202400646

(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 202400646 A

(43)公開日： 中華民國 113 (2024) 年 01 月 01 日

(21)申請案號：112109409 (22)申請日： 中華民國 112 (2023) 年 03 月 14 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/28 (2006.01)* *C07K16/30 (2006.01)*
*A61K39/395 (2006.01)* *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2022/03/15 歐洲專利局 PCT/EP2022/056734

(71)申請人：丹麥商健瑪寶股份有限公司 (丹麥) GENMAB A/S (DK)
丹麥
德商拜恩迪克公司 (德國) BIONTECH SE (DE)
德國

(72)發明人：伊恩 安卓亞 IOAN, ANDREEA (NL)；布瑞吉 艾斯特 BREIJ, ESTHER CORNELIA WILHELMINA (NL)；古藍 拉斯 GUELEN, LARS (NL)；沙汀恩 大衛 SATIJN, DAVID P.E. (NL)；沙興 烏格 SAHIN, UGUR (TR)；穆科 亞歷山大 MUIK, ALEXANDER (DE)；舒德爾 克莉絲汀娜 SCHOEDEL, KRISTINA (DE)；菲勒米爾 寇普夫 席娜 FELLERMEIER-KOPF, SINA (DE)；德克潤克 巴特 詹 DE KREUK, BART-JAN (NL)；海伯特 理查 HIBBERT, RICHARD (NL)；舒爾曼 珍妮 SCHUURMAN, JANINE (NL)；拉布里恩 艾倫 LABRIJN, ARAN FRANK (NL)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：105 項 圖式數：18 共 312 頁

(54)名稱

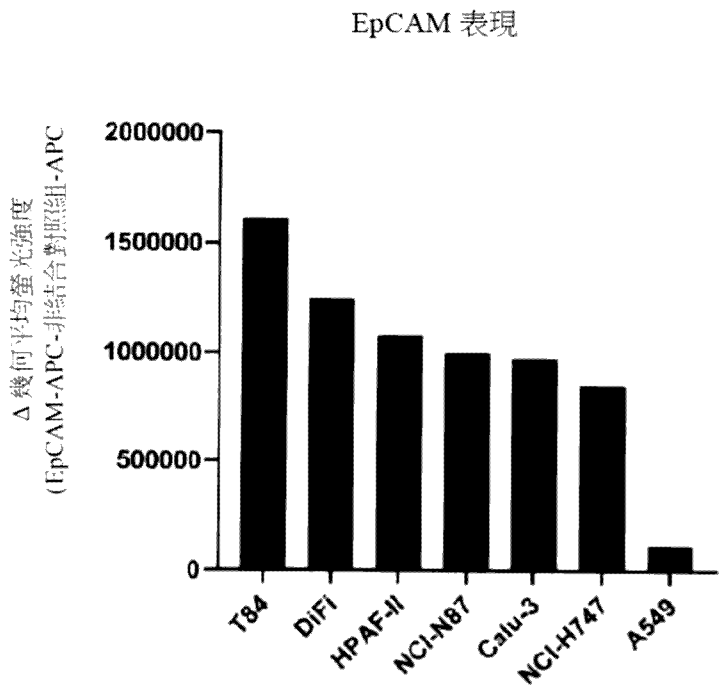
與 EPCAM 和 CD137 結合之結合劑

(57)摘要

本發明係提供與 EpCAM 和與 CD137 結合之結合劑，其可有效用於治療或防止腫瘤或癌症，或用於防止腫瘤或癌症進程。

The present invention provides a binding agent that binds to EpCAM and to CD137 which is useful to treat or prevent a tumor or cancer, or to prevent progression of a tumor or cancer.

指定代表圖：


EpCAM 表現
Δ幾何平均螢光強度
(EpCAM-APC-非結合對照組-APC
2000000
1500000
1000000
500000
0
T84
DiFi
HPAF-II
NCI-N87
Calu-3
NCI-H747
A549

【圖1】

專利案號：112109409

# 【發明摘要】

【中文發明名稱】與EPCAM和CD137結合之結合劑

【英文發明名稱】BINDING AGENTS BINDING TO EPCAM AND CD137

【中文】

本發明係提供與EpCAM和與CD137結合之結合劑，其可有效用於治療或防止腫瘤或癌症，或用於防止腫瘤或癌症進程。

【英文】

The present invention provides a binding agent that binds to EpCAM and to CD137 which is useful to treat or prevent a tumor or cancer, or to prevent progression of a tumor or cancer.

【指定代表圖】

圖1

【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】與EPCAM和CD137結合之結合劑

【英文發明名稱】BINDING AGENTS BINDING TO EPCAM AND CD137

【技術領域】

【0001】 本發明係關於與EpCAM和與CD137結合之結合劑。此等結合劑可有效用於治療或防止腫瘤或癌症。

【先前技術】

【0002】 上皮細胞黏附分子(EpCAM)為一種媒介上皮中 $Ca^{2+}$-非依賴同型細胞-細胞黏附之跨膜糖蛋白。EpCAM 亦涉及細胞信號傳遞、遷移、增生和分化。此外，EpCAM 經由其上調 c-Myc、E-FABP 和週期素 A 和 E 的能力而具有致癌潛力。EpCAM 可用作各種癌症之診斷標記。又，EpCAM 似乎在癌的腫瘤發生和轉移中扮演一角，因此，其亦可作為潛在的預後標記和作為免疫治療策略的潛在標靶。

【0003】 CD137 (4-1BB)為 TNFR 家族之一員且為 CD8+和 CD4+T 細胞、調節性 T 細胞(Tregs)、天然殺手(T)細胞(NK[T]細胞)、B 細胞和嗜中性粒細胞上的共刺激分子。在 T 細胞上，CD137 並非組成性表現，而是在 T 細胞受體(TCR)活化後引發(例如，在腫瘤浸潤的淋巴細胞上[TILs; Gros et al., J. Clin Invest 2014;124(5):2246-59])。經由其天然配體 4-1BBL 或促效劑抗體的刺激導致使用 TRAF-2 和 TRAF-1 作為銜接子(adaptor)的信號傳遞。CD137 的早期信號傳遞涉及 K63 多泛素化反應，其最終造成核因子(NF)-κB 和絲裂原活化蛋白(MAP)-激酶路徑的活化。信號傳遞導致增加的 T 細胞共刺激、增生、細胞因子產生、成熟和延長的 CD8+T 細胞存活。在各種臨床前模型中，抗 CD137 的促效性抗體已顯示促進 T 細胞的抗腫瘤控制(Murillo et al., Clin Cancer Res 2008;14(21):

6895-906)。刺激 CD137 的抗體可引發 T 細胞的存活和增生，從而增強抗-腫瘤免疫反應。刺激 CD137 的抗體在先前技術中已有揭示並包括人類 IgG4 抗體烏瑞蘆單抗(urelumab)(AU 2004279877)和人類 IgG2 抗體烏托魯單抗(utomilumab)(Fisher et al., 2012, Cancer Immunol. Immunother. 61: 1721-1733)。

【0004】 對於防止或治療腫瘤或癌症之試劑和方法有其需求。

【發明內容】

【0005】 在一第一方面，本揭示文係提供一包括與 EpCAM 結合的第一抗原結合區和與 CD137 結合的第二抗原結合區之結合劑。

【0006】 在某些具體實例中，此 EpCAM 為人類 EpCAM。在某些具體實例中，此 CD137 為人類 CD137。在某些具體實例中，人類 EpCAM 係包括 SEQ ID NO：59 中所示之序列。在某些具體實例中，人類 CD137 係包括 SEQ ID NO：62 中所示之序列。

【0007】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係與表現在腫瘤細胞上的 EpCAM 結合。

【0008】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：4 所示之序列的 HCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：3 所示之序列的 HCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：2 所示之序列的 HCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2

和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：64、65 和 66 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：74、3 和 66 所示之序列。

【0009】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：8 所示之序列的 LCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：7 所示之序列的 LCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：6 所示之序列的 LCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：67、68 和 8 所示之序列。

【0010】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR3 序列之重鏈可變區(VH)和一包含 LCDR3 序列之輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO: 4 所示之序列，而該 LCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO: 8 所示之序列。

【0011】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)和一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分

別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列。

【0012】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：64、65 和 66 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：67、68 和 8 所示之序列。

【0013】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：74、3 和 66 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列。

【0014】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含SEQ ID NO: 1之HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)及/或一包含SEQ ID NO: 5之LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)。

【0015】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，該VH係包括一與如SEQ ID NO：1所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0016】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO: 1所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【0017】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，該VL係包括一與如SEQ ID NO：5所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0018】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：5所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【0019】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括

一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：1 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性的序列及該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：5 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：1 所示之序列具有至少 80%相同性的序列及該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：5 所示之序列具有至少 80%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：1 所示之序列具有至少 90%相同性的序列及該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：5 所示之序列具有至少 90%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：1 所示之序列具有至少 95%相同性的序列及該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：5 所示之序列具有至少 95%相同性的序列。

【0020】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO: 1所示之序列而該VL係包括如SEQ ID NO: 5所示之序列。

【0021】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示之重鏈可變區(VH)及/或輕鏈可變區(VL)之抗體相競爭與 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性。

