性對照物。所顯示之數據為以一個代表性實驗的流式細胞測量術所測定之平均螢光強度(MFI)值。

[圖 12]：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 T 細胞及腫瘤細胞之同時結合。bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與經螢光標記之腫瘤細胞及初始 T 細胞

之同時結合係以流式細胞測量術研究。(A)雙陽性事件係在 6×10^{-5} 至 $10 \mu\text{g/mL}$ 之 bsG1huCD3FEALxCD30-MDX060-FERR 或對照抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR、bsG1b12FEALxCD30MDX060-FERR 或 IgG1-b12-FEAL的存在下以總活細胞百分比顯示。在沒有抗體培育之樣品中的雙陽性事件百分比係以虛線標示。(B)在與 $0.12 \mu\text{g/mL}$ 之 bsG1huCD3FEALxCD30-MDX060-FERR 培育之樣品中的雙陽性細胞之閘控策略的例子。

[圖 13]：由 CD3xCD30 雙特異性抗體於試管內誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞活化。一組 CD3xCD30 雙特異性抗體係於試管內細胞毒性檢定法中使用 CD30 陽性腫瘤細胞株 Karpas-299 作為靶細胞及自健康的人類供體膚色血球層純化之 T 細胞作為效應子細胞進行測試。在該等檢定法中，CD25 表現係在 CD4⁺ 和 CD8⁺ 細胞中作為 T 細胞活化量度評估。測試下列抗體：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR、BsIgG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR、bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR、bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR、bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR 和 bsIgG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR。(A) 由 CD3xCD30 抗體對 Karpas-299 細胞的細胞毒性之 IC₅₀ 值。(B) 由試驗抗體對 Karpas-299 細胞之最大細胞毒性百分比。(C-F) 由 CD3xCD30 抗體誘導 CD4⁺ (C、E) 或 CD8⁺ (D、F) T

細胞中的CD25 (C至D)或PD-1 (E至F)表現之EC₅₀值。數據係自兩個獨立的實驗獲得，該實驗係以自6個不同的供體獲得的T細胞執行。統計值代表在指示之選殖株與bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR之間的威爾克森配對符號等級檢定(Wilcoxon matched-pairs signed rank test)的結果。NS：不顯著，*：p <0.05。

[圖 14]：由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內經 T 細胞媒介之細胞株的細胞毒性。由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經劑量依賴性 T 細胞媒介之細胞毒性係於試管內使用 L-428 (A)、KM-H2 (B)、SUP-M2 (C)或 KI-JK (D)腫瘤細胞株作為靶細胞及經純化之 T 細胞作為效應子細胞進行測試。包括 IgG1-huCD3-FEAL、bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR、IgG1-CD30-MDX060-FERR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR 和 IgG1-b12-FEAL 作為對照物。所顯示之數據為百分比活細胞，各圖之數據係以一個代表性實驗獲得。

[圖 15]：在 L-428 和 KI-JK 細胞株中由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內之 T 細胞增殖。T 細胞增殖係於經 T 細胞媒介之細胞毒性檢定法中使用 L-428 (A、B)或 KI-JK (C、D)作為靶細胞評估。閘控具有稀釋的 Celltrace Violet 染色之 CD4⁺ (A、C)或 CD8⁺ (B、D) T 細胞，且作為 T 細胞增殖量度之擴增指數係使用來自 FlowJo 之增殖建模工具計算。

[圖 16]：在 L-428 和 KI-JK 細胞株中由 bsG1-huCD3-

FEALxCD30-MDX060-FERR於試管內的T細胞活化標誌物CD69之表現。T細胞活化係在經T細胞媒介之細胞毒性檢定法中使用L-428 (A、B)或KI-JK (C、D)作為靶細胞評估。T細胞活化標誌物CD69之表現係於CD4⁺ (A、C)或CD8⁺ (B、D) T細胞中評估。

[圖 17]：在L-428和KI-JK細胞株中由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR於試管內的T細胞活化標誌物CD25之表現。T細胞活化係在經T細胞媒介之細胞毒性檢定法中使用L-428 (A、B)或KI-JK (C、D)作為靶細胞評估。T細胞活化標誌物CD25之表現係於CD4⁺ (A、C)或CD8⁺ (B、D) T細胞中評估。

[圖 18]：在L-428和KI-JK細胞株中由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR於試管內的T細胞活化標誌物PD-1之表現。T細胞活化係在經T細胞媒介之細胞毒性檢定法中使用L-428 (A、B)或KI-JK (C、D)作為靶細胞評估。T細胞活化標誌物PD-1之表現係於CD4⁺ (A、C)或CD8⁺ (B、D) T細胞中評估。

[圖 19]：由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR於試管內細胞激素及顆粒酶B生產。14種不同的細胞激素(CD40、IFN γ 、IL-10、IL-12、IL-13、IL-1b、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IP-10、MCP-1、PDL-1、TNF α)及顆粒酶B濃度係在使用L-428作為靶細胞的試管內經T細胞媒介之細胞毒性實驗期間收集的上清液中評估。顯示以不同濃度的bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR或對照抗體

IgG1-b12-FEAL處理之樣品的細胞激素及顆粒酶B濃度。

[圖 20]：在不同的效應子對標靶比例下由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞增殖。(A) 由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經劑量依賴性 T 細胞媒介之細胞毒性係於試管內使用 L-428 腫瘤細胞作為靶細胞及經純化之 T 細胞作為效應子細胞以 1 : 1、2 : 1、4 : 1 或 8 : 1 之 E : T 比例進行測試。包括 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 作為對照抗體。所顯示之數據為自一個代表性實驗所獲得的活細胞百分比。(B、C) 具有稀釋的 Celltrace Violet 染色之 CD4⁺ (B) 或 CD8⁺ (C) T 細胞百分比係以增殖的 T 細胞量度顯示。

[圖 21]：由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞增殖的動力學。(A) 由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經 T 細胞媒介之細胞毒性的動力學係於試管內使用 L-428 腫瘤細胞作為靶細胞及經純化之 T 細胞作為效應子細胞以 4 : 1 之 E : T 比例進行測試。細胞毒性係在 24 h、48 h 和 72 h 後評估。包括 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 作為對照抗體。所顯示之數據為自一個代表性實驗所獲得的活細胞百分比。(B、C) 閘控具有稀釋的 Celltrace Violet 染色之 CD4⁺ (B) 或 CD8⁺ (C) T 細胞，且作為細胞毒性檢定法中的 T 細胞增殖量度之擴增指數係使用來自 FlowJo 之增殖建模工具計算。

[圖 22]：由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內經 T 細胞媒介之細胞毒性及與 CD30 表現水平的相

關性。在由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經 T 細胞媒介之最大毒殺 (A) 或經 T 細胞媒介之細胞毒性的 IC₅₀ 濃度 (B) 相對於 CD30 表現水平之間的相關性係在八種腫瘤細胞株中評估。使用斯皮爾曼 (Spearman) 等級相關試驗 (GraphPad Prism 軟體) 評估在經 T 細胞媒介之細胞毒性 (最大毒殺或 IC₅₀) 與 CD30 表現之間的相關程度之統計顯著性。

[圖 23]：由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 的經活化之 T 細胞的自相殘殺 (fratricide)。將經單離之健康的供體 T 細胞以 1 μ g/mL 之抗 CD3 (OKT-3)、1 μ g/mL 之抗 CD28 及 0.025 μ g/mL 之 IL-15 刺激 4 天。在證實活化 (CD25 上調) 後，將 T 細胞與濃度遞增的 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、bsIgG1-ctrlxCD30-MDX-060-FERR、bsIgG1-CD3xb12 或 IgG1-b12-FEAL 培育 48 小時。經活化之 CD30⁺ T 細胞的經 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 誘導之 T 細胞自相殘殺係測量為以各條件中的活 T 細胞相對於未添加任何抗體的條件中的活 T 細胞數目之百分比。(A-B) 在以抗 CD3、抗 CD28 和 IL-15 刺激後 72 和 96 小時，在 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 細胞中的 CD25⁺ (A) 或 CD30⁺ (B) 細胞百分比係以流式細胞測量術測定。(C) T 細胞自相殘殺係以相對於未添加任何抗體的條件之 T 細胞存活百分比顯示。顯示一個代表性 T 細胞供體的數據。

[圖 24]：在 CD30⁺ 細胞培養物之上清液中的可溶性 CD30 及其干擾與 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR

之抗腫瘤活性。(A)顯示在不同的血液腫瘤細胞株之上清液中的可溶性CD30 (sCD30)濃度，如以ELISA所測量。(B)在不同的血液腫瘤細胞株，sCD30濃度與如使用定量性流式細胞測量術(人類IgG校正套組-Biocyte)所測定之細胞表面上的CD30分子數目之間的相關性係以斯皮爾曼等級相關試驗(GraphPad Prism軟體)評估。(C) BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR係於試管內細胞毒性檢定法中使用CD30陽性ALCL腫瘤細胞株DEL作為靶細胞及經健康的供體單離之T細胞作為效應子細胞進行測試。包括下列對照抗體：BsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-CD30-MDX060-FERR、BsG1-huCD3-FEALxb12-FERR、IgG1-huCD30-FEAL和IgG1-b12-FEAL。所顯示之數據為自一個代表性實驗所獲得的活細胞百分比。

[圖 25]：在L-428腫瘤細胞中由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR於活體外誘導經T細胞媒介之細胞毒性及T細胞增殖。(A) bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR係以活體外細胞毒性檢定法中使用L-428 腫瘤細胞作為靶細胞及源於初級患者之T細胞作為效應子細胞進行測試。使用源於霍奇金氏淋巴瘤(HL)、急性骨髓性白血病(AML)及周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)患者之周邊血液單核細胞(PBMC)作為T細胞來源以評估CD3依賴性腫瘤細胞毒殺。包括IgG1-b12-FEAL作為對照物。所顯示之數據為百分比活靶細胞。(B-D) T細胞活化係以PBMC亞群內的CD4⁺/CD8⁺ T細胞上CD69 (B)、CD25 (C)和PD-1 (D)標誌物

之上調評估，如以百分比陽性細胞表示。

[圖 26]：在 SCID 小鼠中以靜脈內注射後的 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之血漿濃度。將 SCID 小鼠以 10 μ g (0.5 mg/kg) 或 100 μ g (5 mg/kg) 之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 的單一 IV 劑量注射。(A) 總人類 IgG 係以 ELISA 測定及平均人類 IgG1 濃度係隨時間繪製。(B) 平均清除率係以 0.5 或 5 mg/kg 之劑量水平繪製。虛線表示基於小鼠中的未結合之常規人類 IgG1 的標準分布體積的估計之清除率。

[圖 27]：結合至經膜結合之 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之 C1q。C1q 與經 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 助噬化、活化之人類 CD8⁺ T 細胞或 CD30⁺ NCEB-1 細胞之結合係以流式細胞測量術使用經 FITC 標記之兔子抗 C1q 抗體評估。(A) bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-huCD3-FEAL 或陽性對照抗體 IgG1-CD52-E430G 與經抗 CD3/CD28 磁珠刺激之人類 CD8⁺ T 細胞在作為 C1q 來源的正常人類血清存在下之結合。所顯示之數據為來自一個代表性實驗的複製孔之幾何平均螢光強度 (gMFI) $\pm$ SD。(B) bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-CD30-MDX060-FERR 或陽性對照抗體 IgG1-7D8-E430G 與 CD30⁺ NCEB-1 細胞在作為 C1q 來源的正常人類血清存在下之結合。所顯示之數據為來自一個代表性實驗之 gMFI。

【實施方式】

定義

如本文所使用之術語「抗體」意欲指免疫球蛋白分子、免疫球蛋白分子的片段或其任一者之衍生物，其在典型的生理及/或腫瘤特異性條件下具有特異性結合至抗原的能力，具有很長時間段的半生期，諸如至少約30分鐘、至少約45分鐘、至少約一小時、至少約兩小時、至少約四小時、至少約8小時、至少約12小時、至少約24小時或更長、至少約48小時或更長、至少約3、4、5、6、7或更多天等或任何其他相關功能性定義的期間(諸如足以誘導、促進、增強及/或調節與抗體結合至抗原相關聯的生理反應之時間及/或足以使抗體內化之時間)。抗體包含可與抗原相互作用之結合區(或可於本文使用之結合結構域，兩者兼具相同的涵義)，結合區包含免疫球蛋白分子或類似者之重鏈及輕鏈兩者的可變區。抗體可包含抗體(Ab)的恆定區，其可媒介免疫球蛋白與宿主組織或因子(包括免疫系統的各種細胞(諸如效應子細胞)及補體系統的組分(諸如C1q，補體活化之經典途徑中的第一組分))之結合。

在本發明之上下文中，術語「抗體」包括單株抗體(mAb)、抗體樣多肽、嵌合抗體、人類抗體、人源化抗體、以及保留特異性結合至抗原(抗原結合片段)的能力之「抗體片段」或「其片段」，其係由任何已知的技術提供，諸如酵素切割、肽合成和重組DNA技術。術語「抗體」包括雙、三或多特異性抗體及/或具有更多修飾之抗

體，例如抗體-藥物共軛體及/或抗體在IgG Fc結構域中具有修飾之抗體。如根據本發明所定義之抗體可為任何同型或不具有同型(例如scFv抗體)，除非本文的揭示另有其他限制。

已顯示抗體的抗原結合功能可由全長抗體的片段來執行。涵蓋在術語「抗體」內之結合片段的實例包括(i) Fab'或Fab片段，由輕鏈可變結構域(VL)、重鏈可變結構域(VH)、輕鏈恆定區(CL)及重鏈恆定區結構域1 (CH1)結構域所組成之單價片段或如WO 2007/059782中所述之單價抗體；(ii) F(ab')₂片段，包含在樞紐區由雙硫鍵連結的兩個Fab片段之雙價片段；(iii) Fd片段，基本上由VH及CH1結構域所組成；(iv) Fv片段，基本上由抗體之單臂的VL及VH結構域所組成；(v) dAb片段，Ward等人之Nature 341, 544-546 (1989)，其基本上由VH結構域所組成且亦稱為結構域抗體，Holt等人之Trends Biotechnol. 2003 Nov;21(11):484-90；(vi)駱駝科動物或奈米抗體，Revets等人之Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan;5(1):111-24，及(vii)經單離之互補決定區(CDR)。此外，儘管Fv片段的兩個結構域VL及VH係以單獨的基因編碼，但是彼等可使用重組方法藉由能使彼等成為單一蛋白鏈之合成連結子接合，其中VL及VH區配對形成單價分子(稱為單鏈抗體或單鏈Fv(scFv)，參見例如Revets等人之Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan;5(1):111-24及Bird等人之Science 242, 423-426 (1988))。此等單鏈抗體涵蓋在術語抗體內，除非上下文另

有註明或明確地指示。儘管此等片段通常包括在抗體的涵義內，但是彼等全體且各自獨立為本發明獨特的特性，展現不同的生物學性質及效用。在本發明之上下文中的該等及其他有用的抗體片段於本文進一步討論。

作為最終產物或作為通過受控之臂交換(cFEA)以產生例如雙特異性抗體的中間物之抗體可自不同的試管內或活體外表現或生產系統生產及收集，例如自經重組修飾之宿主細胞、自融合瘤或使用支持編碼抗體之核酸序列的試管內轉錄及/或轉譯之細胞提取物的系統。

如本文所使用之術語「免疫球蛋白重鏈」或「免疫球蛋白的重鏈」意欲指免疫球蛋白的重鏈之一。重鏈典型地由重鏈可變區(在本文縮寫為VH)及重鏈恆定區(在本文縮寫為CH)所組成，其限定免疫球蛋白之同型。重鏈恆定區典型地由三個結構域所組成，CH1、CH2和CH3。如本文所使用之術語「免疫球蛋白」意欲指結構相關的糖蛋白類別，其典型地由兩對多肽鏈、一對低分子量輕(L)鏈及一對重(H)鏈所組成，所有四種鏈可能由雙硫鍵交互連接。免疫球蛋白的結構已經完整地特性化(參見例如 *Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W. 編輯之 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))*)。在免疫球蛋白的結構內，兩個重鏈係經由所謂的「樞紐區」中的雙硫鍵交互連接。與重鏈一樣，各輕鏈典型地由幾個區所組成；輕鏈可變區(在本文縮寫為VL)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區典型地由一個結構域CL所組成。此外，VH及VL區可進一步細分成高可

變區(hypervariability)(或高可變區(hypervariable region)，其在序列及/或結構限定環形式上可為高可變的)，其亦稱為互補決定區(CDR)，以稱為框架區(FR)的更保守型區域穿插。各VH及VL典型地由三個CDR及四個FR所組成，以下列順序自胺基端排列至羧基端：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

當本文使用術語「半分子(half molecule)」、「Fab臂」及「臂」時，其係指重鏈-輕鏈對。當說明雙特異性抗體包含「源自」第一抗體之半分子抗體及「源自」第二抗體之半分子抗體時，術語「源自」表示雙特異性抗體係藉由以任何已知的方法重組來自該第一及第二抗體中之各者的該半分子成為所得雙特異性抗體而產生。在此上下文中，「重組」不意欲受限於任何特定的重組方法，且因此包括用於產生本文所述之雙特異性抗體的所有方法，包括例如藉由半分子交換來重組，以及在核酸水平及/或通過在同一細胞中的兩個半分子之共表現來重組。

當本文之抗體或其結構域或區的上下文中使用術語「第一」及「第二」時，其僅意欲於容易參考而不意欲指示特定的相對位置或類似者。

如本文所使用之術語「抗原結合區」或「結合區」係指能夠結合至抗原之抗體的區域。抗原可為任何分子，諸如多肽、蛋白質、多醣或其組合。抗原可例如呈現於細胞、細菌或病毒體上。術語「抗原」及「標靶」在本發明之上下文中可交換使用，除非與上下文牴觸。術語「抗原

結合區」及「抗原結合位點」在本發明之上下文中可交換使用，除非與上下文牴觸。

如本文所使用之術語「 K_D 」(M)係指特定的抗體-抗原相互作用之平衡解離常數且藉由 k_d 除以 k_a 而獲得。 K_D 亦可稱為「結合親和性」。

如本文所使用之術語「 k_d 」(sec^{-1})係指特定的抗體-抗原相互作用之解離速率常數。該值亦稱為 k_{off} 值或解離速率(off-rate)。

如本文所使用之術語「 k_a 」($\text{M}^{-1} \times \text{sec}^{-1}$)係指特定的抗體-抗原相互作用之締合速率常數。該值亦稱為 k_{on} 值或締合速率(on-rate)。

如本文所使用之術語「結合」係指抗體與預定抗原或標靶之結合，當以使用抗體作為配體及抗原作為分析物之生物膜干涉法測定時，典型地具有對應於 1E^{-6} M或更小的 K_D 之結合親和性，例如 5E^{-7} M或更小、 1E^{-7} M或更小，諸如 5E^{-8} M或更小，諸如 1E^{-8} M或更小，諸如 5E^{-9} M或更小，諸如 1E^{-9} M或更小，諸如 1E^{-10} M或更小，或諸如 1E^{-11} M或更小，且以對應於比其結合至除了預定抗原或密切相關抗原以外的非特異性抗原(例如BSA、酪蛋白)之親和性低至少10倍的 K_D 之親和性結合至預定抗原，諸如低至少100倍，例如低至少1,000倍，諸如低至少10,000倍，例如低至少100,000倍。

如本文所使用之術語「CD30」係指人類分化群30蛋白質，亦稱為TNFRSF8(腫瘤壞死因子受體超級家族成員

8)。CD30係於各種物種中發現，且因此術語「CD30」可能不限於人類CD30，除非與上下文牴觸。人類CD30之序列係以SEQ ID NO：39列出。

如本文所使用之術語「CD3」係指人類分化群3蛋白質，其為T細胞共受體蛋白複合物的一部分且由四個不同的鏈所組成。CD3係於各種物種中發現，且因此術語「CD3」可能不限於人類CD3，除非與上下文牴觸。在哺乳動物中，複合物含有CD3 γ (gamma)鏈(人類CD3 γ 鏈 UniProtKB/Swiss-Prot No P09693或食蟹猴CD3 γ UniProtKB/Swiss-Prot No Q95LI7)、CD3 δ (delta)鏈(人類CD3 δ UniProtKB/Swiss-Prot No P04234或食蟹猴CD3 δ UniProtKB/Swiss-Prot No Q95LI8)、兩個CD3 ϵ (epsilon)鏈(人類CD3 ϵ ：UniProtKB/Swiss-Prot No P07766，其序列在本文併入為SEQ ID NO：42；食蟹猴CD3 ϵ UniProtKB/Swiss-Prot No Q95LI5；或恆河猴CD3 ϵ UniProtKB/Swiss-Prot No G7NCB9)及CD3 ζ 鏈(zeta)鏈(人類CD3 ζ UniProtKB/Swiss-Prot No P20963、食蟹猴CD3 ζ UniProtKB/Swiss-Prot No Q09TK0)。該等鏈係與稱為T細胞受體(TCR)之分子締合且在T淋巴細胞中產生活化訊息。TCR及CD3分子一起包含TCR複合物。

術語「抗體結合區」係指抗原區，其包含抗體結合之表位。抗體結合區可藉由使用生物膜干涉法之表位分倉、藉由丙胺酸掃描或藉由結構域置換(shuffle)檢定法(使用抗原構築體，其中抗原區係與另一物種之該區交換且測定抗

體是否仍結合至抗原結合)來測定。在抗體結合區內涉及與抗體相互作用之胺基酸可藉由藉由氫/氘交換質譜術及/或藉由與其抗原結合之抗體的結晶學來測定。

術語「表位」意指以抗體特異性結合之抗原決定位。表位經常由分子的表面群組所組成，諸如胺基酸、糖側鏈或其組合，且經常具有特定的三維結構特性以及特定的電荷特性。構形及非構形表位的區別在於在變性溶劑或其他破壞蛋白質或其多聚體的三維結構之劑的存在下失去與前者，但不失去與後者之結合。表位可包含直接涉及結合之胺基酸殘基及不直接涉及結合之其他胺基酸殘基，諸如以抗體(當其結合至抗原時)有效地阻斷或覆蓋之胺基酸殘基。

如本文所使用之術語「單株抗體」、「單株 Ab」、「單株抗體組成物」、「mAb」或類似者係指單一分子組成物之抗體分子製品且典型地展示對特定表位之單一結合特異性及親和性。單株抗體典型地可由相同的細胞製成，該等細胞全部為獨特的親本細胞之選殖株，諸如融合瘤、穩定的細胞株或類似者。據此，術語「人類單株抗體」係指展示單一結合特異性之抗體，其具有源自人類種系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區。人類單株抗體可由融合瘤生產，該融合瘤包括自基因轉殖或染色體轉殖非人類動物(諸如基因轉殖小鼠)獲得的B細胞，其具有包含人類重鏈轉殖基因及輕鏈轉殖基因之基因組，與不朽化細胞融合。人類單株抗體可源自人類B細胞或血漿細胞。單株抗體亦

可自經重組修飾之宿主細胞或使用支持編碼抗體之核酸序列的試管內轉錄及/或轉譯之細胞提取物的系統來生產。

如本文所使用之術語「同型」係指以重鏈恆定區基因編碼之免疫球蛋白類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA、IgE,或IgM)或其任何異型(諸如IgG1m(za)和IgG1m(f))。再者,各重鏈同型可與kappa (κ)或lambda (λ)輕鏈組合。

當本文使用術語「全長抗體」時,其係指包含一個重鏈及輕鏈配對或兩個重鏈及輕鏈配對之抗體(例如親本或變異體抗體),各配對含有重鏈及輕鏈恆定結構域和可變結構域,諸如通常在該同型之野生型抗體的重鏈-輕鏈配對中發現。因此,例如全長IgG1抗體含有VH、CH1、CH2、CH3、樞紐、VL和CL結構域。當與全長親本或野生型抗體相比時,在全長變異抗體中的重鏈及輕鏈恆定結構域和可變結構域可特別含有修飾及/或改進抗體的功能性質之胺基酸取代。根據本發明之全長抗體可由包含以下步驟之方法生產:(i)將CDR序列選殖至一或多個包含完整重鏈及輕鏈序列之適合載體中,及(ii)將所獲得的具有重鏈及輕鏈序列之適合載體表現在適合的表現系統中。當自CDR序列或完全可變區序列開始時,則生產全長抗體係在熟習的技術人員之知識範圍內。因此,熟習的技術人員知道如何依照本發明產生全長抗體。

如本文所使用之術語「人源化抗體」係指基因工程化非人類抗體,其含有人類抗體恆定結構域及經修飾以含有

高水平的人類可變結構域之序列同源性的非人類可變結構域。這可藉由將共同形成抗原結合位點之非人類抗體互補決定區(CDR)移植至同源性人類受體框架區(FR)上來達成(參見例如WO92/22653和EP0629240)。為了完全重建親本抗體之結合親和性及特異性，可能需要以來自親本抗體(亦即非人類抗體)的一些框架殘基取代一些人類框架區殘基(回復突變)。結構同源性建模可助於鑑定框架區中對抗體之結合性質重要的胺基酸殘基。因此，人源化抗體可包含非人類CDR序列、原始的人類框架區(其視需要地包含一或多個胺基酸回復突變至非人類胺基酸序列)及完全人類恆定區。視需要地可應用額外的胺基酸修飾(其不一定為回復突變)以獲得具有較佳的特性之人源化抗體，諸如特別有用的親和性和生化性質，例如包括避免脫醯胺作用及/或改進製造之修飾。此外，CDR及/或框架區可經修飾以改進對抗原之親和性，例如經由親和性成熟程序。

如本文所使用之術語「人類抗體」係指具有源自人類種系免疫球蛋白序列的可變區和恆定區之抗體。人類抗體可包括未以人類種系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由試管內隨機或位點特異性誘變或藉由活體內體細胞突變所引入之突變)。然而，如本文所使用之術語「人類抗體」不意欲包括其中已將源自其他哺乳動物物種(諸如小鼠)的種系之CDR序列移植至人類框架序列上之抗體。本發明之人類單株抗體可以各種技術生產，包括習知的單株抗體方法，例如Kohler和Milstein, *Nature* 256: 495

(1975)之標準的體細胞細胞雜交技術。儘管以體細胞細胞雜交程序較佳，但是原則上可使用其他用於生產單株抗體之技術，例如B淋巴細胞之病毒或致癌轉變或使用人類抗體基因庫之噬菌體顯示技術。人類單株抗體可使用攜帶部分人類免疫系統而非小鼠系統之基因轉殖或染色體轉殖小鼠(諸如HCo12 小鼠(參見例如WO 03/059282)或類似者)產生。

如本文所使用之術語「Fc區」係指在抗體的兩個重鏈多肽之N端至C端方向上包含至少樞紐區、CH2區和CH3區之區域。Fc多肽典型地經醣化。抗體之Fc區可媒介免疫球蛋白與宿主組織或因子(包括免疫系統的各種細胞(諸如效應子細胞)及補體系統的組分)之結合。Fc區典型地亦結合FcRn及蛋白質A。

如本文所使用之詞組「對應於位置...上的胺基酸之胺基酸」或類似者係指人類IgG1重鏈中的胺基酸位置號碼。在其他的免疫球蛋白中，對應的胺基酸位置可藉由與人類IgG1比對來找到。除非上下文另有其他陳述或牴觸，否則恆定區序列之胺基酸在本文係根據Eu編號索引編號(在Kabat, E.A.等人之1991, Sequences of proteins of immunological interest. 5th Edition - US Department of Health and Human Services, NIH publication No. 91-3242, pp 662, 680, 689中所述)。因此，一個序列中「對應於」另一序列中的胺基酸或區段之胺基酸或區段為使用標準的序列比對程式(諸如比對、ClustalW或類似程式)典型地在預

設的設定下與其他胺基酸或區段比對之胺基酸或區段，且與人類IgG1重鏈具有至少50%、至少80%、至少90%或至少95%之同一性。如何比對序列或序列中的區段且從而測定序列中對應於根據本發明之胺基酸位置的位置被認為是本技術中所熟知的。

如本文所使用之術語「樞紐區」係指免疫球蛋白重鏈之樞紐區。因此，例如人類IgG1抗體之樞紐區係對應於根據Eu編號之胺基酸216至230，如在Kabat, E.A.等人之Sequences of proteins of immunological interest. 5th Edition - US Department of Health and Human Services, NIH publication No. 91-3242, pp 662,680,689 (1991)中所列出。然而，樞紐區亦可為如本文所述之其他亞型中任一者。

如本文所使用之術語「CH1區」或「CH1結構域」係指免疫球蛋白重鏈之CH1區。因此，例如人類IgG1抗體之CH1區係對應於根據Eu編號之胺基酸118至215，如Kabat (同出處)中所列出。然而，CH1區亦可為如本文所述之其他亞型中任一者。

如本文所使用之術語「CH2區」或「CH2結構域」係指免疫球蛋白重鏈之CH2區。因此，例如人類IgG1抗體之CH2區係對應於根據Eu編號之胺基酸231至340，如Kabat (同出處)中所列出。然而，CH2區亦可為如本文所述之其他亞型中任一者。

如本文所使用之術語「CH3區」或「CH3結構域」係指免疫球蛋白重鏈之CH3區。因此，例如人類IgG1抗體之

CH3區係對應於根據Eu編號之胺基酸341至447，如Kabat(同出處)中所列出。然而，CH3區亦可為如本文所述之其他亞型中任一者。

如本文所使用之術語「經Fc媒介之效應子功能」意欲指結果使多肽或抗體結合至其在細胞膜上的靶標或抗原之功能，其中經Fc媒介之效應子功能可歸因於多肽或抗體之Fc區。經Fc媒介之效應子功能的實例包括(i) C1q結合，(ii)補體活化，(iii)補體依賴性細胞毒性(CDC)，(iv)經抗體依賴性細胞媒介之細胞毒性(ADCC)，(v) Fc- γ 受體(Fc γ R)結合，(vi)經抗體依賴性Fc γ R媒介之抗原交聯，(vii)抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)，(viii)補體依賴性細胞毒性(CDCC)，(ix)經補體增強之細胞毒性，(x)結合至經抗體媒介之助噬化抗體的補體受體，(xi)助噬素作用，及(xii) (i)至(xi)中任一者之組合。

如本文所使用之術語「惰性(inertness)」、「惰性的(inert)」或「非活化」係指不能夠或具有最小的能力經由個別抗體的兩個Fc區結合任何Fc γ R、誘導經Fc媒介之Fc γ R交聯、誘導經Fc γ R媒介之效應子功能(諸如ADCC和ADCP)、誘導經Fc γ R媒介之標靶抗原交聯之Fc區，及/或不能夠結合C1q及誘導經補體媒介之效應子功能(諸如CDC和CDCC)之Fc區。抗體之Fc區的惰性可使用抗體以單特異性或雙特異性型式來測試。

在本發明之上下文中，術語「單價抗體」係指可與具有僅一個抗原結合結構域(例如一個Fab臂)的抗原相互作

用之抗體分子。在多特異性(諸如雙特異性)抗體之上下文中，「單價抗體結合」係指多特異性抗體與具有僅一個抗原結合結構域(例如一個**Fab**臂)的抗原之結合。

在本發明之上下文中，術語「單特異性抗體」係指僅對一種抗原、一個表位具有結合特異性之抗體。抗體可為單特異性單價抗體(亦即僅攜帶一個抗原結合區)、單特異性雙價抗體(例如具有兩個相同的抗原結合區之抗體)或單特異性多價抗體((例如具有超過兩個相同的抗原結合區之抗體))。

術語「多特異性抗體」係指具有二或更多個結合二或更多個不同表位的抗原結合結構域之抗體。術語「雙特異性抗體」係指具有兩個結合不同表位的抗原結合結構域之抗體，例如兩個不同的**VH**及**VL**區配對、兩個不同的**Fab**臂或兩個具有不同的**CDR**區之**Fab**臂。在本發明之上下文中，雙特異性抗體及多特異性抗體對二或更多個分別不同的表位具有特異性。此等表位可在相同或不同的抗原或標靶上。若表位係在不同的抗原上，此等抗原可在相同的細胞或不同的細胞、細胞類型或結構上，諸如細胞外基質或囊泡和可溶性蛋白質。多特異性及雙特異性抗體可能因此能夠交聯多種抗原，例如兩種不同的細胞。

術語「雙價抗體」係指具有兩個抗原結合區之抗體，其中該抗原結合區可能為相同的且結合至相同的表位或彼等可能為不同的且結合至不同的表位，該不同的表位可能在相同或不同抗原上。因此，雙價抗體可能為單特異性抗

體或雙特異性抗體。

術語「胺基酸」及「胺基酸殘基」在本文可交換使用且不應理解為限制。胺基酸為含有胺(-NH₂)及羧基(-COOH)官能基連同各胺基酸特有的側鏈(R基團)之有機化合物。在本發明之上下文中，胺基酸可基於結構及化學特性分類。因此，胺基酸的類別可能反映在下表中之一或兩者中。

表 1
基於 R 基團之結構及一般化學特性的主要分類

類別	胺基酸
酸性殘基	D 和 E
鹼性殘基	K, R,和 H
親水性不帶電殘基	S, T, N,和 Q
脂族不帶電殘基	G, A, V, L,和 I
非極性不帶電殘基	C, M,和 P
芳族殘基	F, Y,和 W

表 2
胺基酸殘基之替代性物理及功能分類

類別	胺基酸
含羥基之殘基	S 和 T
脂族殘基	I, L, V,和 M
環烯基相關性殘基	F, H, W,和 Y
疏水性殘基	A, C, F, G, H, I, L, M, R, T, V, W, 和 Y
帶負電殘基	D 和 E
極性殘基	C, D, E, H, K, N, Q, R, S,和 T
帶正電殘基	H, K,和 R
小殘基	A, C, D, G, N, P, S, T,和 V
非常小殘基	A, G,和 S
涉及轉折形成(turn formation)的殘基	A, C, D, E, G, H, K, N, Q, R, S, P, 和 T
柔性殘基	Q, T, K, S, G, P, D, E,和 R

以一種胺基酸取代另一胺基酸可分類成保守型或非保守型取代。在本發明之上下文中，「保守型取代」為以具有類似結構及 / 或化學特性之另一胺基酸取代一個胺基酸，此為以一種胺基酸殘基取代如以上兩個表中任一者所定義之相同類別的另一胺基酸殘基：例如，保守型取代可為以異白胺酸取代白胺酸，因為該兩者皆為脂族、支鏈疏水物。同樣地，保守型取代的一實例為以麩胺酸取代天冬胺酸，因為該兩者皆為帶負電小殘基。

在本發明之上下文中，在抗體中的取代表示為：原始胺基酸-位置號碼-經取代之胺基酸；

參考公認的胺基酸命名法，使用三字母代碼或一個字母代碼，包括代碼「Xaa」或「X」以表示任何胺基酸殘

基。因此，Xaa或X典型地可代表20種天然生成胺基酸中任一者。如本文所使用之術語「天然生成」係指下列胺基酸殘基中任一者：甘胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、離胺酸、精胺酸、組胺酸、天冬胺酸、天冬醯胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、脯胺酸、色胺酸、苯基丙胺酸、酪胺酸、甲硫胺酸和半胱胺酸。

據此，註記「K409R」或「Lys409Arg」意指抗體包含在胺基酸位置409上以精胺酸取代離胺酸。在給出之位置上的胺基酸取代成為任何其他胺基酸表示為：原始胺基酸-位置；或例如「K409」。關於其中原始胺基酸及/或經取代之胺基酸可能包含超過一個以上，但不是所有胺基酸之修飾，超過一個以上的胺基酸可以「，」或「/」隔開。例如，在位置409上以精胺酸、丙胺酸或苯基丙胺酸取代離胺酸：「Lys409Arg,Ala,Phe」或「Lys409Arg/Ala/Phe」或「K409R,A,F」或「K409R/A/F」或「K409成為R,A或F」。此標示在本發明之上下文中可交換使用，但具有相同的涵義及目的。

此外，術語「取代」包含取代成任何一種或其他十九種天然胺基酸，或取代成其他胺基酸，諸如非天然胺基酸。例如，在位置409上的胺基酸K之取代包括下列取代中之各者：409A、409C、409D、409E、409F、409G、409H、409I、409L、409M、409N、409Q、409R、409S、409T、409V、409W、409P和409Y。該等取代亦可標示為K409A、K409C等或K409A,C等或K409A/C/等。以類似方

式同樣適用於本文所提及的每一及每個位置，在此具體地包括此等取代中任一者。

如本文所使用之術語「宿主細胞」意欲指其中已引入核酸(諸如表現載體)之細胞。應理解的是此等術語不僅意欲指特定的個體細胞，且亦可包括此細胞的後代。因為特定的修飾可能由於突變或環境影響而在後續世代中發生，所以此後代事實上可能與親本細胞不同，但仍包括在如本文所使用之術語「宿主細胞」的範圍內。重組宿主細胞(亦即用於生產重組蛋白質之宿主細胞)包括例如轉染瘤，諸如CHO細胞、HEK-293細胞、Expi293F細胞、PER.C6細胞、NS0細胞、淋巴細胞及原核細胞(諸如大腸桿菌)和其他的真核宿主(諸如植物細胞和真菌)。

如本文所使用之術語「轉染瘤」包括表現抗體或標靶抗原之重組真核宿主細胞，諸如CHO細胞、PER.C6細胞、NS0細胞、HEK-293細胞、Expi293F細胞、植物細胞或真菌(包括酵母細胞)。

出於本發明之目的，在兩個胺基酸序列之間的序列同一性係使用如以EMBOSS套裝之Needle程式 (EMBOSS：歐洲分子生物學開放電腦軟體組(The European Molecular Biology Open軟體Suite)，Rice等人之2000, Trends Genet. 16: 276-277)，較佳為5.0.0版或更新版本中所執行之Needleman-Wunsch演算法(Needleman和Wunsch之1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453)以整個參考序列長度來測定。所使用的參數為10之間隙開放罰分(gap open penalty)、0.5之間

隙 延 伸 罰 分 (gap extension penalty) 及 EBLOSUM62 (BLOSUM62之EMBOSS版)取代矩陣。使用經Needle標記之「最長一致性」的輸出(使用-nobrief選項獲得)作為一致性百分比且如下計算：

$(\text{相同的殘基} \times 100) / (\text{比對長度} - \text{比對的間隙總數目})$ 。

相似殘基的保留性亦可以或可替代地以相似性分數來測量，如藉由使用BLAST程式(例如通過NCBI取得的BLAST 2.2.8，使用標準的設定BLOSUM62，開口間隙=11及延伸間隙=1)來測定。適合的變異體典型地展現與親本或參考序列至少約45%，諸如至少約55%、至少約65%、至少約75%、至少約85%、至少約90%、至少約95%或更多(例如約99%)的相似性。

表 3 胺基酸序列

SEQ ID NO:	參考	結構域	序列
1	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VH_CDR1	GGSFSAYY
2	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VH_CDR2	INHGGGT
3	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VH_CDR3	ASLTAY
4	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VL_CDR1	QGISSW
5	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VL_CDR2	AAS
6	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VL_CDR3	QQYDSYPIT
7	IgG1-huCD3-FEAL	VH_CDR1	GFTFNTYA
8	IgG1-huCD3-FEAL	VH_CDR2	IRSKYNNYAT
9	IgG1-huCD3-FEAL	VH_CDR3	VRXGNFGNSYVSWFAY, 其中 X 為 H 或 G
10	IgG1-huCD3-FEAL	VL_CDR1	TGAVTTSNY
11	IgG1-huCD3-FEAL	VL_CDR2	GTN
12	IgG1-huCD3-FEAL	VL_CDR3	ALWYSNLWV
13	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIR QPPGKGLEWIGDINHGGGTNYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLNSTAAADTAVYYCASLTAYWGQGS�TVSS
14	IgG1-CD30-MDX060-FERR	VL	DIQMTQSPTSLASVGDRTITCRASQGISSWLTWYQQ KPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFRSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQQYDSYPITFGQGTRLEIK

15	IgG1-huCD3- FEAL	VH	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KSSLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRXGNFGNSYVSWFAYW GQGTLVTVSS, 其中 X 為 H 或 G
16	IgG1-huCD3- FEAL	VL	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWV QQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTI TGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL
17	IgG1-CD30- MDX060-FERR	全長重鏈	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIR QPPGKGLEWIGDINHGGGTNYNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLKLSVTAADTAVYYCASLTAYWGQGS�TVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
18	IgG1-CD30- MDX060-FERR	全長輕鏈	DIQMTQSPTSLASVGDRVITICRASQGISSWLTWYQQ KPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL QPEDFATYYCQYDSYPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFP PSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC

19	IgG1-huCD3- FEAL	全長重鏈	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KSSLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNFGNSYVSWFAYW GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPGPCAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	IgG1-huCD3- FEAL	全長輕鏈	QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCSRSTGAVTTSNYANWV QQTPGQAFRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLIGDKAALTI TGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADS SPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSY SCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
21	IgG1-CD30- hAC10-FEAR	全長重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYYITWVR QAPGQGLEWMGWIYPGSGNTKYNEKFGRVTMTRDTSI STAYMELSRLRSDDTAVYYCANYGNYWFAYWGQGTLLT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPGPCAP EFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG

22	IgG1-CD30-hAC10-FEAR	全長輕鏈	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDFDGD SYMN WYQQKPGQP PKLLIYAASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTL TISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPWTFGQGTKVEIKRTVAA PSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
23	IgG1-CD30-HRS-3-FEAR	全長重鏈	QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVR QRP GHDLEWIGYINPSSGYS DYNQNFKGKTTLTADKSS NTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNYEYTWFA YWG QGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVV TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
24	IgG1-CD30-HRS-3-FEAR	全長輕鏈	DIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQ QKPGQSPKVL IYSASYRYS GVPDRFTGSGSGTDFTLTIS NVQSEDLAEYFCQQYHTYPLTFGGG TKLEINRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVT KSFNRGEC