【0022】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：14 所示之序列的 HCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可

變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：13 所示之序列的 HCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：12 所示之序列的 HCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：69、70 和 71 所示之序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：75、13 和 71 所示之序列。

【0023】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：18 所示之序列的 LCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：17 所示之序列的 LCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：16 所示之序列的 LCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：72、73 和 18 所示之序列。

【0024】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一

包含 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO：14 所示之序列及該 LCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO：18 所示之序列。

【0025】 在某些具體實例中，該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0026】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：69、70 和 71 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：72、73 和 18 所示之序列。

【0027】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：75、13 和 71 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列。

【0028】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO: 11 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)及/或一包含 SEQ ID NO: 15 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0029】 在某些具體實例中，該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，該VH係包括一與如SEQ ID NO：11所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0030】 在某些具體實例中，該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一

包含如SEQ ID NO：11所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【0031】在某些具體實例中，該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，該VL係包括一與如SEQ ID NO：15所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0032】在某些具體實例中，該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：15所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【0033】在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：11 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：15 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：11 所示之序列具有至少 80%相同性的序列及該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：15 所示之序列具有至少 80%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：11 所示之序列具有至少 90%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：15 所示之序列具有至少 90%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：11 所示之序列具有至少 95%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：15 所示之序列具有至少 95%相同性的序列。

【0034】在某些具體實例中，該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列及該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【0035】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示之重鏈可變區及/或輕鏈可變區之抗體相競爭與 CD137 結合及/或對該抗體之 CD137 具有特異性。

【0036】 在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：4 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：14 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)。

【0037】 在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：8 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：18 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0038】 在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：4 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含如 SEQ ID NO：8 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：14 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含如 SEQ ID NO：18 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0039】 在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、

7和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0040】 在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：64、65和66所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：67、68和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：69、70和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：72、73和18所示之序列。

【0041】 在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：74、3和66所示之序列，及該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區

(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：75、13和71所示之序列，及該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0042】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含SEQ ID NO:1之HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含SEQ ID NO:5之LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含SEQ ID NO:11之HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含SEQ ID NO:15之LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)。

【0043】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：1所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、或至少99%相同性的胺基酸序列而該VL係包括一與如SEQ ID NO：5所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、或至少99%相同性的胺基酸序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：11所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、或至少99%相同性的胺基酸序列而該VL係包括一與如SEQ ID NO：15所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、或至少99%相同性的胺基酸序列。

【0044】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：1所示之序列而該VL係包括如SEQ ID NO：5所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列而該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【0045】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 EpCAM 結合的第一抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性，而該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 CD137 結合的第二抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭CD137結合及/或對該抗體之CD137 具有特異性。

【0046】在某些具體實例中，一可變區係包括三個互補決定區(CDR1、CDR2 和 CDR3)及四個框架區(FR1、FR2、FR3 和 FR4)。

【0047】在某些具體實例中，該互補決定區和該框架區從胺基端到羧基端係依下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0048】在某些具體實例中，此結合劑為全長抗體或抗體片段之形式。

【0049】在某些具體實例中，此結合劑為一多特異性，例如雙特異性結合劑。

【0050】在某些具體實例中，此結合劑一多特異性，例如雙特異性抗體。

【0051】在某些具體實例中，此結合劑係包括

(i) 一第一重鏈可變區(VH)和一第一輕鏈可變區(VL)，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

(ii) 一第二重鏈可變區(VH)和一第二輕鏈可變區(VL)，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0052】在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包含一第

一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

ii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0053】在某些具體實例中，該結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0054】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之第一重鏈，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之第一輕鏈；

而該第二結合臂係包括

i) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之第二重鏈；及

ii) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)的第二輕鏈。

【0055】在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，此第一結合

臂係衍生自全長 IgG1，λ(lambda)或 IgG1，κ(kappa)抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，第二結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(lambda)或 IgG1，κ(kappa)抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自全長抗體，例如衍生自全長 IgG1，λ(lambda)或 IgG1，κ(kappa)抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自單株抗體。

【0056】 在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括恆定重鏈 1(CH1)區、絞鏈區、恆定重鏈 2(CH2)區和恆定重鏈 3(CH3)區之一或多個，較佳地至少一絞鏈區、一 CH2 區和一 CH3 區。

【0057】 在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括一 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【0058】 在某些具體實例中，在該第一重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且在該第二重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且其中該第一和該第二重鏈並非在相同位置經取代。

【0059】 在某些具體實例中，(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【0060】 在某些具體實例中，相較於包括相同的第一和第二抗原結合區以及包含人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區之二個重鏈恆定區(CH)的另外抗體，該結

合劑在較小程度上引發 Fc-媒介的效應子功能。

【0061】 在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區(CH)係經修飾，使得相較於除了包括未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)之外的相同抗體，該抗體引發 Fc-媒介的效應子功能的程度更小。

【0062】 在某些具體實例中，該未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)各自係包括 SEQ ID NO：47 中所示的胺基酸序列。

【0063】 在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 Fcγ 受體結合、與 Clq 結合或引發 Fc-媒介的 Fcγ 受體交聯來測量。

【0064】 在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 C1q 結合來測量。

【0065】 在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區係經修飾，使得相較於野生型抗體，Clq 與該抗體的結合減少，較佳地減少至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%，至少 97%，或 100%，其中 C1q 結合較佳地係藉由 ELISA 來測定。

【0066】 在某些具體實例中，在至少一個該第一和第二重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235、D265、N297、P331 和 G236 之位置中的一個或多個胺基酸分別不為 L、L、D、N、P 和 G。

【0067】 在某些具體實例中，根據 EU 編號，在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈中分別為 F 和 E。

【0068】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及/或根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0069】 在某些具體實例中，

(i) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第

一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 A；

(ii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 R；或

(iii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)之一個中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)之另一個中分別為 F、E 和 R。

【0070】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F 和 E，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0071】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0072】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人

類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【0073】在某些具體實例中，該第一及/或第二重鏈的恆定區係包括一胺基酸序列，該胺基酸序列與 SE QID NO：47 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%的相同性。

【0074】在某些具體實例中，

a) 該第一重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：54 所示的胺基酸序列；及

b) 該第二重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：52 所示的胺基酸序列。

【0075】在某些具體實例中，該結合劑係包括一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0076】在某些具體實例中，該結合劑係包括一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0077】在某些具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0078】在某些具體實例中，該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區 。

【0079】在某些具體實例中，

(i) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區，

(ii) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，

(iii) 該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，或

(iv) 該第一輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0080】在某些具體實例中，卡帕(kappa)(κ)輕鏈係包括一與 SEQ ID NO：55 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少

97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0081】在某些具體實例中，拉姆達(lambda)(λ)輕鏈係包括一與 SEQ ID NO：56 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0082】在某些具體實例中，此結合劑為由 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 組成之群中選出的同型。在一具體實例中，此同型係由人類 IgG1、人類 IgG2、人類 IgG3 和人類 IgG4 組成之群中選出。

【0083】在某些具體實例中，此結合劑為全長 IgG1 抗體。

【0084】在某些具體實例中，此結合劑為一 IgG1m(f)同種異形之抗體。

【0085】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，

其中該第一 VH 係包含第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第一 VL 係包含第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO: 2、3 和 4 所示之序列，而該第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列；

及該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽；

其中該第二 VH 係包含第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第二 VL 係包含第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而該第二 LCDR1、LCDR2

和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列；

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 G236 在第一 HC 中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 D265 在第二 CH 中分別為 F、E 和 A；及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應 F405 位置中的胺基酸在第一 CH 中為 L，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置中的胺基酸在第二 CH 中為 R。

【0086】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：9 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列

ii) 一第一輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：10 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【0087】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：9 所示之胺基酸序列，

ii) 一第一輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：10 所示之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列。

【0088】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：78 所示之序列的 HCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括

一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：77 所示之序列的 HCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：76 所示之序列的 HCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：76、77 和 78 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：82、83 和 84 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：87、77 和 84 所示之序列。

【0089】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：81 所示之序列的 LCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：80 所示之序列的 LCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：79 所示之序列的 LCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：79、80 和 81 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：85、86 和 81 所示之序列。

【0090】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括

一包含 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)及一包含 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO：78 所示之序列，而該 LCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO： 81 所示之序列。

【0091】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：76、77和78所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：79、80和81所示之序列。

【0092】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：82、83 和 84 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：85、86 和 81 所示之序列。

【0093】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：87、77 和 84 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：79、80 和 81 所示之序列。

【0094】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：21，位置 1 至 116 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)及/或一包含 SEQ ID NO：22，位置 1 至 112 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0095】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該VH係包括一與如SEQ ID NO：21，位置1至116所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%

相同性的序列。

【0096】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：21，位置1至116所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【0097】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：22，位置1至112所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0098】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：22，位置1至112所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【0099】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：21，位置 1 至 116 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性之序列，而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：22，位置 1 至 112 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：21，位置 1 至 116 所示之序列具有至少 80%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：22，位置 1 至 112 所示之序列具有至少 80%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：21，位置 1 至 116 所示之序列具有至少 90%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：22，位置 1 至 112 所示之序列具有至少 90%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與 SEQ ID NO：21，位置 1 至 116 如所示之序列具有至少 95%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ

ID NO：22，位置 1 至 112 所示之序列具有至少 95%相同性的序列。

【0100】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：21，位置1至116所示之序列，該VL係包括如SEQ ID NO：22，位置1至112所示之序列。

【0101】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示之重鏈可變區(VH)及/或輕鏈可變區(VL)之抗體相競爭與 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性。

【0102】 在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係如上所示。

【0103】 在某些具體實例中，

a)該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：78 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，及

b)該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：14 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)。

【0104】 在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：81 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：18 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0105】 在某些具體實例中，

a)該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：78 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，和一包含如 SEQ ID NO：81 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，及

b)該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：14 所示之

HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，和一包含如SEQ ID NO：18所示之LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)。

【0106】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：76、77和78所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：79、80和81所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0107】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：82、83和84所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：85、86和81所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：69、70和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：72、73和18所示之序列。

【0108】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：87、77和84所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：79、80和81所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：75、13和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0109】 在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：21，位置 1 至 116 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 SEQ ID NO：22，位置 1 至 112 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)；及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO:11 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 SEQ ID NO:15 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0110】 在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：21，位置1至116所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性之胺基酸序列，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：22，位置1至112所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性之胺基酸序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：11所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性之胺基酸序列，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：15所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性之胺基酸序列。

【0111】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：21，位置1至116所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：22，位置1至112所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【0112】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區其係與包括如上所示和 EpCAM 結合的第一抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性，而該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 CD137 結合的第二抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭 CD137 結合及/或對該抗體之 CD137 具有特異性。

【0113】在某些具體實例中，一可變區係包括三個互補決定區(CDR1、CDR2 和 CDR3)及四個框架區(FR1、FR2、FR3 和 FR4)。

【0114】在某些具體實例中，該互補決定區和該框架區從胺基端到羧基端係依下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0115】在某些具體實例中，此結合劑為全長抗體或抗體片段之形式。

【0116】在某些具體實例中，此結合劑為一多特異性，例如雙特異性結合劑。

【0117】在某些具體實例中，此結合劑為一多特異性，例如雙特異性抗體。

【0118】在某些具體實例中，此結合劑係包括

(i) 一第一重鏈可變區(VH)和一第一輕鏈可變區(VL)，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

(ii) 一第二重鏈可變區(VH)和一第二輕鏈可變區(VL)，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0119】在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

ii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0120】在某些具體實例中，該結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0121】在某些具體實例中，該結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二

抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之第一重鏈，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之第一輕鏈；

而該第二結合臂係包括

i) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之第二重鏈；及

ii) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)的第二輕鏈。

【0122】在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，第二結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自全長抗體，例如衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自單株抗體。

【0123】在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括恆定重鏈 1(CH1)區、絞鏈區、恆定重鏈 2(CH2)區和恆定重鏈 3(CH3)區之一或多個，較佳地至少一絞鏈區、一 CH2 區和一 CH3 區。

【0124】在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括一 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【0125】在某些具體實例中，在該第一重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且在該第二重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407

和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且其中該第一和該第二重鏈並非在相同位置經取代。

【0126】 在某些具體實例中，(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【0127】 在某些具體實例中，相較於包括相同的第一和第二抗原結合區以及包含人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區之二個重鏈恆定區(CH)的另外抗體，該結合劑在較小程度上引發 Fc-媒介的效應子功能。

【0128】 在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區(CH)係經修飾，使得相較於除了包括未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)之外的相同抗體，該抗體引發 Fc-媒介的效應子功能的程度更小。

【0129】 在某些具體實例中，該未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)各自係包括 SEQ ID NO：47 中所示的胺基酸序列。

【0130】 在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 Fcγ 受體結合、與 Clq 結合或引發 Fc-媒介的 Fcγ 受體交聯來測量。

【0131】 在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 C1q 結合來測量。

【0132】 在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區係經修飾，使得相較於野生型抗體，Clq 與該抗體的結合減少，較佳地減少至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%，至少 97%，或 100%，其中 C1q 結合較佳地係藉由 ELISA 來測定。

【0133】 在某些具體實例中，在至少一個該第一和第二重鏈恆定區(CH)中，

根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235、D265、N297、P331 和 G236 之位置中的一個或多個胺基酸分別不為 L、L、D、N、P 和 G。

【0134】在某些具體實例中，根據 EU 編號，在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈中分別為 F 和 E。

【0135】在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及/或根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0136】在某些具體實例中，

(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 A；

(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 R；或

(iii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在其中一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在另一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0137】在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F 和 E，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0138】在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根

據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0139】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【0140】 在某些具體實例中，該第一及/或第二重鏈的恆定區係包括一胺基酸序列，該胺基酸序列與 SE QID NO：47 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%的相同性。

【0141】 在某些具體實例中，

a) 該第一重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：54 所示的胺基酸序列；及

b) 該第二重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：52 所示的胺基酸序列。

【0142】 在某些具體實例中，該結合劑係包括一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0143】 在某些具體實例中，該結合劑係包括一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0144】 在某些具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0145】 在某些具體實例中，該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆

定區或拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0146】 在某些具體實例中，

(i) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區，

(ii) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，

(iii) 該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，或

(iv) 該第一輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0147】 在某些具體實例中，卡帕(kappa)(κ)輕鏈係包括一與 SE QID NO：55 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0148】 在某些具體實例中，拉姆達(lambda)(λ)輕鏈係包括一與 SE QID NO：56 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0149】 在某些具體實例中，此結合劑為由 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 組成之群中選出的同型。在一具體實例中，此同型係由人類 IgG1、人類 IgG2、人類 IgG3 和人類 IgG4 組成之群中選出。

【0150】 在某些具體實例中，此結合劑為全長 IgG1 抗體。

【0151】 在某些具體實例中，此結合劑為一 IgG1m(f)同種異形之抗體。

【0152】 在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，

其中該第一 VH 係包含第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第一 VL 係包含第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：76、77 和 78 所示之序列，而該第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：79、80 和 81 所示之序列；

及該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽；

其中該第二 VH 係包含第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第二 VL 係包含第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而該第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列；

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 G236 在該第一 CH 中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 D265 在該第二 CH 中分別為 F、E 和 A；及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應 F405 位置中的胺基酸在該第一 CH 中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置中的胺基酸在該第二 CH 中為 R。

【0153】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：21 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列

ii) 一第一輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：22 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【0154】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：21 所示之胺基酸序列，

ii) 一第一輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：22 所示之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列。

【0155】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該VL係包括一包含如SEQ ID NO：90所示之序列的LCDR3序列。在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該VL係包括一包含如SEQ ID NO：89所示之序列的LCDR2序列。在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該VL係包括一包含如SEQ ID NO：88所示之序列的LCDR1序列。在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：88、89和90所示之序列。在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：91、92和90所示之序列。

【0156】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)及一包含 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO：4 所示之序列，而該 LCDR3 序列係包括如 SEQ ID NO：90 所示之序列。

【0157】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、

LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：88、89和90所示之序列。

【0158】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：64、65 和 66 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：91、92 和 90 所示之序列。

【0159】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：74、3 和 66 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：88、89 和 90 所示之序列。

【0160】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：25，位置 1 至 115 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)及/或一包含 SEQ ID NO：26，位置 1 至 111 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0161】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該VH係包括一與如SEQ ID NO：25，位置1至115所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0162】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：25，位置1至115所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【0163】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：26，位置1至111所示之序

列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0164】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：26，位置1至111所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【0165】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：25，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性之序列，而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：26，位置 1 至 111 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：25，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 80%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：26，位置 1 至 111 所示之序列具有至少 80%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：25，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 90%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：26，位置 1 至 111 所示之序列具有至少 90%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與 SEQ ID NO：25，位置 1 至 115 如所示之序列具有至少 95%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：26，位置 1 至 111 所示之序列具有至少 95%相同性的序列。

【0166】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：25，位置1至115所示之序列，該VL係包括如SEQ ID NO：26，位置1至111所示之序列。

【0167】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括

一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示之重鏈可變區(VH)及/或輕鏈可變區(VL)之抗體相競爭與 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性。

【0168】在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係如上所示。

【0169】在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：90 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：18 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0170】在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：4 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，和一包含如 SEQ ID NO：90 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含如 SEQ ID NO:14 所示之 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，和一包含如 SEQ ID NO：18 所示之 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0171】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：88、89和90所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區

(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0172】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：64、65和66所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：91、92和90所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：69、70和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：72、73和18所示之序列。

【0173】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：74、3和66所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：88、89和90所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：75、13和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0174】在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：25，位置 1 至 115 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 SEQ ID NO：26，位置 1 至 111 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)；及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：11 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)和一包含 SEQ ID NO：15 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0175】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：25，位置1至115所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：26，位置1至111所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：11所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列而該VL係包括一與如SEQ ID NO：15所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列。

【0176】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：25，位置1至115所示之序列而該VL係包括如SEQ ID NO：26，位置1至111所示之序列

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變

區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列而該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【0177】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 EpCAM 結合的第一抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性，而該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 CD137 結合的第二抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭 CD137 結合及/或對該抗體之 CD137 具有特異性。

【0178】在某些具體實例中，一可變區係包括三個互補決定區(CDR1、CDR2 和 CDR3)及四個框架區(FR1、FR2、FR3 和 FR4)。

【0179】在某些具體實例中，該互補決定區和該框架區從胺基端到羧基端係依下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0180】在某些具體實例中，此結合劑為全長抗體或抗體片段之形式。

【0181】在某些具體實例中，此結合劑為一多特異性，例如雙特異性結合劑。

【0182】在某些具體實例中，此結合劑一多特異性，例如雙特異性抗體。

【0183】在某些具體實例中，此結合劑係包括

(i) 一第一重鏈可變區(VH)和一第一輕鏈可變區(VL)，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

(ii) 一第二重鏈可變區(VH)和一第二輕鏈可變區(VL)，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區.