25	IgG1-CD30- HeFi-I-FEAR	全長重鏈	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSDYYMNWVR QPPGKALEWLG FIRNKANGYTTEFSASVMGRFTISRDDS QSILYLQMN TLRAEDSATYYCARDPPYGNPHY YAMDYW GQGT SVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KD YFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
26	IgG1-CD30- HeFi-I-FEAR	全長輕鏈	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSASGYNYMHW YQQKAGQPPKLLIHLASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLNI HPVEEEDASTYYCQHSGELPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
27	IgG1-CD30- T405-FEAR	全長重鏈	QVQLQQIGAELVRPGASVKLSCKASGYTFNNYWINWVK QRPQGQLEWIGNIYPSDSRSNYNQKFKDKATLTVDKPS STAYMQLSSPTSEDSAVYYCTLGSYWGQGT LVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVA VSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP PVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG

28	IgG1-CD30-T405-FEAR	全長輕鏈	DVVMQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLSDSDGKTYLN WLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGVIYCWQGAHFPRTFGGGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
29	IgG1-CD30-T105-FEAR	全長重鏈	QVTLKESGPGILQPSQTLTCSFSGFSLSTSGMGVSWI RQPSGKDLEWLAHIYWDDDKRYNPSLKSRLTISKDTSS NQVFLKITSVDTADTATYYCARRADGLYFYLDVWGAGTT VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCP APEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVVAVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	IgG1-CD30-T105-FEAR	全長輕鏈	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVNTNVAWYQ QKPGQSPEALIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFTLTISN VQSEDLAEYFCQYNSYPLTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

31	IgG1-CD30-T408-FEAR	全長重鏈	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVK QRPQGQLEWIGNIYPSDSYSNYNQKFKDKATLTVDKSS STAYMQLSSPTSEDSAVYYCTLGSYWGGTLVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH NHYTQKSLSLSPG
32	IgG1-CD30-T408-FEAR	全長輕鏈	DVVMQTPTLTSLVTIGQPASISCKSSQSLSDSDGKTYLN WLLQRPQGQSPKRLIYLVSKLDSGVPDRFTGSGSGTDFTL KISRVEAEDLGYYCWQGAHFPRTFGGGTKLEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHK VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
33	IgG1-CD30-T215-FEAR	全長重鏈	QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSVSGMGVSWI RQPSGKGLEWLAHIHWDDRRSNPSLRSLTISKDTSN NQVFLKITSVDTADTATYYCARRPDLYGNYFFDFWGQG TTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPP CPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTPPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQQGNV FCFSVMHEALHNHNTQKSLSLSPG

34	IgG1-CD30-T215-FEAR	全長輕鏈	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVFTNVAWYQ QKLGQSPKPLIYSASYRYSQVDPDRFTGSGSGTDFTLTISD VQSEDLAEYFCQQYNSYPVTFGAGTKLELKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
35	IgG1-huCD3H101G-FEAL	全長重鏈	EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVR QAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYYADSVKDRFTISRDDS KSSLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRGGNFGNSYVSWFAYW GQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH TCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVA VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
36	IgG1-b12-FEAL	全長重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVR QAPGQRFEGWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVTFADTSA NTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYM DVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

37	IgG1-b12- FEAL	全長輕鏈	EIVLTQSPGTLSSLSPGERATFSCRSSHISRSRRVAWYQH KPGQAPRLVIHGVSNRASGISDRFSGSGSGDFTLTITR VEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYAC EVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
38	IgG1-b12- FERR	全長重鏈	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVR QAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVTFADTSA NTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYM DVWVGKGTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCD KTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
39	人類 CD30		FPQDRPFEDTCHGNPSHYDKAARRCCYRCPMGLFPTQ QCPQRPTDCRKQCEPDYYLDEADRCTACVTCSRDDLVE KTPCAWNSSRVCECRPGMFCSTSAVNSCARCFHSHVCP AGMIVKFPGTAQKNTVCEPASPGVSPACASPENCKEPSS GTIPQAKPTPVSPATSSASTMPVRGGTRLAQEAASKLTR APDSPSSVGRPSSDPGLSPTQPCPEGSGDCRKQCEPDY YLDEAGRCTACVSCSRDDLVEKTPCAWNSSRTCECRPG MICATSATNSCARCVPYPICAAETVTKPQDMAEKDTTFE APPLGTQPCDNPTPENGEAPASTSPTQSLLVDSQASKTL PIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFVVLVVLVVVGSSAF LLCHRRACRKIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRRS STQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYLES LPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIYIMKA DTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHYPE QETEPPLGSCSDVMLSVEEKGEDPLPTAASGK

40	食蟹猴 CD30		FPQDRPFEDTCRGNPGHYDDKAVRRCCYRCPTGTAQKN TVCEPASPGVSPACASPENCKEPSSGTIPQAKPTPVSPAT SNASTMPLRGGTRLAQEAASKLTRAPGSPSSVGRPSSDP GLSPTQPCPQGGSDCRKQCEPDYYLDEAGRCTACVSCS RDDLVEKTPCAWNSSRICECRPGMICATSATNSCARCVP YPICAAETGTPQDMAEKDTTFFAPPVGTQPDCSPTPEN GEAPASTSPTLSSLVDSQASKTLPIPTSAPIALSSTGKPV DAGPVLFVWVILVAVVVGSSSTFLLCHRRACRKRIRQKLHL CYPVQTSRPKLELVDSRPRRSSTQFESGTFVTKPSAEELG LMSLPPKETCRNVGAACPESLPLWDASPAGGPSSPRDLP EPRVSTEHTNNRIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGQGLA GPAEPELEEELEADHAPHYPEQETEPPLGSCSDVMLSVEE EGKEDPLPTAASGK
41	恆河猴 CD30		FPQDRPFEDTCRGNPGHYDDKAVRRCCYRCMPGLFPTQ QCPQRPADCRKQCEPDYYLDEAGRCTACVSCSRDDLVE KMPCAWNSSRVCECQPGMFCAVSVVNSCARCFHSHVCP AGMIVKFPGTAQKNTVCEPASPGVSPACASPENCKEPSS GTIPQAKPTPVSPATSNASTMPLRGGTRLAQEAASKLTR APGSPSSVGRPSSDPGLSPTQPCPQGGSDCRKQCEPDY YLDEAGRCTACVSCSRDDLVEKTPCAWNSSRICECRPG MICATSATNSCARCVPYPICAAETGTPQDMAEKDTTFF APPVGTQPDCSPTPENGEAPASTSPTLSSLVDSQASKTL PIPTSAPIALSSTGKPVLDAGPVLFVWVILVAVVVGSSSTFLL CHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSRPKLELVDSRPRRSST QFESGTFVTKPSAEELGLMSLPPKETCRNVGAACPESLPL WDASPAGGPSSPRDLPPEPRVSTEHTNNRIEKIYIMKADT VIVGTVKAELPEGQGLAGPAEPELEEELEADHAPHYPEQE TEPPLGSCSDVMLSVEEKGKEDPLPTAASGK
42	人類 CD3 (ε)		QDGNEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQ HNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVCY PRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIDI CITGGLLLLVIYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQGRQN KERPPVPNPDIYPIRKGQRDLYSGLNQRI

43	食蟹猴 CD3		QDGNEEMGSITQTPYQVSISGTTVILTCSQHLGSEAQW QHNGKNKEDSGDRLFLPEFSEMEQSGYYVCYPRGSNPE DASHHLYLKARVCENCMEMDVMATIVIVDICITLGLLL LVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQGRGQNKERPPVP NPDYEPiRKGGQDLYSGLNQRRi
44	IgG1 恆定區		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
45	IgG1 恆定區	具有 FER 取代 (粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FE R GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
46	IgG1 恆定區	具有 FEA 取代 (粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FE GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV A VSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG

47	IgG1 恆定區	具有 F405L 取代(粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
48	IgG1 恆定區	具有 K409R 取代(粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
49	IgG1 恆定區	具有 FER 取代 及具有 F405L 取代(粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTCPCPAPE FER R GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG

50	IgG1 恆定區	具有 FER 取代 及具有 K409R 取代(粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FE R GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYS R LTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
51	IgG1 恆定區	具有 FEA 取代 及具有 F405L 取代(粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FE GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV A VSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSF L LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
52	IgG1 恆定區	具有 FEA 取代 及具有 K409R 取代(粗體)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE FE GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV A VSHEDPEVKF NWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYS R LTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
53	恆定區	人類 κ 輕鏈之 恆定區	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
54	恆定區	人類 λ 輕鏈之 恆定區	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTV AWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

55	IgG1-CD30-MDX060-FEAR	全長重鏈	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIR QPPGKGLEWIGDINHGGGTNYNPSLKSRTISVDTSKN QFSLKLNSVTAADTAVYYCASLTAYWGQGS�TVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGP SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVAVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP PVLDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH NHYTQKSLSLSPG
----	-----------------------	------	---

本發明之其他態樣及實施態樣

如上述，在第一態樣中，本發明關於多特異性抗體，其包含：

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列。

在一個實施態樣中，在SEQ ID NO：9中的X為H。在另一實施態樣中，在SEQ ID NO：9中的X為G。

在一個實施態樣中，第一重鏈可變區為人類或經人源

化。在另一實施態樣中，第一輕鏈可變區為人類或經人源化。在一個實施態樣中，第二重鏈可變區為人類或經人源化。在另一實施態樣中，第二輕鏈可變區為人類或經人源化。在另一實施態樣中，第一重鏈可變區及第一輕鏈可變區為人類。在另一實施態樣中，第一重鏈可變區及第一輕鏈可變區經人源化。在另一實施態樣中，第二重鏈可變區及第二輕鏈可變區為人類。在另一實施態樣中，第二重鏈可變區及第二輕鏈可變區經人源化。在另一實施態樣中，第一重鏈可變區及第一輕鏈可變區為人類，及第二重鏈可變區及第二輕鏈可變區為人類。在另一實施態樣中，第一重鏈可變區及第一輕鏈可變區為人類，及第二重鏈可變區及第二輕鏈可變區經人源化。

如熟習的技術人員所熟知，抗體之各抗原結合區通常包含重鏈可變區(VH)及輕鏈可變區(VL)，且可變區之各者分別包含三個CDR序列，CDR1、CDR2和CDR3及可能分別包含四個框架序列FR1、FR2、FR3和FR4。此結構較佳地亦可在根據本發明之抗體中發現。在一個實施態樣中，該四個框架序列中之一、二、三或全部為人類框架序列。

如上述，根據本發明之多特異性抗體包含能夠結合至人類CD30之抗原結合區，其序列係以SEQ ID NO：39列出。根據本發明之抗體特別為其中能夠結合至人類CD30之該抗原結合區能夠結合至人類CD30（諸如表現在細胞，更佳為腫瘤細胞上之CD30分子）的細胞外結構域之抗體。

如所述，抗體包含CD30結合區，其包含第一重鏈可

變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列。

可變重鏈區及輕鏈區之CDR1、CDR2和CDR3區可使用本技術中已知的方法鑑定。該可變重鏈區及輕鏈區之CDR區已根據IMGT註釋（參見Lefranc, M.-P.之The Immunologist, 7, 132-136 (1999)；Lefranc之Developmental and Comparative Immunology, 27(1), 55-77 (2003)）。

在一個實施態樣中，結合至CD30之抗原結合區包含：

- (第一)重鏈可變區(VH)，其包含SEQ ID NO：13之序列或與SEQ ID NO：13之序列具有至少90%、至少95%、至少97%或至少99%之胺基酸序列同一性之序列；及
- (第一)輕鏈可變區(VL)，其包含SEQ ID NO：14之序列或與SEQ ID NO：14之序列具有至少90%、至少95%、至少97%或至少99%之胺基酸序列同一性之序列。

在進一步的實施態樣中，根據本發明之抗體包含結合至如本文所定義之CD30的抗原結合區之重鏈可變(VH)區，其中該序列與SEQ ID NO：13相比，包含總共最多1、2、3、4或5個胺基酸取代。

在進一步的實施態樣中，根據本發明之抗體包含結合

至如本文所定義之CD30的抗原結合區之輕鏈可變(VL)區，其中該序列與SEQ ID NO：14相比，包含總共最多1、2、3、4或5個胺基酸取代。

在進一步的實施態樣中，第一重鏈可變區包含以SEQ ID NO：13列出之序列及第一輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：14列出之序列。

能夠結合人類CD30之此等抗原結合區已說明於例如WO03059282 (Medarex)中，將其併入本文以供參考。

依照本發明之該抗體可在結合至人類CD30之抗原結合區與人類CD30之間以平衡解離常數KD結合，該平衡解離常數係在0.1至20 nM之範圍內，例如在0.5至5 nM之範圍內，諸如在1.5至2 nM之範圍內(單價結合)。該結合親和性可以生物膜干涉法測定。

在一個實施態樣中，本發明之抗體亦可結合食蟹猴CD30 (SEQ ID NO：40)。

如上述，根據本發明之多特異性抗體包含能夠結合至人類CD3之抗原結合區。此外，本發明提供能夠結合人類CD3 ϵ (epsilon)(諸如以SEQ ID NO：22指定之人類CD3 ϵ (epsilon))的根據本發明之抗體。此等抗原結合區能夠結合如呈現在T細胞(諸如初級人類T細胞)上的人類CD3 ϵ (epsilon)。

如所述，抗體包含CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該

第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列。

在一個實施態樣中，結合至CD3之抗原結合區包含：

- (第二)重鏈可變區(VH)，其包含SEQ ID NO：15之序列或與SEQ ID NO：15之序列具有至少90%、至少95%、至少97%或至少99%之胺基酸序列同一性之序列；及
- (第二)輕鏈可變區(VL)，其包含SEQ ID NO：16之序列或與SEQ ID NO：16之序列具有至少90%、至少95%、至少97%或至少99%之胺基酸序列同一性之序列。

在進一步的實施態樣中，根據本發明之抗體包含結合至如本文所定義之CD3的抗原結合區之重鏈可變(VH)區，其中該序列與SEQ ID NO：15相比，包含總共最多1、2、3、4或5個胺基酸取代。

在進一步的實施態樣中，根據本發明之抗體包含結合至如本文所定義之CD3的抗原結合區之輕鏈可變(VL)區，其中該序列與SEQ ID NO：16相比，包含總共最多1、2、3、4或5個胺基酸取代。

在進一步的實施態樣中，第二重鏈可變區包含以SEQ ID NO：15列出之序列及第二輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：16列出之序列。在一個實施態樣中，在SEQ ID NO：15中的X為H。在另一實施態樣中，在SEQ ID NO：15中的X為G。

能夠結合人類CD3之此等抗原結合區已說明於例如WO2015/001085 (Genmab)中，將其併入本文以供參考。其變異體(諸如包含如以其中X為G的SEQ ID NO：9列出之VH CDR3區之變異體，其對人類CD3結合之親和性比其中X為H的親本抗體低)已說明於例如WO2017/009442 (Genmab)的實施例2中，將其併入本文以供參考。

依照本發明之該抗體可在結合人類CD3之抗原結合區與人類CD3之間以平衡解離常數KD結合，該平衡解離常數係在5至30 nM之範圍內，諸如在介於10與20 nM之間(單價結合)。

在一個實施態樣中，本發明之抗體亦可結合食蟹猴CD3 (SEQ ID NO：43)。

在進一步的實施態樣中，多特異性抗體包含：

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含以SEQ ID NO：13列出之序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：14列出之序列，及

(ii) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含以SEQ ID NO：15列出之序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：16列出之序列。

抗體型式

本發明之多特異性抗體可能具有二或更多種特異性，

諸如二或三或更多種特異性。此外，多特異性抗體可具有超過一個以上拷貝的CD3及/或CD30之抗原結合區。例如，在一個實施態樣中，抗體具有兩個能夠結合CD3之抗原結合區，諸如兩個結合CD3之相同的結合區。例如，在另一實施態樣中，抗體具有兩個結合結合CD30之抗原結合區，諸如兩個結合CD30之相同的結合區。額外的抗原結合區可例如以共價連結至恆定區之scFv的形式存在。

在較佳的實施態樣中，本發明之多特異性抗體為雙特異性抗體。雙特異性抗體的許多不同型式及用途為本技術中已知且由Kontermann之Drug Discov Today, 2015 Jul;20(7):838-47和Mabs之2012 Mar-Apr;4(2):182-97；及Labrijn等人之2019 Nat Rev Drug Discov 18(8) 585-608綜述。根據本發明之雙特異性抗體可不限於任何特定的雙特異性型式或其生產方法。

可在本發明使用之雙特異性抗體分子的實例包含(i)單一抗體，其具有兩個包含不同的抗原結合區之臂；(ii)單鏈抗體，其對兩個不同的標靶具有特異性，例如經由兩個以額外的肽連結子串接連結之scFv；(iii)雙重可變結構域抗體(DVD-Ig)，其中各輕鏈及重鏈含有兩個通過短的肽鍵聯串接之可變結構域(Wu等人之Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule, In: Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010))；(iv)經化學連結之雙特異性(Fab')₂片

段；(v) Tandab，其為兩個單鏈雙功能抗體之融合體，得到對標靶抗原中之各者具有兩個結合位點之四價雙特異性抗體；(vi)柔性抗體(flexibody)，其為scFv與雙功能抗體之組合，得到多價分子；(vii)基於蛋白激酶A中的「二聚合及對接(docking)結構域」之所謂的「對接與鎖定(dock and lock)」分子」，當應用於Fab時，其可產生由兩個連結至不同的Fab片段之相同的Fab片段所組成的三價雙特異性結合蛋白；(viii)所謂的Scorpion分子，其包含例如兩個與人類Fab臂的兩個末端融合之scFv；及(ix)雙功能抗體。

不同類別的雙特異性抗體的其他實例包括但不限於(i) IgG樣分子，具有互補的CH3結構域以迫使異二聚合；(ii)重組IgG樣雙重靶向分子，其中分子的兩側各含有至少兩種不同抗體之Fab片段或一部分的Fab片段；(iii) IgG融合分子，其中全長IgG抗體係與額外的Fab片段或部分的Fab片段融合；(iv) Fc融合分子，其中單鏈Fv分子或穩定之雙功能抗體係與重鏈恆定結構域、Fc區或其部分融合；(v) Fab融合分子，其中不同的Fab片段融合於一起，與重鏈恆定結構域、Fc區或其部分融合；及(vi)基於ScFv和雙功能抗體之抗體及重鏈抗體(例如結構域抗體、奈米抗體)，其中不同的單鏈Fv分子或不同的雙功能抗體或不同的重鏈抗體(例如結構域抗體、奈米抗體)彼此融合或與另一與重鏈恆定結構域、Fc區或其部分融合之蛋白質或載體分子融合。

具有互補的CH3結構域分子之IgG樣分子的實例包括但

不限於三功能抗體 (Triomab)/四功能抗體 (Quadroma) 分子 (Trion Pharma/Fresenius Biotech ; Roche , WO2011069104) 、 所 謂 的 旋 鈕 入 孔 (Knob-into-Hole) 分 子 (Genentech , WO9850431) 、 CrossMAb (Roche , WO2011117329) 和 靜 電 匹 配 分 子 (Amgen , EP1870459 和 WO2009089004 ; Chugai , US201000155133 ; Oncomed , WO2010129304) 、 LUZ-Y 分 子 (Genentech , Wranik 等 人 之 J. Biol. Chem. 2012, 287(52): 43331-9, doi ; 10.1074/jbc.M112.397869. Epub 2012 Nov 1) 、 DIG 抗 體 和 PIG 抗 體 分 子 (Pharmabcine , WO2010134666 、 WO2014081202) 、 鏈 交 換 工 程 化 (Strand Exchange Engineered) 結 構 域 抗 體 (SEEDbody) 分 子 (EMD Serono , WO2007110205) 、 Biclonics 分 子 (Merus , WO2013157953) 、 Fc Δ Adp 分 子 (Regeneron , WO201015792) 、 雙 特 異 性 IgG1 和 IgG2 分 子 (Pfizer/Rinat , WO11143545) 、 Azymetric 支 架 分 子 (Zymeworks/Merck , WO2012058768) 、 mAb-Fv 分 子 (Xencor , WO2011028952) 、 雙 價 雙 特 異 性 抗 體 (WO2009080254) 及 DuoBody® 分 子 (Genmab A/S , WO2011131746) 。

重組 IgG 樣 雙 重 靶 向 分 子 的 實 例 包 括 但 不 限 於 雙 重 靶 向 (DT)-Ig 分 子 (WO2009058383) 、 二 合 一 (Two-in-one) 抗 體 (Genentech ; Bostrom 等 人 之 2009. Science 323, 1610-1614.) 、 交 聯 Mab (卡 門 諾 斯 癌 症 中 心 (Karmanos Cancer Center)) 、 mAb2 (F-Star , WO2008003116) 、 Zybody 分 子 (Zyngenia ; LaFleur 等 人 之 MAbs. 2013 Mar-Apr;5(2):208-

18)、具有共同輕鏈之通道(Crucell/Merus, US7,262,028)、 κ/λ bodyTM分子 (NovImmune, WO2012023053)和 CovX 抗體 (CovX/Pfizer; Doppalapudi, V.R. 等人之 2007. Bioorg. Med. Chem. Lett. 17,501-506.)。

IgG 融合分子的實例包括但不限於雙重可變結構域 (DVD)-Ig 分子 (Abbott, US7,612,181)、雙重結構域雙頭抗體 (Unilever; Sanofi Aventis, WO20100226923)、IgG 樣雙特異性分子 (ImClone/Eli Lilly, Lewis 等人之 Nat Biotechnol. 2014 Feb;32(2):191-8)、Ts2Ab (MedImmune/AZ; Dimasi 等人之 J Mol Biol. 2009 Oct 30;393(3):672-92) 和 BsAb 分子 (Zymogenetics, WO2010111625)、HERCULES 分子 (Biogen Idec, US007951918)、scFv 融合分子 (Novartis)、scFv 融合分子 (Changzhou Adam Biotech Inc, CN 102250246) 及 TvAb 分子 (Roche, WO2012025525、WO2012025530)。

Fc 融合分子的實例包括但不限於 ScFv/Fc 融合體 (Pearce 等人之 Biochem Mol Biol Int. 1997 Sep;42(6):1179-88)、SCORPION 分子 (Emergent BioSolutions/Trubion, Blankenship JW 等人之 AACR 100th Annual meeting 2009 (Abstract # 5465); Zymogenetics/BMS, WO2010111625)、雙重親和性再靶向技術 (Fc 系 DART) 分子 (MacroGenics, WO2008157379、WO2010080538) 和雙重 (ScFv)₂-Fab 分子 (國家抗體醫學研究中心 (National Research Center for Antibody Medicine)-中國)。

Fab 融合雙特異性抗體的實例包括但不限於 F(ab)₂ 分

子 (Medarex/AMGEN ; Deo 等 人 之 J Immunol. 1998 Feb 15;160(4):1677-86.)、雙重作用或雙Fab分子(Genentech , Bostrom等人之2009. Science 323, 1610-1614.)、對接及鎖定 (DNL) 分子 (ImmunoMedics , WO2003074569 、 WO2005004809)、雙價雙特異性分子(Biotechnol , Schoonjans 之J Immunol. 2000 Dec 15;165(12):7050-7.)及Fab-Fv分子 (UCB-Celltech , WO 2009040562 A1)。

基於ScFv、雙功能抗體之抗體及結構域抗體的實例包括但不限於雙特異性T細胞銜接抗體(Engager)(BiTE)分子 (Micromet , WO2005061547)、串接雙功能抗體分子 (TandAb) (Affimed) Le Gall等人之Protein Eng Des Sel. 2004 Apr;17(4):357-66.)、DART分子 (MacroGenics , WO2008157379、WO2010080538)、單鏈雙功能抗體分子 (Lawrence之FEBS Lett. 1998 Apr 3;425(3):479-84)、TCR樣抗體 (AIT , ReceptorLogics)、人類血清白蛋白ScFv融合體 (Merrimack , WO2010059315)和 COMBODY分子 (Epigen Biotech, Zhu等人之Immunol Cell Biol. 2010 Aug;88(6):667-75.)、雙重靶向奈米抗體 (Ablynx , Hmila等人之FASEB J. 2010)和雙重靶向僅重鏈結構域抗體。

在一個實施態樣中，本發明之雙特異性抗體為雙功能抗體、交叉抗體或經由受控之Fab臂交換所獲得的雙特異性抗體(諸如WO2011131746 (Genmab)中所述)。

在一個實施態樣中，本發明之抗體為雙特異性 DuoBody®分子 (Genmab A/S , WO2011131746)。

本發明之多特異性(諸如雙特異性)抗體可為任何同型。例示性同型包括但不限於人類 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 同型中任一者。抗體較佳地可選擇為人類 IgG1 同型，如實例中所示。可使用人類輕鏈恆定區 κ 或 λ 中任一者或兩者，例如以 SEQ ID NO: 53 和 54 列出之序列。例如，在一個實施態樣中，涉及 CD30 結合之輕鏈包含 κ 恆定區及涉及 CD3 結合之輕鏈包含 λ 恆定區。在一個實施態樣中，本發明之抗體的兩個重鏈具有 IgG1 同型。在一個實施態樣中，雙特異性抗體的兩個重鏈分別具有 IgG1 和 IgG4 同型。雙特異性抗體較佳地可選擇為人類 IgG1 同型，如實例中所示。所選擇之同型的重鏈及其 Fc 區序列視需要地且較佳地可於樞紐、CH2 及/或 CH3 區中進行修飾，能夠產生雙特異性抗體及/或引入惰性。

在一個實施態樣中，本發明之多特異性抗體包含由第一和第二 Fc 多肽所組成之 Fc 區。

在一個實施態樣中，第一 Fc 多肽及第一重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內，且其中第二 Fc 多肽及第二重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內。

第一和第二 Fc 多肽可分別具有任何同型，包括任何人類同型，諸如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgE、IgD、IgM 或 IgA 同型或混合同型。Fc 區較佳為人類 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4 同型或混合同型。在一個實施態樣中，該 Fc 區為人類 IgG1 Fc 區。

在進一步的實施態樣中，多特異性抗體為如本文所定

義之全長抗體。

根據本發明之抗體可包含在Fc區中的修飾，使得抗體成為惰性或非活化抗體。因此，在本文所揭示之抗體中，一或兩個重鏈可經修飾，使得抗體誘導經Fc媒介之效應子功能達到在程度上比相同(除了不包含該修飾以外)的抗體小。經Fc媒介之效應子功能可藉由測定在T細胞上經Fc媒介之CD69表現(亦即由於經CD3抗體媒介之Fc γ 受體依賴性CD3交聯所致的CD69表現，例如在WO2015001085中所述)、藉由結合至Fc γ 受體、藉由結合至C1q或藉由誘導經Fc媒介之Fc γ R交聯來測量。重鏈恆定序列特別地可經修飾，當與野生型(未經修飾)抗體相比時，使得經Fc媒介之CD69表現降低至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少99%或100%，其中該經Fc媒介之CD69表現係以基於PBMC之功能檢定法測定，例如以WO2015001085的實施例3中所述之流式細胞測量術。重鏈及輕鏈恆定序列之修飾亦可導致C1q與該抗體之結合降低。當與未經修飾之抗體相比時，可降低至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或100%，且C1q結合可以ELISA測定。再者，Fc區可經修飾，使得該抗體媒介經Fc媒介之T細胞增殖與未經修飾之抗體相比，降低至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少99%或100%，例如在曲線的直線部分，其中該T細胞增殖係以基於PBMC之功能檢定法測量。

已開發範圍廣泛不同的非活化抗體型式，其中已將胺

基酸取代及其組合引入IgG1同型抗體之恆定重鏈區中以消除經Fc媒介之效應子功能(例如Chiu等人之Antibodies 2019 Dec; 8(4): 55 ; Liu等人之Antibodies, 2020 Nov 17;9(4):64; 29(10):457-66 ; Shields等人之J Biol Chem. 2001 Mar 2;276(9):6591-604)。

可經修飾之胺基酸位置(例如在IgG1同型抗體中)的實例包括位置L234和L235。在一個實施態樣中，第一及/或第二Fc多肽包含對應於在人類IgG1重鏈中位置L234及/或L235上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地分別針對F和E，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

應理解的是除了胺基酸位置L234和L235之修飾以外，亦可修飾其他位置。因此，在進一步的實施態樣中，第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別針對F和E之胺基酸取代，且第一及/或第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地針對R。

在另一實施態樣中，第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別針對F和E之胺基酸取代，且第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地針對R。

在另一實施態樣中，第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別針對F和E之胺基酸取代，且第一及/或第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置D265上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地針對

A。

在另一實施態樣中，第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別針對F和E之胺基酸取代，且第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置D265上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地針對A。

在另一實施態樣中，第一和第二Fc多肽之一包含對應於位置L234、L235和G236上的胺基酸分別針對F、E和R之胺基酸取代，且另一Fc多肽包含對應於位置L234、L235E和D265上的胺基酸分別針對F、E和A之胺基酸取代。

在進一步的實施態樣中，第一Fc多肽包含對應於位置L234、L235和G236上的胺基酸分別針對F、E和R之胺基酸取代，且第二Fc多肽包含對應於位置L234、L235E和D265上的胺基酸分別針對F、E和A之胺基酸取代，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

例如，具有此等Fc區取代之恆定區係以例如SEQ ID NO：45、46、49、50、51和52提供，其可與不具有此等取代之SEQ ID NO：44相比。在一個實施態樣中，本發明之抗體包含選自由SEQ ID NO：45、46、49、50、51和52所組成之群組的序列。

在一個實施態樣中，本發明之多特異性或雙特異性抗體包含Fc區，其包含第一和第二CH3區，該第一和第二CH3區為不同的，且使得該第一和第二CH3區之間的異二聚相互作用比該第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強。該等相互作用的更多細節及如何可達成提供於

WO2011131746和 WO2013060867 (Genmab)中，將該等特此併入以供參考。穩定的異二聚抗體可以例如 WO 2008/119353和 WO 2011/131746所提供之所謂的Fab臂交換而以高產量獲得，該獲得係以兩種在CH3區中僅含有很少的不對稱突變之同二聚合起始抗體為基礎。

在特別的實施態樣中，本發明提供抗體，其中在對應於人類IgG1重鏈中之K409的位置上之胺基酸為該第一Fc多肽中的R及在對應於人類IgG1重鏈中之F405的位置上之胺基酸為該第二Fc多肽中的L，或反之亦然。

在進一步的實施態樣中，在對應於K409之位置上的胺基酸為第一Fc多肽中的R，及其中在對應於F405之位置上的胺基酸為第二Fc多肽中的L。

因此，在一個實施態樣中，在第一Fc多肽中，在對應於人類IgG1重鏈中的選自由：T366、L368、K370、D399、F405、Y407和K409所組成之群組的位置之位置上的胺基酸中至少一者已被取代，且在第二Fc多肽中，在對應於人類IgG1重鏈中的選自由：T366、L368、K370、D399、F405、Y407和K409所組成之群組的位置之位置上的胺基酸中至少一者已被取代，且其中在第一和第二Fc多肽中的該取代不在相同的位置上，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義。例如，具有此等Fc區取代之恆定區係以例如SEQ ID NO：47、48、49、50、51和52提供，其可與不具有此取代之SEQ ID NO：44相比。在一個實施態樣中，本發明之抗體包含選自由SEQ ID NO：47、48、49、50、

51和52所組成之群組的序列。

較佳地，在對應於F405之位置上的胺基酸為第一Fc多肽中的L及在對應於K409之位置上的胺基酸為第二Fc多肽中的R，或反之亦然。

因此，在一個實施態樣中，第一和第二Fc多肽之一包含對應於位置L234、L235、G236和F405上的胺基酸分別針對F、E、R和L之胺基酸取代，且另一Fc多肽包含對應於位置L234、L235E、D265和K409上的胺基酸分別針對F、E、A和R之胺基酸取代。

在另一實施態樣中，第一和第二Fc多肽之一包含對應於位置L234、L235、G236和F405上的胺基酸分別針對F、E、R和L之胺基酸取代，且另一Fc多肽包含對應於位置L234、L235E、D265和F405上的胺基酸分別針對F、E、A和L之胺基酸取代。

在進一步的實施態樣中，本發明關於多特異性抗體，其包含：

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變

區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列；

其中多特異性抗體為雙特異性抗體，且包含由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區；

其中第一Fc多肽及第一重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內，及其中第二Fc多肽及第二重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內；

其中第一Fc多肽包含對應於位置L234、L235和G236上的胺基酸分別針對F、E和R之胺基酸取代，且第二Fc多肽包含對應於位置L234、L235和D265上的胺基酸分別針對F、E和A之胺基酸取代，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義；及

其中在對應於K409之位置上的胺基酸為第一Fc多肽中的R，及其中在對應於F405之位置上的胺基酸為第二Fc多肽中的L。

在進一步的實施態樣中，本發明關於多特異性抗體，其包含：

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、

CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列；

其中多特異性抗體為雙特異性抗體，且包含由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區；

其中第一Fc多肽及第一重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內，及其中第二Fc多肽及第二重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內；

其中第一Fc多肽包含對應於位置L234、L235和D265上的胺基酸分別針對F、E和A之胺基酸取代，且第二Fc多肽包含對應於位置L234、L235和D265上的胺基酸分別針對F、E和A之胺基酸取代，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義；及

其中在對應於K409之位置上的胺基酸為第一Fc多肽中的R，及其中在對應於F405之位置上的胺基酸為第二Fc多肽中的L。

在一個實施態樣中，本發明之抗體包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：17和19列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列。

在進一步的實施態樣中，本發明之抗體包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：17和19列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列，且該抗體為雙特異性抗體。

在一個實施態樣中，本發明之抗體包含下列或由下列

所組成：以SEQ ID NO：17和35列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列。

在一個實施態樣中，本發明之抗體包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：55和19列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列。

在一個實施態樣中，本發明之抗體包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：55和35列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列。

在又進一步的實施態樣中，本發明之抗體為bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 或 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR。在再進一步的實施態樣中，本發明之抗體為bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR。

以SEQ ID NO：44至52和55列出之恆定區序列不包括C端離胺酸(K)。然而，在人類中發現的衍生出該等Fc區的天然生成之序列中，此C端離胺酸可作為開讀框的一部分存在。在重組抗體的細胞培養物生產期間中，此端離胺酸可以內源性羧肽酶之蛋白水解切割，得到具有相同序列，但缺少C端離胺酸之恆定區。出於製造抗體的目的，可自序列省略編碼此端離胺酸之DNA，得以生產不具有離胺酸之抗體。自編碼抗體之序列省略C端離胺酸可增加有關C端離胺酸存在的抗體之同質性。自編碼或不編碼此端離胺酸的核酸序列生產之抗體在序列及功能上實質上相同，因為當例如使用基於CHO之生產系統生產之抗體時，C端離胺酸通常具有高的加工程度(Dick, L.W.等人之Biotechnol.

Bioeng. 2008;100: 1132-1143)。因此，應理解的是可產生不編碼或不具有C端離胺酸的依照本發明之抗體，諸如本文所列出。出於製造目的，因此可產生不具有C端離胺酸之抗體。

在替代的實施態樣中，根據本發明之多特異性抗體不為包含Fc區之經典的全長抗體。例如，在一個實施態樣中，

- (i) CD30結合區及/或CD3結合區為Fab，
- (ii) CD30結合區及/或CD3結合區為scFv，
- (iii) CD30結合區為Fab及CD3結合區為scFv，或
- (iv) CD30結合區為scFv及CD3結合區為Fab。

結合、細胞毒性及T細胞活化

可結合至人類CD3及人類CD30的如本文所述之抗體(諸如雙特異性抗體)可有利地靶向T細胞至表現人類CD30之癌細胞，從而誘導經T細胞媒介之該癌細胞毒殺。

如所述，依照本發明之抗體較佳為惰性，且此外，抗體包含下列特性中之一或多者：

a) 當使用例如本文實施例中所述之流式細胞測量術測試時，能夠結合至表現CD30之人類腫瘤細胞，諸如SU-DHL-1細胞、SUP-M2細胞、DL-40細胞、KARPAS-299細胞、L-82細胞、SR-786細胞、L-540細胞、KM-H2細胞、L-1236細胞、JVM-2細胞、HH細胞、NCEB-1細胞及/或HDLN-2細胞，

b) 當如本文實施例中所述方式檢定時，當使用例如經純化之PBMC、ADCC效應子細胞或T細胞作為效應子細胞時，能夠媒介表現CD30之人類腫瘤細胞的濃度依賴性細胞毒性，

c) 當如本文實施例中所述方式檢定時，當使用例如經純化之PBMC或T細胞作為效應子細胞時，能夠媒介一或多種選自由下列所組成之群組的表現人類CD30之腫瘤細胞株的濃度依賴性細胞毒性：MCF-7、MDA-MB-468、SK-BR3、NIH-OVCAR-3、HCC1954和NCI-H1650，

d) 例如當如本文實施例中所述方式檢定時，能夠在表現CD30之人類腫瘤細胞存在下於試管內誘導T細胞增殖，

e) 當如本文實施例中所述方式檢定時，能夠在一或多種選自由下列所組成之群組的表現CD30之人類腫瘤細胞株存在下於試管內活化T細胞：SU-DHL-1細胞、L-428細胞、KI-JK細胞和HDLM-2細胞，

f) 當如本文實施例中所述方式檢定時，能夠以T細胞於試管內誘導劑量依賴性細胞激素及顆粒酶B生產，

g) 當如本文實施例中所述方式檢定時，能夠不導致T細胞自相殘殺，儘管CD30表現在活化之T細胞亞族群上，及/或

h) 當如本文實施例中所述方式檢定時，能夠誘導經T細胞媒介之細胞毒性，即使在sCD30的存在下。

在一個實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定

時，諸如使用 L-428 腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體係以低於 $0.045\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.045\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.040\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.035\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.030\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.025\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.020\ \mu\text{g/ml}$ 之 EC_{50} 濃度誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性。

在進一步的實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用 L-428 腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性時，其具有大於 80%，諸如大於 85%，如大於 90% 之最大溶胞作用。

在一個實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用 L-428 腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導 CD4^+ T 細胞活化，具有低於 $0.05\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.045\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.04\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.035\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.03\ \mu\text{g/ml}$ 之 CD25 表現的 EC_{50} 濃度。在進一步的實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用 L-428 腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導 CD8^+ T 細胞活化，具有低於 $0.005\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.001\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.0009\ \mu\text{g/ml}$ ，諸如低於 $0.0008\ \mu\text{g/ml}$ ，如低於 $0.0007\ \mu\text{g/ml}$ 之 CD25 表現的 EC_{50} 濃度。

在一個實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用 L-428 腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導 CD4^+ T 細胞活化，具有低於

0.004 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.003 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.002 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.001 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.0009 $\mu\text{g/ml}$ 之CD69表現的 EC_{50} 濃度。在進一步的實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用L-428腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導 CD8^+ T細胞活化，具有低於0.0035 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.0030 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.0025 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.0020 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.0015 $\mu\text{g/ml}$ 之CD69表現的 EC_{50} 濃度。

在一個實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用L-428腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導 CD4^+ T細胞活化，具有低於0.01 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.008 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.007 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.006 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.005 $\mu\text{g/ml}$ 之PD-1表現的 EC_{50} 濃度。在進一步的實施態樣中，當如本文實施例中所述方式檢定時，諸如使用L-428腫瘤細胞及以流式細胞測量術測量時，如本文所述之抗體誘導 CD8^+ T細胞活化，具有低於0.007 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.006 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.005 $\mu\text{g/ml}$ ，諸如低於0.004 $\mu\text{g/ml}$ ，如低於0.003 $\mu\text{g/ml}$ 之PD-1表現的 EC_{50} 濃度。

檢定法可以熟習的技術人員一般已知的方式執行，且可視需要地包含4：1之效應子細胞對靶細胞之比例(E：T)及/或視需要地72小時之培育期。檢定法能以例如以下方式執行：提供腫瘤細胞，較佳為經標記之腫瘤細胞，諸如L-428腫瘤細胞；添加如本文所述之抗體，較佳地連續稀

釋；提供T細胞，較佳為經標記之T細胞，效應子對標靶之比例為4：1之E：T，且培育72小時；視需要地對相關參數（諸如CD4、CD8、CD25、CD69及/或PD-1）進行染色，且最後使用流式細胞測量術（如FACS）分析細胞。活細胞%及/或T細胞增殖/活化可自熟習本技術領域者一般已知的分析所獲得的數據計算。

生產本發明之抗體

可使用傳統方法（諸如雜交融合瘤）及化學共軛方法（Marvin和Zhu（2005）Acta Pharmacol Sin 26:649）製備本發明之多特異性（諸如雙特異性）抗體。由不同的重鏈及輕鏈所組成之兩種抗體在宿主細胞中的共表現導致除了所欲雙特異性抗體以外，亦導致可能的抗體產物之混合物，其接著可以例如親和性層析術或類似方法單離。

如所提及，亦可使用在不同的抗體構築體共表現後有利於形成功能性雙特異性產物之策略，例如由Lindhofer等人之（1995 J Immunol 155:219）所述之方法。生產不同抗體的大鼠和小鼠融合瘤之融合導致數量有限的異二聚蛋白質，因為經優先物種限制之重鏈/輕鏈配對。促進異二聚體的形成超越同二聚體之策略為「旋鈕入孔」策略，其中在第一重鏈多肽上引入突起及在第二重鏈多肽中引入對應的空腔，使得突起可位於該兩個重鏈界面之空腔中，以促進異二聚體形成且阻礙同二聚體形成。「突起」係藉由以較大的側鏈置換來自第一多肽之界面的小胺基酸側鏈來