【0184】在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包括一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第一重鏈可變區(VH)

和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

ii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包括一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0185】在某些具體實例中，該結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0186】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之第一重鏈，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之第一輕鏈；

而該第二結合臂係包括

i) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之第二重鏈；及

ii) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)的第二輕鏈。

【0187】在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些

具體實例中，此第二結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，第二結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自全長抗體，例如衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自單株抗體。

【0188】 在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括恆定重鏈 1(CH1)區、絞鏈區、恆定重鏈 2(CH2)區和恆定重鏈 3(CH3)區之一或多個，較佳地至少一絞鏈區、一 CH2 區和一 CH3 區。

【0189】 在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括一 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【0190】 在某些具體實例中，在該第一重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且在該第二重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且其中該第一和該第二重鏈並非在相同位置經取代。

【0191】 在某些具體實例中，(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【0192】 在某些具體實例中，相較於包括相同第一和第二抗原結合區以及包含人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區之二個重鏈恆定區(CH)的另外抗體，該結合

劑在較小程度上引發 Fc-媒介的效應子功能。

【0193】 在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區(CH)係經修飾，使得相較於除了包括未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CHs)之外的相同抗體，該抗體引發 Fc-媒介的效應子功能的程度更小。

【0194】 在某些具體實例中，該未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)各自包括 SEQ ID NO:47 中所示的胺基酸序列。

【0195】 在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 Fcγ 受體結合、與 Clq 結合或引發 Fc-媒介的 Fcγ 受體交聯來測量。

【0196】 在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 C1q 結合來測量。

【0197】 在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區係經修飾，使得相較於野生型抗體，Clq 與該抗體的結合減少，較佳地減少至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%，至少 97%，或 100%，其中 C1q 結合較佳地係藉由 ELISA 來測定。

【0198】 在某些具體實例中，在至少一個該第一和第二重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235、D265、N297、P331 和 G236 之位置中的一個或多個胺基酸分別不為 L、L、D、N、P 和 G。

【0199】 在某些具體實例中，根據 EU 編號，在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈中分別為 F 和 E。

【0200】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及/或根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0201】 在某些具體實例中，

(i) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第

一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 A；

(ii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 R；或

(iii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在其中一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在另一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0202】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F 和 E，且其中(i) 根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii) 根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0203】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii) 根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0204】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人

類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【0205】在某些具體實例中，該第一及/或第二重鏈的恆定區係包括一胺基酸序列，該胺基酸序列與 SE QID NO：47 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%的相同性。

【0206】在某些具體實例中，

a) 該第一重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：54 所示的胺基酸序列；及

b) 該第二重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：52 所示的胺基酸序列。

【0207】在某些具體實例中，該結合劑係包括一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0208】在某些具體實例中，該結合劑係包括一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0209】在某些具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0210】在某些具體實例中，該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0211】在某些具體實例中，

(i) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區，

(ii) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，

(iii) 該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，或

(iv) 該第一輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區，

【0212】在某些具體實例中，卡帕(kappa)(κ)輕鏈係包括一與 SE QID NO：55 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少

97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0213】在某些具體實例中，拉姆達(lambda)(λ)輕鏈係包括一與 SE QID NO：56 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0214】在某些具體實例中，此結合劑為由 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 組成之群中選出的同型。在一具體實例中，此同型係由人類 IgG1、人類 IgG2、人類 IgG3 和人類 IgG4 組成之群中選出。

【0215】在某些具體實例中，此結合劑為全長 IgG1 抗體。

【0216】在某些具體實例中，此結合劑為一 IgG1m(f)同種異形之抗體。

【0217】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，

其中該第一 VH 係包含第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第一 VL 係包含第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之序列，而該第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：88、89 和 90 所示之序列；

及該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽；

其中該第二 VH 係包含第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第二 VL 係包含第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而該第二 LCDR1、LCDR2

和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列；

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 G236 在第一 CH 中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 D265 在第二 CH 中分別為 F、E 和 A；及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應 F405 位置中的胺基酸在該第一 CH 中為 L，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置中的胺基酸在該第二 CH 中為 R。

【0218】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：25 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列

ii) 一第一輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：26 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【0219】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：25 所示之胺基酸序列，

ii) 一第一輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：26 所示之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列。

【0220】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：4 所示之序列的 HCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括

一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：93 所示之序列的 HCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：2 所示之序列的 HCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、93 和 4 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：64、96 和 66 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：74、93 和 66 所示之序列。

【0221】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：8 所示之序列的 LCDR3 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：95 所示之序列的 LCDR2 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：94 所示之序列的 LCDR1 序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：94、95 和 8 所示之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：97、98 和 8 所示之序列。

【0222】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一

包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、93和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：94、95和8所示之序列。

【0223】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：64、96 和 66 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：97、98 和 8 所示之序列。

【0224】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)，其中該 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：74、93 和 66 所示之序列，而該 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：94、95 和 8 所示之序列。

【0225】 在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：27，位置 1 至 115 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)及/或一包含 SEQ ID NO：28，位置 1 至 108 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0226】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該VH係包括一與如SEQ ID NO：27，位置1至115所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0227】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：27，位置1至115所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【0228】 在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一

輕鏈可變區(VL)，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：28，位置1至108所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0229】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：28，位置1至108所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【0230】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括與如 SEQ ID NO：27，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性之序列而該 VL 係包括與如 SEQ ID NO：28，位置 1 至 108 所示之序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%、至少 99%或 100%相同性之序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：27，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 80%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：28，位置 1 至 108 所示之序列具有至少 80%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：27，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 90%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：28，位置 1 至 108 所示之序列具有至少 90%相同性的序列。在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該 VH 係包括一與如 SEQ ID NO：27，位置 1 至 115 所示之序列具有至少 95%相同性的序列而該 VL 係包括一與如 SEQ ID NO：28，位置 1 至 108 所示之序列具有至少 95%相同性的序列。

【0231】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：27，位置1至115所示之序列而該VL系包括如SEQ ID NO：28，位置1至108所示之序列。

【0232】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示之重鏈可變區及/或輕鏈可變區之抗體相競爭與 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性。

【0233】在某些具體實例中，該與 CD137 結合的第二抗原結合區係如上所示。

【0234】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、93和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：94、95和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0235】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：64、96和66所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：97、98和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：69、70

和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：72、73和18所示之序列。

【0236】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：74、93和66所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：94、95和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：75、13和71所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0237】在某些具體實例中，

a) 該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：27，位置 1 至 115 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含 SEQ ID NO：28，位置 1 至 108 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)；及

b) 該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一包含 SEQ ID NO：11 之 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含 SEQ ID NO：15 之 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0238】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：27，位置1至115所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性

的胺基酸序列，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：28，位置1至108所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：11所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：15所示之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%或至少99%相同性的胺基酸序列。

【0239】在某些具體實例中，

a) 該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：27，位置1至115所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：28，位置1至108所示之序列；及

b) 該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【0240】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 EpCAM 結合的第一抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性，而該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括一抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如上所示和 CD137 結合的第二抗原結合區之重鏈可變區或輕鏈可變區或其組合之抗體相競爭CD137結合及/或對該抗體之CD137 具有特異性。

【0241】在某些具體實例中，一可變區係包括三個互補決定區(CDR1、CDR2 和 CDR3)及四個框架區(FR1、FR2、FR3 和 FR4)。

【0242】在某些具體實例中，該互補決定區和該框架區從胺基端到羧基端

係依下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0243】在某些具體實例中，此結合劑為全長抗體或抗體片段之形式。

【0244】在某些具體實例中，此結合劑為一多特異性，例如雙特異性結合劑。

【0245】在某些具體實例中，此結合劑為一多特異性，例如雙特異性抗體。

【0246】在某些具體實例中，此結合劑係包括

(i) 一第一重鏈可變區(VH)和一第一輕鏈可變區(VL)，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

(ii) 一第二重鏈可變區(VH)和一第二輕鏈可變區(VL)，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0247】在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第一重鏈可變區(VH)和該第一輕鏈可變區(VL)形成了該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區；及

ii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，以及包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽，其中該第二重鏈可變區(VH)和該第二輕鏈可變區(VL)形成了該與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【0248】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽；及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0249】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之第一重鏈，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之第一輕鏈；

而該第二結合臂係包括

i) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之第二重鏈；及

ii) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之第二輕鏈。

【0250】在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，此第一結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自全長抗體。在某些具體實例中，此第二結合臂係衍生自單株抗體。在某些具體實例中，第二結合臂係衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自全長抗體，例如衍生自全長 IgG1，λ(拉姆達(lambda))或 IgG1，κ(卡帕(kappa))抗體。在某些具體實例中，此第一和第二結合臂係衍生自單株抗體。