構建。與突起相同或類似大小的補償「空腔」係藉由以較小的胺基酸側鏈置換大胺基酸側鏈而在第二多肽之界面中創建(美國專利 5,731,168)。EP1870459 (Chugai)和 WO2009089004 (Amgen)說明不同的抗體結構域在宿主細胞中共表現後有利於形成異二聚體之其他策略。在該等方法中，構成兩個CH3結構域中的CH3-CH3界面之一或多個殘基係經帶電胺基酸置換，使得在靜電上不利於同二聚體形成，而在靜電上有利於異二聚體形成。WO2007110205 (Merck)又說明另一策略，其中利用在IgA與IgG CH3結構域之間的差異性促進異二聚合。

用於生產雙特異性抗體之另一試管內方法已說明於 WO2008119353 (Genmab)中，其中雙特異性抗體係藉由在還原條件下培育後在兩種單特異性IgG4樣或IgG4樣抗體之間的「Fab臂」或「半分子」交換(重鏈與附著之輕鏈交換)來形成。所得產物為具有兩個可能包含不同序列的Fab臂之雙特異性抗體。

用於製備本發明之雙特異性CD3xCD30抗體之較佳方法包括在 WO2011131746和 WO13060867 (Genmab)中所述之方法，其包含以下步驟：

- a) 提供包含Fc區之第一抗體，該Fc區包含第一CH3區；
- b) 提供包含第二Fc區之第二抗體，該Fc區包含第二CH3區，

其中第一抗體為CD3抗體及第二抗體為CD30抗體，或

反之亦然；

其中該第一和第二CH3區之序列不同，且使得該第一和第二CH3區之間的異二聚相互作用比該第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強；

c) 將該第一抗體與該第二抗體一起在還原條件下培育；以及

d) 獲得該雙特異性CD3xCD30抗體。

同樣地，本發明關於生產根據本發明之多特異性(諸如雙特異性)抗體之方法，其包含

a) 提供第一同二聚抗體，其包含如本文所述之CD30結合區，及第二同二聚抗體，其包含如本文所述之CD3結合區，其中該抗體包含Fc區且視需要地含有如本文所述之其他特徵，

其中第一及第二抗體的第一和第二CH3區之序列不同，且使得第一和第二CH3區之間的異二聚相互作用比第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強；

b) 將第一抗體與第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育；以及

c) 獲得如本文所述的本發明之異二聚多特異性抗體，其包含第一抗體之第一免疫球蛋白重鏈和第一免疫球蛋白輕鏈及第二抗體之第二免疫球蛋白重鏈和第二免疫球蛋白輕鏈。

在一個實施態樣中，將該第一抗體與該第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育，其中在所得異二聚抗體中的該第一與第二抗體之間的異二聚相互作用使得在 37°C 下 24 小時後在 0.5 mM GSH 下不發生 Fab 臂交換。

不受理論的限制，在步驟 c) 中，將親本抗體之樞紐區中的重鏈雙硫鍵還原，且所得半胱胺酸接著能夠與另一親本抗體分子(最初具有不同的特異性)之半胱胺酸殘基形成重鏈間雙硫鍵。在此方法的一個實施態樣中，在步驟 c) 中之還原條件包含添加還原劑，例如選自由下列所組成之群組的還原劑：2-巯乙胺(2-MEA)、二硫蘇糖醇(DTT)、二硫赤蘇糖醇(dithioerythritol)(DTE)、麩胱甘肽、參(2-羧乙基)膦(TCEP)、L-半胱胺酸和 β -巯乙醇，較佳地選自由下列所組成之群組的還原劑：2-巯乙胺、二硫蘇糖醇和參(2-羧乙基)膦。在較佳的實施態樣中，還原劑為 2-巯乙胺。在進一步的實施態樣中，步驟 c) 包含將條件恢復成為非還原或低還原，例如藉由移除還原劑，例如藉由脫鹽。

在進一步的態樣中，本發明關於單特異性抗體，其包含

(i) CD30 結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：1、2 和 3 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：4、5 和 6 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及

(ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別針對F和E之胺基酸取代，且其中第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地針對R，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

在一個實施態樣中，第一重鏈可變區包含以SEQ ID NO：13列出之序列及第一輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：14列出之序列。

在進一步的態樣中，本發明關於單特異性抗體，其包含

(i) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別針對F和E之胺基酸取代，且其中第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中取代較佳地針對R，其中胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

在一個實施態樣中，在SEQ ID NO：9中的X為H。在另一實施態樣中，在SEQ ID NO：9中的X為G。在一個實

施態樣中，第二重鏈可變區包含以SEQ ID NO：15列出之序列及第二輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：16列出之序列。

在一個實施態樣中，上文提及之單特異性抗體為全長抗體。較佳地在對應於人類IgG1重鏈中的選自由：T366、L368、K370、D399、F405、Y407和K409所組成之群組的位置之位置上的胺基酸中至少一者已被取代，其中較佳地在對應於F405之位置上的胺基酸為L或在對應於K409之位置上的胺基酸為R。

在進一步的態樣中，本發明關於生產多特異性抗體之方法，其包含

a) 提供如上文所述之第一單特異性CD30抗體及包含下列的第二抗體：

(i) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：

10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中第一和第二Fc多肽包含在人類IgG1重鏈中對應於位置L234和L235上分別針對F和E的胺基酸之胺基酸取代及對應於位置D265上針對A的胺基酸之胺基酸取代，

或

提供如本文所述之第二單特異性 CD3 抗體及包含下列的第一抗體：

- (i) CD30 結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：1、2 和 3 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：4、5 和 6 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及
- (ii) 由第一和第二 Fc 多肽所組成之 Fc 區，其中第一和第二 Fc 多肽包含對應於位置 L234 和 L235 上的胺基酸分別針對 F 和 E 之胺基酸取代及對應於在人類 IgG1 重鏈中位置 D265 上的胺基酸針對 A 之胺基酸取代，

其中第一及第二抗體的第一和第二 CH3 區之序列不同，且使得第一和第二 CH3 區之間的異二聚相互作用比第一和第二 CH3 區的每一同二聚相互作用更強；其中較佳地在對應於 F405 之位置上的胺基酸為第一 CH3 區中的 L 及在對應於 K409 之位置上的胺基酸為第二 CH3 區中的 R，或反之亦然，

- b) 將第一抗體與第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育；以及
- c) 獲得包含第一抗體之第一免疫球蛋白重鏈和第一免疫球蛋白輕鏈及第二抗體之第二免疫球蛋白重鏈和第二免疫球蛋白輕鏈之多特異性抗體。

在一個實施態樣中，本發明關於生產如本文所述之多特異性抗體之方法，其包含

a) 提供如本文所述之第一單特異性 CD30 抗體及包含下列的第二抗體：

- (i) CD3 結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：7、8 和 9 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：10、11 和 12 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及
- (ii) 由第一和第二 Fc 多肽所組成之 Fc 區，其中第一和第二 Fc 多肽包含對應於位置 L234 和 L235 上的胺基酸分別針對 F 和 E 之胺基酸取代及對應於在人類 IgG1 重鏈中位置 D265 上的胺基酸針對 A 之胺基酸取代，

其中第一及第二抗體的第一和第二 CH3 區之序列不同，且使得第一和第二 CH3 區之間的異二聚相互作用比第一和第二 CH3 區的每一同二聚相互作用更強；其中較佳地在對應於 K409 之位置上的胺基酸為第一 CH3 區中的 R 及在對應於 F405 之位置上的胺基酸為第二 CH3 區中的 L，

- b) 將第一抗體與第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育；以及
- c) 獲得包含第一抗體之第一免疫球蛋白重鏈和第一免疫球蛋白輕鏈及第二抗體之第二免疫球蛋白重

鏈和第二免疫球蛋白輕鏈之多特異性抗體。

本發明進一步關於以如本文所述之方法獲得的多特異性抗體。

在上述方法中，提供能夠結合至 CD30 及 / 或 CD3 之第一或第二同二聚抗體的步驟可包含以下步驟

- 提供用於生產該抗體或該抗體類的含有表現載體之細胞；及
- 容許細胞生產該抗體或該抗體類，且隨後，
- 獲得該抗體或該抗體類，從而提供該抗體或該抗體類。

在此方法的一個實施態樣中，該第一及 / 或第二同二聚抗體為全長抗體。

第一及第二同二聚抗體之 Fc 區可為任何同型，包括但不限於 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4。在此方法的一個實施態樣中，該第一及該第二同二聚抗體兩者之 Fc 區為 IgG1 同型。在另一實施態樣中，該同二聚抗體之 Fc 區中之一者為 IgG1 同型及其他為 IgG4 同型。在後者的實施態樣中，所得雙特異性抗體包含 IgG1 之 Fc 區及 IgG4 之 Fc 區，且可能因此具有關於效應子功能活化之關心的中間性質。

在進一步的實施態樣中，同二聚起始抗體之一已經工程化而不結合蛋白質 A，因此容許藉由使產物通過蛋白質 A 管柱而使異二聚抗體與同二聚起始抗體單離，移除流穿物 (flow-through)，且自蛋白質 A 管柱溶析異二聚抗體，以獲得經純化之異二聚抗體組成物。

如上述，同二聚起始抗體的第一和第二CH3區之序列可能不同，且使得該第一和第二CH3區之間的異二聚相互作用比該第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強。該等相互作用的更多細節及如何可達成提供於WO2011131746和WO2013060867 (Genmab)中，將該等以其全文特此併入以供參考。

穩定的雙特異性CD3xCD30抗體可特別地使用本發明之上述方法而以高產量獲得，該方法係以兩種分別結合CD30及CD3且於CH3區中僅含有很少的相當保守型不對稱突變之同二聚起始抗體為基礎。不對稱突變意指該第一和第二CH3區之序列含有在不同位置上的胺基酸取代。

本發明之多特異性(諸如雙特異性)抗體亦可藉由編碼單細胞中的第一和第二多肽之構築體的共表現來獲得。

因此，在進一步的態樣中，本發明關於編碼根據本發明之多特異性抗體之核酸構築體或核酸構築體之組合，及關於包含此(a)核酸構築體之表現載體或表現載體之組合。

此外，本發明關於能夠生產根據本發明之多特異性抗體之重組宿主細胞，其中宿主細胞包含一或多種編碼根據本發明之多特異性抗體之核酸構築體。

據此，本發明亦關於生產根據本發明之多特異性抗體之方法，其包含

(i)將本發明之重組宿主細胞在其中生產抗體的條件下培養，且

(ii)將生產之多特異性抗體與培養物單離。

在一個實施態樣中，該方法包含以下步驟：

a) 提供第一核酸構築體，其編碼包含第一抗體重鏈之第一Fc區和第一抗原結合區的第一多肽，該第一Fc區包含第一CH3區，

b) 提供第二核酸構築體，其編碼包含第二抗體重鏈之第二Fc區和第二抗原結合區的第二多肽，該第二Fc區包含第二CH3區，

其中該第一和第二CH3區之序列不同，且使得該第一與第二CH3區之間的異二聚相互作用比該第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強，視需要地其中該第一和第二核酸構築體編碼該第一及第二抗體之輕鏈序列，

c) 該第一和第二核酸構築體共表現在宿主細胞中，且

d) 自細胞培養物獲得該異二聚蛋白質。

較佳地，在對應於F405之位置上的經編碼之胺基酸為第一CH3區中的L及在對應於K409之位置上的經編碼之胺基酸為第二CH3區中的R，或反之亦然。

用於生產抗體之適合的表現載體(包括啟動子、增強子等)及適合的宿主細胞為本技術中所熟知。宿主細胞的實例包括酵母、細菌和哺乳動物細胞，諸如諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)或人類，諸如人類胚胎腎(HEK)細胞。

如本文所定義之核酸或一或多種核酸類可為RNA或DNA。如本文所定義之核酸或一或多種核酸類可用於表現在哺乳動物細胞中。因此，本發明此外提供包含如本文所

定義之核酸或包含如本文所定義之一或多種核酸類的細胞或細胞類。

在本發明之上下文中，核酸可為表現載體，其可為任何適合的載體，包括染色體、非染色體和合成核酸載體(包含一組適合的表現控制元件之核酸序列)。此等載體的實例包括SV40之衍生物、細菌質體、噬菌體DNA、桿狀病毒、酵母質體、衍生自質體與噬菌體DNA之組合的載體和病毒核酸(RNA或DNA)載體。在一個實施態樣中，編碼CD30或CD3抗體之核酸包含在裸DNA或RNA載體中，包括例如線性表現元件(如在例如Sykes和Johnston之Nat Biotech 17, 355 59 (1997)中所述)、緊密核酸載體(如在例如US 6,077,835及/或WO 00/70087中所述)、質體載體(諸如pBR322、pUC 19/18或pUC 118/119)、尺寸最小的「微型(midge)」核酸載體(如在例如Schakowski等人之Mol Ther 3, 793 800 (2001)中所述)或經沉澱之核酸載體構築體，諸如經CaP04沉澱之構築體(如在例如WO200046147、Benvenisty和Reshef之PNAS USA 83, 9551 55 (1986)、Wigler等人之Cell 14, 725 (1978)及Coraro和Pearson之Somatic Cell Genetics 7, 603 (1981)中所述)。此等核酸載體及其用途為本技術中所熟知(參見例如US 5,589,466和US 5,973,972)。

在一個實施態樣中，載體適合於CD30抗體及/或CD3抗體在細菌細胞中表現。此等載體的實例包括表現載體(諸如BlueScript (Stratagene))、pIN載體(Van Heeke &

Schuster之J Biol Chem 264, 5503 5509 (1989))、pET載體 (Novagen, Madison WI)及類似者。

表現載體亦可為或可替代為適合於酵母系統中表現之載體。可使用適合於酵母系統中表現之任何載體。適合的載體包括例如包含組成型或可誘導型啟動子(諸如 α 因子、醇氧化酶和PGH)之載體(綜述於：F. Ausubel等人編輯之Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley InterScience New York (1987)，及Grant等人之Methods in Enzymol 153, 516 544 (1987)中)。

核酸及/或表現載體亦可包含編碼分泌/定位序列之核酸序列，其可靶向多肽(諸如新生多肽鏈)至周質空間或細胞培養基中。此等序列為本技術中已知，且包括分泌前導序列或訊息肽。核酸及/或表現載體可包含促成核酸表現(亦即轉錄及/或轉譯)之任何適合的元件，使得(雙特異性)抗體之組分表現。核酸及/或載體係與任何適合的啟動子、增強子及其他促成表現之元件締合。此等元件的實例包括強表現啟動子(例如人類CMV IE啟動子/增強子，以及RSV、SV40、SL3 3、MMTV和HIV LTR啟動子)、有效的poly (A)終止序列、質體產物於大腸桿菌中的複製起點、作為可選標誌物的抗生素抗性基因及/或方便的選殖位點(例如聚連結子)。核酸亦可包含可誘導型啟動子，其與組成型啟動子(諸如CMV IE)相反。

組成物及(醫療)用途

此外，本發明提供包含如本文所定義之抗體的組成物。此組成物較佳為醫藥組成物，亦即抗體包含在醫藥上可接受的載劑中。

醫藥組成物可依照習知的技術調配，諸如那些在 Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995中所揭示之技術。本發明之醫藥組成物可例如包括稀釋劑、填充劑、鹽類、緩衝劑、清潔劑(例如非離子性清潔劑，諸如 Tween-20或 Tween-80)、穩定劑(例如糖或無蛋白質胺基酸)、保存劑、組織固定劑、增溶劑及/或適合於包括在醫藥組成物中的其他材料。

醫藥組成物可以任何適合的途徑及模式投予。在一個實施態樣中，醫藥組成物係經靜脈內或皮下注射或輸注投予。

依照本發明之抗體、組成物或醫藥組成物較佳地用作為藥劑。

依照本發明之抗體、組成物或醫藥組成物較佳地用於治療疾病。

本發明之雙特異性抗體可特別地用於治療各種形式的癌症。

在一個態樣中，本發明提供治療個體的癌症之方法，該方法包含投予治療有效量的本發明之多特異性抗體。在進一步的實施態樣中，本發明提供治療個體中涉及表現 CD30之細胞的疾患之方法，該方法包含投予治療有效量

的本發明之多特異性抗體。

如所述，依照本發明之方法及用途可涵蓋之適合的疾病為癌症。該癌症最佳地以CD30表現為特性。在癌症中的CD30表現可使用本技術中已知的方法容易地測定，諸如PCR、免疫染色或FACS分析，亦即檢測CD30轉錄本及/或蛋白質之表現。如本文所述之能夠結合至人類CD30之抗體可用於例如免疫染色及/或FACS分析或類似分析中。

在一個態樣中，本發明關於用於治療霍奇金氏淋巴瘤或退行性大細胞淋巴瘤的根據本發明之多特異性抗體、組成物或醫藥組成物。

在進一步的態樣中，本發明關於用於治療霍奇金氏淋巴瘤(HL)或非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)的根據本發明之多特異性抗體、組成物或醫藥組成物。

在一個實施態樣中，霍奇金氏淋巴瘤為經典的霍奇金氏淋巴瘤(cHL)。

在一個實施態樣中，非霍奇金氏淋巴瘤為T細胞非霍奇金氏淋巴瘤(T-NHL)或B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(B-NHL)。在進一步的實施態樣中，非霍奇金氏淋巴瘤為T細胞非霍奇金氏淋巴瘤(T-NHL)。

在進一步的實施態樣中，T細胞非霍奇金氏淋巴瘤為周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)或皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)。在又進一步的實施態樣中，T細胞非霍奇金氏淋巴瘤(T-NHL)為退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。在又進一步的實施態樣中，周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)為退行性大細胞淋巴瘤

(ALCL)。

在一個實施態樣中，B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(B-NHL)為套膜細胞淋巴瘤(MCL)。

在再進一步的實施態樣中，霍奇金氏淋巴瘤(HL)為復發型及難治型霍奇金氏淋巴瘤。在進一步的實施態樣中，霍奇金氏淋巴瘤(HL)為CD30+霍奇金氏淋巴瘤。在又進一步的實施態樣中，霍奇金氏淋巴瘤(HL)為復發型及難治型CD30+霍奇金氏淋巴瘤。在再進一步的實施態樣中，霍奇金氏淋巴瘤(HL)為復發型及難治型CD30+經典的霍奇金氏淋巴瘤。

在再進一步的實施態樣中，非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)為復發型及難治型非霍奇金氏淋巴瘤。在進一步的實施態樣中，非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)為CD30+非霍奇金氏淋巴瘤。在又進一步的實施態樣中，非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)為復發型及難治型CD30+非霍奇金氏淋巴瘤。

在進一步的實施態樣中，用於治療霍奇金氏淋巴瘤(HL)或非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)的根據本發明之多特異性抗體、組成物或醫藥組成物係經或已經靜脈內及/或皮下投予，較佳地經皮下投予。

在進一步的實施態樣中，可使經診斷患有癌症的患者接受癌細胞中的CD30表現之評定，且當檢測出CD30時，其可能在低至高的範圍內，可選擇此患者進行依照本發明之抗體治療。然而，在選擇治療的患者時可能未必需要包括此評定。

本發明之多特異性抗體具有許多試管內及活體內診斷及治療效用，包含涉及表現CD30之細胞的疾患之診斷和治療。例如，抗體可例如於試管內或活體外投予培養物中的細胞，或例如於活體內投予個體以治療、預防及/或診斷多種疾患。如本文所使用之術語「個體」意欲包括人類及非人類個體。

在一個態樣中，本發明關於診斷組成物，其包含根據如本文所揭示之實施態樣中任一者之多特異性抗體。

在一個實施態樣中，診斷組成物為用於篩選及選出自多特異性抗體治療而受惠的那些患者之伴隨診斷。

套組

本發明進一步提供包含如上文所揭示之抗體的配件套組，諸如用作為伴隨診斷/用於鑑定在患者群體內對如上文所定義之抗體的治疗具有反應傾向的那些患者，或用於預測該抗體在用於治療患者時的效力或抗腫瘤活性之套組，套組包含如上文所定義之抗體；及使用該套組之用法說明。

在一個實施態樣中，本發明提供用於癌症診斷之套組，其包含容器，該容器包含多特異性CD3xCD30抗體及用於檢測表現CD30之細胞與表現CD3之細胞的交聯之一或多種試劑。試劑可包括例如螢光標籤、酶標籤或其他可檢測標籤。試劑亦可包括二級或三級抗體或用於酶反應之試劑，其中酶反應生產可目測之產物。

在進一步的態樣中，本發明關於用於檢測在投予根據如本文所揭示之實施態樣中任一者之多特異性抗體後在源自患者的樣品中表現CD30之細胞與表現CD3之細胞之間是否發生交聯之方法，其包含以下步驟：

- (i) 將樣品與根據如本文所揭示之實施態樣中任一者之多特異性抗體在容許該雙特異性抗體與表現CD30之細胞及表現CD3之細胞之間形成複合物的條件下接觸；及
- (ii) 分析是否已形成複合物。

核酸構築體之遞送及遞送媒劑

在進一步的態樣中，本發明關於投予編碼本發明之抗體的活體內表現之核酸構築體。關於編碼抗體的活體內表現之核酸，該核酸典型地以適合於核酸進入個體細胞的形式投予。有不同的方法遞送活體內表現之核酸，且該等方法包括兼具涉及機械及化學方式之方法。例如，此等方法可能包含將核酸電穿孔或紋身在皮膚上(Patel等人之2018, Cell Reports 25, 1982-1993)。適合於核酸投予個體之其他方法包含以適合的調配物投予核酸。

因此，本發明亦關於包含根據本發明之核酸或核酸組合之遞送媒劑。在一些實施態樣中，該遞送媒劑可為脂質調配物。調配物之脂質可為粒子，諸如脂質奈米粒子(LNP)。本發明之核酸或核酸組合可囊封在該粒子內，例如該LNP內。適合於投予個體的活體內表現之核酸的不同的脂質調配物為熟習本技術領域者所熟知的。例如，該脂

質調配物典型地可包含脂質、可離子化的胺基脂質、PEG-脂質、膽固醇或其任何組合。

用於製備適合於投予個體的核酸以表現治療性抗體之脂質調配物的各種形式及方法為本技術中所熟知的。此等脂質調配物的實例包括但不限於那些在 US20180170866 (Arcturus)、EP 2391343 (Arbutus)、WO 2018/006052 (Protiva)、WO2014152774 (Shire Human Genetics)、EP 2 972 360 (Translate Bio)、US10195156 (Moderna) 和 US20190022247 (Acuitas)中所述者。

據此，在進一步的態樣中，本發明關於用作為藥劑的根據本發明之(a)核酸構築體或根據本發明之遞送媒劑，該藥劑較佳地用於治療癌症，諸如治療霍奇金氏淋巴瘤或退化性大細胞淋巴瘤。

本發明係以下列的實施例進一步例證，不應將其解釋為限制本發明之範圍。

實施例 1 - 以經 2-MEA 誘導之 Fab 臂交換產生 CD3xCD30 雙特異性抗體

以下列的抗體用於實施例中：

人源化 CD3 抗體

如 WO2015/001085 (Genmab) 的實施例 1 中所述之 IgG1-huCD3-H1L1。IgG1-huCD3-H1L1 在本文被稱為「IgG1-huCD3」。

如 WO2017/009442 (Genmab) 的實施例 2 中所述之 IgG1-

huCD3-H1L1-H101G。IgG1-huCD3-H1L1-H101G在本文被稱為「IgG1-huCD3-H101G」。

CD30抗體

亦稱為HuMab 5F11之MDX-060已揭示於WO2003/059282 (Medarex)中。hAC10 (或SGN-30)已揭示於US 8257706和US20100239571 (Seattle genetics)中。HRS-3已揭示於WO2016/0177846 (Affimed)中。HeFi-I、T405、T105、T408和T215已揭示於WO 2007/040653 (US government & Health)中。

抗體表現

將抗體序列選殖至pcDNA3.3表現載體(Invitrogen, US)中且以IgG1, κ 或IgG1, λ 表示,在Fc結構域中具有或不具有Fc靜默及/或DuoBody®技術胺基酸取代(參見下文)。所有的抗體係在無血清條件下使用ExpiFectamine™ 293 (Thermo Fisher Scientific; 目錄號A14525)基本上根據製造商的說明在Expi293F™細胞(Thermo Fisher Scientific, US; 目錄號A14527)中共轉染相關重鏈及輕鏈表現載體來生產。

產生雙特異性抗體

雙特異性抗體係於試管內使用DuoBody®平臺技術產生,亦即如WO2011147986、WO2011131746和WO2013060867

(Genmab)及 Labrijn 等人 (Labrijn 等人之 PNAS 2013, 110: 5145-50; Gramer 等人之 MAbs 2013, 5: 962- 973)中所述之經 2-MEA誘導之控制型 Fab臂交換(cFAE)。為了能以此方法產生雙特異性抗體，產生在 CH3結構域中攜帶單一突變之 IgG1分子：在一個親本 IgG1抗體中的 F405L突變(亦即 CD3抗體或對照組，HIV-1 gp120特異性抗體)、在其他親本 IgG1抗體中的 K409R突變(亦即 CD30或對照抗體)。除了該等突變以外，親本 IgG1抗體包括導致不能與 IgG Fc受體 (Fc γ 受體)及/或補體因子(諸如 C1q：L234F、L235E、D265A (FEA；US 2015/0337049)或 L234F、L235E、G236R (FER))相互作用之 Fc結構域的取代。

Fc靜默及 DuoBody®技術突變之組合係標出如下：

L234F、L235E、D265A和 F405L：FEAL

L234F、L235E、D265A和 K409R：FEAR

L234F、L235E、G236R和 K409R：FERR

親本抗體之重鏈(HC)及輕鏈(LC)序列係以下列的 SEQ ID NO列出：

IgG1-huCD3-FEAL：SEQ ID NO：19 (HC)和 SEQ ID NO：20 (LC)。

IgG1-huCD3-H101G-FEAL：SEQ ID NO：35 (HC)和 SEQ ID NO：20 (LC)。

IgG1-CD30-MDX060-FERR：SEQ ID NO：17 (HC)和 SEQ ID NO：18 (LC)。

IgG1-CD30-MDX060-FEAR：SEQ ID NO：55 (HC)和

SEQ ID NO : 18 (LC)。

IgG1-CD30-hAC10-FEAR : SEQ ID NO : 21 (HC)和
SEQ ID NO : 22 (LC)。

IgG1-CD30-HRS-3-FEAR : SEQ ID NO : 23 (HC)和
SEQ ID NO : 24 (LC)。

IgG1-CD30-HeFi-I-FEAR : SEQ ID NO : 25 (HC)和
SEQ ID NO : 26 (LC)。

IgG1-CD30-T405-FEAR : SEQ ID NO : 27 (HC)和 SEQ
ID NO : 28 (LC)。

IgG1-CD30-T105-FEAR : SEQ ID NO : 29 (HC)和 SEQ
ID NO : 30 (LC)。

IgG1-CD30-T408-FEAR : SEQ ID NO : 31 (HC)和 SEQ
ID NO : 32 (LC)。

IgG1-CD30-T215-FEAR : SEQ ID NO : 33 (HC)和 SEQ
ID NO : 34 (LC)。

為了產生雙特異性抗體，將兩種親本抗體以等莫耳比在PBS緩衝液(磷酸鹽緩衝鹽水；8.7 mM HPO_4^{2-} 、1.8 mM H_2PO_4^- 、163.9 mM Na^+ 、140.3 mM Cl^- ，pH 7.4)中混合。將2-巰基乙胺-HCl (2-MEA)添加至75 mM之最終濃度中且將反應混合物在31°C下培育5 h。將2-MEA使用10 kDa分子量截留Slide-A-Lyzer架(Thermo Fisher Scientific)根據製造商的方案透析至PBS緩衝液中而移除。將樣品在4°C下儲存隔夜以容許雙硫鍵再氧化及形成完整的雙特異性抗體。如以電灑游離質譜術(ESI-MS)所評估之cFAE的效力為

>95%，如 Gramer 等人所述 (MAbs. 2013 Nov 1; 5(6): 962-973)。

未結合之對照抗體 b12

IgG1-b12 為 HIV-1 gp120 特異性抗體 (Barbas, CF. 之 J Mol Biol. 1993 Apr 5; 230(3):812-23)，其於一些實施例中用作為未結合之陰性對照抗體。在本文包括分別以 SEQ ID NO：36 和 37 (FEAL) 或分別以 SEQ ID NO：38 和 37 (FERR) 之重鏈序列及輕鏈序列。

實施例 2 - 在人類霍奇金氏淋巴瘤 (HL)、退行性大細胞淋巴瘤 (ALCL) 和 TLL 細胞株中的 CD30 表現

CD30 表面表現水平係在一組 HL、ALCL 及 TLL 細胞株 (表 4) 中使用定量性流式細胞測量術 (人類 IgG 校正套組，Biocytex，目錄號 CP010) 評估。將細胞 (5×10^4 個細胞/孔) 在聚苯乙烯 96 孔圓底盤 (Greiner bio-one，目錄號 650180) 中與 $10 \mu\text{g/mL}$ 之 IgG1-CD30-MDX060-FERR 在 $50 \mu\text{L}$ 之染色緩衝液 (以 0.1% 之牛血清白蛋白 [BSA，fraction V，Roche，目錄號 10735086001] 及 0.02% 之 NaN_3 [Sigma Aldrich，目錄號 13412] 補充之 PBS [Lonza，目錄號 BE17-517Q]) 中於 4°C 下培育 30 min。同時，標準曲線係使用人類 IgG 校正套組 (Biocytex，目錄號 CP010) 基本上根據製造商的用法說明產生。將每磁珠含有明確數量的人類 IgG 單株抗體之校正磁珠與相同的經 R-PE 共軛之二級抗體 (Jackson ImmunoResearch,

UK；目錄號 109-116-098；1：500 稀釋)於 4℃ 下避光培育 30 min。將細胞及磁珠在 FACS 緩衝液中清洗且在 FACSCelesta 流式細胞儀 (BD Biosciences, USA) 上以流式細胞測量術分析。使用人類 IgG 校正套組所獲得的標準曲線用於內插每一細胞結合之 IgG1-CD30-MDX060-FERR 抗體數目 (ABC)，該內插係使用 GraphPad Prism 軟體，表示在細胞表面上表現之 CD30 分子的數目估計值。

表 4 和 5 顯示在除了 SUP-T1 以外的所有細胞株中皆觀察到高於定量下限 (LLOQ) 之 CD30 表現。

表 4：細胞株及 CD30 表現的概述

細胞株	腫瘤 類型	目錄	供應商	CD30 表現 (ABC)		
				中位數	範圍	n
L-540	HL	ACC 72	DSMZ	145,723	61,779-271,304	3
L-428	HL	ACC 197	DSMZ	120,725	102,787-133,437	3
HDLM-2	HL	CRL-2965	ATCC	56,578	51,737-87,841	3
KM-H2	HL	ACC 8	DSMZ	19,720	17,283-29,129	3
NCEB-1	MCL	CRL-3005	ATCC	15,406	11,102-18,333	3
L-1236	HL	ACC 530	DSMZ	4,548	4,054-4,838	3
L-82	ALCL	ACC 597	DSMZ	127,616	70,495-172,019	3
SR-786	ALCL	ACC 369	DSMZ	104,947	69,630-133,464	3
KI-JK	ALCL	ACC 695	DSMZ	124,669	77,610-139,598	3
DEL	ALCL	ACC 338	DSMZ	122,003	55,416-153,484	3
SUP-M2	ALCL	ACC 509	DSMZ	6,129	37,047-93,777	3
SU-DHL-1	ALCL	ACC 356	DSMZ	75,238	72,529-80,697	2
HuT 78	ALCL	TIB-161	ATCC	19,399	20,608-18,189	2
SUP-T1	TLL	CRL-1942	ATCC	<LLOQ ^a	-	3

表 5：細胞株及 CD30 平均表現的概述

細胞株	腫瘤 類型	目錄	供應商	CD30 表現 (ABC)		
				平均	範圍	n
DEL	ALCL	ACC 338	DSMZ	110,301	55,416 – 153,484	3
DL-40	ALCL	JCRB1337	JCRB	98,174	60,392 – 156,229	3
HDLM-2	HL	CRL-2965	ATCC	64,510	51,737 – 87,841	3
HH	CTCL	ACC 707	DSMZ	161,740	122,598 – 206,774	3
HuT 78	ALCL	TIB-161	ATCC	19,399	20,608-18,189	2
JVM-2	MCL	ACC 12	DSMZ	25,842	12,644 – 43,081	3
KARPAS-299	ALCL	06072604	PHE	91,426	77,730-106,058	3
KI-JK	ALCL	ACC 695	DSMZ	118,794	77,610 – 139,598	3
KM-H2	HL	ACC 8	DSMZ	22,044	17,283 – 29,129	3
L-1236	HL	ACC 530	DSMZ	4,480	4,054 – 4,838	3
L-428	HL	ACC 197	DSMZ	117,743	102,787 – 133,437	3
L-540	HL	ACC 72	DSMZ	159,602	61,779 – 271,304	3
L-82	ALCL	ACC 597	DSMZ	127,616	70,495 – 172,019	3
NCEB-1	MCL	CRL-3005	ATCC	14,947	11,102 – 18,333	3
SR-786	ALCL	ACC 369	DSMZ	104,497	69,630 – 133,464	3
SU-DHL-1	ALCL	ACC 356	DSMZ	76,613	72,529-80,697	2
SUP-M2	ALCL	ACC 509	DSMZ	66,129	37,047 – 93,777	3
SUP-T1	TLL	CRL-1942	ATCC	<LLOQ ^a	-	3

^a <LLOQ，低於定量下限(3300 ABC)

實施例 3 - CD3xCD30雙特異性抗體與人類霍奇金氏淋巴瘤 (HL)和非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)(諸如退行性大細胞淋巴瘤 (ALCL)細胞)之結合

CD3xCD30雙特異性抗體與兩種表現CD30之人類腫瘤細胞株 SU-DHL-1 (ALCL；ATCC，目錄號ACC 356)和 HDLM-2 (HL；ATCC，目錄號CRL-2965)之結合係以流式細胞測量術分析。

將細胞 (3x10⁴個細胞/孔)在聚苯乙烯96孔圓底盤 (Greiner bio-one，目錄號650180)中與連續稀釋的抗體(以3倍稀釋步驟至0.0046至10 μg/mL之範圍)在50 μL之染色緩

衝液中於4℃下培育30 min。在染色緩衝液中清洗兩次後，將細胞與50 µL之二級抗體於4℃下培育30 min。使用在染色緩衝液中以1：400稀釋之經R-PE共軛之山羊抗人類IgG (Jackson ImmunoResearch, UK；目錄號109-116-098)作為二級抗體。接下來，將細胞在染色緩衝液中清洗兩次，再懸浮於以TO-PRO-3碘化物(Thermo Fisher Scientific；目錄號T3605；1：8000稀釋)補充之100 µL之染色緩衝液中且在FACSCelesta流式細胞儀(BD Biosciences, USA)上分析。活細胞係基於FSC/SSC及在TOPRO-3染色不存在下進行閘控。結合曲線係以對數轉換數據之非線性迴歸(具有可變斜率的S形劑量反應，四參數)，使用GraphPad Prism V7.02軟體(GraphPad Software，美國加州聖地亞哥)分析。

結果

圖1顯示CD3xCD30雙特異性抗體bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR (A)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR (B)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR (C)、BsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR (D)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR (E)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR (F)、BisIgG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR (G)和bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR (H)與SU-DHL-1 (左圖)和 HDLM-2 (右圖)腫瘤細胞之劑量反應結合曲線。

在1.11 µg/mL之濃度下，當與單特異性、雙價CD30親

本抗體 IgG1-CD30-MDX060-FEAR、IgG1-CD30-hAC10-
FEAR、IgG1-CD30-HRS-3-FEAR和IgG1-CD30-T105-FEAR
之結合相比時，bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、
bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR、bsG1-huCD3-
FEALxCD30-HRS-3-FEAR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-
T105-FEAR展示類似的結合(圖 1I)。

相比之下，在 1.11 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度下，bsG1-huCD3-
FEALxCD30-T405-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-
FEAR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR與SU-DHL-1
及HDLM-2細胞之結合比單特異性、雙價CD30親本抗體
IgG1-CD30-T405-FEAR、IgG1-CD30-T408-FEAR和IgG1-
CD30-T215-FEAR與SU-DHL-1及HDLM-2細胞之結合低(圖
1I)。

總體上，bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、
bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR、bsG1-huCD3-
FEALxCD30-HRS-3-FEAR、BsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-
I-FEAR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR在 1.11
 $\mu\text{g/mL}$ 之濃度下之結合比bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-
FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR和bsG1-huCD3-
FEALxCD30-T215-FEAR在相同濃度下之結合高(圖 1I)。

包括在該等實驗中的陰性對照抗體BsG1-huCD3-
FEALxb12-FEAR未顯示結合至SU-DHL-1及HDLM-2細胞，
表明SU-DHL-1及HDLM-2細胞皆不表現CD3。

最後，與雙價型式相比，CD30抗體選殖株T405、

T408 和 T215 顯示降低以單價型式之結合，而選殖株 MDX060、hAC10、HRS-3和 T105顯示以單價及雙價型式有效結合至表現CD30之腫瘤細胞。

圖 2 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 (A) HDLM-2 (HL)、(B) L-428 (HL)、(C) DEL (ALCL)和 (D) KI-JK (ALCL)細胞之劑量反應結合曲線。當與單特異性、雙價 CD30 親本抗體 IgG1-CD30-MDX060-FERR 相比，BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR展示類似的最大結合。陰性對照抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR、IgG1-huCD3-FEAL和 IgG1-b12-FEAL未顯示結合至該等細胞株中任一者，表明該等細胞不在細胞表面上表現CD3。該等數據證實 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEER與 HL和 ALCL細胞株之有效結合。

表 6 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 與 HDLM-2、L-428、DEL和 KI-JK細胞結合之EC₅₀值，如在兩個獨立的實驗中所評估。EC₅₀值的範圍係介於0.05與0.30 µg/mL之間。

表 6：bsG1-huCD3xCD30-MDX060 結合之 EC₅₀ 值

細胞株	EC ₅₀ (µg/mL)	
	N=1	N=2
HDLM-2	0.1450	0.1197
L-428	0.1539	0.0705
DEL	0.3018	0.0568
KI-JK	0.1602	0.0735

圖 8、9 和 10 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-

FERR與表現CD30之HL細胞株(圖8)、ALCL細胞株(圖9)和NHL細胞株(圖10)之劑量反應結合曲線。在所有的細胞株中，與單價對照抗體BsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR相比，BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR展示類似的最大結合。單特異性、雙價CD30親本抗體IgG1-CD30-MDX060-FERR顯示與所有細胞株的劑量依賴性結合，但是與BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR相比，顯示較低的最大結合。陰性對照抗體bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR、IgG1-huCD3-FEAL和IgG1-b12-FEAL未顯示結合至該等細胞株中任一者，表明該等細胞不在細胞表面上表現CD3。該等數據證實bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR與HL細胞株、T-NHL(諸如ALCL和CTCL)細胞株和B-NHL(諸如MCL)細胞株之有效結合。

表7顯示bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR與HL、T-NHL和B-NHL細胞株結合之EC₅₀值，如在2或3個獨立的實驗中所評估。EC₅₀值的範圍係介於0.12與0.35 µg/mL之間。

表 7：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 結合之 EC₅₀ 值

細胞株		CD30 結合		
名稱	癌症類型	平均結合 EC ₅₀	結合 EC ₅₀ 範圍 (µg/mL)	n 個試驗
L-540	HL	0.3229	0.2020 - 0.4694	3
L-428	HL	0.1743	0.1742 - 0.1744	2
KM-H2	HL	0.1587	0.1405 - 0.1824	3
L-1236	HL	0.2019	0.1628 - 0.2247	3
HDLM-2	HL	0.1674	0.1253 - 0.2206	3
L-82	ALCL	0.1999	0.1845 - 0.2153	2
SR-786	ALCL	0.3279	0.1735 - 0.5499	3
KI-JK	ALCL	0.1914	0.1431 - 0.2582	3
SUP-M2	ALCL	0.1667	0.1336 - 0.2225	3
DL-40	ALCL	0.2364	0.1698 - 0.3472	3
DEL	ALCL	0.2011	0.1430 - 0.2674	3
KARPAS-299	ALCL	0.2015	0.1343 - 0.2686	2
SUP-T1	TLL	0.3458	0.2572 - 0.4344	2
JVM-2	MCL	0.1257	0.1068 - 0.1411	3
NCEB-1	MCL	0.1564	0.1180 - 0.2000	3
HH	CTCL	0.1951	0.1559 - 0.2425	3

實施例 4 - 由 CD3xCD30 雙特異性抗體於試管內誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞增殖

CD3xCD30 雙特異性抗體係於試管內細胞毒性檢定法中使用 CD30 陽性腫瘤細胞株作為靶細胞及 T 細胞作為效應子細胞進行測試。使用 CD3 陽性 ADCC 效應子細胞 IV 型 (Clean Cells，法國蒙泰居) 或經純化之 T 細胞 (如實施例 5 中所述) 作為 T 細胞來源以評估 CD3 依賴性腫瘤細胞毒殺。

將 SU-DHL-1 (ALCL)、HuT78 (ALCL)、HDLM-2 (HL)、NCEB-1 (MCL) 或 L540 (HL) 細胞以 10,000 個細胞/孔

之密度接種至聚苯乙烯96孔圓底盤(Greiner bio-one, 目錄號650180)中。將效應子細胞在37°C下以0.5 μ M CFSE (羧基螢光素琥珀醯亞胺酯; Cell Signalling Technology, 麻薩諸塞州丹弗斯(Danvers); 目錄號C34554)經20 min標記且以E:T比例=10:1 (ADCC效應子細胞)或7:1 (經純化之T細胞)添加至腫瘤細胞中。添加連續稀釋的雙特異性CD3xCD30、b12xCD30或CD3xb12抗體或單特異性、雙價CD30抗體(以3倍稀釋至10至0.041 μ g/mL之最終濃度範圍)且將細胞在37°C下培育72小時。在一些實驗中, bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR之變異體係與含有對CD3親和性降低的H101G突變之CD3結合臂(WO2017/009442, Genmab)一起使用。在以100 μ L之染色緩衝液清洗小兩次後, 將細胞再懸浮於含有TO-PRO-3碘化物(Thermo Fisher Scientific; 目錄號T3605; 1:4000稀釋)之染色緩衝液中且在FACSCelesta流式細胞儀(BD Biosciences, USA)上分析。

以5 μ M星形孢菌素(staurosporine)(Sigma-Aldrich, US, 目錄號S6942)處理之腫瘤細胞樣品的生存力被設定在0%及未經處理之腫瘤細胞樣品的生存力被設定在100%。

「活細胞百分比」係如下計算：

活細胞% = ([樣品細胞數目-經星形孢菌素處理之靶細胞的細胞數目]/[未經處理之靶細胞的細胞數目-經星形孢菌素處理之靶細胞的細胞數目]) x 100

CFSE陽性細胞係以T細胞的絕對數目量度計數以評定

T細胞增殖。

劑量反應曲線係以非線性迴歸(具有可變斜率的S形劑量反應)，使用GraphPad Prism V8軟體(GraphPad Software，美國加州聖地亞哥)分析。

結果

CD3xCD30雙特異性抗體係於試管內細胞毒性檢定法中使用CD30陽性腫瘤細胞株SU-DHL-1細胞或HDLM-2細胞作為靶細胞及ADCC效應子細胞IV型細胞(Clean Cells，法國蒙泰居)作為效應子細胞進行測試。

圖3顯示bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR (A)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR (B)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR (C)、BsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR (D)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR (E)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR (F)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR (G)和bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR (H)對SU-DHL-1 (左圖)或HDLM-2 (右圖)細胞誘導經劑量依賴性T細胞媒介之細胞毒性(如以降低的活細胞%顯示)。

單特異性、雙價CD30抗體IgG1-MDX060-FEAR (A)、IgG1-CD30-hAC10-FEAR (B)、IgG1-CD30-HRS-3-FEAR (C)、IgG1-CD30-HeFi-I-FEAR (D)、IgG1-CD30-T405-FEAR (E)、IgG1-CD30-T105-FEAR (F)、IgG1-CD30-T408-FEAR (G)和IgG1-CD30-T215-FEAR (H)未誘導經T細胞媒介之細胞毒

性。對照抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 對 SU-DHL-1 或 HDLM-2 細胞亦未誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性。

另外，CD3xCD30 雙特異性抗體係於試管內細胞毒性檢定法中使用不同的 MCL、ALCL 和 HL 細胞株作為靶細胞及經純化之 T 細胞或 ADCC 效應子細胞 IV 型細胞作為效應子細胞進行測試。與具有親和性降低的 CD3 結合臂的此抗體之變異體 (bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR) 相比，圖 4A 至 B 顯示由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 對 SU-DHL-1、HuT78 或 NCEB-1 細胞誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性更有效力。HDLM-2 細胞之類似的最大經 T 細胞媒介之細胞毒性係由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 和 bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR 誘導 (圖 4B)。與包括作為對照物的雙價、單特異性抗體 IgG1-huCD3-FEAL 或 IgG1-b12-FEAR 培育未對該等細胞株誘導細胞毒性。L540 細胞之有效及類似的經 T 細胞媒介之細胞毒性係由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 和 bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR 在最低的測試濃度下 (0.014 $\mu\text{g/mL}$ ；圖 4C) 誘導。對照抗體 bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FEAR 或 IgG1-MDX060-FEAR 對 L540 細胞未誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性。

最後，bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 對各種表現 CD30 之 MCL、ALCL 和 HL 腫瘤細胞株誘導有效力的毒殺。與具有在位置 101 上含有 G 之親和性較低的 CD3 臂之變異體相比，在 CD3 臂之 VH CDR3 的位置 101 上含有 H 的

BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR更有效力的毒殺表現CD30之MCL和ALCL腫瘤細胞。

在使用HDLM-2細胞(左圖)或NCEB-1細胞(右圖)作為靶細胞之細胞毒性檢定法中，CFSE陽性細胞的數目係以絕對T細胞計數量度評估。圖4D顯示由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR或bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR(參見圖4B)對HDLM-2和NCEB-1細胞誘導之經T細胞媒介之細胞毒性係與劑量依賴性增加的T細胞計數相關聯。類似的T細胞數目通常係在此檢定法中與bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR或bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR培育後計數。在與濃度高於1 $\mu\text{g/mL}$ 之bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR培育之NCEB-1細胞的共培養物中注意到T細胞數目減少。對照抗體IgG1-b12-FEAL不影響該等實驗中的T細胞計數。

最後，BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR係在各種表現CD30之ALCL、HL和MCL 腫瘤細胞株的存在下誘導T細胞增殖。

實施例5 - CD3xCD30雙特異性抗體與表現在Expi293F細胞中的人類、食蟹猴或恆河猴CD30之結合

雙特異性CD3xCD30抗體及單特異性、雙價CD30抗體與經人類CD30或食蟹猴CD30瞬時轉染之Expi293細胞的漿膜之結合係以流式細胞測量術分析。

在 HEK-293F 或 HEK-293 細胞中的人類、食蟹猴或恆河猴 CD30 之瞬時表現

產生下列用於各種全長 CD30 變異體表現的經密碼子最適化之構築體：人類(智人) CD30 (huCD30；Uniprot 登錄號 P28908)、食蟹猴(長尾獼猴 (*Macaca fascicularis*)) CD30 (mfCD30；Uniprot 登錄號 A0A2K5VW07)(SEQ ID NO：40) 和 恆河猴(恆河獼猴 (*Macaca mulatta*)) CD30 (mmCD30；Uniprot 登錄號 A0A1D5RK03) (SEQ ID NO：41)。構築體含有適合於選殖之限制位點及最適化的科扎克 (Kozak)(GCCGCCACC) 序列 (Kozak, M. 之 Gene 1999; 234(2):187-208)。將全長人類 CD30、食蟹猴和恆河猴 CD30 密碼子最適化之構築體選殖在哺乳動物表現載體 pcDNA3.3 (Invitrogen) 中且使用 Expi293F 表現平臺 (Thermo Fisher Scientific, 美國麻薩諸塞州沃爾瑟姆 (Waltham), 目錄號 A14527) 基本上根據製造商的說明表現。在另一組實驗中, 全長人類 CD30 或食蟹猴 CD30 構築體係表現在 HEK-293 細胞中。

CD3xCD30 雙特異性抗體與表現在 Expi293 細胞中的人類、食蟹猴或恆河猴 CD30 之結合

將細胞 (3×10^4 個細胞 / 孔) 在聚苯乙烯 96 孔圓底盤 (Greiner bio-one, 目錄號 650180) 中與連續稀釋的抗體 (以 3 倍稀釋步驟至 0.005 至 10 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍) 在 100 μL 之染色緩衝液中於 4°C 下培育 30 min。實驗係以一式兩份的技術執

行。在以染色緩衝液清洗兩次後，將細胞在 50 μ L 之二級抗體中於 4°C 下培育 30 min。使用在染色緩衝液中以 1 : 400 稀釋之經 R-PE 共軛之山羊抗人類 IgG (Jackson ImmunoResearch, UK ; 目錄號 109-116-098) 作為二級抗體。將細胞以染色緩衝液清洗兩次，再懸浮於含有 0.4% 之 EDTA 的 30 μ L 之染色緩衝液中且在 iQue Screener (Intellicyt Corporation, USA) 上分析。結合曲線係使用非線性迴歸(具有可變斜率的 S 形劑量反應)，使用 GraphPad Prism V9.0.0 軟體(GraphPad Software，美國加州聖地亞哥)分析。

CD3xCD30 雙特異性抗體與表現在 HEK293 細胞中的人類、食蟹猴或恆河猴 CD30 之結合

將細胞 (3x10⁴ 個細胞 / 孔) 在聚苯乙烯 96 孔圓底盤 (Thermo Scientific，目錄號 163320) 中與連續稀釋的抗體 (以 4 倍稀釋步驟至 0.0002 至 50 μ g/mL 之範圍) 在 50 μ L 之染色緩衝液中於 4°C 下培育 30 min。實驗係以一式兩份的技術執行。在以染色緩衝液清洗兩次後，將細胞在 50 μ L 之二級抗體中於 4°C 下培育 30 min。使用在染色緩衝液中以 1 : 200 稀釋之經 R-PE 共軛之山羊抗人類 IgG (Jackson ImmunoResearch, UK ; 目錄號 109-116-098) 作為二級抗體。將細胞以染色緩衝液清洗兩次，再懸浮於含有 0.4% 之 EDTA 及以 1 : 10,000 稀釋之 ToPro-3 生存力標誌物 (Invitrogen，目錄號 T3605) 的 30 μ L 之染色緩衝液中。將細胞在 iQue Screener (Intellicyt Corporation, USA) 上分析。結合曲線係

使用非線性迴歸(具有可變斜率的S形劑量反應)，使用GraphPad Prism V9.0.0軟體(GraphPad Software，美國加州聖地亞哥)分析。

CD3xCD30雙特異性抗體與人類T細胞或食蟹猴PBMC之結合

將食蟹猴PBMC (Tebu-Bio，荷蘭；目錄號PBMCMFA-10)或經純化之人類T細胞平鋪在聚苯乙烯96孔圓底盤中。T細胞係源自人類供體膚色血球層(Sanquin，荷蘭阿姆斯特丹)且使用RosetteSep人類T細胞富集混合液(Stemcell Technologies，法國，目錄號15061)根據製造商的用法說明單離。將細胞(3×10^4 細胞/well)與連續稀釋(以3倍稀釋步驟至0.0001至10 $\mu\text{g/mL}$ 之範圍)的抗體IgG1-CD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR和bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR在50 μL 之染色緩衝液中於4°C下培育30 min。在以染色緩衝液清洗兩次後，將細胞在50 μL 之經R-PE共軛之二級山羊抗人類IgG抗體中於4°C下培育30 min (1：400稀釋)。在以染色緩衝液清洗兩次後，將T細胞針對T細胞標誌物CD3 (1：100；Miltenyi biotec，選殖株10D12，與APC共軛)、CD4 (1：50；eBioscience，選殖株OKT4，與APC-Cy7共軛)、CD8 (1：100；Biolegend，選殖株RPA-T8，與AF700共軛)及T細胞活化標誌物CD69 (1：50；BD Biosciences，選殖株AB2439，與FITC共軛)、CD25 (1：50；eBioscience，選殖株BC96，與PE-Cy7共軛)

和CD279/PD1 (1 : 50 ; BD Biosciences , 選殖株AEH12.2H7 , 與BV605共軛)進行染色。將具有Ultracomp磁珠的單一染色樣品(5 μ L ; Invitrogen , 目錄號01-2222-42)用於流式細胞測量儀之補償調整。在4 $^{\circ}$ C下培育30 min後, 將細胞以染色緩衝液清洗兩次, 再懸浮於100 μ L之染色緩衝液中且使用FACS Fortessa (BD Biosciences)分析。數據係使用FlowJo (BD Biosciences)處理。

結果

靶向CD30之雙特異性抗體bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-H101G-FEALxCD30-MDX060-FEAR和bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FEAR顯示未結合至野生型Expi293F細胞(圖5A), 但是展示劑量依賴性結合至經huCD30 (圖5B)或mfCD30 (圖5C)轉染之Expi293F細胞。該等雙特異性抗體之結合可與單特異性、雙價CD30抗體IgG1-CD30-MDX060-FEAR之結合相比。如預期, 陰性對照抗體bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR顯示未結合至野生型或經huCD30-或mfCD30-轉染之Expi293F細胞。同樣地, bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR顯示劑量依賴性結合至經huCD30 (圖11A)或mfCD30 (圖11B)轉染之HEK293細胞, 陰性對照抗體bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR顯示未結合至經huCD30-或mfCD30-轉染之HEK293細胞。這表明靶向CD30之抗體MDX060係以雙價以及單價型式有效地結合至表現在HEK細胞中的人類和食蟹猴

CD30兩者。

圖 5D 顯示 CD3xCD30 雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR 及對照雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR 有效地結合至初級人類和食蟹猴 T 細胞。這顯示該等靶向 CD3 之雙特異性抗體有效地結合至內源地表現在 T 細胞上的人類和食蟹猴 CD3 兩者。IgG1-CD30-MDX060 雙價、親本抗體未結合至人類或食蟹猴 T 細胞，表明 CD30 不表現在該等細胞上。

一組 CD3xCD30 雙特異性抗體及單特異性親本 CD30 抗體與經 huCD30 或 mmCD30 轉染之 Expi293F 細胞之結合係以流式細胞測量術評估。CD3xCD30 雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR (圖 6A)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR (圖 6B)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR (圖 6C)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR (圖 6E)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR (圖 6F)、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR (圖 6G) 和 bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR (圖 6H) 顯示相等地結合至表現 huCD30 或 mmCD30 之細胞。同樣地，親本、單特異性 CD30 抗體選殖株顯示相等地結合至表現 huCD30 或 mmCD30 之細胞。相比之下，bsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR 和親本、單特異性 CD30 抗體 IgG1-CD30-HeFi-I_FEAR 顯示結合至 huCD30，但不結合至 mmCD30 (圖 6D)。

實施例 6 - 以 DSF 分析評定單特異性和雙特異性非活化抗體

變異體的構形穩定性

在恆定重鏈區域中藏匿非活化突變之雙價單特異性 CD30、CD3和雙特異性 CD3xCD30 IgG1抗體變異體的蛋白質穩定特性係使用微差掃描螢光測定法(DSF)評定。

將 IgG1-CD30-MDX060-FEAR、IgG1-CD30-MDX060-FERR、IgG1-huCD3-FEAL 和 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR樣品在PBS pH 7.4中調配成約1 mg/mL之濃度。

為了評定構形穩定性，DSF係在能夠檢測由外部染料 Sypro-Orange (在DMSO中的5000x濃縮，目錄# S5692，Sigma-Aldrich)與IgG展開後暴露的疏水區之結合所引起的螢光強度變化之iQ5多色即時PCR檢測系統(Bio-Rad)中執行。將Sypro-Orange在PBS pH 7.4 (Hyclone GE Healthcare)中稀釋320倍。熱熔化曲線可在控制分析之IgG的逐步熱變性期間自測量增加的螢光導出。因此，在iQ 96孔PCR盤中，將5 µL之抗體溶液(在PBS 中的1 mg/mL)的一式兩份樣品添加至PBS pH 7.4中的20 µL之稀釋的Sypro-Orange中。記錄在25°C至95°C之遞增的溫度範圍下的螢光，每次增量0.5°C之逐步增量及15秒的持續時間加上記錄所有孔之螢光所需的時間。數據係使用Bio-Rad CFX Manager軟體3.0分析及熔點係由軟體以螢光相對於溫度之圖確定。

結果

圖7及表8顯示IgG1-CD30-MDX060-FERR之熔化溫度

(T_m)為 69.0℃，其比 IgG1-CD30-MDX060-FEAR在 pH 7.4 下的 T_m (64.5℃) 更高。這表明 IgG1-CD30-MDX060-FERR 具有比 IgG1-CD30-MDX060-FEAR 更高的構形穩定性，示意含有 FER 主鏈之 IgG1-CD30-MDX060 具有比含有 FEA 主鏈之 IgG1-CD30-MDX060 更高的構形穩定性。BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之熔化溫度經測定為 64.5℃，其係介於兩種親本抗體 IgG1-huCD3-FEAL (62.5℃) 與 IgG1-CD30-MDX060-FERR (69.0℃) 所測定的 T_m 之間。

表 8：如以微差掃描螢光測定法(DSF)所測定之指定抗體的熔化溫度(T_m)

抗體	T_m (°C)
IgG1-CD30-MDX060-FEAR	64.5
IgG1-CD30-MDX060-FERR	69.0
IgG1-huCD3-FEAL	62.5
BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR	64.5

實施例 7 - bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與 T 細胞和腫瘤細胞同時結合

研究 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與腫瘤細胞和初始 T 細胞同時結合。

將自健康的供體單離之冷凍 T 細胞解凍且在 37℃ 下以 0.25 mM Celltrace Violet(Pacific Blue；Invitrogen，目錄號 C34557A) 經 15 min 標記。將 L-428 腫瘤細胞在 37℃ 下以 Celltrace FarRed (APC；Invitrogen，目錄號 C34564A) 經 15 min 標記且以 1：1 之 E：T 比例添加至 T 細胞中。添加連續稀釋的 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 或對照抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR、bsG1b12FEALxCD30MDX060-

FERR或IgG1-b12-FEAL (以3倍稀釋至 6×10^{-5} 至 $10 \mu\text{g/mL}$ 之最終濃度範圍)，且將細胞在 4°C 下培育2小時。在培育後，添加生存力標誌物7-AAD (BD Bioscience，目錄號559925)(100x最終稀釋)且將細胞在FACS Celesta 流式細胞儀(BD Biosciences)上分析。

結果

圖 12 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 誘導 $\text{CD3}^+\text{CD30}^+$ 雙陽性事件的形成(在流式細胞測量術染色中表現 CellTrace Far Red 及 Celltrace Violet 兩者之細胞)，如腫瘤細胞與 T 細胞經 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 媒介之交聯的量度(同時結合)。雙陽性事件的增加具有抗體濃度依賴性且顯示出鐘形曲線。在與對照抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FEAR、bsG1b12FEALxCD30MDX060-FERR 或 IgG1-b12-FEAL 培育之樣品中或在不與抗體培育之樣品中 (A) 未觀察到增加的腫瘤細胞與 T 細胞交聯。圖 12 B 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 與腫瘤細胞及初始 T 細胞同時結合，如以表現 CellTrace Far Red 及 Celltrace Violet (B) 兩者之細胞百分比所檢測。

該等數據表明 bsG1huCD3FEALxCD30-MDX060-FERR 可同時結合且交聯 CD30^+ 腫瘤細胞和 CD3^+ T 細胞。

實施例 8 - 由 $\text{CD3} \times \text{CD30}$ 雙特異性抗體於試管內誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞活化

評估由一組 CD3xCD30 雙特異性抗體對 Karpas-299 腫瘤細胞的經 T 細胞媒介之細胞毒性及相關聯的 T 細胞活化。評估下列抗體：bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR 和 bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR。

T 細胞係自健康的人類供體膚色血球層 (Sanquin，荷蘭阿姆斯特丹) 獲得且使用 RosetteSep™ 人類 T 細胞富集混合液 (Stemcell Technologies，法國，目錄號 15061) 根據製造商的用法說明單離。將 T 細胞在 37 °C 下以 Celltrace Violet (Invitrogen，目錄號 C34557A；最終濃度 5 μM) 經 15 min 標記。同時，將 Karpas-299 腫瘤細胞在 37 °C 下以 Celltrace FarRed (Invitrogen，目錄號 C34564A；最終濃度 2 μM) 經 15 min 標記。在標記後，添加 5×體積的冰冷 DBSI 且在 RT 下培育 5 分鐘。將細胞沉澱，再懸浮於培養基中且將腫瘤細胞以 50,000 個細胞 / 孔之密度接種在 96 孔盤 (Greiner-bio-one，荷蘭，目錄號 655180) 中。添加連續稀釋的雙特異性 CD3xCD30 抗體 (以 3 倍稀釋至 1,000 至 0.051 ng/mL 之最終濃度範圍) 且將盤在 RT 下培育 15 min。將 T 細胞以 4 : 1 之效應子對標靶 (E : T) 比例添加至腫瘤細胞中且將盤在 37 °C 下培育 72 小時。在以 PBS/0.1% 之 BSA/0.02% 之

疊氮化物(染色緩衝液)清洗2次後，將細胞針對T細胞標誌物CD4 (1：50；Biolegend，目錄號300521，與Pacific Blue共軛)、CD8 (1：100；BD Biosciences，與FITC共軛)及T細胞活化標誌物CD69 (1：50；Biolegend，目錄號310934，與BV650共軛)、CD25 (1：100；Invitrogen，目錄號25-0259-42，與PE-Cy7共軛)和CD279/PD-1 (1：50；Biolegend，目錄號329930，與BV605共軛)進行染色。將具有Ultracomp磁珠的單一染色樣品(5 μ L；Invitrogen，目錄號01-2222-42)納入且用於流式細胞測量儀之補償調整。在4℃下培育30 min後，將盤以染色緩衝液清洗兩次且將細胞在4℃下以7-AAD (在染色緩衝液中以1：100稀釋)染色10 min。將細胞使用FACS Fortessa (BD Biosciences)分析。數據係使用FlowJo (BD Biosciences)處理。

劑量反應曲線係使用非線性迴歸分析(具有可變斜率的S形劑量反應)，使用GraphPad Prism V7.02軟體(GraphPad Software，美國加州聖地亞哥)產生。

結果

圖13A和B顯示所有的CD3xCD30抗體對Karpas-299細胞誘導經T細胞媒介之細胞毒性。與所有測試之其他選殖株相比，使用CD30選殖株MDX060產生之CD3xCD30雙特異性抗體(bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR)更有效毒殺Karpas-299細胞。事實上，與使用CD30選殖株HRS-3、HeFi-I、

T105、T405、T408或T215產生之CD3xCD30雙特異性抗體 (bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR；圖13A)相比，基於MDX060之CD3xCD30雙特異性抗體顯示顯著較低的IC₅₀值。此外，與使用CD30選殖株hAC10、HeFi-I、T405、T408或T215產生之CD3xCD30雙特異性抗體 (bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR、bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR；圖13B)相比，bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR誘導更高的最大毒殺。圖13C和D顯示bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR和bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR比其他CD3xCD30雙特異性抗體中任一者更有效誘導CD25表現(較低的EC₅₀值)，如CD4⁺T細胞(圖13C)或CD8⁺T細胞(圖13D)中的T細胞活化量度。觀察到類似的PD-1(圖13E和F)及CD69(未顯示出數據)表現結果。在兩種含有FEAR或FERR突變的基於MDX060之CD3xCD30雙特異性抗體之間未觀察到有差別的經T細胞媒介之毒殺或T細胞活化。

與測試之其他組的CD3xCD30雙特異性抗體相比，雙特異性抗體bsG1-huCD3xCD30-MX060對L-428細胞亦更有

效誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性(未顯示出數據)。

由該等實驗中所使用之一組 CD3xCD30 雙特異性抗體誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性的平均 IC₅₀濃度和最大溶胞百分比及 T 細胞活化(CD25 表現)之 EC₅₀濃度總結於表 9 中。

最後，該等數據證明 bsG1huCD3xCD30-MDX060 比所評估之其他 CD3xCD30 雙特異性抗體中任一者更有效誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性。

表 9：由一組 CD3xCD30 雙特異性抗體對 Karpas-299 細胞誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性的 IC₅₀ 濃度和最大溶胞百分比及 T 細胞活化(CD25 表現)之 EC₅₀ 濃度。

抗體	細胞毒性		T 細胞活化 (CD25 表現)		T 細胞活化 (PD-1 表現)	
			CD4+ T 細胞	CD8+ T 細胞	CD4+ T 細胞	CD8+ T 細胞
	IC ₅₀ (µg/mL)	最大溶胞 (%)	EC ₅₀ (µg/mL)	EC ₅₀ (µg/mL)	EC ₅₀ (µg/mL)	EC ₅₀ (µg/mL)
	平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)	平均 (SD)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR	0.029 (0.004)	52.328 (3.929)	0.023 (0.004)	0.020 (0.005)	0.025 (0.006)	0.023 (0.009)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FEAR	0.033 (0.004)	53.703 (5.949)	0.024 (0.004)	0.020 (0.005)	0.024 (0.006)	0.027 (0.009)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-hAC10-FEAR	0.032 (0.006)	37.765 (5.340)	0.046 (0.011)	0.054 (0.021)	0.056 (0.021)	0.057 (0.031)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-HRS-3-FEAR	0.068 (0.011)	47.472 (6.539)	0.089 (0.031)	0.079 (0.031)	0.123 (0.046)	0.112 (0.047)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-HeFi-I-FEAR	0.052 (0.011)	42.987 (6.603)	0.069 (0.013)	0.076 (0.016)	0.075 (0.024)	0.083 (0.023)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-T105-FEAR	0.042 (0.007)	52.582 (5.344)	0.056 (0.010)	0.060 (0.017)	0.064 (0.021)	0.065 (0.024)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-T405-FEAR	0.078 (0.023)	41.667 (4.560)	0.093 (0.027)	0.080 (0.056)	0.138 (0.054)	0.140 (0.126)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-T408-FEAR	0.226 (0.112)	41.295 (5.482)	0.172 (0.046)	0.134 (0.077)	0.286 (0.104)	0.220 (0.126)
bsG1-huCD3-FEALxCD30-T215-FEAR	0.077 (0.032)	42.840 (6.464)	0.092 (0.036)	0.105 (0.063)	0.355 (0.476)	0.281 (0.308)

實施例 9 - 由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性、T 細胞增殖及 T 細胞活化

由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 對腫瘤細胞之經 T 細胞媒介之細胞毒性及相關聯的 T 細胞增殖和活化係在 HL 和 ALCL 細胞株中評估。

T細胞係自健康的人類供體膚色血球層(Sanquin，荷蘭阿姆斯特丹)獲得且使用RosetteSep™人類T細胞富集混合液(Stemcell Technologies，法國，目錄號15061)根據製造商的用法說明單離。將T細胞在37℃下以Celltrace Violet (Invitrogen，目錄號C34557A；最終濃度5 μM)經15 min標記。同時，將腫瘤細胞L-428、KI-JK、KM-H2或SUP-M2在37℃下以Celltrace FarRed (Invitrogen，目錄號C34564A；最終濃度2 μM)經15 min標記。在標記後，添加5×體積的冰冷DBSI且在RT下培育5分鐘。將細胞沉澱，再懸浮於培養基中且將腫瘤細胞以50,000個細胞/孔之密度接種在96孔盤(Greiner-bio-one，荷蘭，目錄號655180)中。添加連續稀釋的bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR或對照抗體IgG1-huCD3-FEAL、bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR、IgG1-CD30-MDX060-FERR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-b12-FEAL (以3倍稀釋至1,000至0.051 ng/mL之最終濃度範圍)且將盤在RT下培育15 min。將T細胞以4：1之效應子對標靶(E：T)比例添加至腫瘤細胞中且將盤在37℃下培育72小時。在以PBS/0.1%之BSA/0.02%之疊氮化物(染色緩衝液)清洗2次後，將細胞針對T細胞標誌物CD4 (1：50；Biolegend，目錄號300521，與Pacific Blue共軛)、CD8 (1：100；BD Biosciences，目錄號345772，與FITC共軛)及T細胞活化標誌物CD69 (1：50；Biolegend，目錄號310934，與BV650共軛)、CD25 (1：100；Invitrogen，目錄號25-0259-42，與PE-Cy7共軛)

和 CD279/PD-1 (1 : 50 ; Biolegend , 目錄號 329930 , 與 BV605 共軛)進行染色。將具有 Ultracomp 磁珠的單一染色樣品 (5 μ L ; Invitrogen , 目錄號 01-2222-42) 納入且用於流式細胞測量儀之補償調整。在 4°C 下培育 30 min 後, 將盤以染色緩衝液清洗兩次且將細胞在 4°C 下以 7-AAD (在染色緩衝液中以 1 : 100 稀釋) 染色 10 min。將細胞使用 FACS Fortessa (BD Biosciences) 分析且將數據使用 FlowJo (BD Biosciences) 處理。

活的靶細胞百分比係使用以下公式計算：

活的靶細胞 % = (在各條件中經單一 Celltrace FarRed 標記之活細胞的絕對數目 / 在僅含有靶細胞及 T 細胞而未添加任何抗體的條件下經單一 Celltrace FarRed 標記之活細胞的絕對數目) $\times$ 100。

T 細胞增殖係藉由閘控具有稀釋的 Celltrace Violet 染色之 CD4⁺ 或 CD8⁺ T 細胞來評估。擴增指數係使用來自 FlowJo 之增殖建模工具計算。生成峰經自動化擬合及擴增指數值係根據以下公式計算：

擴增指數 = 細胞總數目 / 在開始培養時的細胞數目

$$= (G0 + G1 + G2 + G3 + G4 + G5 + G6) / (G0 + G1:2 + G2:4 + G3:8 + G4:16 + G5:32 + G6:64)。$$

G_n = 第 n 個生成峰的細胞數目 (具有 n = 0 至 6)。

劑量反應曲線係使用非線性迴歸分析 (具有可變斜率的 S 形劑量反應), 使用 GraphPad Prism V7.02 軟體 (GraphPad Software, 美國加州聖地亞哥) 產生。

結果

圖 14 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內對 L-428 (HL)、KM-H2 (HL)、SUP-M2 (ALCL) 和 KI-JK (ALCL) 細胞株誘導經劑量依賴性 T 細胞媒介之細胞毒性。將由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 對 L-428 和 KI-JK 細胞誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性的平均 IC50 濃度總結於表 10 中。在與對照抗體 IgG1-huCD3-FEAL、bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR、IgG1-CD30-MDX060-FERR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-b12-FEAL 培育之細胞中或在未與抗體培育之樣品中未觀察到細胞毒性。

圖 15、16、17 和 18 顯示由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 對 L-428 和 KI-JK 細胞誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性係與 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 細胞增殖 (圖 15) 及 T 細胞活化標誌物 CD69 (圖 16)、CD25 (圖 17) 和 PD-1 (圖 18) 的表現相關聯。在該等實驗中，由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 誘導之 T 細胞增殖及活化之平均 EC50 濃度總結於表 10 中。

因此，bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內對 HL 和 ALCL 細胞株誘導經劑量依賴性 T 細胞媒介之細胞毒性，其係與 T 細胞增殖及活化相關聯。

表 10：由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 對 L-428 和 KI-JK 細胞誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性的 EC₅₀ 濃度及相關聯的 CD4⁺和 CD8⁺細胞之 T 細胞增生及活化

腫瘤細胞株		L-428		KI-JK	
細胞毒性					
	平均 IC50 (μg/mL)	0.002		0.0015	
	IC50 的範圍 (μg/mL)	0.001216 - 0.003439		0.0008858 - 0.001904	
T 細胞類型		CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺
T 細胞增生					
PI	平均 EC50 (μg/mL)	0.0051	0.00096	0.00606	0.00213
	EC50 的範圍 (μg/mL)	0.003727 - 0.006534	0.0002052 - 0.002255	0.00338 - 0.007501	0.001103 - 0.002715
T 細胞活化					
CD69	平均 CD69 EC50 (μg/mL)	0.00083	0.00121	0.00146	0.00171
	CD69 EC50 的範圍 (μg/mL)	0.0001221 - 0.001647	3.252E-14 - 0.002421	0.0004487 - 0.002086	4.694E-11 - 0.005097
CD25	平均 CD25 EC50 (μg/mL)	0.00261	0.00061	0.00599	0.00656
	CD25 EC50 的範圍 (μg/mL)	0.002164 - 0.002898	0.000298 - 0.001006	0.004483 - 0.007791	0.001901 - 0.01562
PD-1	平均 PD-1 EC50 (μg/mL)	0.00491	0.00257	0.0112	0.00696
	PD-1 EC50 的範圍 (μg/mL)	0.004387 - 0.005433	0.001302 - 0.003412	0.009616 - 0.01222	0.005845 - 0.009151
n 次試驗		3		3	

實施例 10 - 由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內誘導細胞激素生產

由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 誘導之細胞激素及顆粒酶 B 生產係在上清液中評估，該上清液係在使用 L-428 靶細胞及健康的供體 T 細胞的試管內經 T 細胞媒介之細胞毒性實驗期間收集，如實施例 9 中所述。將上清

液儲存在 -20°C 下且解凍用於分析。14種不同的細胞激素 (CD40、 $\text{IFN}\gamma$ 、IL-10、IL-12、IL-13、IL-1b、IL-2、IL-4、IL-6、IL-8、IP-10、MCP-1、PDL-1、 $\text{TNF}\alpha$)及顆粒酶 B 的濃度係使用由 R&D systems 客製的基於磁珠之多重免疫檢定法 (luminex) 測量。

結果

在 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 的存在下，主要觀察到來自 L-428 細胞與 T 細胞的共培養物之上清液中增加的顆粒酶 B 及細胞激素 $\text{IFN}\gamma$ 、IL-13 和 $\text{TNF}\alpha$ ($>2000\text{ pg/mL}$) 濃度。當與對照抗體 IgG1-b12-FEAL 相比時，觀察到適度增加的 CD40、IL-10、IL-12、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL6 和 IP-10 細胞激素濃度。與對照抗體 IgG1-b12-FEAL 相比，IL-8、MCP-1 和 PDL1 水平未受到調節 (圖 19)。

因此，由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞活化係與劑量依賴性生產之細胞激素及顆粒酶 B 相關聯。

實施例 11 - 使用經純化之 T 細胞作為效應子細胞，以不同的效應子對標靶比例由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性

為了測定在雙特異性抗體 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 的存在下經 T 細胞媒介之腫瘤細胞毒殺之最

適化的效應子對標靶比例，將試管內細胞毒性檢定法使用 CD30陽性腫瘤細胞株 L-428 作為靶細胞及經純化之 T 細胞作為效應子細胞以不同的效應子對靶細胞 (E : T) 比例執行。

經 T 細胞媒介之細胞毒性基本上如實施例 9 中所述方式評估，除了將 T 細胞以 1 : 1、2 : 1、4 : 1 或 8 : 1 之不同的效應子對靶細胞 (E : T) 比例添加至腫瘤細胞中。

結果

圖 20A 顯示由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 以所有的 E : T 比例誘導經劑量依賴性 T 細胞媒介之細胞毒性，以 4 : 1 及 8 : 1 之 E : T 比例觀察到最大的腫瘤細胞毒殺 (少於 20% 之活腫瘤細胞)。與此一致，以所有的 E : T 細胞比例觀察到 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 細胞增殖，以 4 : 1 及 8 : 1 之 E : T 比例最顯著 (圖 20B 至 C)。由對照抗體 bsG1-huCD3-FEALxb12-FERR 以所測試之 E : T 比例中任一者誘導非特异性經 T 細胞媒介之細胞毒性或 T 細胞增殖。

總之，該等數據表明於試管內經 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 對 L-428 腫瘤細胞誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性以 4 : 1 及 8 : 1 之 E : T 比例最有效。

實施例 12 - 由 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 於試管內經 T 細胞媒介之細胞毒性及 T 細胞增殖的動力學

為了評估在 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR

的存在下經T細胞媒介之腫瘤細胞毒性的動力學，將試管內細胞毒性檢定法使用CD30陽性腫瘤細胞株L-428作為靶細胞及經純化之T細胞作為效應子細胞以不同的培育期間執行。

經T細胞媒介之細胞毒性基本上如實施例9中所述方式評估，除了腫瘤細胞的細胞毒性及T細胞增殖係在24 h、48 h和72 h後評估。

結果

圖21顯示bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR在48 h和72 h後誘導劑量依賴性經T細胞媒介之細胞毒性，而在24 h後未觀察到顯著的經T細胞媒介之細胞毒性。由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR在72 h後誘導劑量依賴性CD4⁺和CD8⁺ T細胞增殖，而在24 h或48 h後未觀察到T細胞增殖(圖21B和C)。

總之，該等數據顯示bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR係以時間依賴方式誘導對腫瘤細胞的經T細胞媒介之細胞毒性及T細胞增殖。

實施例13 - CD30表現水平與試管內經bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR誘導之經T細胞媒介之細胞毒性的相關性

由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR對八種表現CD30之腫瘤細胞株的經T細胞媒介之毒殺係如實施例9

所述之試管內細胞毒性檢定法使用4：1之E：T比例測定。使用下列細胞株：L-428、KM-H2、DEL、KI-JK、KARPAS-299、SUP-M2、NCEB-1和JVM-2。該等腫瘤細胞株之CD30表現水平係以實施例2中詳述之定量性流式細胞測量術評估。

結果

圖22顯示bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR於試管內對所有細胞株誘導經T細胞媒介之細胞毒性，具有介於68%與98%之間的最大靶細胞毒殺。由bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR經T細胞媒介之最大的腫瘤細胞毒殺係與CD30表現水平有顯著的相關性(圖22A)。

在圖22B中，將bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR的存在下對各細胞株的經T細胞媒介之毒殺的EC₅₀相對於CD30表現水平繪圖，顯示出負但不顯著的趨勢。

因此，該等數據顯示在CD30表現水平與試管內經bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR誘導之經T細胞媒介之最大細胞毒性之間的正相關性。

實施例14 - 由BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR對活化之T細胞的自相殘殺

經BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR對活化之CD30⁺ T細胞誘導之T細胞自相殘殺係於試管內評估。

將96孔盤(Greiner-bio-one，荷蘭，目錄號655180)以1

$\mu\text{g/mL}$ 之抗人類CD3 (選殖株OKT3, Invitrogen, 目錄號16-0037-85)於PBS中的100 μL 之溶液塗覆。將盤在37°C下培育4小時。在移除抗體溶液後, 將孔以100 μL 之PBS清洗。T細胞係自健康的人類供體膚色血球層(Sanquin, 荷蘭阿姆斯特丹)獲得且使用RosetteSep™人類T細胞富集混合液(Stemcell Technologies, 法國, 目錄號15061)根據製造商的用法說明單離。將純化之T細胞以 2×10^6 個細胞/mL之濃度再懸浮於T細胞培養基(以10%之熱滅活的含鐵之供體牛血清(DBSI; Gibco, 目錄號20731-030)及青黴素/鏈黴素(pen/strep; Lonza, 目錄號DE17-603E)補充之具有25 mM HEPES及L-麩醯胺酸之羅斯威爾帕克紀念研究所(Roswell Park Memorial Institute)[RPMI]-1640培養基(Lonza, 目錄號BE12-115F))中, 將100 μL 之T細胞懸浮液(含有200,000個T細胞)添加至經抗CD3塗覆之盤的各孔中。此外, 將以2 $\mu\text{g/mL}$ 之抗CD28 (選殖株CD28.2, Invitrogen, 目錄號16-0289-85)及0.05 $\mu\text{g/mL}$ 之IL-15 (ThermoFisher, 目錄號PHC9151)補充之100 μL 之T細胞培養基添加至各孔中。接著將T細胞在37°C下培育96小時。

在96小時後, 收集T細胞且將其以 2×10^6 個細胞/mL之濃度再懸浮於T細胞培養基中。執行流式細胞測量術分析以測量CD30及T細胞活化標誌物的表現。簡言之, 將等分的細胞以PBS/0.1%之BSA/0.02%之疊氮化物(染色緩衝液)清洗, 以50 μl 之1000x稀釋之FVS510生存力染料(BD Biosciences, 目錄號564406)染色且在室溫下培育15分

鐘。接著將細胞以染色緩衝液清洗，且針對CD30 (1 : 50 ; Biolegend，目錄號333906，與PE共軛)、T細胞標誌物CD4 (1 : 50 ; Biolegend，目錄號300506，與FITC共軛)、CD8 (1 : 100 ; Biolegend，目錄號301028，與AF700共軛)及T細胞活化標誌物CD69 (1 : 50 ; Biolegend，目錄號310910，與APC共軛)、CD25 (1 : 100 ; Invitrogen，目錄號25-0259-42，與PE-Cy7共軛)和CD279/PD1 (1 : 50 ; Biolegend，目錄號329924，與BV605共軛)進行染色。將具有Ultracomp磁珠的單一染色樣品(5 μ L ; Invitrogen，目錄號01-2222-42)納入且用於流式細胞測量儀之補償調整。在4℃下培育30 min後，將盤以染色緩衝液清洗兩次。將細胞使用FACS Fortessa (BD Biosciences)分析且將數據使用FlowJo (BD Biosciences)處理。

為了評定BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR是否可誘導活化之T細胞的自相殘殺，將經刺激之T細胞以200,000個細胞/孔之密度接種在96孔盤中。隨後將50 μ L之BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR或對照抗體(亦即bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR、bsG1-huCD3-FEALxb12-MDX060-FERR或IgG1-b12)添加至各孔中(在T細胞培養基中以3倍稀釋步驟至0.003至3.3 μ g/mL之最終濃度範圍)。將盤在37℃下培育48小時。

在以染色緩衝液清洗2次後，將細胞以FVS510生存力染料染色且隨後針對T細胞標誌物CD4和CD8及T細胞活化標誌物CD69、CD25和CD279/PD1進行染色。流式細胞測

量分析係使用FACS Celesta (BD Biosciences)執行且數據係使用FlowJo (BD Biosciences)處理。

劑量反應曲線係使用 GraphPad Prism V7.02 軟體 (GraphPad Software，美國加州聖地亞哥)產生。

結果

圖 23 顯示細胞標誌物 CD25 (T細胞活化)(A)和 CD30 (B) 係在培育 72 小時後分別表現在 54 至 63 % 和 21 至 27 % 之 T 細胞中。在培育 96 小時後進一步誘導 CD25 和 CD30 表現 (CD25：80 至 83 % 和 CD30：27 至 33 %)。圖 23C 顯示 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、bsG1-b12-FEALxCD30-MDX060-FERR、bsG1-huCD3-FEALxb12-MDX060-FERR 或 IgG1-b12 之劑量增加與活化之 T 細胞的生存力降低無關聯。

因此，在與 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 培育後，在活化之 T 細胞亞群上的 CD30 表現不導致 T 細胞的自相殘殺。