【0251】在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括恆定重鏈 1(CH1)區、絞鏈區、恆定重鏈 2(CH2)區和恆定重鏈 3(CH3)區之一或多個，較佳地至少一絞鏈區、一 CH2 區和一 CH3 區。

【0252】在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括一 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【0253】在某些具體實例中，在該第一重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且在該第二重鏈恆定區(CH)中根據 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應由 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置的至少一個胺基酸係經取代，且其中該第一和該第二重鏈並非在相同位置經取代。

【0254】在某些具體實例中，(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【0255】在某些具體實例中，相較於包括相同第一和第二抗原結合區以及包含人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區之二個重鏈恆定區(CH)的另外抗體，該結合劑在較小程度上引發 Fc-媒介的效應子功能。

【0256】在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區(CH)係經修飾，使得相較於除了包括未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)之外的相同抗體，該抗體引發 Fc-媒介的效應子功能的程度更小。

【0257】在某些具體實例中，該未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)各自包括 SEQ ID NO：47 中所示的胺基酸序列。

【0258】在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 Fcγ 受體結合、與 Clq 結合或引發 Fc-媒介的 Fcγ 受體交聯來測量。

【0259】在某些具體實例中，該 Fc-媒介的效應子功能係藉由與 C1q 結合來測量。

【0260】在某些具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區係經修飾，使得相

較於野生型抗體，Clq 與該抗體的結合減少，較佳地減少至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%，至少 97%，或 100%，其中 C1q 結合較佳地係藉由 ELISA 來測定。

【0261】 在某些具體實例中，在至少一個該第一和第二重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235、D265、N297、P331 和 G236 之位置中的一個或多個胺基酸分別不為 L、L、D、N、P 和 G。

【0262】 在某些具體實例中，根據 EU 編號，在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈中分別為 F 和 E。

【0263】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及/或根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0264】 在某些具體實例中，

(i) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 A；

(ii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一和第二重鏈恆定區(HC)二者中分別為 F、E 和 R；或

(iii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在其中一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在另一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【0265】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F 和 E，且其中(i) 根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)

根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0266】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0267】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【0268】 在某些具體實例中，該第一及/或第二重鏈的恆定區係包括一胺基酸序列，該胺基酸序列與 SE QID NO：47 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%的相同性。

【0269】 在某些具體實例中，

a) 該第一重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：54 所示的胺基酸序列；及

b) 該第二重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO：52 所示的胺基酸序列。

【0270】 在某些具體實例中，該結合劑係包括一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0271】 在某些具體實例中，該結合劑係包括一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆

定區。

【0272】 在某些具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0273】 在某些具體實例中，該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0274】 在某些具體實例中，

(i) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區，

(ii) 該第一輕鏈恆定區和該第二輕鏈恆定區為拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，

(iii) 該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，或

(iv) 該第一輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0275】 在某些具體實例中，卡帕(kappa)(κ)輕鏈係包括一與 SE QID NO：55 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0276】 在某些具體實例中，拉姆達(lambda)(λ)輕鏈係包括一與 SE QID NO：56 中所示的胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【0277】 在某些具體實例中，此結合劑為由 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4 組成之群中選出的同型。在一具體實例中，此同型係由人類 IgG1、人類 IgG2、人類 IgG3 和人類 IgG4 組成之群中選出。

【0278】 在某些具體實例中，此結合劑為全長 IgG1 抗體。

【0279】 在某些具體實例中，此結合劑為一 IgG1m(f)同種異形之抗體。

【0280】 在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，其係包括一包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和一包含該與 CD137 結合的第二

抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，

其中該第一 VH 係包含第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第一 VL 係包含第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、93 和 4 所示之序列，而該第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：94、95 和 8 所示之序列；

及該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽；

其中該第二 VH 係包含第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第二 VL 係包含第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而該第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列；

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 G236 在第一 CH 中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 D265 在第二 CH 中分別為 F、E 和 A；及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應 F405 位置中的胺基酸於第一 CH 中為 L，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置中的胺基酸在第二 CH 中為 R。

【0281】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：27 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列

ii) 一第一輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：28 所示之胺基酸序列具有至少 80%、

至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【0282】 在某些具體實例中，此結合劑係包括

i) 一第一重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：27 所示之胺基酸序列，

ii) 一第一輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：28 所示之胺基酸序列，

iii) 一第二重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列；及

iv) 一第二輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列。

【0283】 在另一方面，本揭示文係提供一結合劑，其係包括一第一結合臂以及一第二結合臂，該第一結合臂係包括一第一抗原結合區和一包含恆定重鏈 2(CH2)區之第一重鏈恆定區，而該第二結合臂係包括一第二抗原結合區和一包含恆定重鏈 2(CH2)區之第二重鏈恆定區，

其中至少一個該第一和第二抗原結合區係與 EpCAM 結合，及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在至少其中一個該第一和第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【0284】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 之位置在該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【0285】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 之位置在該第一及/或第二重鏈恆定區二者中分別為 F、E 和 R。

【0286】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在其中一個該第一或第二重鏈恆定區中分別為 F、E

和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在另一個該第一或第二重鏈恆定區 CH 中分別為 F、E 和 A。

【0287】在某些具體實例中，該第一和第二抗原結合區二者係與 EpCAM 結合。

【0288】在某些具體實例中，其中一個該第一和第二抗原結合區係與 EpCAM 結合，而另一個該第一和第二抗原結合區係與 EpCAM 以外的抗原結合。

【0289】在某些具體實例中，其中一個該第一和第二抗原結合區係與 EpCAM 結合，而另一個該第一和第二抗原結合區係與 CD137 結合。

【0290】在另一方面，本揭示文係提供一結合劑，其係包括一第一結合臂以及一第二結合臂，該第一結合臂係包括一第一抗原結合區和一包含恆定重鏈 2(CH2)區之第一重鏈恆定區，而該第二結合臂係包括一第二抗原結合區和一包含恆定重鏈 2(CH2)區之第二重鏈恆定區，

其中至少一個該第一和第二抗原結合區係與 CD137 結合，及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在至少一個該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【0291】在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【0292】在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區二者中分別為 F、E 和 R。

【0293】在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在其中一個該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在另一個該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 A。

【0294】在某些具體實例中，該第一和第二抗原結合區二者係與 CD137 結合。

【0295】在某些具體實例中，其中一個該第一和第二抗原結合區係與 CD137 結合而另一個該第一和第二抗原結合區係與 CD137 以外的抗原結合。

【0296】在某些具體實例中，其中一個該第一和第二抗原結合區係與 CD137 結合而另一個該第一和第二抗原結合區係與 EpCAM 結合。

【0297】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的抗原結合區及/或該與 CD137 結合的抗原結合區係如文中所述。

【0298】在某些具體實例中，該 EpCAM 為人類 EpCAM。

【0299】在某些具體實例中，該與 EpCAM 結合的抗原結合區係與表現在腫瘤細胞上的 EpCAM 結合。

【0300】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列。

【0301】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：1所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列而該VL係包括一與如SEQ ID NO：5所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【0302】在某些具體實例中，該與EpCAM結合的抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：1所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：5所示之序列。

【0303】 在某些具體實例中，該 CD137 為人類 CD137。

【0304】 在某些具體實例中，該與CD137結合的抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【0305】 在某些具體實例中，該與CD137結合的抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括一與如SEQ ID NO：11所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列，而該VL係包括一與如SEQ ID NO：15所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性之序列。

【0306】 在某些具體實例中，該與CD137結合的抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【0307】 在某些具體實例中，此結合劑係包括一與EpCAM結合的抗原結合區和與CD137結合的抗原結合區，其中

a) 該與EpCAM結合的抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1, HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1, LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的抗原結合區係包括一包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及一包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1, HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和

14所示之序列，而該LCDR1, LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列LCDR1, LCDR2和LCDR3。

【0308】在某些具體實例中，此結合劑為二價結合劑。

【0309】在某些具體實例中，此結合劑係包括一 Fc 區。

【0310】在某些具體實例中，此結合劑為一抗體，例如全長抗體之形式。

【0311】在某些具體實例中，此結合劑係包括一包含與 EpCAM 結合的抗原結合區之第一結合臂，和一包含與 CD137 結合的抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含一第一重鏈可變區(VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含一第一輕鏈可變區(VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii) 包含一第二重鏈可變區(VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含一第二輕鏈可變區(VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0312】在某些具體實例中，

該第一 VH 係包括第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第一 VL 係包括第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之序列，而該第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列；及

該第二 VH 係包括第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第二 VL 係包括第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而該第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列。

【0313】在某些具體實例中，

該第一 VH 係包括一與 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少

85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，而該第一 VL 係包括一與 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及該第二 VH 係包括一與 SEQ ID NO：11 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，而該第二 VL 係包括一與 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【0314】 在某些具體實例中，

該第一 VH 係包括如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，而該第一 VL 係包括如 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列；及

該第二 VH 係包括如 SEQ ID NO：11 所示之胺基酸序列，而該第二 VL 係包括如 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列。

【0315】 在某些具體實例中，各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括一 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【0316】 在某些具體實例中，(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【0317】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人

類 IgG1 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0318】 在某些具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgG1 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【0319】 在另一方面，本揭示文係提供一編碼如文中所述之結合劑的多核苷酸或一組多核苷酸。

【0320】 在另一方面，本揭示文係提供包括如文中所述之結合劑或如文中所述之多核苷酸的醫藥組成物。

【0321】 在另一方面，本揭示文係提供用於治療一對象的方法，其係包括投予該對象如文中所述之結合劑、如文中所述之多核苷酸或如文中所述之醫藥組成物。

【0322】 在某些具體實例中，該方法為用於一對象中治療或防止癌症的方法。

【0323】 在某些具體實例中，該對象為人類。

【0324】 在另一方面，本揭示文係提供如文中所述之結合劑、如文中所述之多核苷酸或如文中所述之醫藥組成物作為醫藥用途，例如用作為醫藥品。

【0325】 在某些具體實例中，如文中所述之結合劑、如文中所述之多核苷酸或如文中所述之醫藥組成物係用於治療性或預防性治療一疾病或病症。

【0326】 在某些具體實例中，該疾病或病症為癌症。

【0327】 在另一方面，本揭示文係提供如文中所述之結合劑、如文中所述

之多核苷酸或如文中所述之醫藥組成物用於一對象中治療或預防癌症。

【0328】 在某些具體實例中，該對象為人類。

【圖式簡單說明】

*圖 1:腫瘤細胞上的相對 EpCAM 表現*

【0329】 圖 1 係顯示藉由流式細胞術所測定的 T84、DiFi、HPAF-II、NCI-N87、Calu-3、NCI-H747 和 A549 腫瘤細胞株上的相對 EpCAM 表現。顯示的數據為各腫瘤細胞株的 Δ 幾何平均螢光強度(gMFI)，計算為：EpCAM 抗體的幾何平均螢光強度(APC)–非結合對照抗體的幾何平均螢光(APC)。

*圖 2：二價 EpCAM 抗體及其單價對應物與 DiFi、HPAF-II 或 A549 細胞的結合*

【0330】 藉由流式細胞術所測定的 EpCAM 抗體與 DiFi、HPAF-II 或 A549 細胞株的單價和二價結合。IgG1-b12-FEAL 係包括在所有實驗中作為陰性對照(空心方塊)。所顯示的數據為一代表性實驗之雙重複測量的平均螢光強度(MFI；R-藻紅蛋白[PE])±標準偏差(SD)。A.bsIgG1-b12-FEALxEpCAM-A37-FEAR(實心圓)和 IgG1-EpCAM-A37-FEAR(空心三角形)抗體與 DiFi、HPAF-II 或 A549 細胞的結合。B.bsIgG1-b12-FEALxEpCAM-C52-FEAR(實心圓)和 IgG1-EpCAM-C52-FEAR(空心三角形)抗體與 DiFi、HPAF-II 或 A549 細胞的結合。C.bsIgG1-b12-FEALxEpCAM-UBS-54-FEAR(實心圓)和 IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR(空心三角形)抗體與 DiFi、HPAF-II 或 A549 細胞的結合。D.IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR(空心三角形)抗體與 DiFi 或 HPAF-II 細胞的結合。E.bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR 和 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 以及非結合對照雙特異性抗體 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 與 DiFi 細胞之結合。

*圖 3：EpCAM 抗體與轉染到 CHO-S 細胞中之全長人類、食蟹獼猴或小鼠 EpCAM*

*的結合。*

【0331】使用以全長人類、食蟹獼猴或小鼠 EpCAM 過渡性轉染的 CHO-S 細胞分析單價和二價 EpCAM 抗體之結合。評估與未轉染的 CHO-WT 細胞之結合，作為陰性對照。數據係以二個技術性重複之幾何均值螢光強度(gMFI)R-PE 值±SD 來表示。A.IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR、IgG1-EpCAM-A37-FEAR、IgG1-EpCAM-C52-FEAR 和 IgG1-EpCAM-343-A3 的結合。B.bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS-54-FEAR、bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR、bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR 和 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR 的結合。

*圖 4：在以細胞為基礎的報告子分析中，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體引發 4-1BB 依賴的螢光素酶活性。*

【0332】在連續稀釋的 BsIgG1-CD137-005-FEAR/EpCAM-323-A3-FEAL 的存在下，將 HEK293_NKF_h4-1BB_gfp_luc 報導子細胞與表現 EpCAM 的 OV-90-SC12 細胞共培養，或單獨培養(培養基)至隔夜。藉由發光測量來量化螢光素酶活性。顯示相對於無抗體之培養(虛線)的螢光素酶活性的誘導倍數。誤差線係描繪雙重複孔槽的 SD。顯示來自三個實驗中的一個代表性實驗之數據。

*圖 5：在活體外 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體於 PBMC-DiFi 細胞共培養中增強 PBMC 增生。*

【0333】使用表現 EpCAM 之 DiFi 細胞在與 CFSE-標定的 PBMC 共培養中，以一活體外 PBMC 增生分析檢測 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體。在有或無添加指定濃度之 EpCAMx4-1BB 或 EpCAMxb12 雙特異性抗體或非結合對照 IgG1-b12-FEAL 下，在抗-CD3(0.1 μg/mL)的存在下，將細胞培養 96 h。萃取 CFSE-陽性細胞的數目並用於計算分裂指數。所顯示的數據為得自一個代表性實驗之雙重複測量的平均分裂指數±SD。A.由 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS54-FEAR (實心三角形)和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-UBS54-FEAR(實心

方塊)抗體所引發的 PBMC 增生之分裂指數。B.由 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR（實心三角形)和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR(實心方塊)抗體所引發的 PBMC 增生之分裂指數。C.由 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR（實心三角形)和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-C52-FEAR(實心方塊)抗體所引發的 PBMC 增生之分裂指數。D.由 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR(實心三角形)和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR(實心方塊)抗體所引發的 PBMC 增生之分裂指數。

*圖 6： EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC-DiFi 細胞共培養中增強活體外 CD4+和 CD8+T 細胞增生。*

【0334】使用表現 EpCAM 的 DiFi 細胞在與 CFSE-標定的 PBMC 共培養中，以一活體外 T 細胞增生分析檢測 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體。在抗-CD3(0.1 μg/mL)的存在下，有或無添加 EpCAMx4-1BB(灰色條柱)或 EpCAMxb12(條紋條柱)雙特異性抗體(10 μg/mL)或非結合對照 IgG1-b12-FEAL(10 μg/mL；空心條柱)下，將細胞培養 96 h。藉由流式細胞術評估 CFSE 陽性細胞的數目，為絕對 CD4+(A)或 CD8+(B)T 細胞計數的量度，並計算分裂指數。所顯示的數據為得自一代表性實驗中之雙重複測量的平均分裂指數±SD。

*圖 7：在活體外使用各種腫瘤細胞株在 PBMC-腫瘤細胞共培養中 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強 PBMC 增生。*

【0335】使用表現 EpCAM 的 T84、DiFi、HPAF-II、NCI-N87、Calu-3 或 NCI-H747 腫瘤細胞在與 CFSE-標定的 PBMC 共培養中，以一活體外 PBMC 增生分析檢測 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體。在抗 CD3(0.1μg/mL)和指定濃度的 EpCAMx4-1BB 或 EpCAMxb12 雙特異性抗體或非結合對照 IgG1-b12-FEAL 的存在下將細胞培養 96 h。藉由流式細胞術評估 CFSE 陽性細胞的數目作為絕對 PBMC 計數的量度並計算分裂指數。所顯示的數據為得自使用(A)PBMC-T84 共

培養、(B)PBMC-DiFi 共培養、(C)PBMC-HPAF-II 共培養，(D)PBMC-NCI-N87 共培養物、(E)PBMC-Calu-3 共培養物或(F)PBMC-NCI-H747 共培養之一代表性實驗的雙重複測量的平均分裂指數±SD。

*圖 8.具有包含惰性突變之 Fc 結構域的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 DiFi 腫瘤細胞共培養中增強人類 CD4+和 CD8+T 細胞的活體外增生*

【0336】 使用表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞在與 CFSE-標定的人類 PBMC 共培養中，以一活體外 PBMC 增生分析，檢測 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體。在抗 CD-3(0.1 μg/mL)和指定濃度之 EpCAM-FERLx4-1BB-FEAR(實心菱形)、EpCAM-FEARx4-1BB-FEAL(實心方塊)、b12-FERLx4-1BB-FEAR(左-半閉合三角形)、EpCAM-FERLxb12-FEAR(右半閉合三角形)雙特異性抗體或非結合對照 b12-FERLxb12-FEAR(空心三角形)的存在下，將細胞培養 96 h。藉由流式細胞術評估 CFSE 陽性(A)CD4+和(B)CD8+T 細胞的數目，為絕對 T 細胞計數的量度並計算分裂指數。所顯示的數據為得自使用 PBMC-DiFi 共培養之一代表性實驗的雙重複測量平均分裂指數±SD 的非線性 4-參數可變斜率擬合。