實施例 15 - 以 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之抗腫瘤活性干擾 sCD30

細胞表面 CD30 的脫落及可溶性 CD30 (sCD30) 的產生係在 17 種不同的血液學 CD30⁺ 腫瘤細胞株中評估。

在新鮮培養基中接種細胞後三天，自細胞培養物收集的 25 μ L 之未稀釋的上清液中之 sCD30 濃度係以用於定量檢

測人類 CD30 之 ELISA 檢定法使用「人類 sCD30 ELISA 套組」(Invitrogen, 目錄號 BMS240)依照製造商的用法說明測量。

結果

圖 24A 顯示在細胞培養物上清液中之 sCD30 濃度。如所示, 在來自不同的細胞株之細胞培養物上清液中檢測出不同濃度的 sCD30。圖 24B 顯示在細胞培養物上清液中之 sCD30 濃度與 CD30 膜表現水平有顯著的相關性, 如先前於實施例 2 中所述之定量性流式細胞測量術所測量(人類 IgG 校正套組, Biocytex, 目錄號 CP010)。

為了評估 sCD30 是否可阻斷有效力的經 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 誘導之經 T 細胞媒介之細胞毒性, 在上清液中顯示高水平的 sCD30 (129 ng/mL) 之 DEL 腫瘤細胞 (ALCL) 中評定由 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經 T 細胞媒介之細胞毒性。經 T 細胞媒介之細胞毒性檢定法係如先前所述方式執行(實施例 8)。圖 24C 顯示 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 對此細胞株誘導有效力的經 T 細胞媒介之細胞毒性, 具有 86% 之最大腫瘤細胞毒殺, 表明 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 在 sCD30 的存在下仍能夠於試管內誘導有效力的經 T 細胞媒介之細胞毒性。

因此, sCD30 濃度因細胞類型而異且與細胞表面上的 CD30 表現水平有相關性。此外, BsG1-huCD3-FEALxCD30-

MDX060-FERR在sCD30的存在下仍能夠於試管內誘導有效力的經T細胞媒介之細胞毒性。

實施例 16 - 使用源於患者之周邊血液單核T細胞作為效應子細胞的bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR之活體外細胞毒性

CD3xCD30雙特異性抗體係於活體外細胞毒性檢定法中使用CD30陽性腫瘤細胞株作為靶細胞及源於初級患者之T細胞作為效應子細胞進行測試。使用源於霍奇金氏淋巴瘤(HL)、非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)及急性骨髓性白血病(AML)患者之周邊血液單核細胞(PBMC, Discovery Life Sciences, 表11)作為T細胞來源以評估CD3依賴性腫瘤細胞毒殺。

將L-428腫瘤細胞在37 °C下以Celltrace FarRed (Invitrogen, 目錄號C34564A; 最終濃度2 μM)經15 min標記。在標記後, 添加5×體積的冰冷DBSI且在RT下培育5分鐘。將細胞沉澱, 再懸浮於培養基中且將腫瘤細胞以50,000個細胞/孔之密度接種至96孔盤(Greiner-bio-one, 荷蘭, 目錄號655180)中。添加連續稀釋的bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR及對照抗體IgG1-b12-FEAL(以3倍稀釋至1,000至0.051 ng/mL之最終濃度範圍)且將盤在RT下培育15 min。將PBMC解凍, 計數且再懸浮於培養基(RPMI1640/10%之FBS/1%之青黴素-鏈黴素/1%之麩胺酸)中, 然後以8:1之效應子對標靶(E:T)比例添加至腫

瘤細胞中且將盤在 37℃ 下培育 72 小時。在以 PBS/0.1% 之 BSA/0.02% 之疊氮化物(染色緩衝液)清洗 2 次後，將細胞染色以區別使用 CD3 (T 細胞；Invitrogen，目錄號 48-0037)、CD14 (單核細胞/巨噬細胞；Biolegend；目錄號 301834)、CD19 (B 細胞；Biolegend；目錄號 302246)、CD16 (單核細胞/巨噬細胞；BD Biosciences；目錄號 556618)、CD56 (NK 細胞；BD Biosciences；目錄號 564849)和 CD66b (顆粒性細胞；Biolegend；目錄號 305116)之不同的細胞群。將細胞另外針對 T 細胞標誌物 CD4 (1：50；Biolegend，目錄號 300521，與 Pacific Blue 共軛)、CD8 (1：100；BD Biosciences，目錄號 345772，與 FITC 共軛)及 T 細胞活化標誌物 CD69 (1：50；Biolegend，目錄號 310934，與 BV650 共軛)、CD25 (1：100；Invitrogen，目錄號 25-0259-42，與 PE-Cy7 共軛)和 CD279/PD1 (1：50；Biolegend，目錄號 329930，與 BV605 共軛)進行染色。將具有 Ultracomp 磁珠的單一染色樣品 (5 μ L；Invitrogen，目錄號 01-2222-42) 納入且用於流式細胞測量儀之補償調整。在 4℃ 下培育 30 min 後，將盤以染色緩衝液清洗兩次且將細胞在 4℃ 下以 7-AAD (在染色緩衝液中以 1：100 稀釋)染色 10 min。將細胞使用 FACS Fortessa (BD Biosciences) 分析且將數據使用 FlowJo (BD Biosciences) 處理。劑量反應曲線係使用非線性迴歸分析 (具有可變斜率的 S 形劑量反應)，使用 GraphPad Prism V7.02 軟體 (GraphPad Software，美國加州聖地亞哥) 產生。

活的靶細胞百分比係使用以下公式計算：

活的靶細胞 % = (在各條件中經單一 Celltrace FarRed 標記之活細胞的絕對數目 / 在僅含有靶細胞及 T 細胞而未添加任何抗體的條件下經單一 Celltrace FarRed 標記之活細胞的絕對數目) x 100。

結果

圖 25A 顯示 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 在 72 h 後誘導以源自健康的對照供體及不同的 HL 和 NHL 患者供體兩者之 T 細胞對 L-428 腫瘤細胞媒介之劑量依賴性細胞毒性。細胞毒性係與 T 細胞活化及增殖相關聯，如以調升之 CD69、CD25 和 PD-1 所例證 (圖 25 B 至 D)。對照抗體 IgG1-b12-FEAL 未觀察到經 T 細胞媒介之細胞毒性。供體 E (AML) 未觀察到對 L-428 腫瘤細胞的經 T 細胞媒介之細胞毒性，其可能歸因於 PBMC 樣品內的低頻率 T 細胞 (表 11)。

總之，該等數據例證來自 HL 和 NHL 患者的周邊血液 T 細胞能夠在 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 的存在下對腫瘤細胞株誘導經 T 細胞媒介之細胞毒性。

表 11. 初級患者 PBMC 樣品特性

樣品 #	代碼	起源	治療(Tx)狀態	公司	細胞生存力 (%)	T 細胞頻率 (%)
A	100000537	霍奇金氏， 結節性硬化 霍奇金氏淋巴 瘤	階段 IV，Tx 前		63.5	71.1
B	120328910	霍奇金氏淋巴 瘤	Tx 前		81.7	56.1
C	17A0D69A3	霍奇金氏， 混合細胞 性霍奇金氏 淋巴瘤	Tx 前		87.5	35.6
D	D4931CBAB	霍奇金氏， 結節性 淋巴球突顯型 霍奇金氏淋巴 瘤	階段 II-A，Tx 前， CD20+	Discovery Life Sciences	63.95	59.9
E	200003963	急性骨髓性 白血病 (AML)	活性 Tx，EBV 測試		65.55	17.4
F	121426858	NHL， 周邊 T 細胞 淋巴瘤 (PTCL) – 非特定的	階段 III，Tx 後，治療 CHP+Adcetris/阿德力黴 素		66.2	68
HC		健康的 對照 PBMC	N.A.	Sanquin	86.55	48.4

實施例 17 - 評估 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR
於 SCID 小鼠中的藥物動力學性質

將 11 至 12 週齡的無腫瘤雌性 SCID 小鼠 (C.B-17/IcrHan®Hsd-PrkdcSCID 小鼠, Envigo)(每組 3 隻小鼠)以單一劑量的 1 μg (0.05 mg/kg)、10 μg (0.5 mg/kg)或 100 μg (5 mg/kg)之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 經靜脈內(IV)注射。設定實驗以研究在經靶標媒介之清除不存在下的抗體清除率，因為 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 不與小鼠蛋白質交叉反應。

在投予抗體後 10 分鐘、4 至 6 小時、24 小時、2 天、7 天、14 天和 21 天自經由臉頰靜脈穿刺或隱靜脈穿刺收集 40 μL 之血液樣品。將血液收集至含有 K2-EDTA 的小瓶 (Sarstedt, Microvette CB300, 目錄號 16.444.100) 中且以 10,000 g 離心 10 分鐘。將血漿上清液轉移至經標記之 Eppendorf 小瓶中且儲存在 -80°C 下，直到測定血漿 IgG 濃度。

人類 IgG 濃度係以總人類 IgG 酵素連結免疫吸附檢定法 (ELISA) 測定。將在 4°C 下經隔夜塗覆至 96 孔 Microlon ELISA 盤 (Greiner, 德國) 的 100 μL 之 PBS (BioTrading, 目錄號 K654F500PP) 中的小鼠抗人類 IgG- κ 選殖株 MH16 (CLB Sanquin, 荷蘭; 目錄號 M1268) 以 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之濃度用作為捕獲抗體。在室溫 (RT) 下以 PBSA (具有 0.2% 之牛血清白蛋白 [BSA] 的 PBS) 經 1 小時阻斷盤後，添加在 PBSA 中連續稀釋的樣品且在 RT 下在盤振盪器上培育 1 小時。將盤以 300 μL 之 PBST (以 0.05% 之 Tween 20 補充之 PBS) 清洗三次且隨後在 RT 下與山羊抗人類 IgG 免疫球蛋白 (Jackson, 賓州西格

雷斯 (West Grace)；目錄號 109-035-098；在以 0.2% 之 BSA 補充之 PBST 中以 1：10.000 稀釋) 培育 1 小時。將盤以 300 μ L 之 PBST 清洗三次，然後與 2,2'-次偶氮基-雙(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS；Roche，目錄號 11112422001 和 11112597001) 避光培育。將反應以添加 100 μ L 之 2% 草酸 (Sigma-Aldrich，目錄號 33506) 終止，在 RT 下培育 10 min。吸光度係在 ELx808 吸光度微量盤判讀機 (Biotek，佛蒙特州威努斯基 (Winooski)) 上於 405 nm 下測量。

標準曲線係自 PBSTA 中進一步稀釋三倍的參考抗體人類 IgG1 λ (純蛋白質 30C，目錄號 BP078) 產生。使用注射之材料產生第二標準曲線，且該材料係自 1 mg/mL (3.6 μ L 之抗體) 濃度於 PBSTA 中進一步稀釋 3 倍的 5 mg/kg 之劑量製備。

結果

校正曲線係自參考標準物在 Microsoft Excel 中使用 4 參數邏輯擬合曲線內插未知物來計算。在血漿樣品中的人類 IgG1 濃度係自繪製的校正曲線方程式計算 (圖 26A)，且曲線下的面積 (AUC) 係使用 GraphPad Prism 軟體計算。直到血液取樣的最後一天 (第 21 天) 之 IgG 清除率係由公式 $D \times 1.000 / \text{AUC}$ 確定，其中 D 為注射劑量 (1 mg/kg) (圖 26B)。

BsG1-huCD3-FEAL $\times$ CD30-MDX060-FERR 不與小鼠蛋白質交叉反應，且因此能預期藥物動力學性質可與其他未結合之野生型人類 IgG1 分子相比。所有劑量組之預期的人

類 IgG 血漿濃度經計算為約 100 $\mu\text{g/mL}$ ($\sim 5 \text{ mg/kg}$)、10 $\mu\text{g/mL}$ ($\sim 0.5 \text{ mg/kg}$) 或 1 $\mu\text{g/mL}$ ($\sim 0.05 \text{ mg/kg}$)。來自以 0.05 mg/kg 處理之動物的樣品於所有的時間點皆不可測量。

BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之血漿清除率可與常規的人類 IgG1 之預測的血漿清除率相比。平均最大的人類 IgG 血漿濃度 (C_{max}) 可與常規的人類 IgG1 之預測的 C_{max} 相比。

因此，BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之藥物動力學輪廓可與沒有標靶結合存在下的未攜帶腫瘤之 SCID 小鼠中對常規的人類 IgG1 所預測之藥物動力學輪廓相比。

實施例 18 - 評估 C1q 與 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之結合

補體蛋白質 C1q 與經膜結合之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 或產生 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 之親本抗體 (亦即 IgG1-huCD3-FEAL 和 IgG1-CD30-MDX060-FERR) 之結合係使用表現 CD3 或 CD30 之細胞評定。

A. C1q 與經 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 結合之表現 CD3 之細胞之結合

補體蛋白質 C1q 與經 CD3 結合之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 和 IgG1-huCD3-FEAL 之結合係使用經刺激

之人類 CD8⁺ T細胞測試。包括 IgG1-CD52-E430G 作為陽性對照物，其具有基於 CD52 抗體 CAMPATH-1H 之 VH 及 VL 結構域及具有富集 Fc 之主鏈，已知在結合至細胞表面時有效地結合 C1q。包括 IgG1-b12-FERR 和 IgG1-b12 作為未結合之陰性對照抗體。

人類 CD8⁺ T細胞係自健康的自願者獲得的膚色血球層 (Sanquin) 使用 RosetteSep™ 人類 CD8⁺ T細胞富集混合液 (Stemcell Technologies，目錄號 15023C.2) 根據製造商的使用法說明以負向選擇純化(富集)。將經純化之 T細胞再懸浮於 T細胞培養基(以 10% 之熱滅活的含鐵之供體牛血清 (DBSI；Gibco，目錄號 20731-030) 及青黴素 / 鏈黴素 (pen/strep；Lonza，目錄號 DE17-603E) 補充之具有 25 mM HEPES 及 L-麩醯胺酸之羅斯威爾帕克紀念研究所 [RPMI]-1640 培養基 (Lonza，目錄號 BE12-115F)) 中。

將抗 CD3/CD28 磁珠 (Dynabeads™ 人類 T 活化子 CD3/CD28；ThermoFisher Scientific，目錄號 11132D) 以 PBS 清洗且再懸浮於 T細胞培養基中。將磁珠以 1：1 比例添加至富集之人類 CD8⁺ T細胞中且在 37℃，5% 之 CO₂ 下培育 48 h。接下來，使用磁鐵移出磁珠，將細胞在 PBS 中清洗兩次且再計數。

BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 和 IgG1-huCD3-FEAL 與活化之 CD8⁺ T細胞之結合係以流式細胞測量術使用 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 和 IgG1-huCD3-FEAL (30 µg/mL) 及經 R-藻紅素 (PE)-共軛之山羊抗人類 IgG

F(ab')₂ (在 GMB FACS 緩衝液中以 1 : 200 稀釋 ; Jackson ImmunoResearch , 目錄號 109-116-098)證實。

將活化之 CD8⁺ T細胞接種在 96孔圓底盤中 (30,000個細胞/孔)、細胞沉澱且再懸浮於 30 μL之檢定培養基 (以 0.1% 之 [w/v] 牛血清白蛋白 fraction V (BSA ; Roche , 目錄號 10735086001) 及青黴素/鏈黴素補充之具有 25 mM HEPES 和 L-麩醯胺酸之 RPMI-1640) 中。隨後將 50 μL 之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-huCD3-FEAL、IgG1-b12-FERR、IgG1-CD52-E430G 或 IgG1-b12 (在檢定緩衝液中以 3 倍稀釋步驟至 1.7×10^{-4} 至 30 μg/mL 之最終濃度) 添加至每一孔中且在 37°C 下培育 15 min 以容許抗體結合至細胞。

將作為 C1q 來源之人類血清 (20 μL/孔 ; Sanquin , 批號 20L15-02) 添加至 20% 之最終濃度。將細胞在冰上培育 45 min , 隨後以冷的 GMB FACS 緩衝液清洗兩次 , 且在 4°C 下與 50 μL 之經螢光異硫氰酸鹽 (FITC) 共軛之兔子抗人類 C1q (20 μg/mL 之最終濃度 (DAKO , 目錄號 F0254) ; 在 GMB FACS 緩衝液中以 1 : 75 稀釋) 在經別藻藍蛋白共軛之小鼠抗 CD8 (BD Biosciences , 目錄號 555369 ; 在 GMB FACS 緩衝液中以 1 : 50 稀釋) 的存在或不存在下於暗處培育 30 min。將細胞以冷 GMB FACS 緩衝液清洗兩次 , 再懸浮於以 2 mM 乙二胺四乙酸 (EDTA ; Sigma-Aldrich , 目錄號 03690) 及 4',6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 生存力染料 (1 : 5,000 ; BD Pharmingen , 目錄號 564907) 補充之 20 μL 之

GMB FACS緩衝液中。C1q與活細胞之結合(如以DAPI排出所鑑定)係以流式細胞測量術在iQue3 Screener (Intellicyt Corporation)上分析。數據係使用iQue軟體(Intellicyt Corporation ForeCyt[®] Enterprise Client Edition 6.2 [R3]，6.2.652版)分析。結合曲線係使用非線性迴歸分析法(具有可變斜率的S形劑量反應)，使用GraphPad Prism軟體分析。

結果

圖 27A 顯示雖然觀察到與經膜結合之 IgG1-CD52-E430G 的劑量依賴性 C1q 結合，但是未觀察到與經膜結合之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 或 IgG1-huCD3-FEAL，或與未結合之對照抗體之 C1q 結合。

B. C1q 與經 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 結合至表現 CD30 之細胞之結合

補體蛋白質 C1q 與經 CD30 結合之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 和 IgG1-huCD30-MDX060-FERR 之結合係使用 NCEB-1 套膜細胞淋巴瘤細胞測試。包括 IgG1-7D8-E430G (抗 CD20) 作為陽性對照物，其不含有惰性突變且保留結合至 C1q 的能力。包括 IgG1-b12-FERR 作為未結合之陰性對照抗體。

將 NCEB-1 細胞以 2×10^6 個細胞/mL 之濃度懸浮於含有 0.1% 之牛血清白蛋白 (BSA，fraction V，Roche，目錄號

10735086001)及1%之青黴素/鏈黴素(Gibco, 目錄號15140-122)之檢定培養基(RPMI-1640 (Lonza, 瑞士, 目錄號BE12-115F))中。將腫瘤細胞(100,000個細胞於50 μ L中)添加至96孔圓底盤(Greiner Bio, 目錄號650180)中。接下來, 將30 μ L之BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR、IgG1-CD30-MDX060-FERR或對照抗體(在檢定培養基中以3倍稀釋步驟稀釋至 5.6×10^{-5} 至10 μ g/mL之最終濃度)添加至每一孔中且在37°C下培育15 min以容許抗體結合至細胞。

將一半的細胞(40 μ L之細胞懸浮液, 含有抗體)平舖在不同的盤中以檢查抗體結合。BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR和IgG1-CD30-MDX060-FERR與NCEB-1細胞之結合係以流式細胞測量術使用經R-藻紅素(PE)-共軛之山羊抗人類IgG F(ab')₂ (在FACS緩衝液中以1:500稀釋; Jackson ImmunoResearch, 目錄號109-116-098)證實。

將人類血清(10 μ L/孔; Sanquin, 批號21K04-01)添加至剩餘的40 μ L之細胞懸浮液中(20%之最終濃度)且在冰上培育45 min, 隨後以FACS緩衝液清洗, 且在4°C下與25 μ L之經FITC共軛之兔子抗C1q抗體(20 μ g/mL之最終濃度(DAKO, 目錄號F0254); 在FACS緩衝液中稀釋)於暗處培育30 min。將細胞以冷FACS緩衝液清洗, 再懸浮於以TO-PRO™-3生存力染料(1:5000; ThermoFisher, 目錄號T3605)補充之30 μ L之FACS緩衝液中且在iQue3 Screener (Intellicyt Corporation)上測量。數據係使用iQue軟體

(Intellicyt Corporation, ForeCyt[®] Enterprise Client Edition 6.2 [R3], 6.2.652版)分析。結合曲線係使用非線性迴歸分析法(具有可變斜率的S形劑量反應),使用GraphPad Prism軟體分析。

結果

圖 27B 顯示雖然觀察到與經膜結合之 IgG1-CD20-E430G 的劑量依賴性 C1q 結合,但是未觀察到與經膜結合之 BsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 或 IgG1-CD30-MDX060-FERR,或與未結合之對照抗體之 C1q 結合。

因此,該等結果證明 bsG1-huCD3-FEALxCD30-MDX060-FERR 不結合 C1q,證實功能上的惰性主鏈。

```

<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="894857中譯序列表
.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0" productionDate="2023-
02-03">
  <ApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>TW</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>111138087</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-10-06</FilingDate>
  </ApplicationIdentification>
  <ApplicantFileReference>P0177</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>EP21201712.3</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2021-10-08</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">丹麥商珍美寶股份有限公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>GENMAB A/S</ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="zh">結合至 C D 3 0 及 C D 3 之抗體</InventionTitle>
  <InventionTitle languageCode="en">Antibodies binding to CD30 and
CD3</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>55</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier id="q1">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>VH CDR1</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>VH CDR1</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>

```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q2">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSFSAYY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q3">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH CDR2</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VH CDR2</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
</INSDSeq>
```

```

<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q4">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>INHGGGT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q5">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH CDR3</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VH CDR3</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="3">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>

```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q6">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASLTAY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VL CDR1</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VL CDR1</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```

</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q8">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QGISSW</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="6">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q11">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VL CDR3</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VL CDR3</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>

```

```
<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql2">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QQYDSYPIT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql3">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH CDR1</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VH CDR1</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql4">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFNTYA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier id="ql5">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>VH CDR2</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>VH CDR2</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    <INSDQualifier id="ql6">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IRSKYNNYAT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql7">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH CDR3</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VH CDR3</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>3</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql8">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>H or G</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>H或G</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql9">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>VRXGNFGNSYVSWFAY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VL CDR1</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VL CDR1</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
```

```

<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q21">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TGAVTTSNY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q24">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VL CDR3</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VL CDR3</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>

```

```
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q25">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ALWYSNLWV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>112</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q26">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VH</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..112</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q27">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIRQPPGKGLEWIGDINHGGGTNYPNPS
LKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCASLTAYWGQGS�TVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q28">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VL</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VL</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q29">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPTSLASVGDRVTITCRASQGISSWLTWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFLTITSLQPEDFATYYCQYDSYPITFGQGRLEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>125</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q30">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>VH</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>VH</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>SITE</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>101</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q31">
```

```
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>H or G</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>H或G</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..125</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q32">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY
ADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQMNNLKTEDTAMYVCVRXGNFGNSYVSWFAYWGGQTLVTVSS</INSDSeq_sequenc
e>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>109</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..109</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q33">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>VL</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>VL</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..109</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q34">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTGQAFRGLIGGTNKRAPGVPA
RFGSLIGDKAALTITGAQADDESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>441</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q35">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q36">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIRQPPGKGLEWIGDINHGGGTNYNPS
LKSRTVISVDTSKNQFSLKLNSTAAADTAVYYCASLTAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP
PCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVSCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q37">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

```

    <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q38">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPTSLASVGDRVITICRASQGISSWLTWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRF
SGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYDSYPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>454</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q39">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>

```

```
<INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q40">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY
ADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQMNNLKTEDTAMYYCVRHGNGFSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKHTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>215</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q41">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q42">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QAVVTQEPSFSVSPGGTVTLTCRSSTGAVTTSNYANWVQQTGQAFRGLIGGTNKRAPGVPA
RFGSLIGDKAALTITGAQADESIYFCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF
YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</INSDS
eq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>446</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..446</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier id="q43">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..446</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q44">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFDYYITWVRQAPGQGLEWMGWIYPGSGNTKYNE
KFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCANYGNYWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>218</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..218</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q45">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..218</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q46">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKASQSVDFDGSYMNWYQQKPGQPPKLLIYAASNLESGV
PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSNEDPWTFGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</IN
SDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>452</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..452</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier id="q47">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..452</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q48">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQQSGAELARPGASVKMSCKASGYTFTTYTIHWVRQRPGLDLEWIGYINPSSGYSYDYNQ
NFKGKTTTLTADKSSNTAYMQLNSLTSEDSAVYYCARRADYGNYEYTWFAIWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV
PKSCDKHTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_
sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q49">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q50">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPKFMSTSVGDRVTVTCKASQNVGTNVAWFQQKPGQSPKVL IYSASYRYS GVPDRF
TGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYHTYPLTFGGGTKLEINRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>454</INSDSeq_length>
```

```
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier id="q51">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q52">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFSDYYMNWVRQPPGKALEWLGFI RNKANGYTTEF
SASVMGRFTISRDDQSILYLQMNTRLAEDSATYYCARDPPYGNPHYYAMDYWGQGTSTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKS
TSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 26" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>218</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..218</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q53">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..218</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q54">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCRASKSVSASGYNYMHWYQQKAGQPPKLLIHLASNLESGV
    PARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDASTYYCQHSGLPFTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
    FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</IN
    SDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 27" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>441</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q55">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q56">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLQQIGAELVRPGASVKLSCKASGYTFNNYWINWVKQRPQGQLEWIGNIYPSDSRSNYNQ
KFKDKATLTVDKPSSAYMQLSSPTSEDSAVYYCTLGSYWGGTLTVTSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP
PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 28" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>219</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q57">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q58">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DVVMTQTPLTSLVTLGQPASISCKSSQSLSDSDGKTYLNWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSG
VPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEADLGVIYCWQGAHFPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</I
NSDSeq_sequence>
```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 29" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>450</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..450</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q59">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..450</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVTLKESGPGILQPSQTLSTLTCFSGFSLSTSGMGVSWIRQPSGKDLEWLAHIYWDDDKRYN
    PSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITSVDTADTATYYCARRADGLYFYLDVWGAGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGG
    TAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPK
    SCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQNS
    TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
```

```
VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSOSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_se
quence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q61">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q62">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVNTNVAWYQQKPGQSPEALIYSASYRYSQVDPDRF
    TGSGSGTDFTLTISNVQSEDLAEYFCQQYNSYPLTFGSGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
    EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
```

```
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>441</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q63">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q64">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QVQLQQGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWVKQRPQGGLIEWIGNIYPSDSYSNYNQ
    KFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYCTLSYWGQGTLVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
    DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP
    PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
```

```
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>219</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q65">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q66">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DVVMTQTPLTSLVTPGGPSLISLQDLSGKTYLWLLQRPQGSPKRLIYLVSKLDSG
VPDRFTGSGSGTDFTLKISRVEADLGVYYCWQGAHFPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</I
```

```
NSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 33" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>452</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..452</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q67">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..452</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVTLKESGPGILQPSQTLSTCSFSGFSLSVSGMGVSWIRQPSGKGLEWLAHIHWDDRRSN
  PSLRSRLTISKDTSNNQVFLKITSVDTADTATYYCARRPDLYGNYYFFDFWGGQTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
  GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE
  PKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
```

```
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_
sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 34" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q69">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q70">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVFTNVAWYQQKLGQSPKPLIYSASYRYSQVDPDRF
  TGSGSGTDFTLTISDVQSEDLAEYFCQQYNSYPVTFGAGTKLELKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
```

```
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>454</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q71">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..454</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q72">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>EVKLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVARIRSKYNNYATYY
    ADSVKDRFTISRDDSKSSLYLQMNNLKTEDTAMYCYVRGGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKS
    TSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
```

```
VEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</ INSDSe
q_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>456</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q73">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q74">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEGWGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAPSS
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMHREALHNHYTQKSLSLSPG</INSD
Seq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 37" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>215</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q75">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q76">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</INSDSeq>
```

表單編號 A0202

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFIHWVRQAPGQRFQFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAPSS
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVHLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSD
Seq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>577</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..577</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q79">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>FPQDRPFEDTCHGNPSHYIDKAVRCCYRCPMGLFPTQQCPQRPTDCRKQCEPDYYLDEADR
CTACVTCSRDDLVEKTPCAWNSSRVCECRPGMFCSTSAVNSCARCFHSHVCPAGMIVKFPGTAQKNTVCEPASPGVSPAC
ASPENCKEPSSGTIPQAKPTPVSPATSSASTMPVRGGTRLAQEAASKLTRAPDSPSSVGRPSSDPGLSPTQPCPEGSGDC
RKQCEPDYYLDEAGRCTACVSCSRDDLVEKTPCAWNSSRTCECRPGMICATSATNSCARCVYPICAAETVTKPQDMAEK
DTTFEAPPLGTQPCNPTPENGEAPASTSPTQSLLVDSQASKTLPIPTSAPVALSSTGKPVLDAGPVLFVWILVLVVVVVG
SSAFLLCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSQPKLELVDSRPRSSSTQLRSGASVTEPVAEERGLMSQPLMETCHSVGAAYL

```

```
ESLPLQDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNKIEKIIYIMKADTVIVGTVKAELPEGRGLAGPAEPELEEELEADHTPHY
PEQETEPPLGSCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>487</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..487</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql08">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Macaca fascicularis</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>食蟹獼猴</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>FPQDRPFEDTCRGNPGHYDKA VRRCCYRCPTGT AQKNTVCEPASPGVSPACASPENCKEPS
SGTIPQAKPTPVSPATSNASTMPLRGGTRLAQEAASKLTRAPGSPSSVGRPSSDPGLSPTQPCPQSGDCRKQCEPDYYL
DEAGRCTACVSCSRDDLVEKTPCAWNSSRICCRPGMICATSATNSCARCVYPICAAETGTKPQDMAEKDTTFEAPPVG
TQPDCSPTPENGEAPASTSPTLSSLVDSQASKTLPIPTSAPIALSSTGKPVLDAGPVLFVWILVLAVVVGSSTFLLCHRR
ACRKRIRQKLHLCYPVQTSRPKLELVDSRPRSSTQFESGTFVTKPSAEELGLMSLPPKETCRNVGAACPESLPLWDASP
AGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNRIEKIIYIMKADTVIVGTVKAELPEGQGLAGPAEPELEEELEADHAPHYPEQETEPPLG
SCSDVMLSVEEEGKEDPLPTAASGK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>577</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..577</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql09">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Macaca mulatta</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>恆河獼猴</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>FPQDRPFEDTCRGNPGHYD KAVRCCYRCPMGLFPTQQCPQRPADCRKQCEPDYYLDEAGR
CTACVSCSRDDLVEKMPCAWN SSRVCECQPGMFC AVSVVN SCARCFH SVCPAGMIVKFPGTAQKNTVCEPASPGVSPAC
ASPENCKEPSSGTIPQAKPTVSPATSNASTMPLRGGTRLAQEAASKLTRAPGSPSSVGRPSSDPGLSPTQPCPQGS GDC
RKQCEPDYYLDEAGRCTACVSCSRDDLVEKTPCAWNSSRICCRPGMICATSATNSCARCVYPYICAAETGTKPQDMAEK
DTTFEAPPVGTQPDCSPTPENGEAPASTSPTLSSLVDSQASKTLPIPTSAPIALSSTGKPVLDAGPVLFVWVILVLAVVVG
SSTFLLCHRRACRKRIRQKLHLCYPVQTSRPKLELVDSRPRRSSTQFESGTFVTKPSAEELGLMSLPPKETCRNVGAACP
ESLPLWDASPAGGPSSPRDLPEPRVSTEHTNNRIEKIYIMKADTVIVGTVKAELPEGQGLAGPAEPELEEELEADHAPHY
PEQETEPPLGSCSDVMLSVEEKGKEDPLPTAASGK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>186</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..186</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
```

```

    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql10">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>智人</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGEDDDKNIGSDEDHLS
LKEFSELEQSGYYVCYPRGSKPEDANFYLYLRARCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVT
RGAGAGGRQGRQNKERPPVPNPDIYPIRKQGRDLYSGLNQRRRI</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>177</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..177</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql11">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Macaca fascicularis</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>食蟹獼猴</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QDGNEEMGSITQTPYQVSISGTTVILTCSQLGSEAQWQHNGKNKEDSGDRLFLPEFSEMEQ
SGYYVCYPRGSPEDASHHLYLKARVCENCMEMDVMAVATIVIVDICITLGLLLLVEYYWSKNRKAKAKPVTNRGAGAGGRQ
```

```
RGQNKERPPPPVNPDPYEP IIRKGQQDLYSGLNQRR I</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 44">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql12">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恒定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql13">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 45">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql14">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql15">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 46" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql16">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql17">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql18">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql19">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 48">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q120">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q121">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 49" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q122">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q123">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ
```

```

GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="50">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier id="q124">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q125">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
<NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ

```

```
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q126">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q127">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVAVVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 52" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>329</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q128">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Constant region</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>恆定區</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q129">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
  YSLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
  TCVVAVVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
  KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ
```

```
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 53" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="ql30">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql31">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
  DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="54">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>106</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..106</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier id="q132">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>Light chain</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>輕鏈</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..106</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q133">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS
NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="55">

```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>441</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier id="ql34">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>Heavy chain</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>重鏈</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..441</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="ql35">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSAYYWSWIRQPPGKGLEWIGDINHGGGTNYNPS
LKSRTISVDTSKNQFSLKLSNVTAAADVYYCASLTAYWGQGS�TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK
DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP
PCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNYHTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
```

</SequenceData>
</ST26SequenceListing>

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種多特異性抗體，其包含：

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列。

【請求項2】如請求項1之多特異性抗體，其中該第一重鏈可變區及/或該第一輕鏈可變區為人類。

【請求項3】如請求項1或2之多特異性抗體，其中該第二重鏈可變區及/或該第二輕鏈可變區係經人源化。

【請求項4】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其中在SEQ ID NO：9中的X為H。

【請求項5】如請求項1至3中任一項之多特異性抗體，其中在SEQ ID NO：9中的X為G。

【請求項6】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其中該第一重鏈可變區包含以SEQ ID NO：13列出之序列及該第一輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：14列出之序列。

【請求項7】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其中該第二重鏈可變區包含以SEQ ID NO：15列出之序列及該第二輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：16列出之序列。

【請求項8】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其中該多特異性抗體為雙特異性抗體。

【請求項9】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其中該多特異性抗體包含由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區。

【請求項10】如請求項9之多特異性抗體，其中該Fc區為IgG1 Fc區，較佳為人類IgG1 Fc區。

【請求項11】如請求項9或10之多特異性抗體，其中該多特異性抗體為全長抗體。

【請求項12】如請求項9至11中任一項之多特異性抗體，其包含惰性Fc區。

【請求項13】如請求項9至12中任一項之多特異性抗體，其中該第一及/或第二Fc多肽包含對應於在人類IgG1重鏈中位置L234及/或L235上的胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地分別取代成F和E，其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項14】如請求項12或13之多特異性抗體，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代，且其中該第一及/或第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的

胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地取代成R，其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項15】如請求項14之多特異性抗體，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代，且其中該第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地取代成R。

【請求項16】如請求項12或13之多特異性抗體，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代，且其中該第一及/或第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置D265上的胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地取代成A，其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項17】如請求項16之多特異性抗體，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代，且其中該第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置D265上的胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地取代成A。

【請求項18】如請求項12至14中任一項之多特異性抗體，其中該第一和第二Fc多肽之一包含對應於位置L234、L235和G236上的胺基酸分別取代成F、E和R之胺基酸取代，且另一Fc多肽包含對應於位置L234、L235E和D265上的胺基酸分別取代成F、E和A之胺基酸取代，其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項19】如請求項18之多特異性抗體，其中該第一Fc多肽及該第一重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內，及其中該第二Fc多肽及該第二重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內。

【請求項20】如請求項19之多特異性抗體，其中該第一Fc多肽包含對應於位置L234、L235和G236上的胺基酸分別取代成F、E和R之胺基酸取代，且該第二Fc多肽包含對應於位置L234、L235E和D265上的胺基酸分別取代成F、E和A之胺基酸取代，其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項21】如請求項9至20中任一項之多特異性抗體，其中在該第一Fc多肽中，在對應於人類IgG1重鏈中的選自由：T366、L368、K370、D399、F405、Y407和K409所組成之群組的位置之位置上的胺基酸中至少一者已被取代，且在該第二Fc多肽中，在對應於人類IgG1重鏈中的選自由：T366、L368、K370、D399、F405、Y407和K409所組成之群組的位置之位置上的胺基酸中至少一者已被取代，且其中在該第一和第二Fc多肽中的該取代不在相同的位置上，其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項22】如請求項21之多特異性抗體，其中在對應於F405之位置上的該胺基酸為該第一Fc多肽中的L，及其中在對應於K409之位置上的該胺基酸為該第二Fc多肽中的R，或反之亦然。

【請求項23】如請求項22之多特異性抗體，其中在對

應於 K409 之位置上的該胺基酸為該第一 Fc 多肽中的 R，及其中在對應於 F405 之位置上的該胺基酸為該第二 Fc 多肽中的 L。

【請求項 24】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其包含：

(i) CD30 結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：1、2 和 3 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：4、5 和 6 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及

(ii) CD3 結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：7、8 和 9 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以 SEQ ID NO：10、11 和 12 列出之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列；

其中該多特異性抗體為雙特異性抗體，且包含由第一和第二 Fc 多肽所組成之 Fc 區；

其中該第一 Fc 多肽及該第一重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內，及其中該第二 Fc 多肽及該第二重鏈可變區包含在相同的多肽鏈內；

其中該第一 Fc 多肽包含對應於位置 L234、L235 和 G236 上的胺基酸分別取代成 F、E 和 R 之胺基酸取代，且該第二 Fc 多肽包含對應於位置 L234、L235 和 D265 上的胺基酸分別取代成 F、E 和 A 之胺基酸取代，其中該胺基酸位置

係根據Eu編號所定義；及

其中在對應於K409之位置上的該胺基酸為該第一Fc多肽中的R，及其中在對應於F405之位置上的該胺基酸為該第二Fc多肽中的L。

【請求項25】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：17和19列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列。

【請求項26】如前述請求項中任一項之多特異性抗體，其包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：17和19列出之重鏈序列及以SEQ ID NO：18和20列出之輕鏈序列，其中該多特異性抗體為雙特異性抗體。

【請求項27】如請求項1至8中任一項之多特異性抗體，其中

- (i) 該CD30結合區及/或該CD3結合區為Fab，
- (ii) 該CD30結合區及/或該CD3結合區為scFv，
- (iii) 該CD30結合區為Fab及該CD3結合區為scFv，或
- (iv) 該CD30結合區為scFv及該CD3結合區為Fab。

【請求項28】一種核酸構築體或核酸構築體之組合，其編碼如前述請求項中任一項之多特異性抗體。

【請求項29】一種表現載體或表現載體之組合，其包含如請求項28之核酸構築體。

【請求項30】一種遞送媒劑，其包含如請求項28之核酸構築體。

【請求項31】如請求項30之遞送媒劑，其中該遞送媒劑為粒子。

【請求項32】如請求項31之遞送媒劑，其中該粒子為脂質奈米粒子。

【請求項33】如請求項32之遞送媒劑，其中該脂質奈米粒子包含脂質、可離子化的胺基脂質、PEG-脂質、膽固醇或其任何組合。

【請求項34】一種能夠生產如請求項1至27中任一項之多特異性抗體之重組宿主細胞，其中該宿主細胞包含一或多種編碼如前述請求項中任一項之多特異性抗體之核酸構築體。

【請求項35】如請求項34之重組宿主細胞，其中該重組宿主細胞為CHO細胞。

【請求項36】一種醫藥組成物，其包含如請求項1至27中任一項之多特異性抗體及醫藥上可接受的載劑。

【請求項37】如請求項1至27中任一項之多特異性抗體、如請求項28之核酸構築體、如請求項30至33中任一項之遞送媒劑、或如請求項36之醫藥組成物，其係用作為藥劑。

【請求項38】如請求項1至27中任一項之多特異性抗體、如請求項28之核酸構築體、如請求項30至33中任一項之遞送媒劑、或如請求項36之醫藥組成物，其係用於治療癌症。

【請求項39】如請求項1至27中任一項之多特異性抗

體、如請求項28之核酸構築體、如請求項30至33中任一項之遞送媒劑、或如請求項36之醫藥組成物，其係用於治療霍奇金氏(Hodgkin's)淋巴瘤或非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)。

【請求項40】如請求項39使用之多特異性抗體、核酸構築體、遞送媒劑、或醫藥組成物，其中非霍奇金氏淋巴瘤為T細胞非霍奇金氏淋巴瘤(T-NHL)。

【請求項41】如請求項40使用之多特異性抗體、核酸構築體、遞送媒劑、或醫藥組成物，其中T-NHL為皮膚T細胞淋巴瘤(CTCL)或周邊T細胞淋巴瘤(PTCL)。

【請求項42】如請求項39至41中任一項使用之多特異性抗體、核酸構築體、遞送媒劑、或醫藥組成物，其中T細胞非霍奇金氏淋巴瘤(T-NHL)為退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)。

【請求項43】如請求項39使用之多特異性抗體、核酸構築體、遞送媒劑、或醫藥組成物，其中非霍奇金氏淋巴瘤為B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(B-NHL)。

【請求項44】如請求項37至43中任一項使用之多特異性抗體、核酸構築體、遞送媒劑、或醫藥組成物，其中該多特異性抗體、該核酸構築體、該遞送媒劑、或該醫藥組成物已經靜脈內及/或皮下投予，較佳地經皮下投予。

【請求項45】一種生產如請求項1至27中任一項之多特異性抗體之方法，其包含

(i) 將如請求項34或35之重組宿主細胞在其中生產該抗體的條件下培養，且

(ii) 將該生產之多特異性抗體與培養物單離。

【請求項 46】一種生產如請求項 9 至 26 中任一項之多特異性抗體之方法，其包含

a) 提供包含如請求項 1 所述之 CD30 結合區之第一抗體 (i) 及包含如請求項 1 所述之 CD3 結合區之第二抗體 (ii)，其中該抗體視需要地包含如請求項 2 至 26 所述之其他特徵，