*圖 9：在活體外病患-衍生之腫瘤標本中 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強腫瘤浸潤的淋巴細胞擴增。*

【0337】 將從非小細胞肺癌病患切除的腫瘤組織切成 1-2 $mm^3$ 的碎片，並在 IL-2(50U/mL)和 0.2-5 μg/mL BsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR 或 BsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR 的存在下，或僅以 IL-2(無抗體)培養 14 天。IL-2 濃度在第 7 天和第 10 天分別逐步降低至 33 U/mL 和 15 U/mL。藉由流式細胞術測定培養後的絕對細胞數。顯示的為衍生自所分析的二名患者中其中一名示例性病患之培養物的總 TIL、NK 細胞、CD8+和 CD4+T 細胞數。顯示的為衍生自 3-4 個別的雙重複之數據和雙重複的平均值。誤差線係描繪 SD。

*圖 10：在帶有 hEpCAM 過度表現之 MC38 腫瘤的 hEpCAM 小鼠中 EpCAMx4-1BB*

*雙特異性抗體的抗腫瘤活性*

【0338】將人類 EpCAM 蛋白之基因轉殖小鼠(hEpCAM 小鼠)接種 $5\times10^5$ 個過度表現人類 EpCAM 蛋白的 MC38 腫瘤細胞(MC38_hEpCAM)。當腫瘤達到約 $30mm^3$ 平均大小時，開始治療。在腫瘤接種後第 12、17、21、24、28 和 31 天，以 100 μg BsIgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT/m4-1BB-3H3-AAKR 或陰性對照抗體 IgG2amm-b12-AAKR 腹膜內治療小鼠(垂直虛線)。(A)顯示的為每組的平均腫瘤體積，誤差線係描繪 SEM。生長曲線含有最後測量之犧牲小鼠的腫瘤體積(最後的觀察結轉)。**，P<0.01；雙向重複測量 ANOVA。(B)存活百分率。*,P<0.05；Log-rank(Mantel-Cox)檢驗。

*圖 11.相較於二價 EpCAM 和 4-1BB 特異性單株抗體之組合，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC-DiFi 腫瘤細胞共培養中增強人類 CD4+和 CD8+T 細胞增生。*

【0339】使用表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞在與 CellTrace Violet(CTV)-標定的人類 PBMC 共培養中，以一活體外 PBMC 增生分析比較雙特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 與二價 IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR(單獨或組合)。在抗 CD-3(0.1 μg/mL；虛線)和指定濃度的 EpCAMx4-1BB、IgG1-EpCAM-A37-FERL 及/或 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR 的存在下將細胞培養 96 h。藉由 CTV 標定稀釋液之流式細胞術分析，評估 CD4+和 CD8+T 增生。所顯示的數據為得自一代表性實驗之雙重複測量的平均擴增指數±SD。

*圖 12.相較於 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 之組合，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC-DiFi 腫瘤細胞共培養中增強人類 CD4+和 CD8+T 細胞增生。*

【0340】使用表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞在與 CTV-標定的人類 PBMC 共培養中以一活體外 PBMC 增生分析比較雙特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 與 bsIgG1-EpCAM-A37-

FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 之組合。在抗-CD3(0.1 μg/mL ；虛線）和指定濃度 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的存在下或以 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR5 之組合將細胞培養 96 h。藉由 CTV 標定稀釋液之流式細胞術分析來評估 CD4+和 CD8+T 增生。所顯示的數據為得自一代表性實驗之雙重複測量的平均百分比分裂細胞±SD。

*圖 13. 相較於 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD1377-HC7LC2-FEAR 之組合，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC-DiFi 腫瘤細胞共培養中增強人類 CD4+和 CD8+T 細胞活化。*

【0341】使用表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞在與人類 PBMC 共培養中，以一活體外 PBMC 增生分析比較 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 與 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2 之組合。在抗-CD3(0.1μg/mL ；虛線）和指定濃度 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的存在下或以 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 之組合將細胞培養 96 h。藉由流式細胞術測定表現 CD25(A)或 4-1BB(B)的 CD4+和 CD8+T 細胞之百分比，以及 CD25+或 4-1BB+群族中的幾何平均螢光強度(FI)。所顯示的數據為得自一代表性實驗之雙重複測量的平均值±標準差。

*圖 14.相較於 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FEAL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在癌症病患衍生的 PBMC-DiFi 腫瘤細胞共培養中增強人類 CD4+和 CD8+T 細胞增生。*

【0342】使用表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞在與 CTV 標定的癌症病患衍生之 PBMC 共培養中，以一活體外增生分析比較 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體

bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 與 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FEAL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合。在抗-CD3(0.1μg/mL ；虛線）和指定濃度 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的存在下或以 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合將細胞培養 96 h。藉由 CTV 標定稀釋液之流式細胞術分析評估 CD4+和 CD8+T 細胞增生。所顯示的數據為得自一實驗之雙重複測量的平均百分比分裂細胞±SD。

*圖 15.相較於 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在癌症病患衍生的 PBMC-DiFi 腫瘤細胞共培養中增強人類 CD4+和 CD8+T 細胞活化。*

【0343】使用表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞，在與癌症病患衍生的 PBMC 共培養中以一活體外增生分析比較 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 與 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合。在抗-CD3(0.1 μg/mL ；虛線）和指定濃度 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的存在下或以 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合將細胞培養 96 h。藉由流式細胞術測定 CD25+或 4-1BB+群族中表現 CD25(A)和 4-1BB(B)的 CD4+和 CD8+T 細胞的百分比，以及幾何平均螢光強度(FI)。所顯示的數據為得自一實驗之雙重複測量值的平均值±SD。

*圖 16.EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強 $CD8^+$ T 細胞之 CD107a 和 GzmB 表現*

【0344】在 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 或對照抗體的存在下，將表現 CLDN6-特異性 TCR 的 PBMC-衍生 CD8+T 細胞與 MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 腫瘤細胞共培養 2 天。藉由流式細胞術分析 CD8+T 細胞的 CD107a 和 GzmB 表現。**(A)**代表性流式細胞圖。**(B-C)**CD107a(C)

和 GzmB(D)表現量之劑量反應曲線。所顯示的數據為來自受試的六個供體之一的雙重複測量值平均和 SD。**(D)**正常化 CD107a 和**(E)**GzmB 表現量(各供體的 bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 表現量設為 1)。顯示來自二個獨立實驗所評估之 6 個供體的匯總數據。誤差線表示 SD。****，P<0.0001；***，P<0.001；**，P<0.01；*，P<0.05；弗里曼檢驗(Friedman test)與鄧恩多重比較檢驗(Dunn's multiple comparisons)。GMFI=幾何平均螢光強度；GzmB=顆粒酶 B；PBMC=周邊血液單核細胞；SD=標準差。

*圖 17.EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強對腫瘤細胞之 CD8⁺ T-媒介的細胞毒性*

【0345】在 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 或對照抗體的存在下，將表現 CLDN6-特異性 TCR 之 PBMC 衍生的 CD8+T 細胞與 MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 腫瘤細胞共培養 5 至 6 天。細胞指數值係衍生自在 2 至 3 小時間隔所進行的阻抗測量。**(A)**顯示來自一代表性供體之共培養中的細胞指數曲線。符號代表雙重複孔槽的平均細胞指數值。顯示來自每秒阻抗測量(亦即每 4 到 6 小時)之數據，以提高可見性。**(B)**在整個共培養期間使用細胞指數數據進行 AUC 分析。將各治療條件之 AUC 標準化為來自相同供體之 bsIgG1-ctrl-b12-FERL/b12-FEAR-治療的培養。顯示來自以二個獨立實驗所評估的所有 6 個供體之匯總數據。誤差線表示 SD。***，P<0.001；**，P<0.01；*，P<0.05；弗里曼檢驗與鄧恩多重比較檢驗。

AUC=曲線下面積；PBMC=周邊血液單核細胞；SD=標準差。

*圖 18.具有不同 Fc-惰性突變(FER/FEA、FEA/FEA、FER/FER)的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體與 FcγR 的結合*

【0346】EpCAMx4-1BB雙特異性抗體與各種Fc惰性突變組合(FER/FEA、FEA/FEA、FER/FER)之結合以及單株抗體 IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR與固定人類重組FcγR蛋白之結合係藉由SPR分析：FcγRIa、FcγRIIa-H131、FcγRIIa-R131、FcγRIIb、FcγRIIIa-F158 和

FcγRIIIa-V158。納入抗體IgG1-b12(野生型Fc)作為FcγR結合的陽性對照。以RU(反應單位)表示的相對結合反應係藉由在SPR分析物注入時將傳感圖設置為0 RU來測量。在活性表面上分析的各樣本亦在用於背景校正的平行參照表面上進行分析。顯示的為一實驗的單一測量值。