其中該第一及第二抗體包含 Fc 區，及

其中該第一及第二抗體的該第一和第二 CH3 區之序列不同，且使得該第一和第二 CH3 區之間的異二聚相互作用比該第一和第二 CH3 區的每一同二聚相互作用更強；

b) 將該第一抗體與該第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育；以及

c) 獲得包含該第一抗體之第一免疫球蛋白重鏈和第一免疫球蛋白輕鏈和該第二抗體之第二免疫球蛋白重鏈和第二免疫球蛋白輕鏈之多特異性抗體。

【請求項 47】一種配件套組 (kit-of-parts)，諸如用作為伴隨診斷/用於鑑定在患者群體內對如請求項 1 至 27 中任一項所定義之抗體的治療具有反應傾向的那些患者之套組，其包含如請求項 1 至 27 中任一項所定義之抗體；及使用該套組之用法說明。

【請求項 48】一種診斷組成物，其包含如請求項 1 至

27中任一項之多特异性抗體。

【請求項49】一種抗體，其包含

(i) CD30結合區，其包含第一重鏈可變區，該第一重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第一輕鏈可變區，該第一輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及

(ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區 其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代，且其中該第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地取代成R，

其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項50】如請求項49之抗體，其中該第一重鏈可變區包含以SEQ ID NO：13列出之序列及該第一輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：14列出之序列。

【請求項51】如請求項49至50中任一項之抗體，其中該抗體包含下列或由下列所組成：以SEQ ID NO：17列出之該重鏈序列及以SEQ ID NO：18列出之該輕鏈序列。

【請求項52】一種抗體，其包含

(i) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、

CDR2和CDR3序列，及

(ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代，且其中該第一和第二Fc多肽另包含對應於在人類IgG1重鏈中位置G236上的胺基酸之胺基酸取代，其中該取代較佳地取代成R，

其中該胺基酸位置係根據Eu編號所定義。

【請求項53】如請求項52之抗體，其中在SEQ ID NO：9中的X為H。

【請求項54】如請求項52之抗體，其中在SEQ ID NO：9中的X為G。

【請求項55】如請求項52至54中任一項之抗體，其中該第二重鏈可變區包含以SEQ ID NO：15列出之序列及該第二輕鏈可變區包含以SEQ ID NO：16列出之序列。

【請求項56】如請求項49至55中任一項之抗體，其中該抗體為全長抗體。

【請求項57】如請求項49至56中任一項之抗體，其中在對應於人類IgG1重鏈中的選自由：T366、L368、K370、D399、F405、Y407和K409所組成之群組的位置之位置上的胺基酸中至少一者已被取代，其中較佳地在對應於F405之位置上的該胺基酸為L或在對應於K409之位置上的該胺基酸為R。

【請求項58】一種生產多特異性抗體之方法，其包含
a) 提供如請求項49至51或55至57中任一項所述之第

一抗體及包含下列的第二抗體：

- (i) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及
- (ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於在人類IgG1重鏈中位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代及對應於位置D265上的胺基酸取代成A之胺基酸取代，

或

提供如請求項52至57中任一項所述之第二抗體及包含下列的第一抗體：

- (i) CD30結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：1、2和3列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：4、5和6列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及
- (ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於在人類IgG1重鏈中位置L234和L235上的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代及對應於位置D265上的胺基酸取代成A之胺基酸取代，

其中該第一及第二抗體的該第一和第二CH3區之序列不同，且使得該第一和第二CH3區之間的異二聚相互作用比該第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強；其中較佳地在對應於F405之位置上的該胺基酸為該第一CH3區中的L及在對應於K409之位置上的該胺基酸為該第二CH3區中的R，或反之亦然，

- b) 將該第一抗體與該第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育；以及
- c) 獲得包含該第一抗體之第一免疫球蛋白重鏈和第一免疫球蛋白輕鏈和該第二抗體之第二免疫球蛋白重鏈和第二免疫球蛋白輕鏈之該多特異性抗體。

【請求項59】一種生產如請求項58之多特異性抗體之方法，其包含

- a) 提供如請求項49至51或55至57中任一項所述之第一抗體及包含下列的第二抗體：
 - (i) CD3結合區，其包含第二重鏈可變區，該第二重鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：7、8和9列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及第二輕鏈可變區，該第二輕鏈可變區包含分別以SEQ ID NO：10、11和12列出之CDR1、CDR2和CDR3序列，及
 - (ii) 由第一和第二Fc多肽所組成之Fc區，其中該第一和第二Fc多肽包含對應於位置L234和L235上

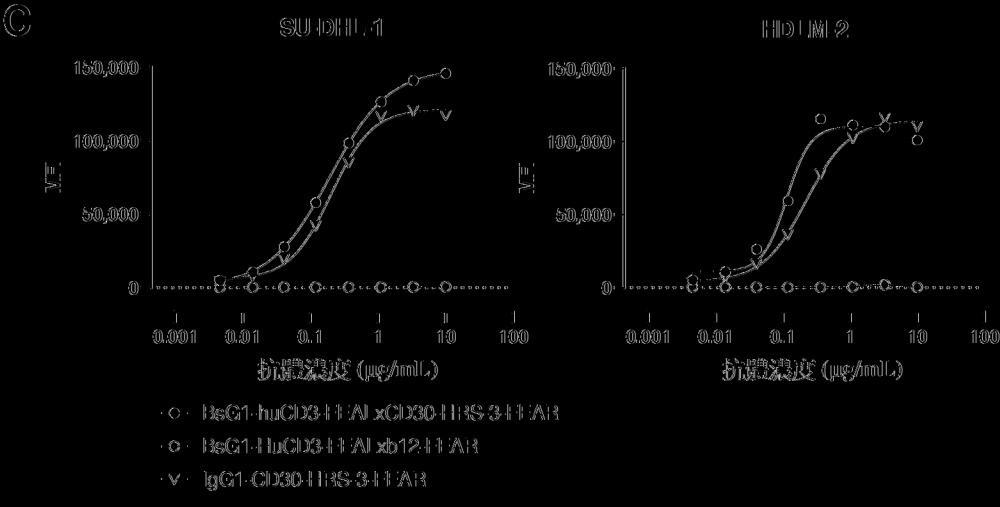
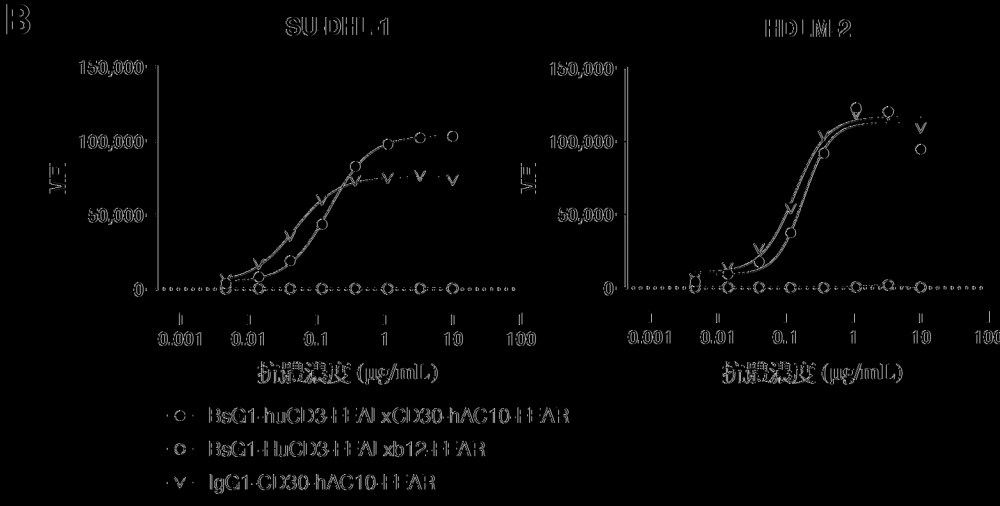
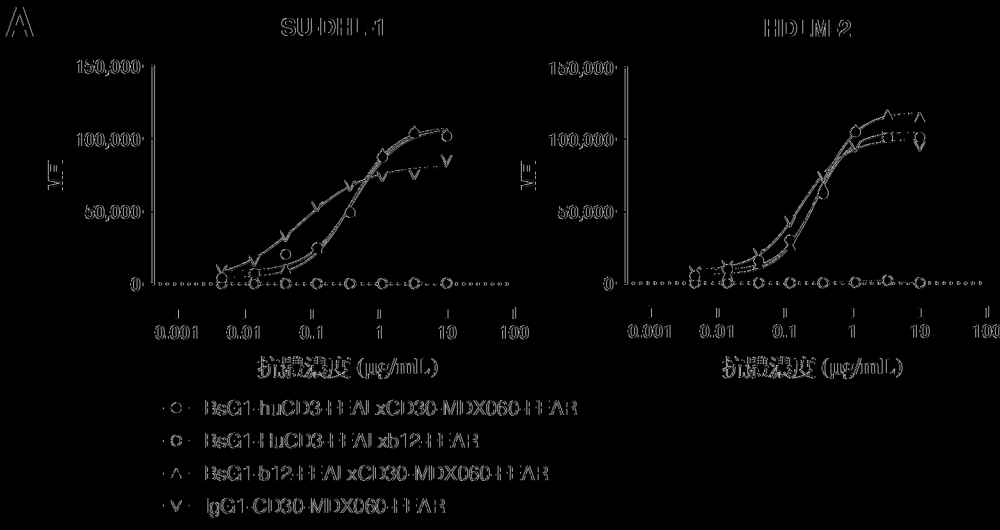
的胺基酸分別取代成F和E之胺基酸取代及對應於在人類IgG1重鏈中位置D265上的胺基酸取代成A之胺基酸取代，

其中該第一及第二抗體的該第一和第二CH3區之序列不同，且使得該第一和第二CH3區之間的異二聚相互作用比該第一和第二CH3區的每一同二聚相互作用更強；其中較佳地在對應於K409之位置上的該胺基酸為該第一CH3區中的R及在對應於F405之位置上的該胺基酸為該第二CH3區中的L，

- b) 將該第一抗體與該第二抗體一起在足以容許在樞紐區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化之還原條件下培育；以及
- c) 獲得包含該第一抗體之第一免疫球蛋白重鏈和第一免疫球蛋白輕鏈和該第二抗體之第二免疫球蛋白重鏈和第二免疫球蛋白輕鏈之該多特異性抗體。

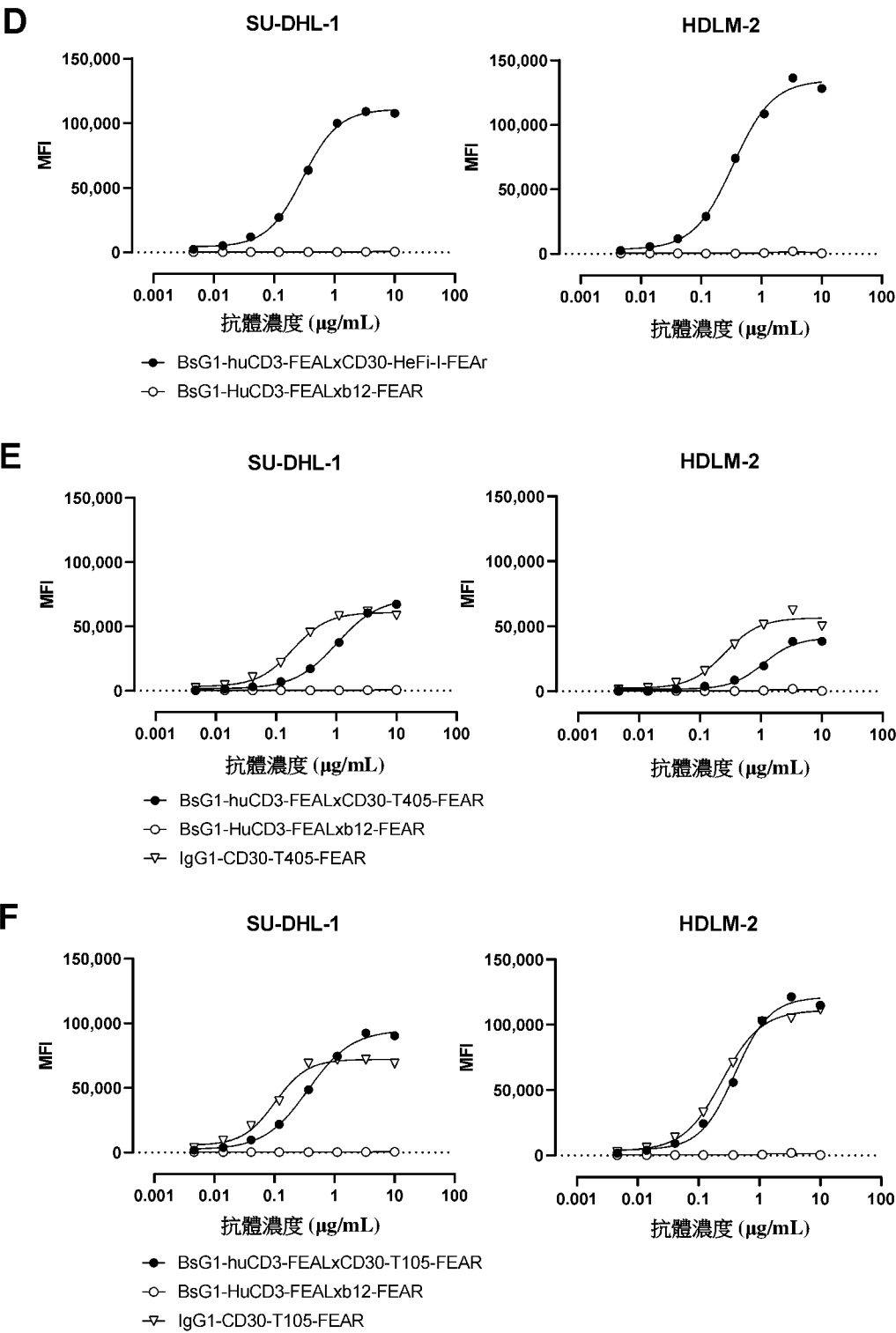
【請求項60】一種以如請求項58至59中任一項所述之方法獲得的多特異性抗體。

|(發明圖式)|

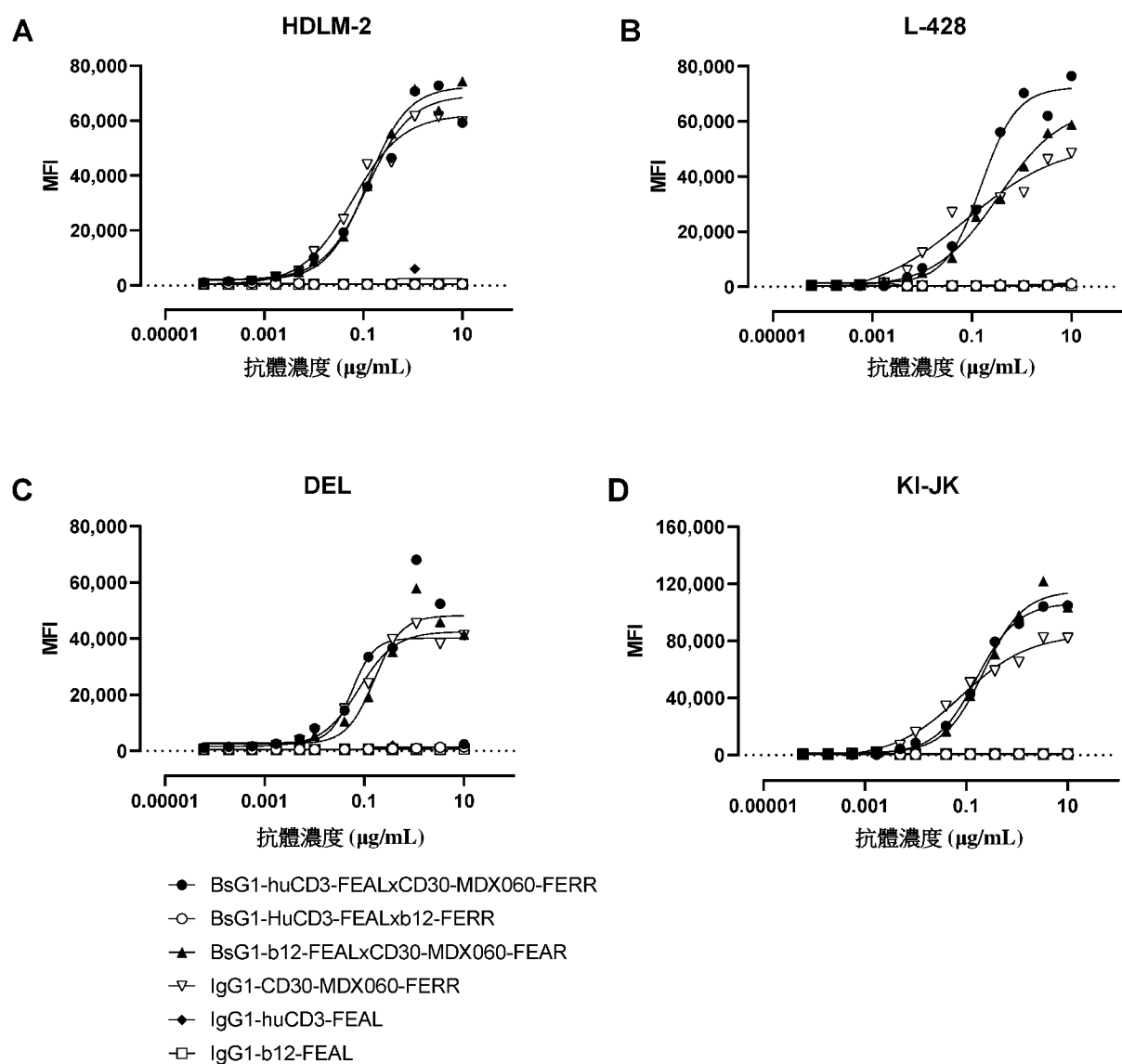


|(發明圖式)|

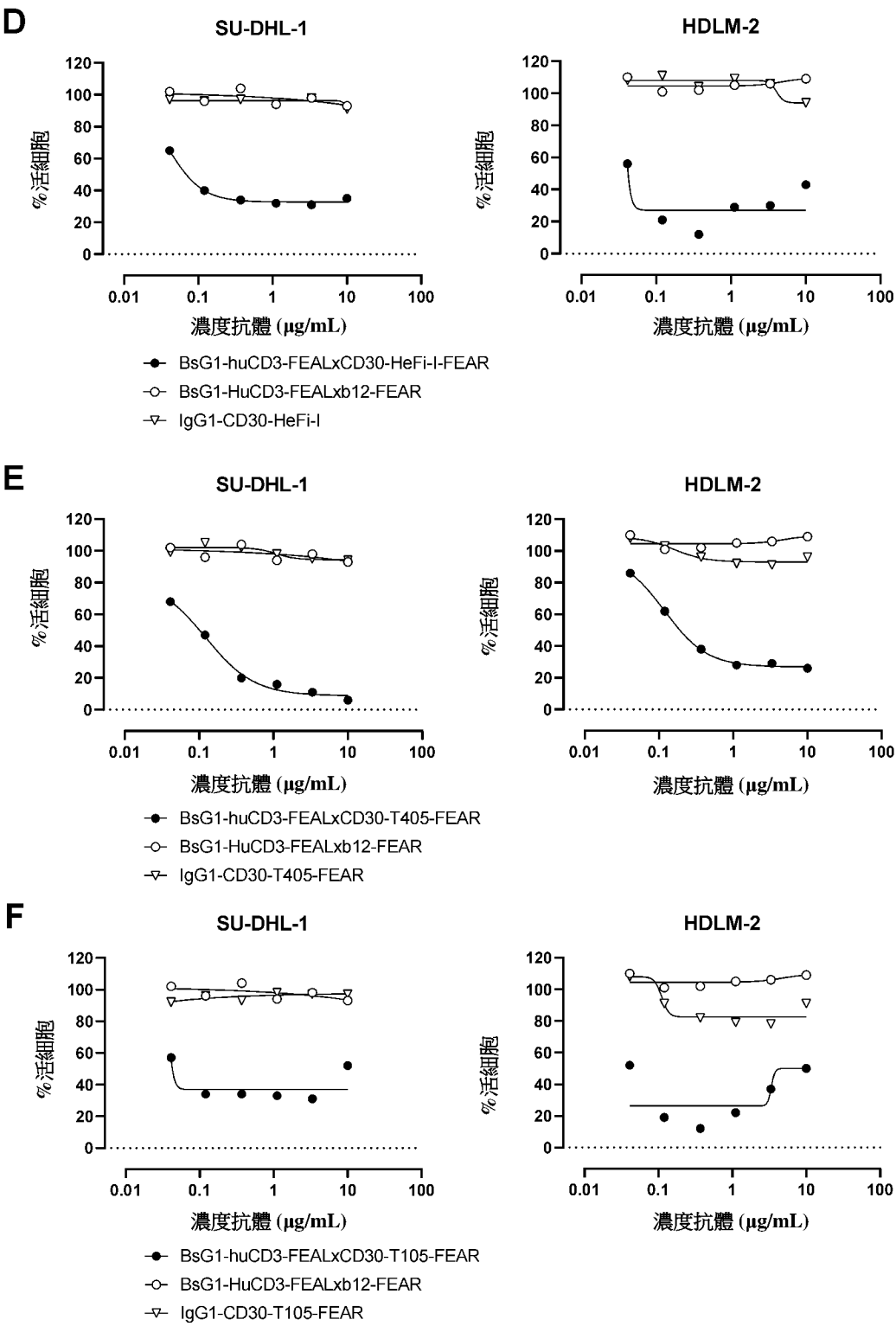
894857



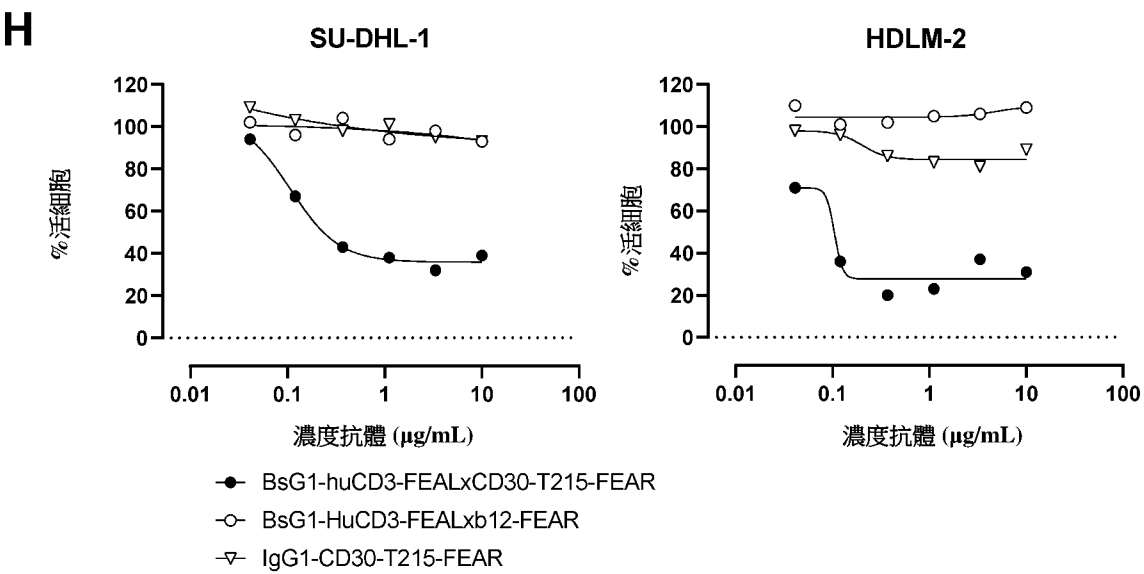
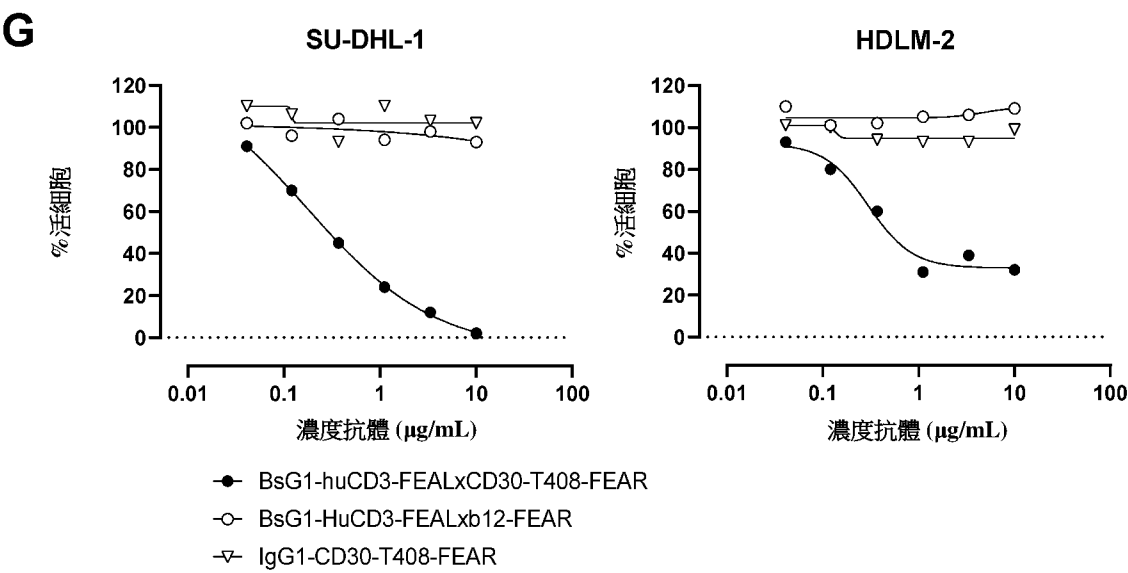
【圖 1】(續)



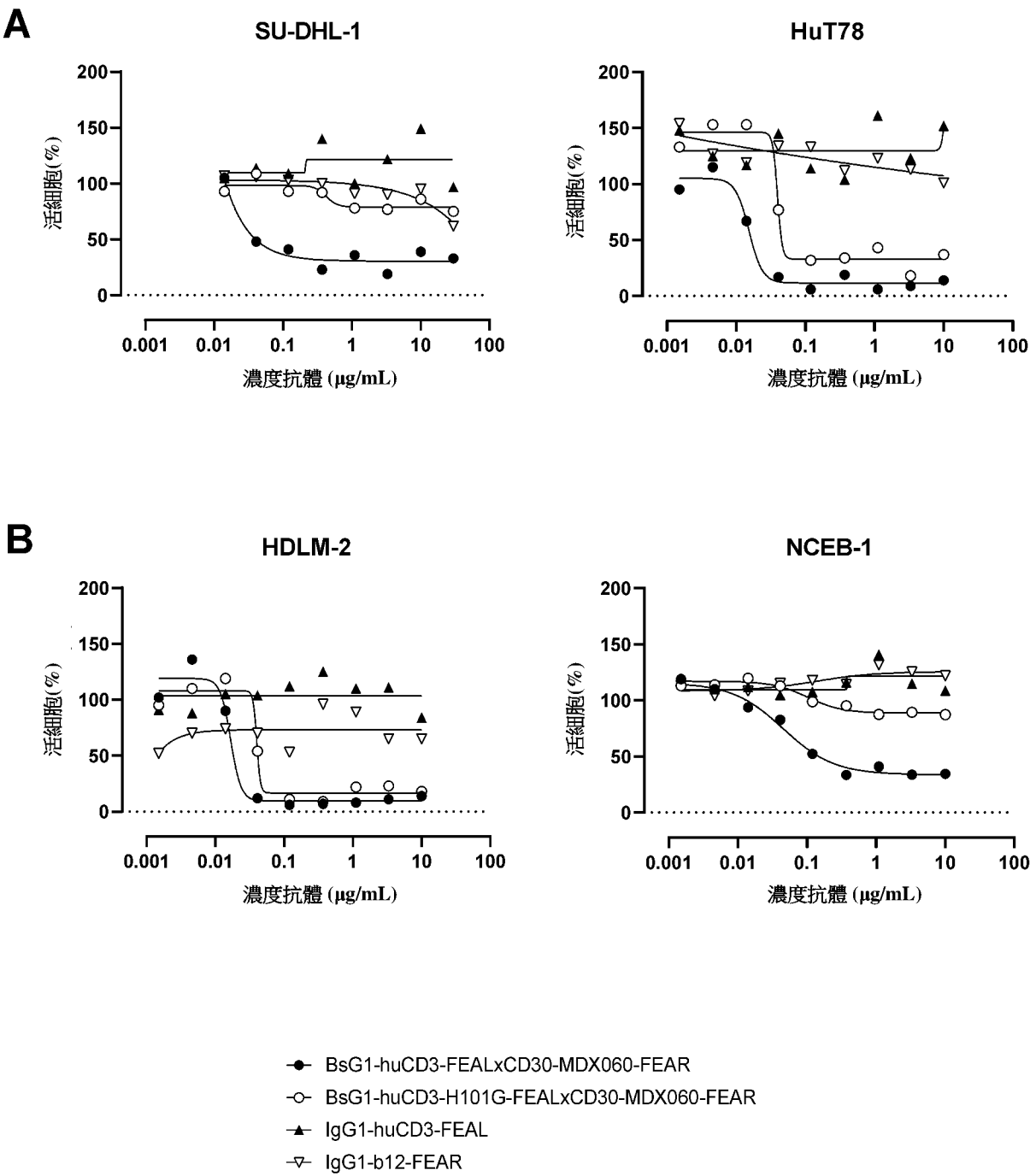
【圖 2】



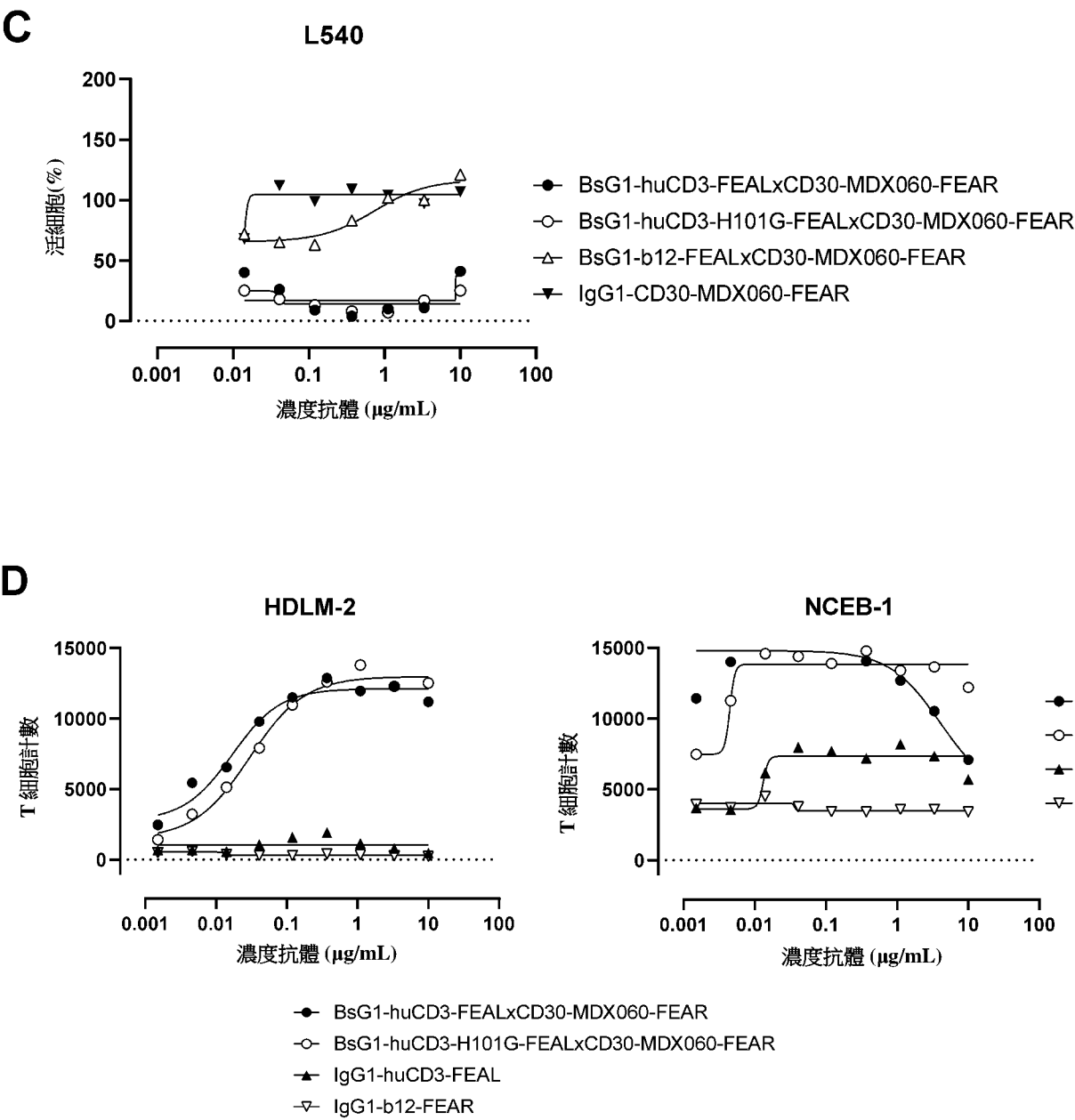
【圖 3】(續)



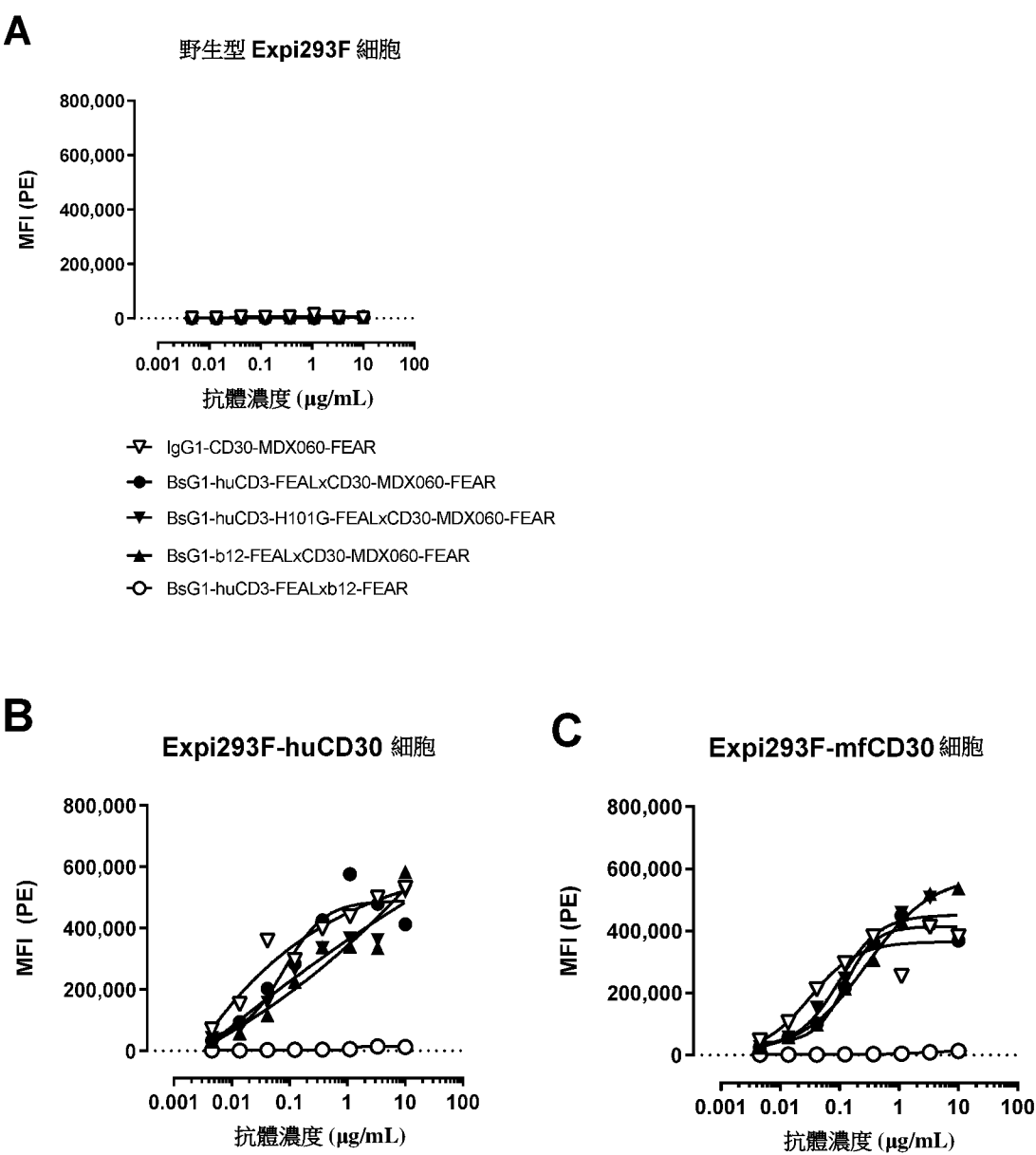
【圖 3】 (續)



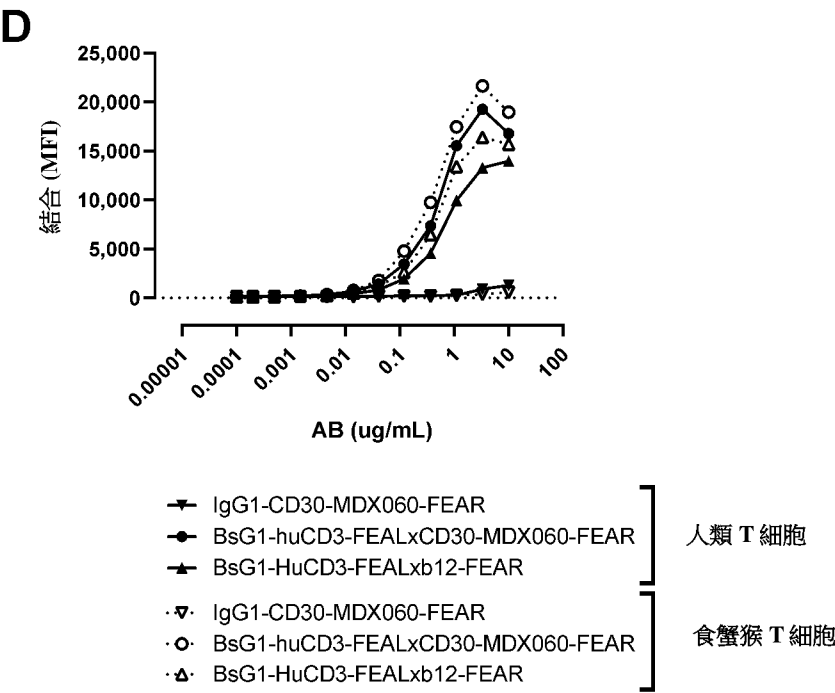
【圖 4】



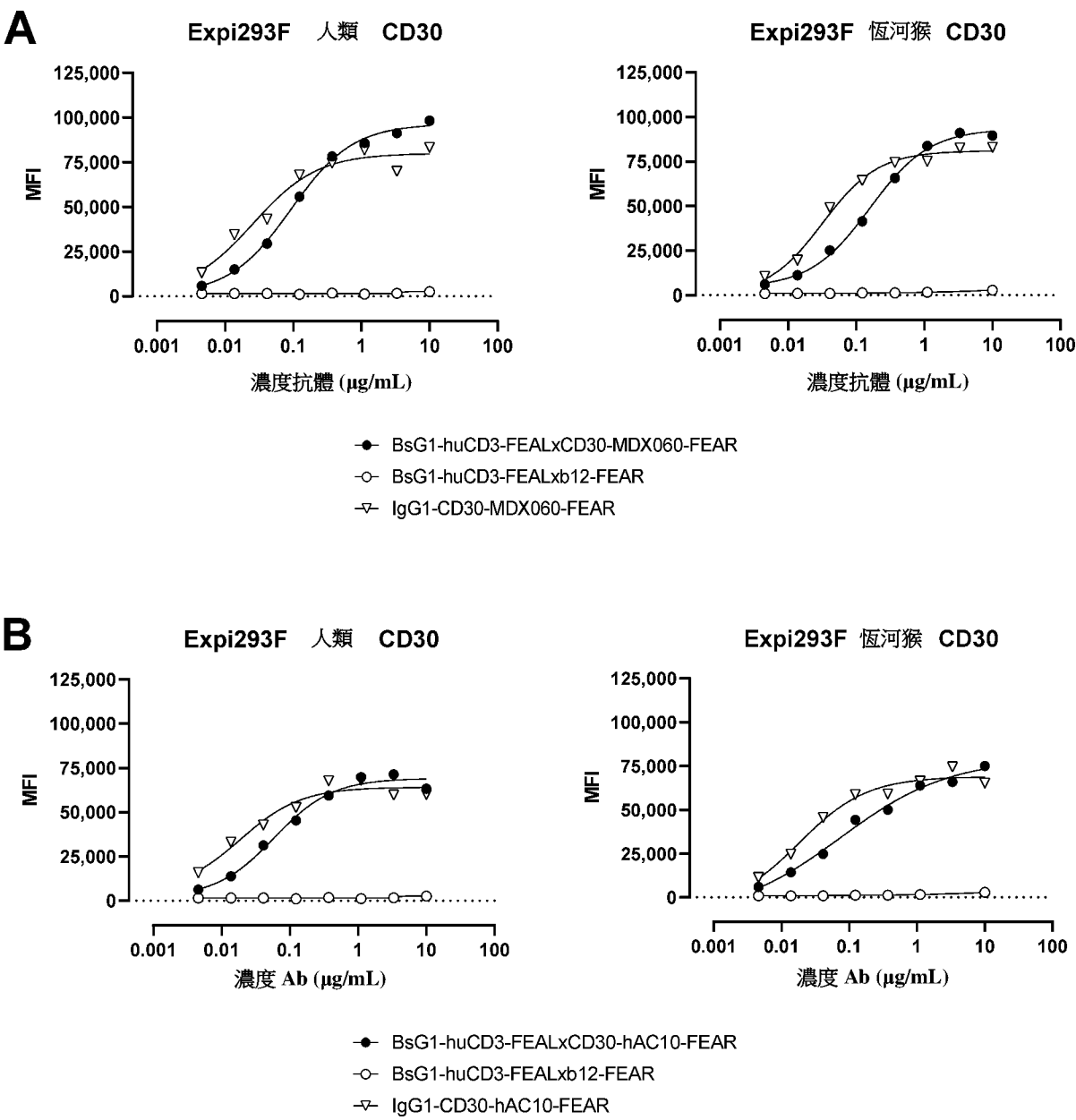
【圖 4】(續)



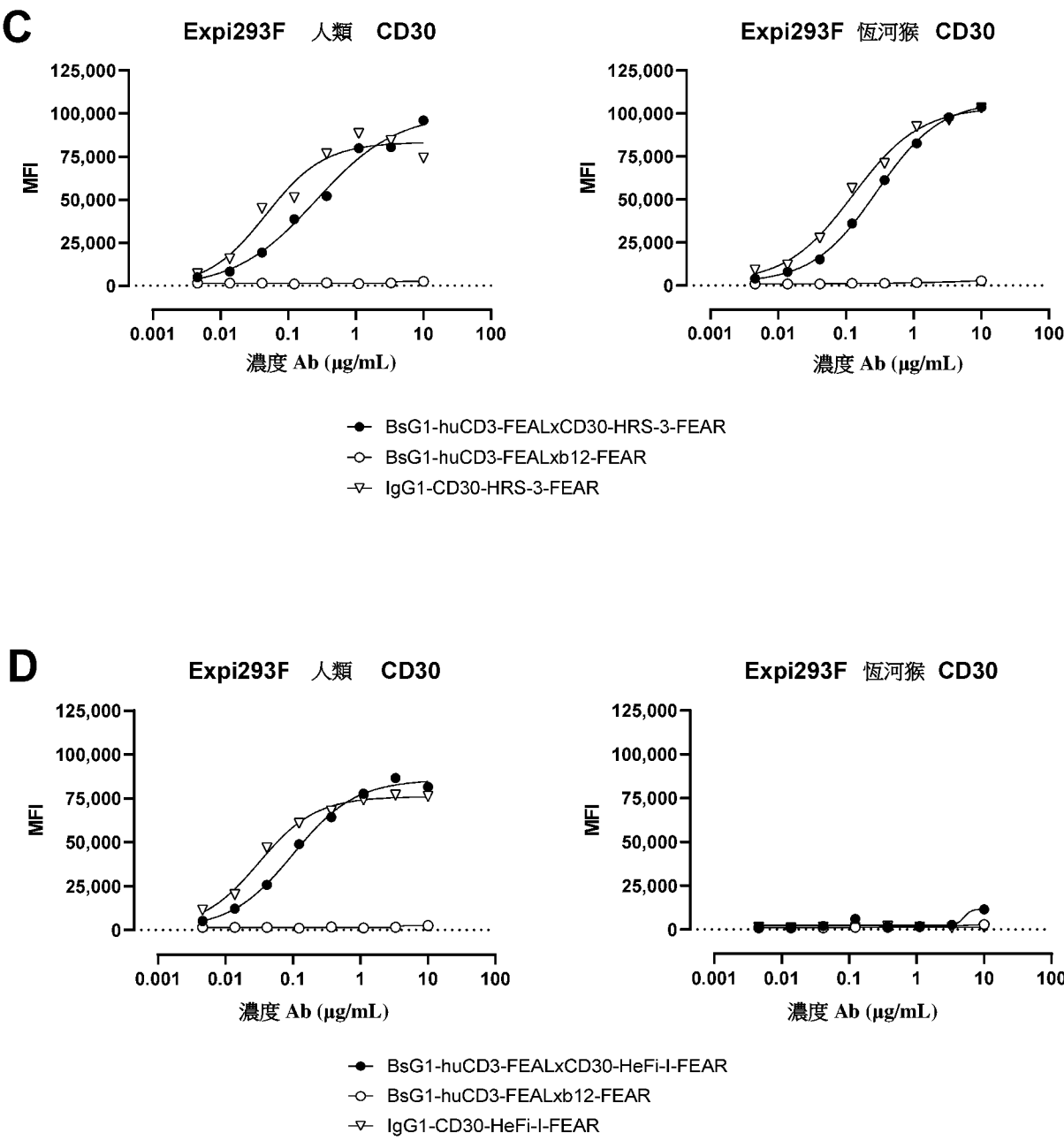
【圖 5】



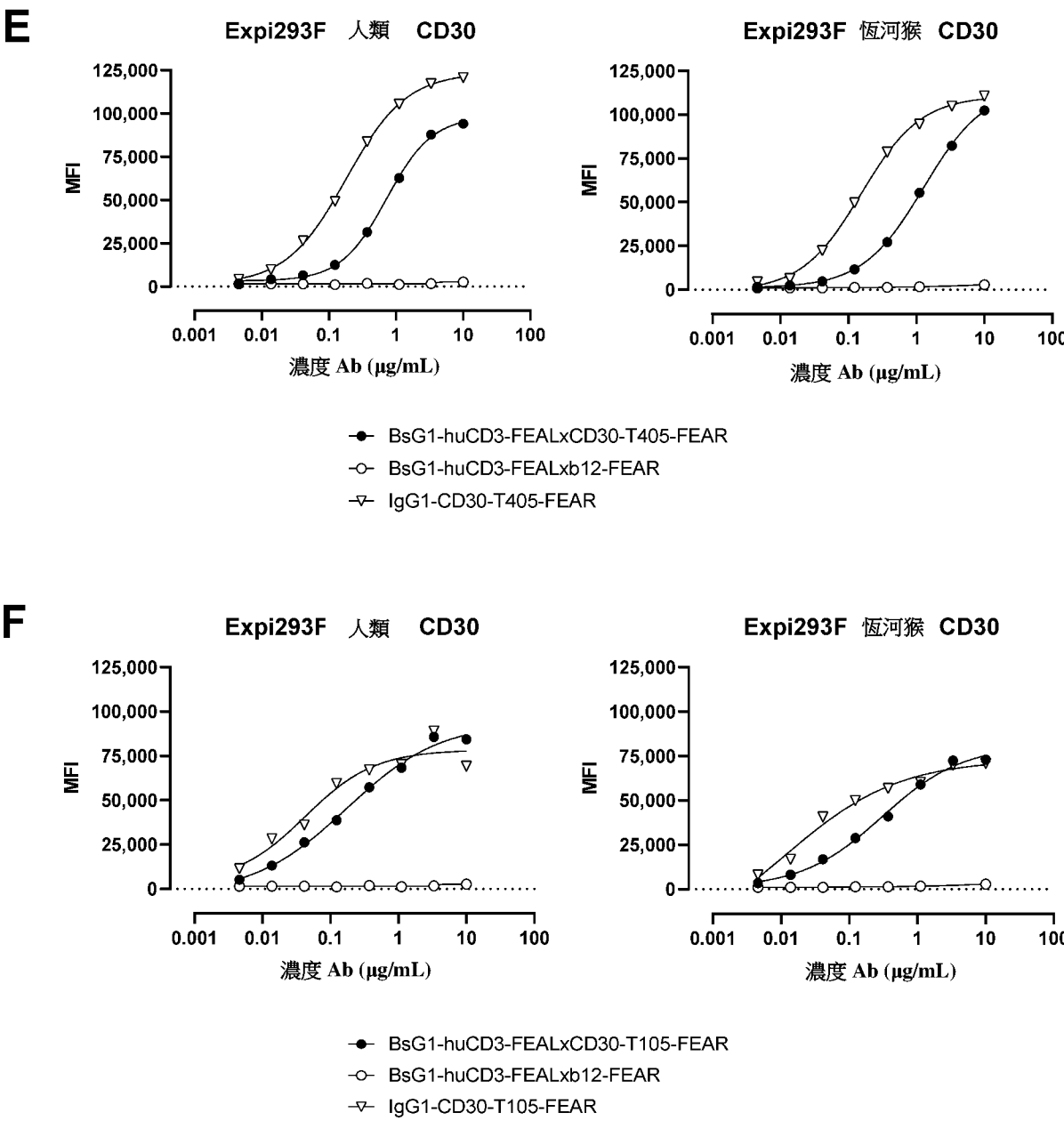
【圖 5】(續)



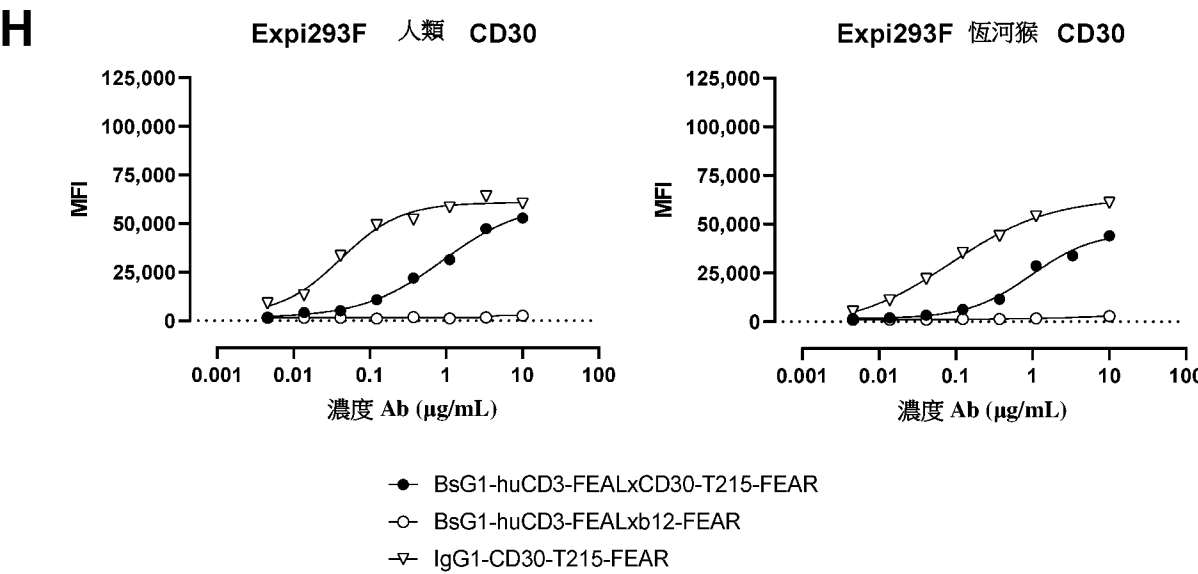
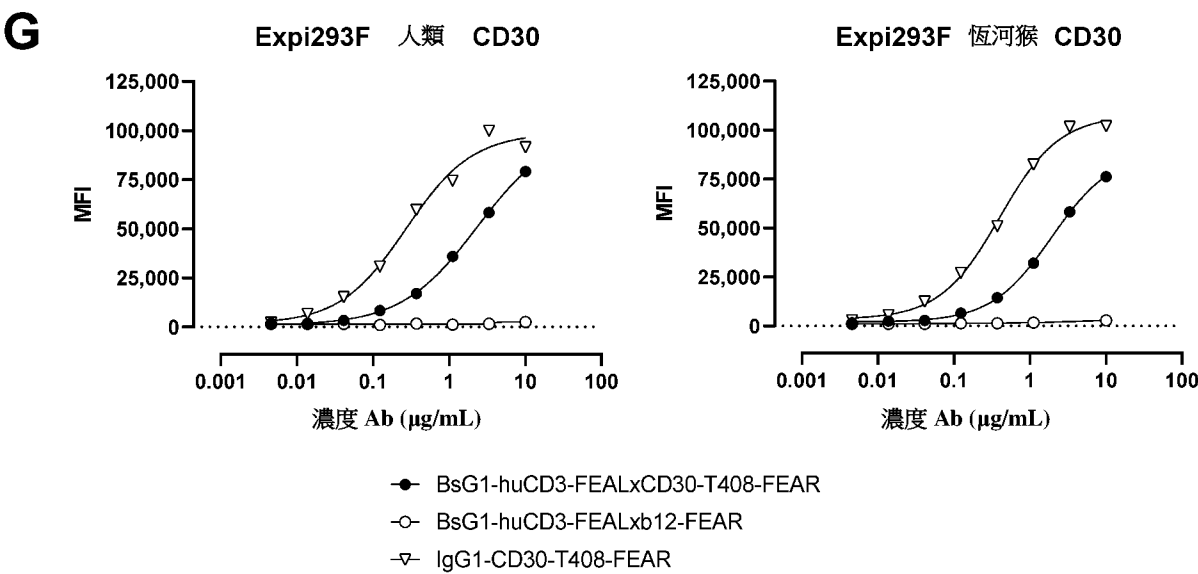
【圖 6】



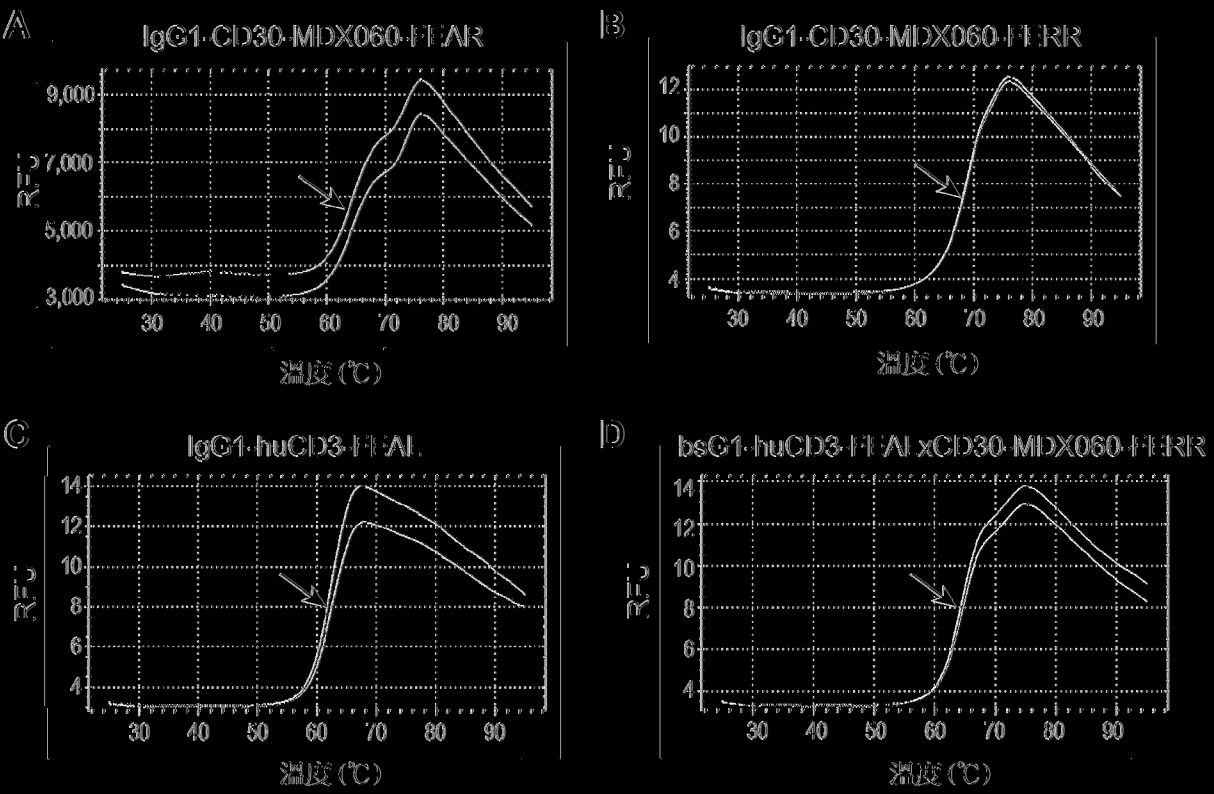
【圖 6】(續)



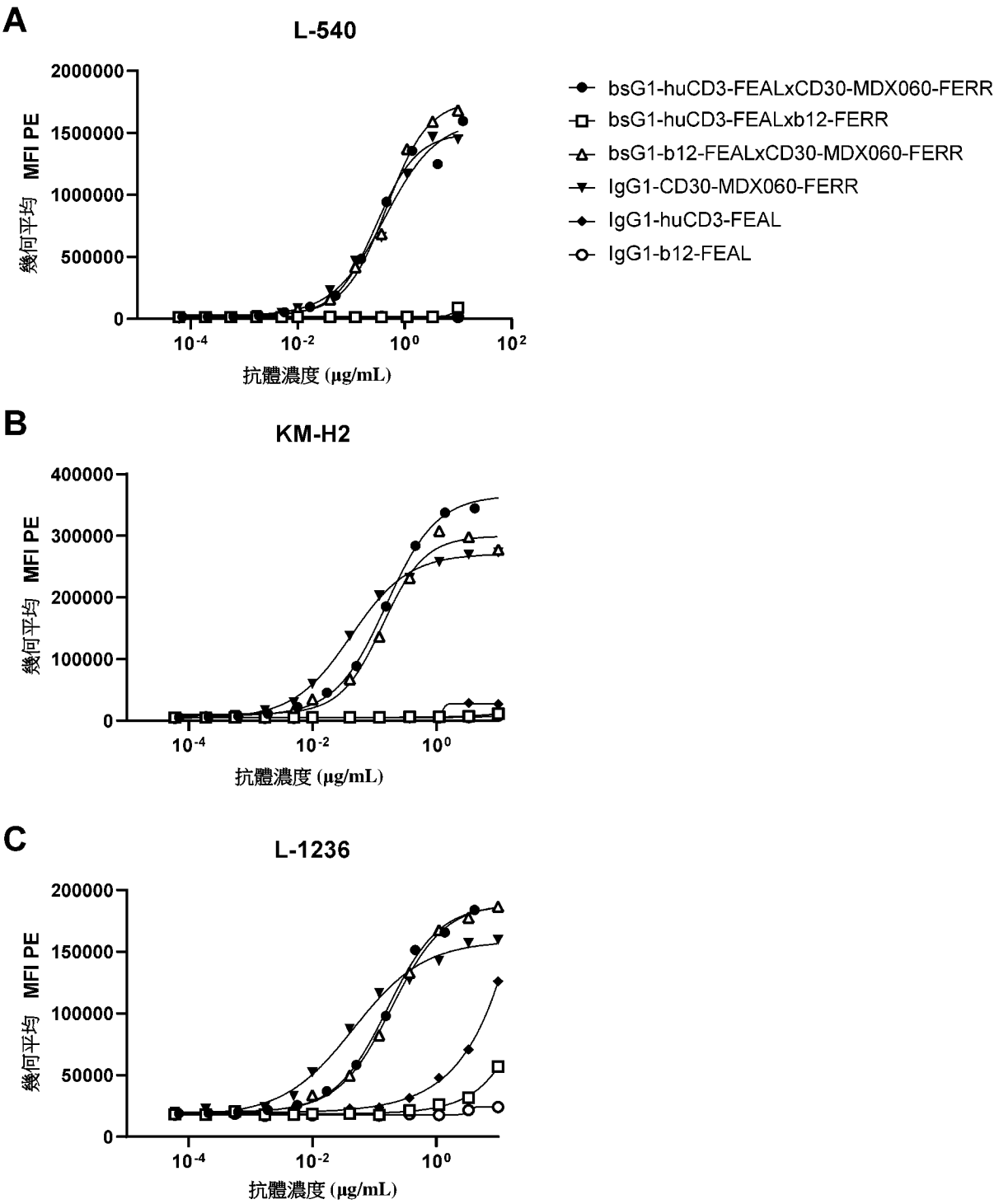
【圖 6】(續)



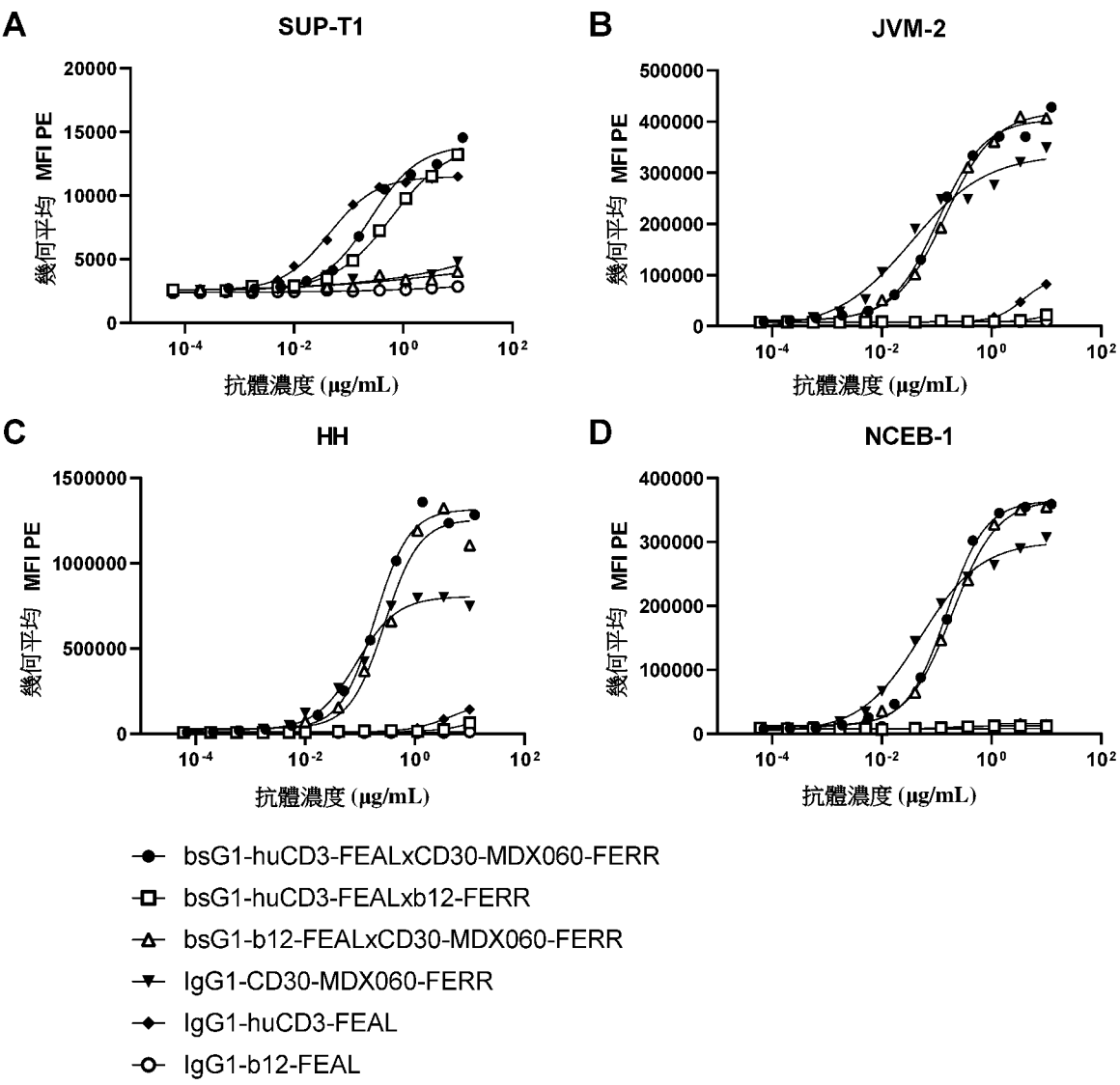
【圖 6】(續)



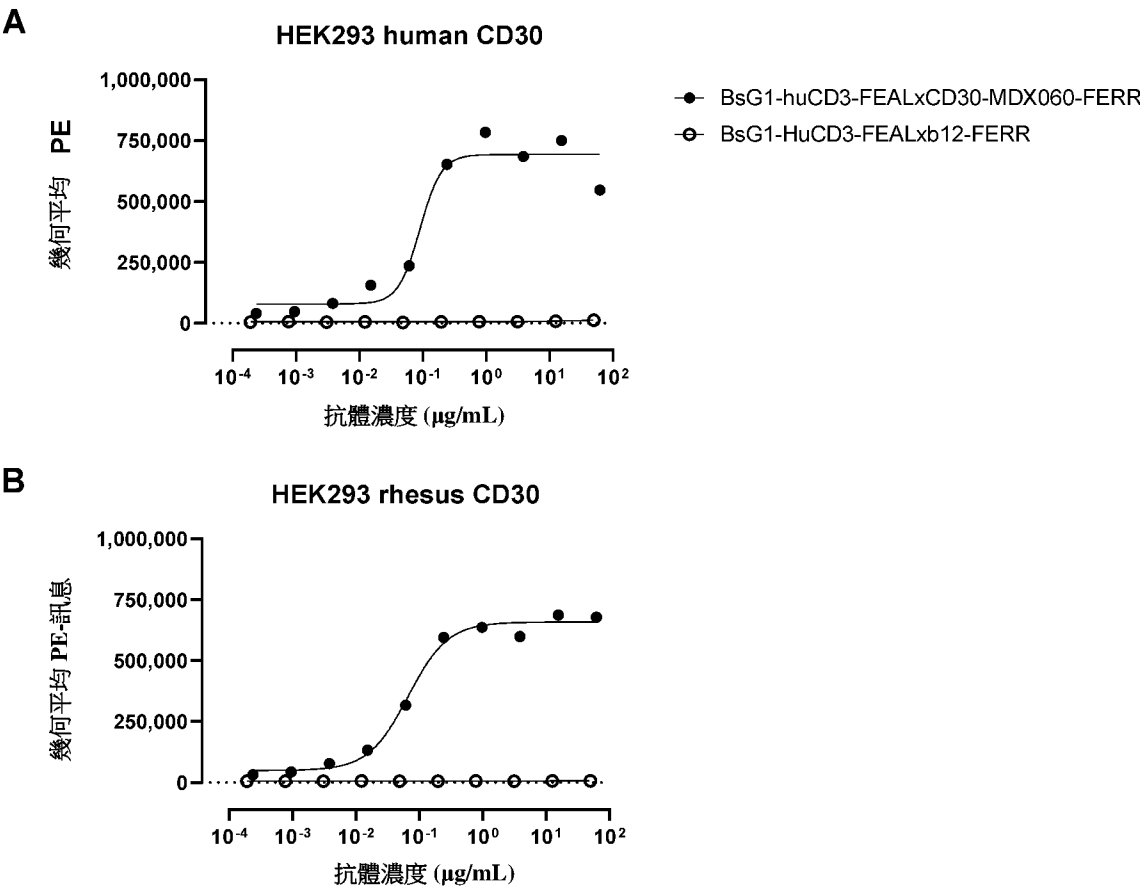
$$\left(\left(\frac{C_p}{T} \right)' \right)$$



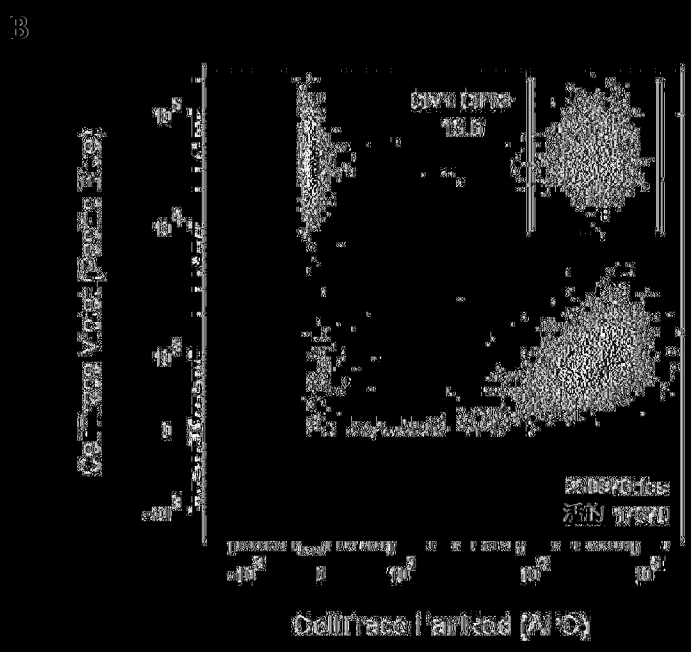
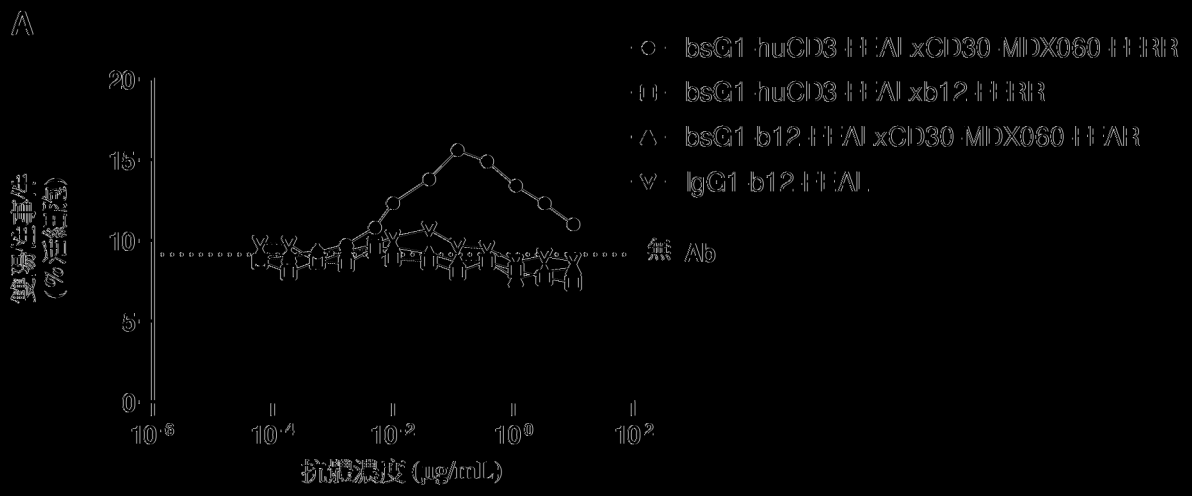
【圖 8】



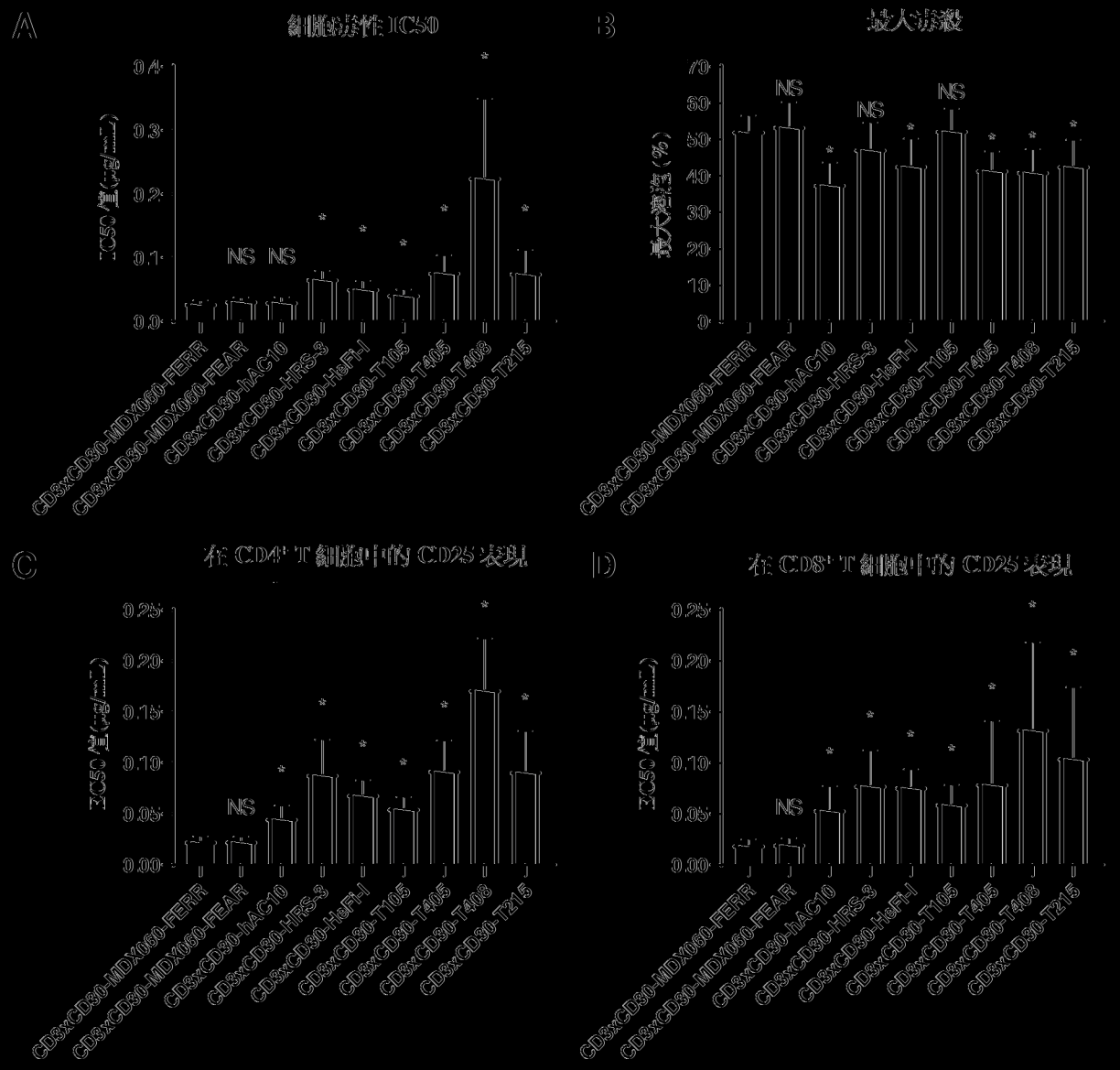
【圖 10】



【圖 11】



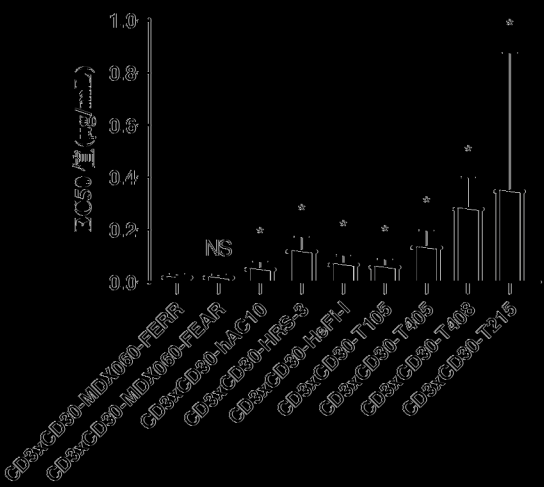
|(12)|



(圖 13)

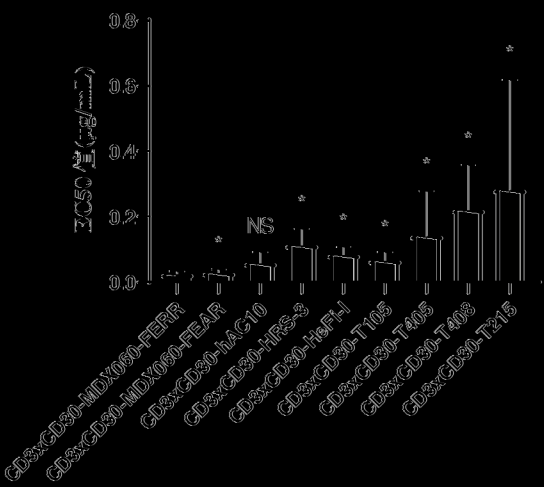
||

在 CD4⁺T 細胞中的 PD-1 表現

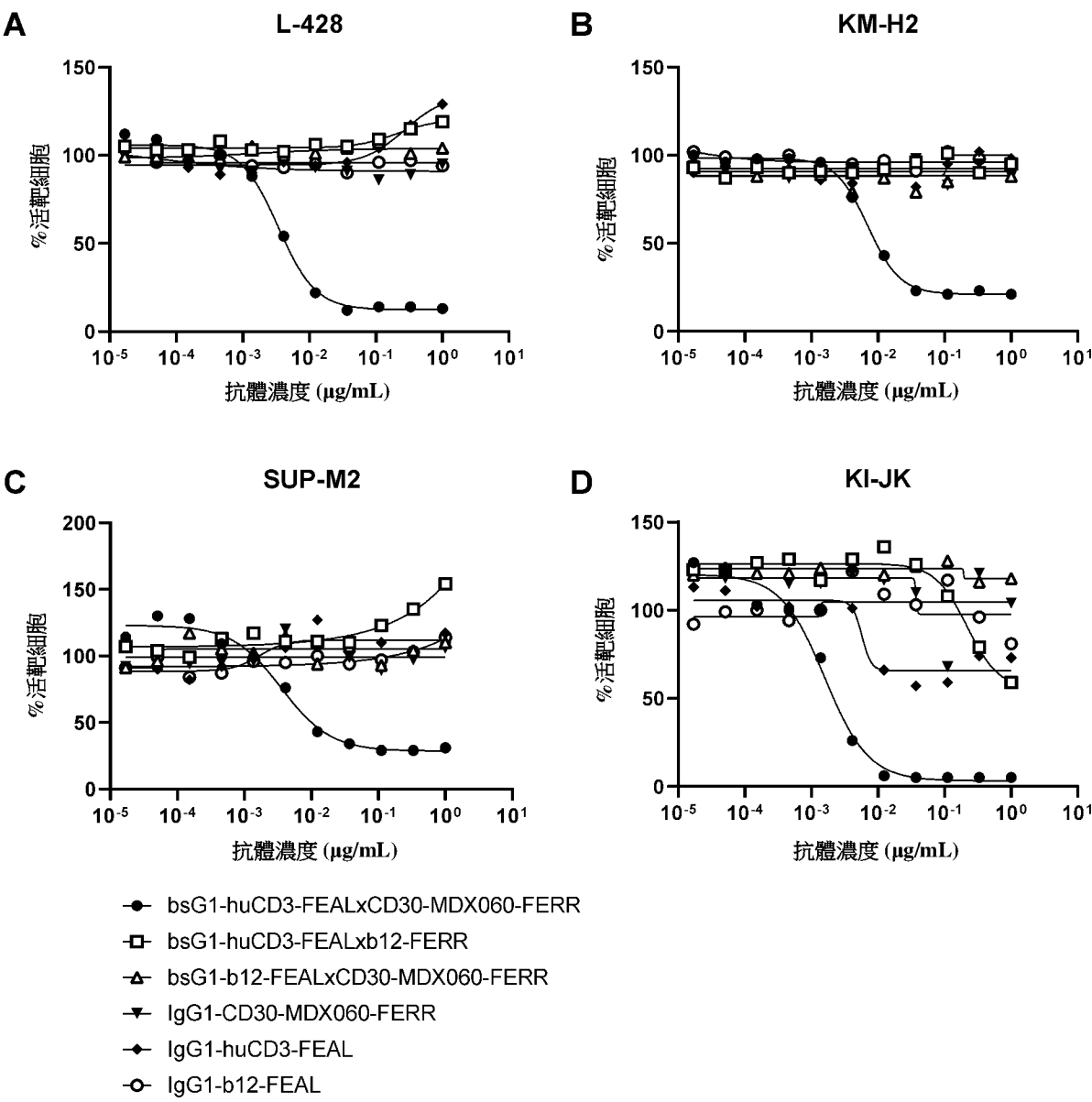


||

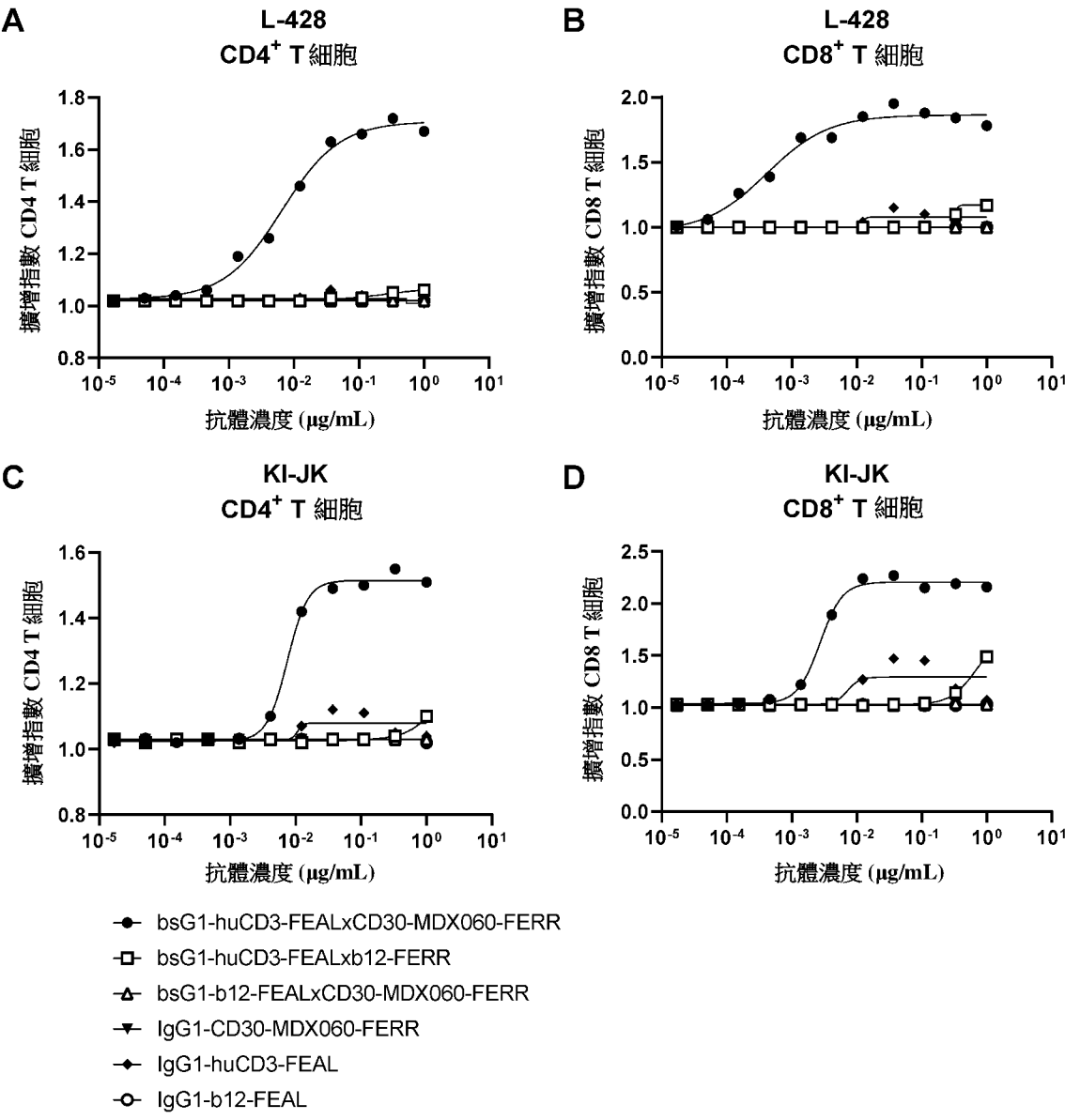
在 CD8⁺T 細胞中的 PD-1 表現



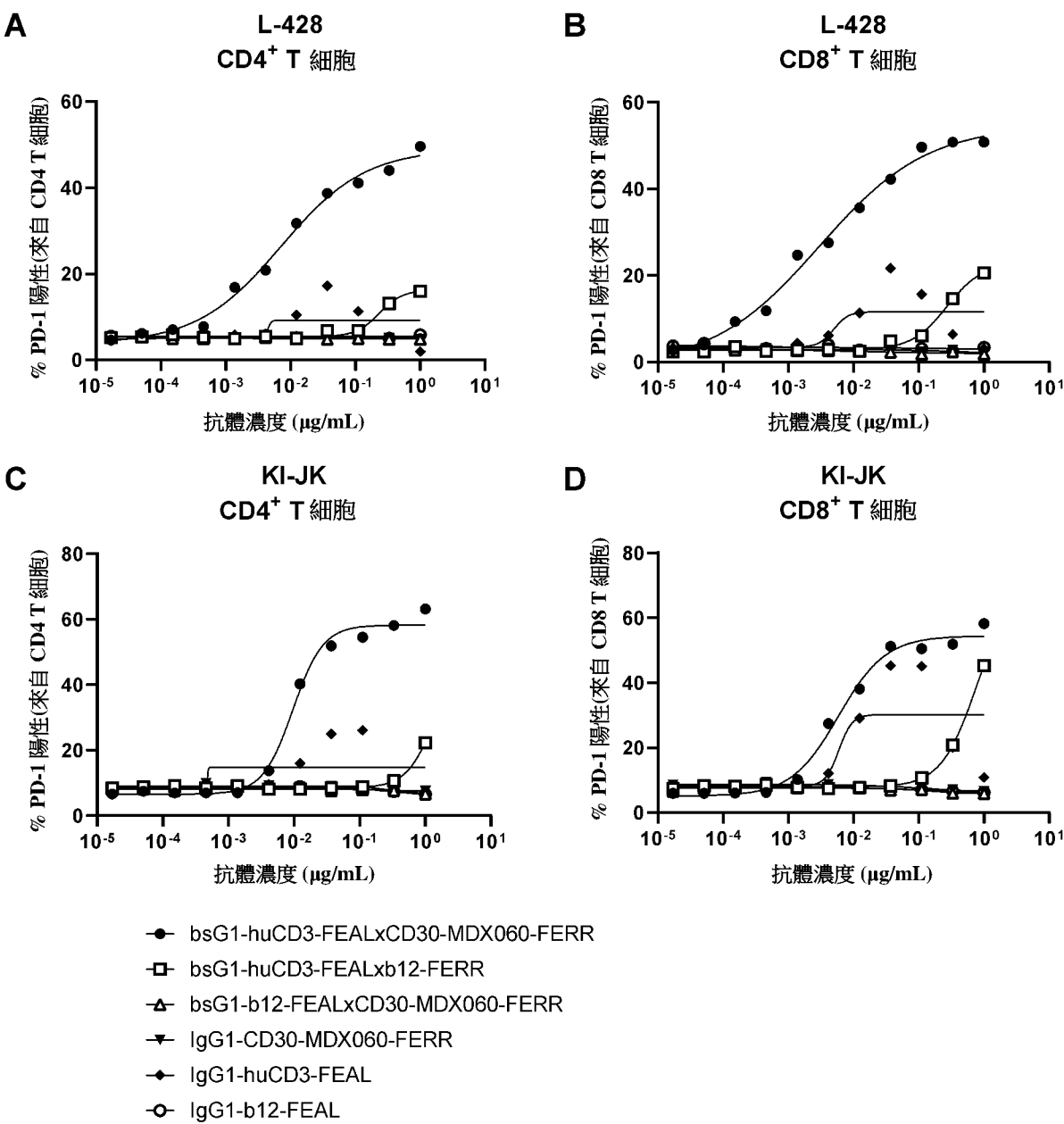
|(Fig 13)| (續)



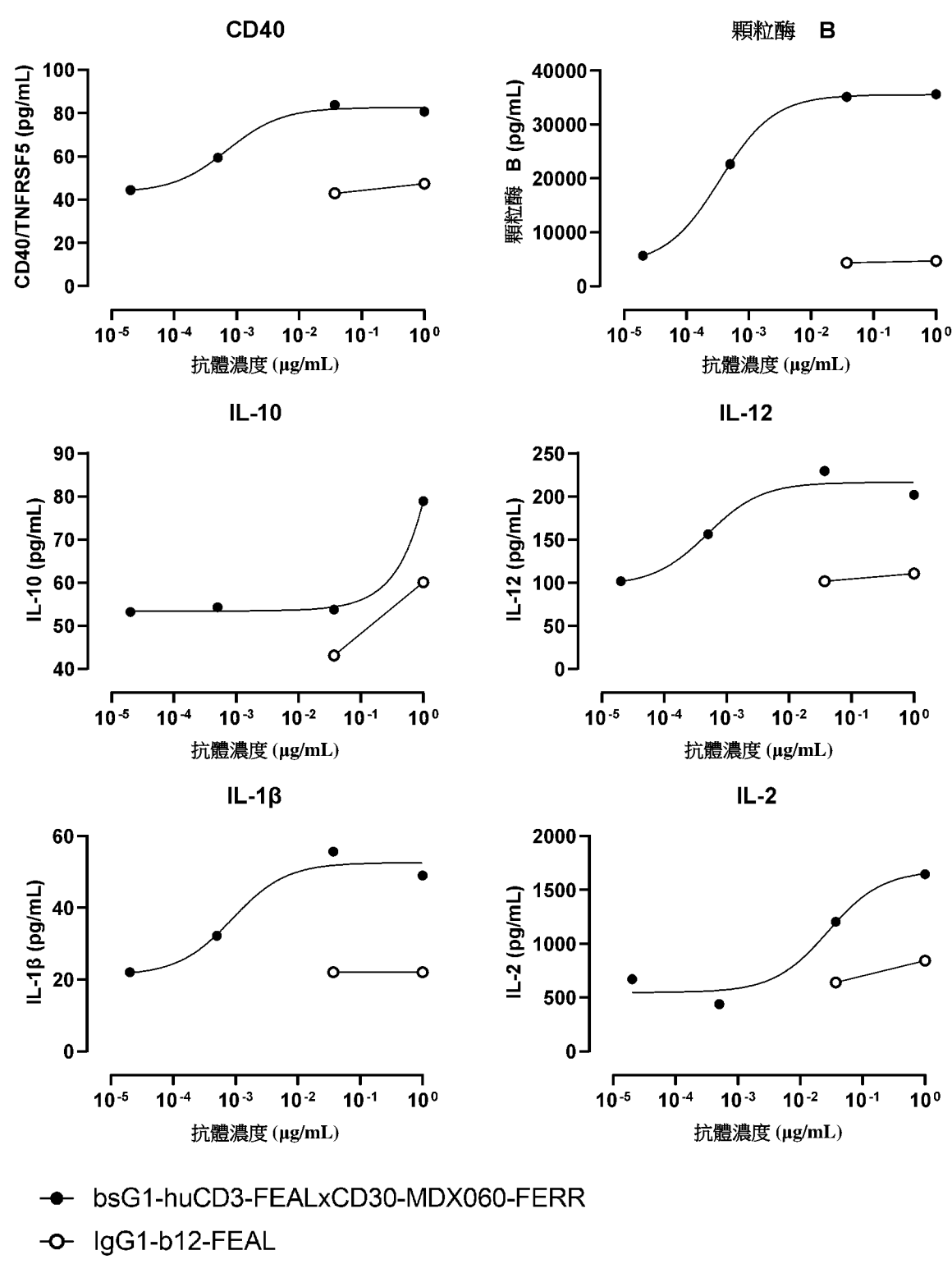
【圖 14】



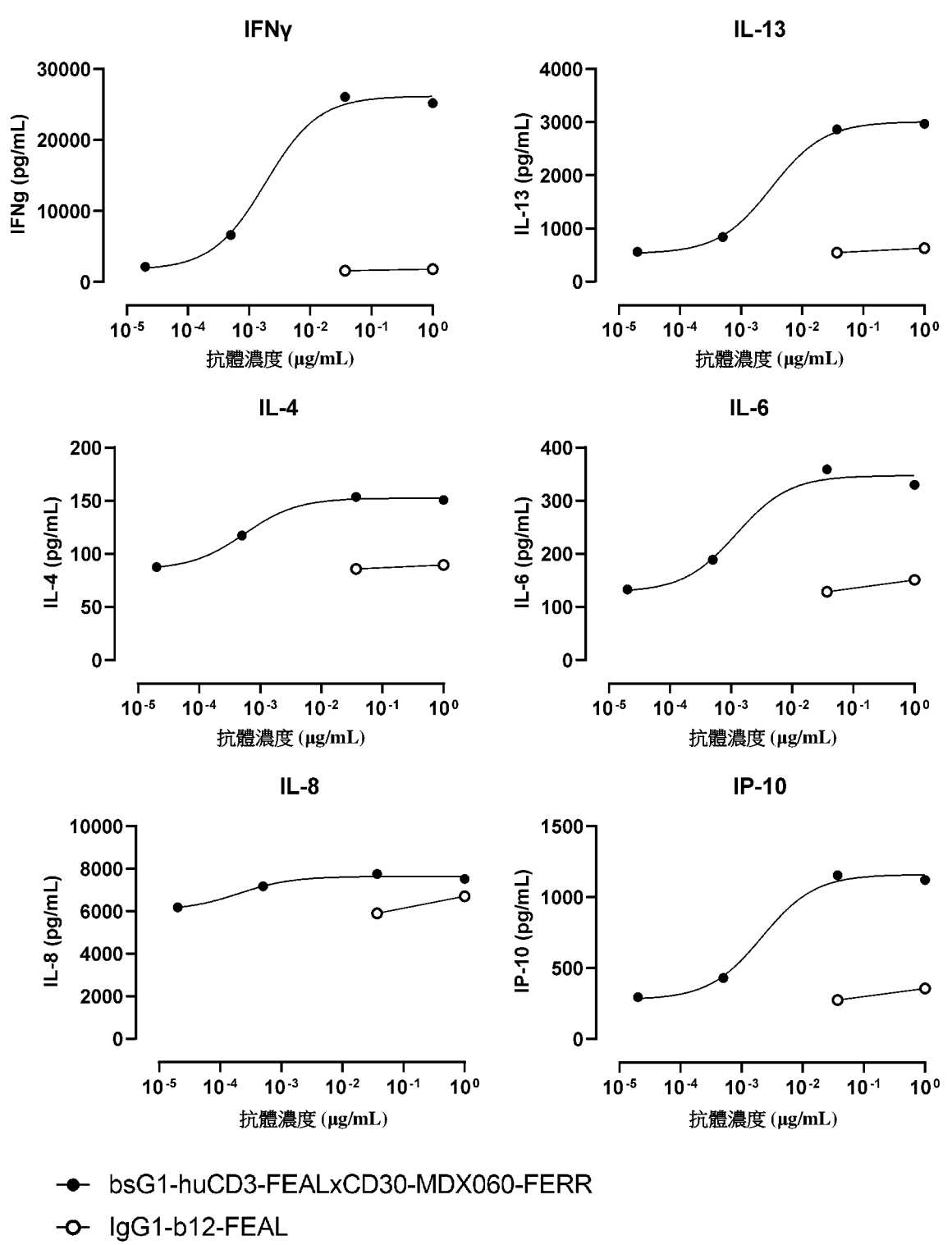
【圖 15】



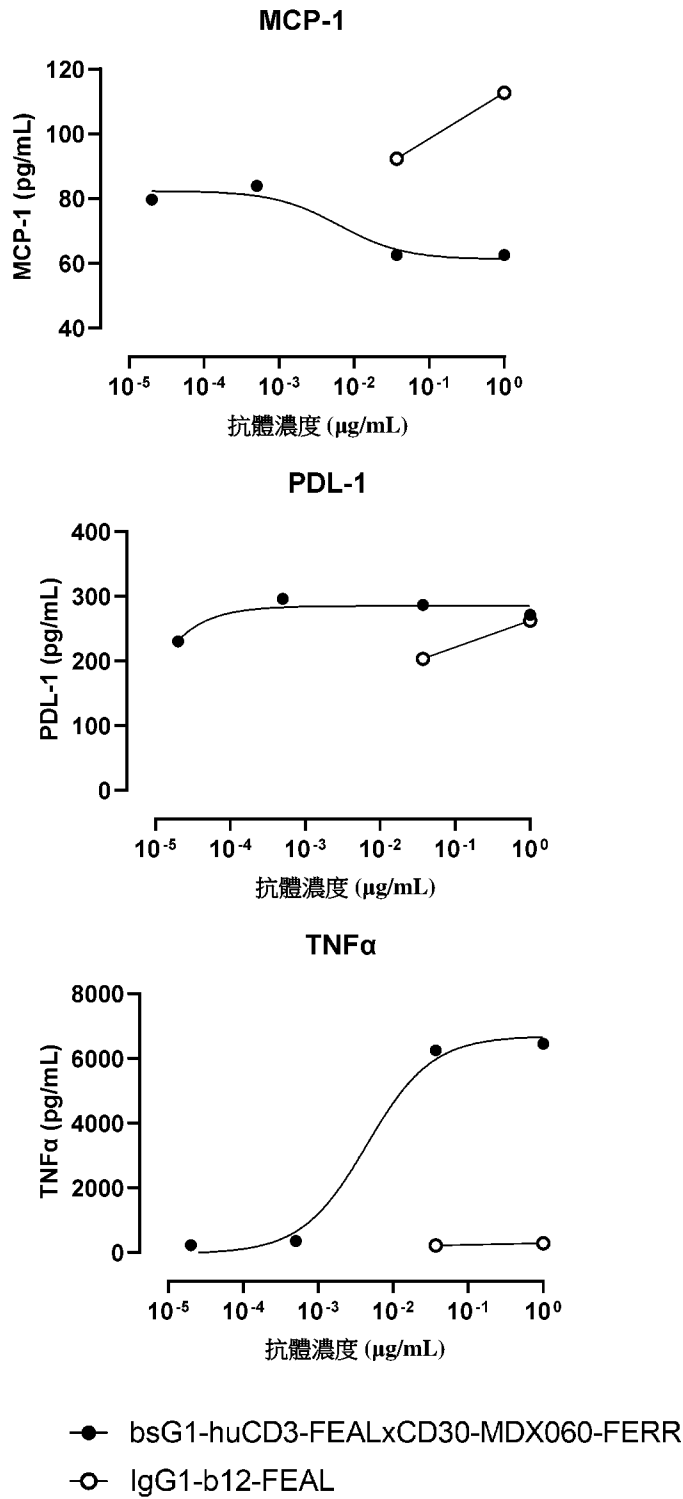
【圖 18】



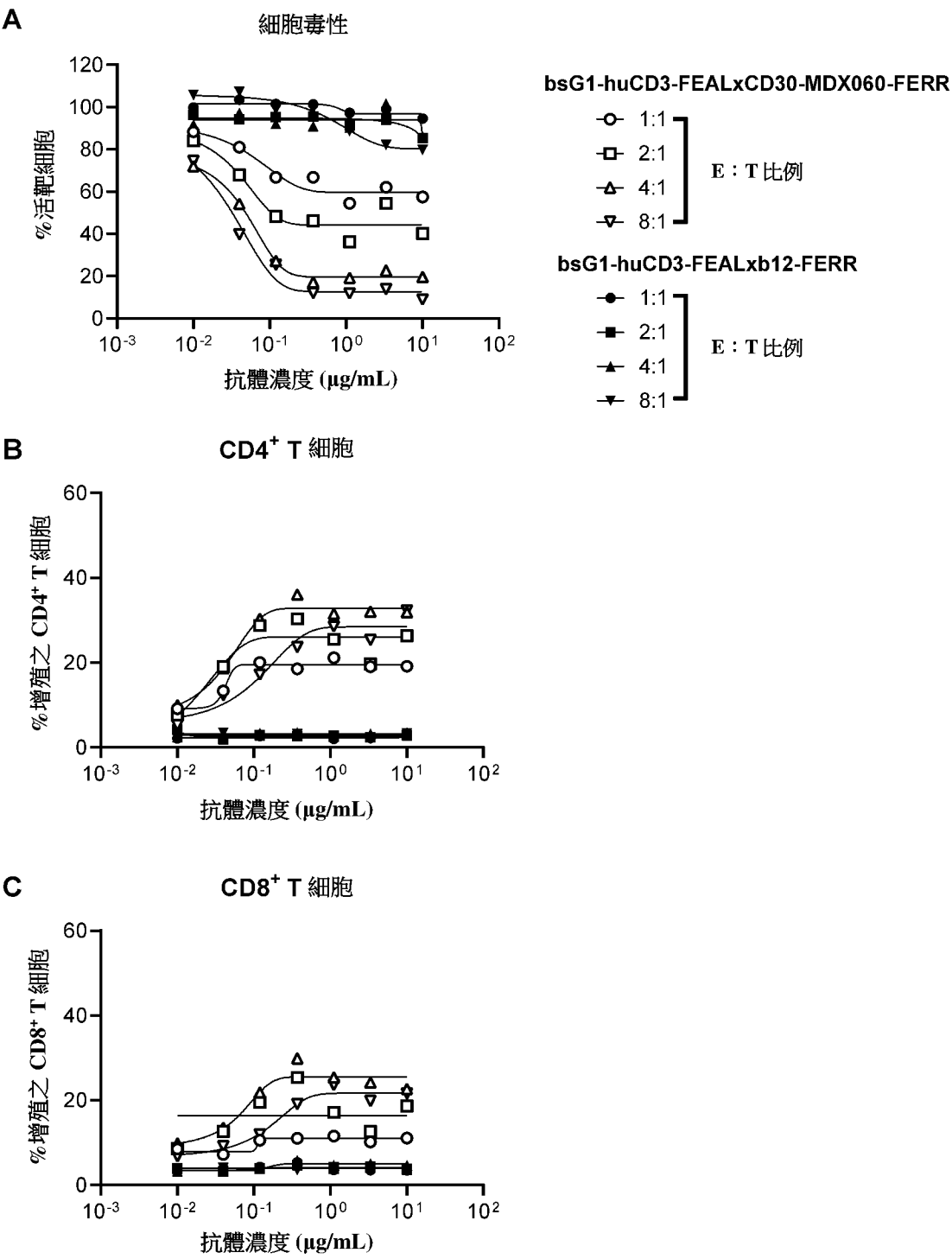
【圖 19】



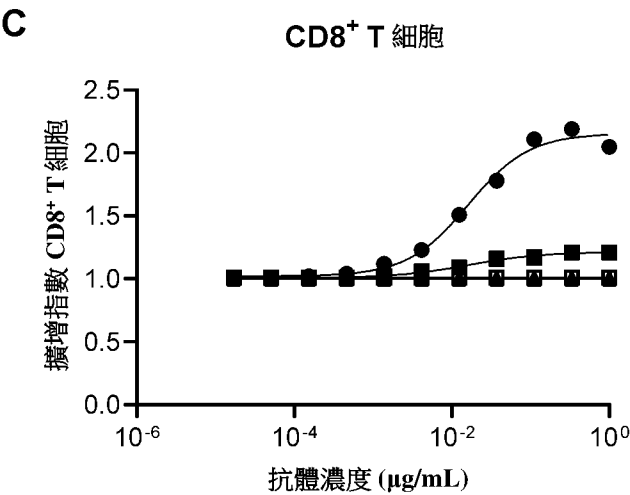
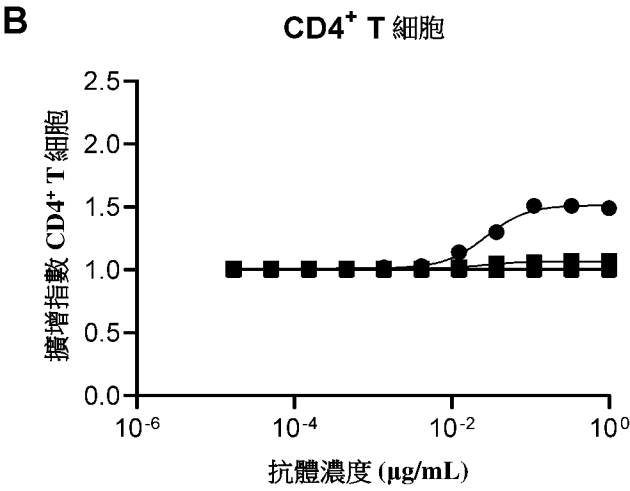
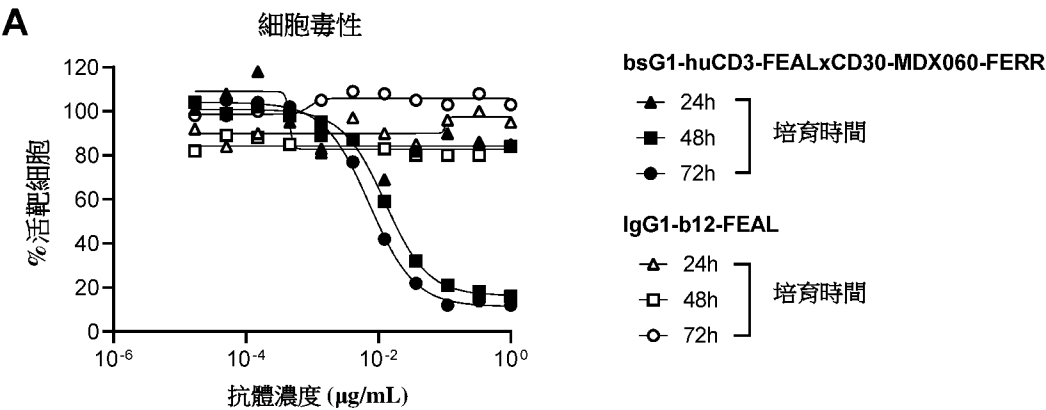
【圖 19】(續)



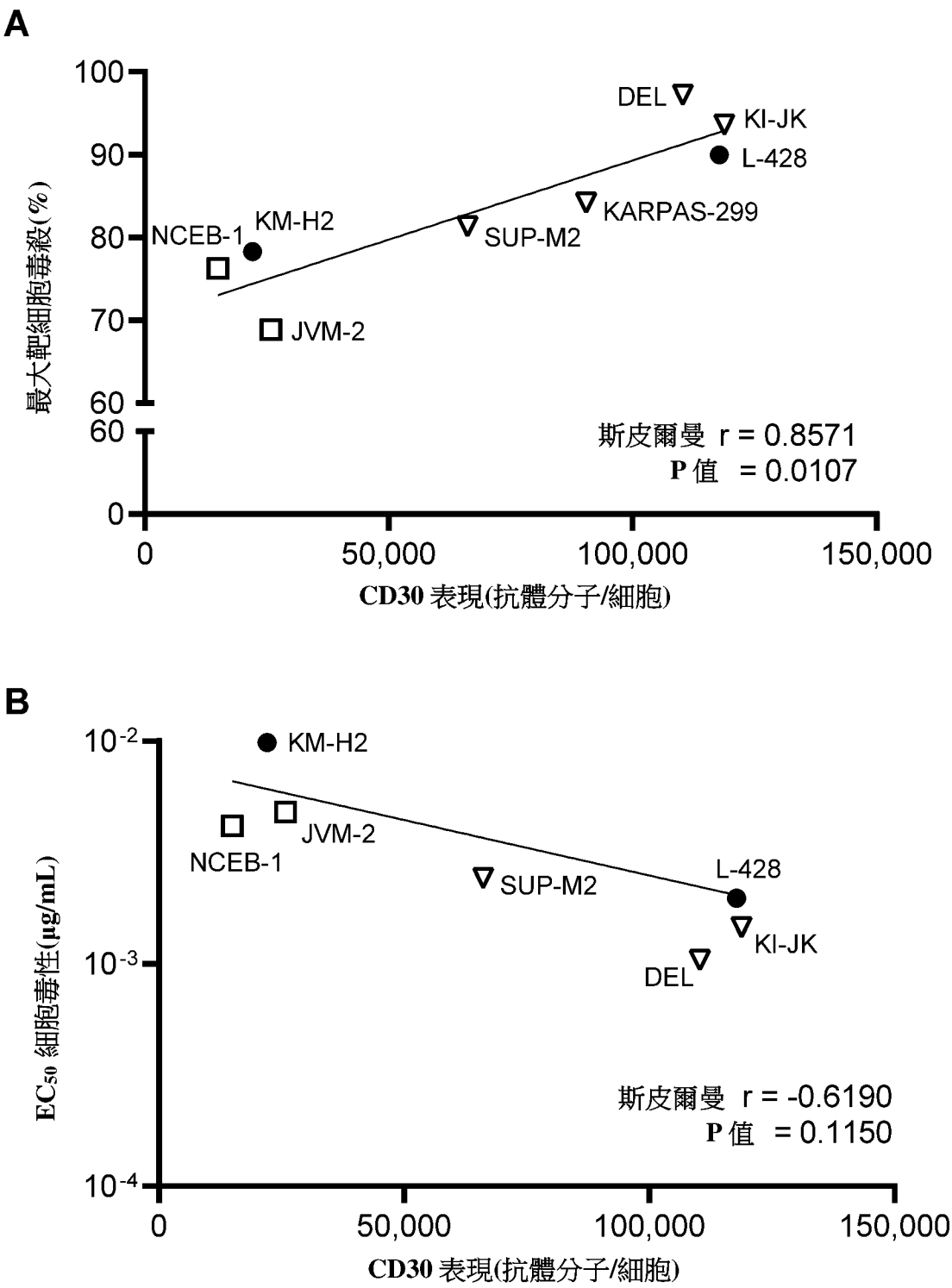
【圖 19】(續)



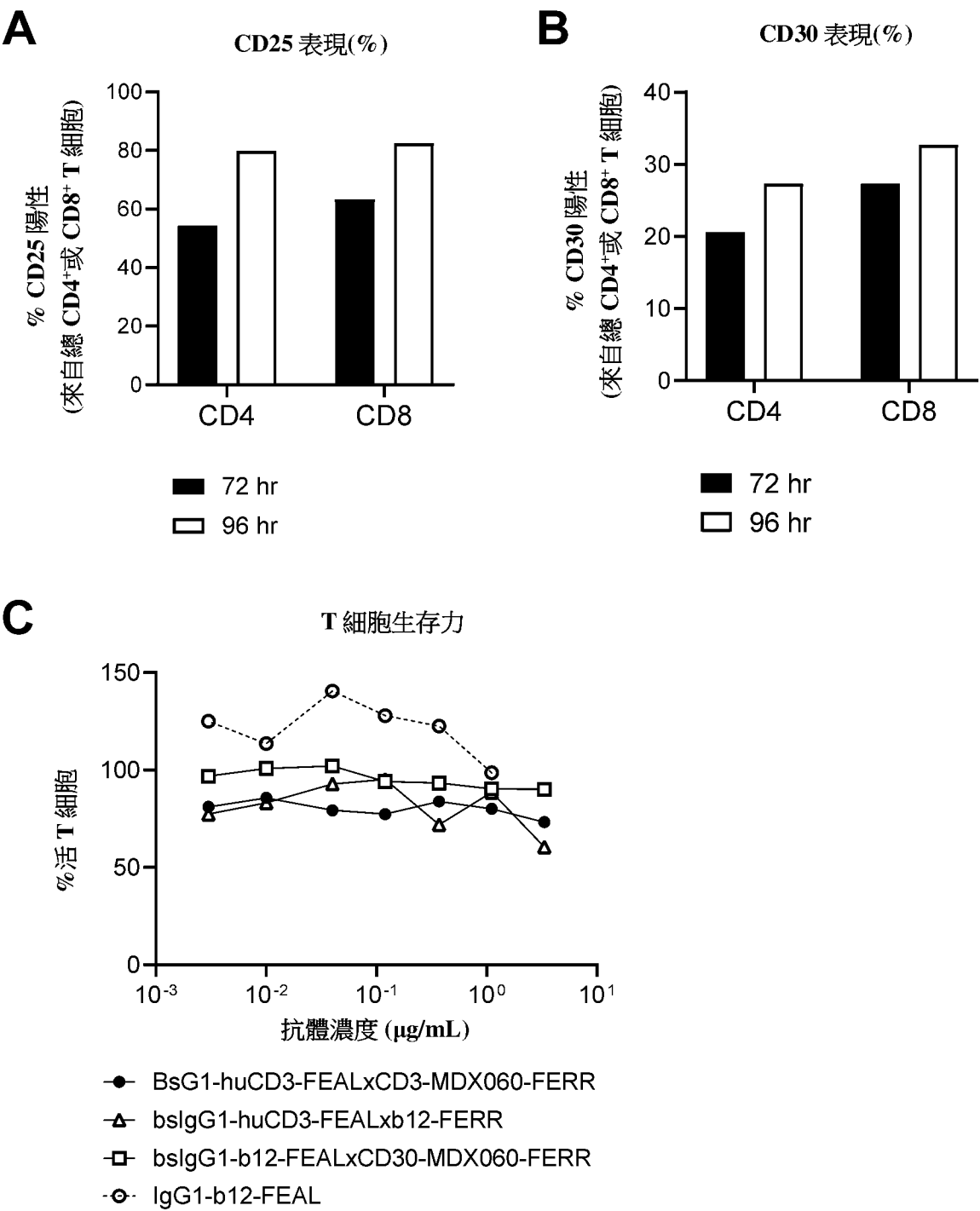
【圖 20】



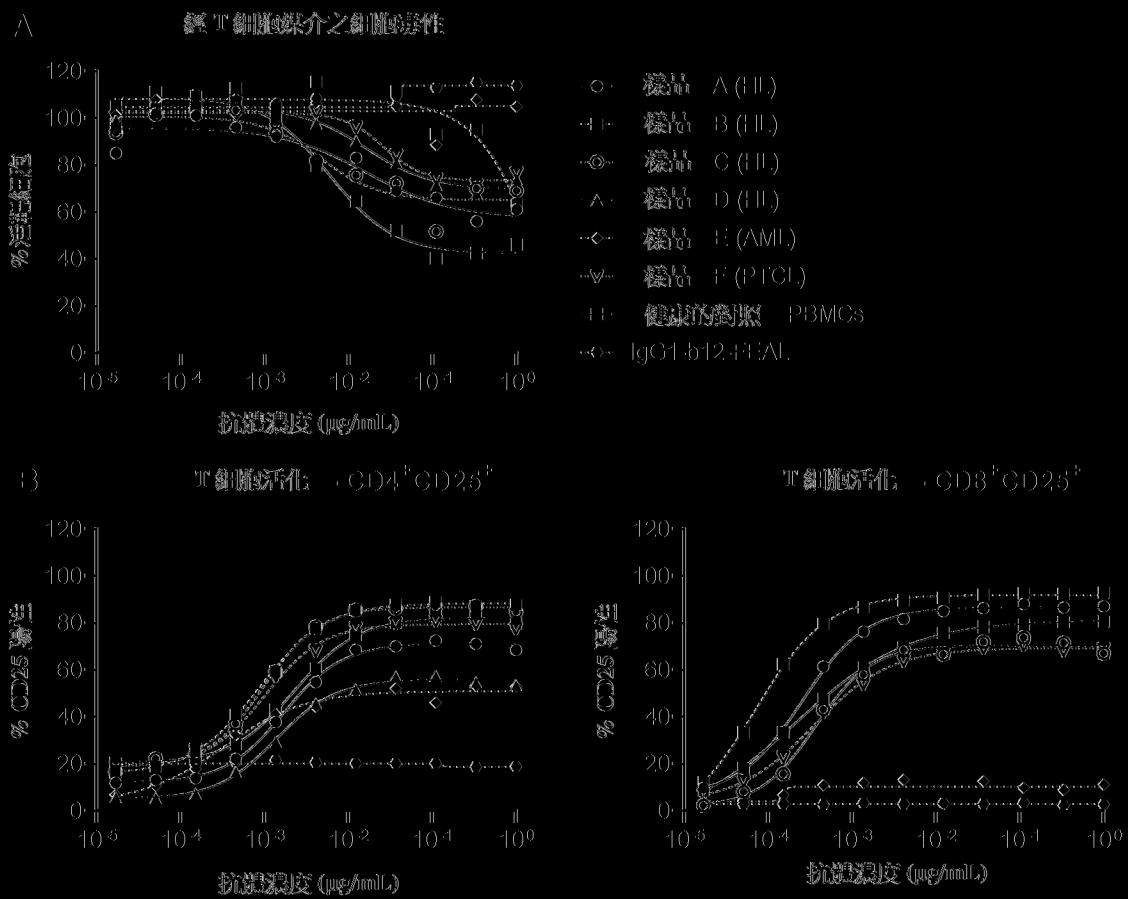
【圖 21】



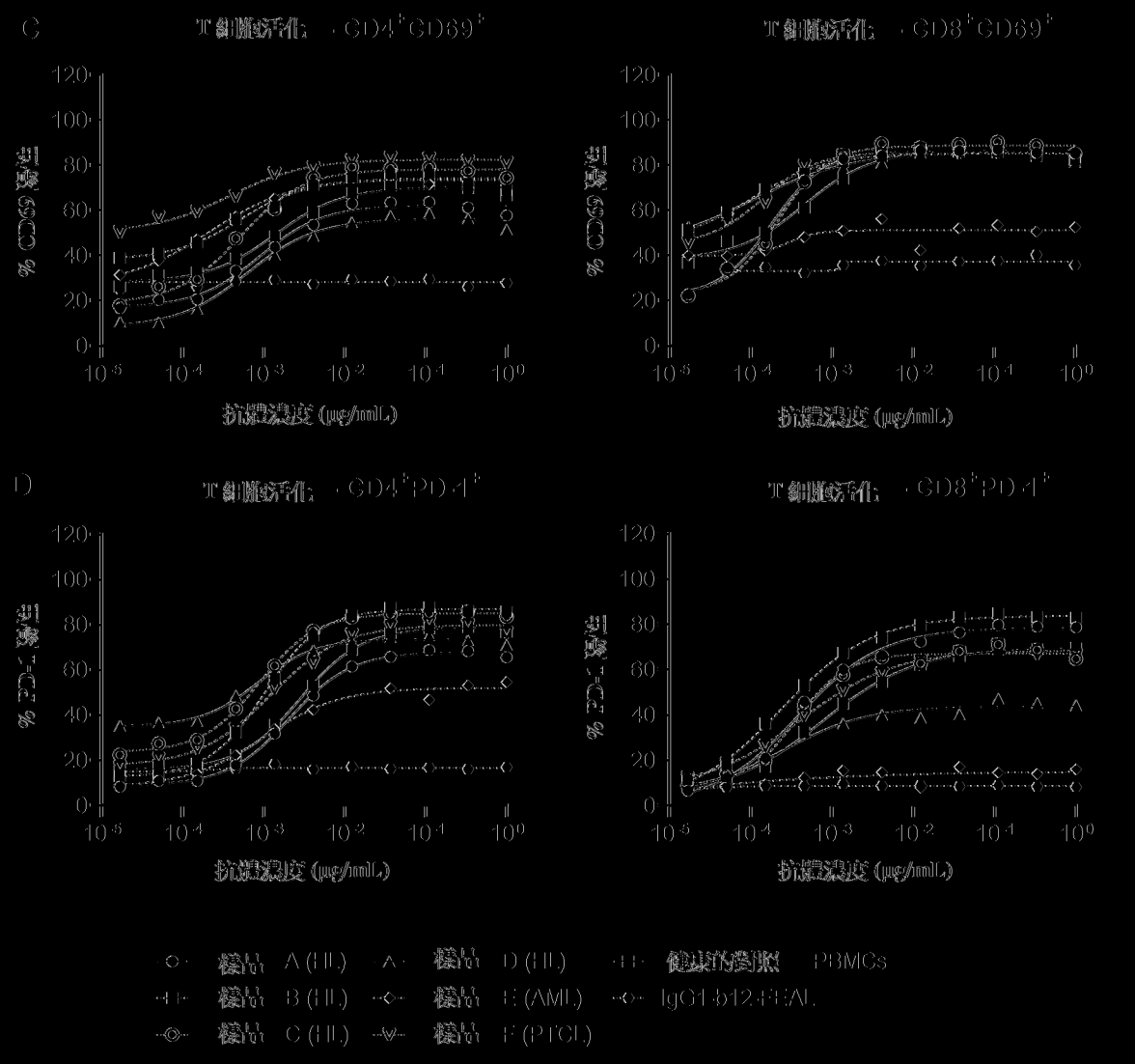
【圖 22】



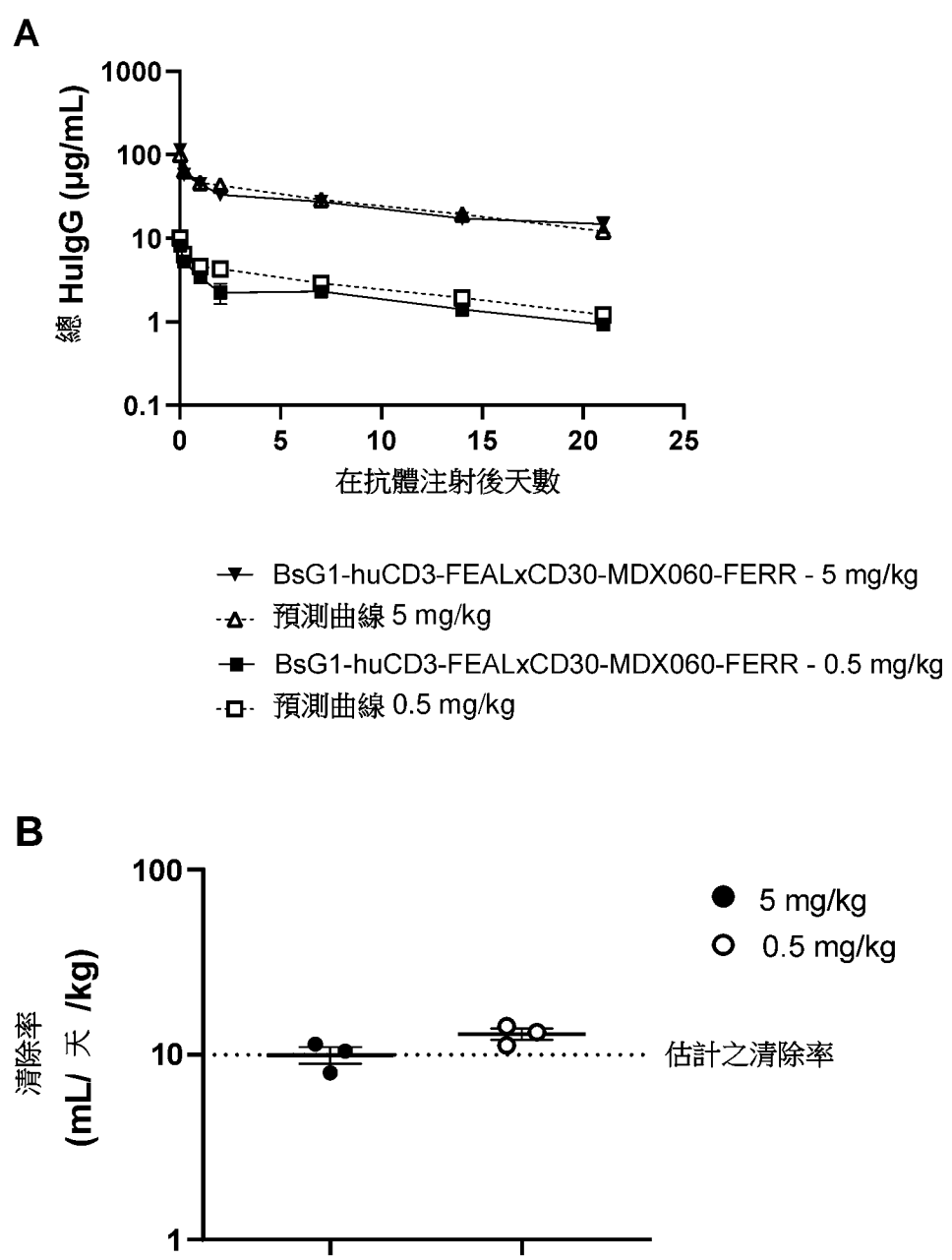
【圖 23】



|(FIG 25)|



[(圖 25)] (續)



【圖 26】