## 序列說明

*表1–序列*

| SEQ ID NO： | 參照編號 | 結構域 | 序列 |
|---|---|---|---|
| 1 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH | QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSS |
| 2 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR1 | GGTFSSYA |
| 3 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR2 | IIPIFGTA |
| 4 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR3 | ARDPFLHY |
| 5 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VL | EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQTISNNYLAWYQQKRGQAPRLLIYAASSRATGIPDRFSGTGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCAQGELYPRQFGGGTKLEIK |
| 6 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VL_CDR1 | QTISNNY |
| 7 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VL_CDR2 | AAS |
| 8 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VL_CDR3 | AQGELYPRQ |
| 9 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 10 | IgG1-EpCAM-A37-FEAR / IgG1-EpCAM-A37-FERL | 全輕鏈 | EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQTISNNYLAWY<br>QQKRGQAPRLLIYAASSRATGIPDRFSGTGSGTDFTL<br>TISRLEPEDFAVYYCAQGELYPRQFGGGTKLEIKRTV<br>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ<br>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK<br>ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 11 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMS<br>WVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAASVKGRFTIS<br>RDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFD<br>LWGQGTLVTVSS |
| 12 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR1 | GFSLNDYW |
| 13 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR2 | IDVGGSL |
| 14 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR3 | ARGGLTYGFDL |
| 15 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VL | DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDISSYLAWYQ<br>QKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTDYTFT<br>ISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIK |
| 16 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VL_CDR1 | EDISSY |
| 17 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VL_CDR2 | GAS |
| 18 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VL_CDR3 | HYYATISGLGVA |
| 19 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | 全重鏈 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMS<br>WVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAASVKGRFTIS<br>RDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFD<br>LWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA<br>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS<br>GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK<br>RVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDT<br>LMISRTPEVTCVVV**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVH<br>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK<br>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE<br>MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFFLYS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVM<br>HEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 20 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR / IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL | 全輕鏈 | DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDISSYLAWYQ<br>QKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTDYTFT<br>ISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIKR<br>TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK<br>VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL<br>SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 21 | IgG1-EpCAM-323-A3-FEAL | 全重鏈 | QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNW<br>VRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFS<br>LETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYW<br>GQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC<br>LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY<br>SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP<br>KSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR<br>TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS<br>NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL<br>HNHYTQKSLSLSPG |
| 22 | IgG1-EpCAM-323-A3/<br>IgG1-EpCAM-323-A3-FEAL /<br>IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR | 全輕鏈 | DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKNLLHSNGITY<br>LYWYLQKPGQSPHLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSG<br>TDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGGGTKLE<br>IKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE<br>AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST<br>LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 23 | IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR | 全重鏈 | QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNW<br>VRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFS<br>LETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYW<br>GQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC<br>LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY<br>SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP<br>KSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR<br>TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS<br>NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL<br>HNHYTQKSLSLSPG |
| 24 | IgG1-EpCAM-323-A3 | 全重鏈 | QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNW<br>VRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFS<br>LETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYW<br>GQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC<br>LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY<br>SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP<br>KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS<br>RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK<br>TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV<br>SNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK<br>NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP<br>VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA<br>LHNHYTQKSLSLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 25 | IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISW<br>VRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITA<br>DESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQ<br>GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV<br>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL<br>SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS<br>CDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP<br>EVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP<br>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN<br>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ<br>VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL<br>DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH<br>NHYTQKSLSLSPG |
| 26 | IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR | 全輕鏈 | EIELTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYL<br>DWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGT<br>DFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTFTFGPGTKVEI<br>KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE<br>AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST<br>LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 27 | IgG1-EpCAM-C52-FEAR | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAIS<br>WVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGTANYAQKFQGRVTI<br>TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYW<br>GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC<br>LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY<br>SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP<br>KSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR<br>TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS<br>NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL<br>HNHYTQKSLSLSPG |
| 28 | IgG1-EpCAM-C52-FEAR | 全輕鏈 | EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWY<br>QQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTL<br>TISRLEPEDFAVYYCAQGELYPRQFGGGTKLDIKRTV<br>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ<br>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK<br>ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 29 | IgG1-EpCAM-A37-FEAR | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISW<br>VRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITA<br>DESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQ<br>GTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV<br>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL<br>SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS<br>CDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP<br>EVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP<br>REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN<br>KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ<br>VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL<br>DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH<br>NHYTQKSLSLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 30 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL | 全重鏈 | EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMS<br>WVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAASVKGRFTIS<br>RDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFD<br>LWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA<br>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS<br>GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK<br>RVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDT<br>LMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVH<br>NAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK<br>CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE<br>MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK<br>TTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM<br>HEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 31 | IgG1-CD137-009-FEAR | 全重鏈 | QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNDYWMSWV<br>RQAPGKGLEWIGYIDVGGSLYYASWAKGRFTISRTS<br>TTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGGLTYGFDLWGPG<br>TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK<br>DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS<br>VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC<br>DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE<br>VTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR<br>EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK<br>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV<br>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD<br>SDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN<br>HYTQKSLSLSPG |
| 32 | IgG1-CD137-009-FEAR | 全輕鏈 | DIVMTQTPASVSEPVGGTVTINCQASEDISSYLAWY<br>QQKPGQRPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTEYA<br>LTISDLESADAATYYCHYYATISGLGVAFGGGTEVV<br>VKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR<br>EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS<br>TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE<br>C |
| 33 | IgG1-CD137-005-FEAR | 全重鏈 | QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTISDFHVTWVR<br>QAPGKGLEWIGTIITSASTTAYATWARGRFTISKSST<br>TVNLKIVSPTTEDTATYFCARSTYTDTSGYYFDFWG<br>QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL<br>VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS<br>LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP<br>KSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISR<br>TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT<br>KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVS<br>NKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN<br>QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV<br>LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL<br>HNHYTQKSLSLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 34 | IgG1-CD137-005-FEAR | 全輕鏈 | AQVLTQTASPVSAAVGGTVIINCQSSQSIYNGNRLS<br>WYQQKPGQPPKLLIYSASTLASGVSSRFKGSGSGTQ<br>FTLAISDVQSDDAATYYCLGSYDCDSADCFAFGGGT<br>EVVVERTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF<br>YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS<br>LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN<br>RGEC |
| 35 | IgG1-b12-FEAR | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIH<br>WVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVT<br>FTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSW<br>DDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAP<br>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG<br>VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN<br>HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPS<br>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFN<br>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br>SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQ<br>QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 36 | IgG1-b12-FEAL | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIH<br>WVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVT<br>FTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSW<br>DDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAP<br>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG<br>VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN<br>HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPS<br>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFN<br>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br>SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQ<br>QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG |
| 37 | IgG1-b12-FEAL /<br>IgG1-b12-FEAR /<br>IgG1-b12-FERL | 全輕鏈 | EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSSHSIRSRRVAWYQ<br>HKPGQAPRLVIHGVSNRASGISDRFSGSGSGTDFTLTI<br>TRVEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERKRTV<br>AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ<br>WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK<br>ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 38 | IgG1-b12-FERL | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIH<br>WVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVT<br>FTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSW<br>DDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAP<br>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG<br>VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN<br>HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPS<br>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN<br>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH<br>QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP<br>QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE<br>SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQ<br>QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 39 | IgG2amm-EpCAM-323-A3-AAKR | 全重鏈 | QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNW<br>VRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFS<br>LETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYW<br>GQGTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLG<br>CLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY<br>TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR<br>GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL<br>SPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQ<br>THREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN<br>KALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ<br>VTLTCMVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV<br>LDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGL<br>HNHHTTKSFSRTPG |
| 40 | IgG2amm-EpCAM-323-A3-AAKR / IgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT | 全輕鏈 | DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKNLLHSNGITY<br>LYWYLQKPGQSPHLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSG<br>TDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGGGTKLE<br>IKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPK<br>DINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSS<br>TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC |
| 41 | IgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT | 全重鏈 | QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNW<br>VRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFS<br>LETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYW<br>GQGTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLG<br>CLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY<br>TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPR<br>GPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISL<br>SPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQ<br>THREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNN<br>KALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQ<br>VTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPV<br>LDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGL<br>HNHHTTKSFSRTPG |
| 42 | IgG2amm-m4-1BB-3H3-AAKR | 全重鏈 | EMQLVESGGGLVQPGRSMKLSCAGSGFTLSDYGVA<br>WVRQAPKKGLEWVAYISYAGGTTYYRESVKGRFTI<br>SRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCTIDGYGGYSG<br>SHWYFDFWGPGTMVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGD<br>TTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFP<br>AVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASST<br>KVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPK<br>IKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNV<br>EVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGK<br>EFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPP<br>EEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWTNNGKTEL<br>NYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYS<br>CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG |
| 43 | IgG2amm-m4-1BB-3H3-AAKR | 全輕鏈 | DIQMTQSPSLLSASVGDRVTLNCRTSQNVYKNLAW<br>YQQKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRFSGSGSGTDFT<br>LTISSLQPEDVATYFCQQYYSGNTFGAGTNLELKRA<br>DAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINV<br>KWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTL<br>TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 44 | IgG2amm-b12-AALT | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIH<br>WVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVT<br>FTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSW<br>DDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSAKTTAPSVYPLA<br>PVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS<br>GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA<br>HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS<br>VFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQIS<br>WFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ<br>DWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQ<br>VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWT<br>NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNW<br>VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG |
| 45 | IgG2amm-b12-AALT / IgG2amm-b12-AAKR | 全輕鏈 | EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSSHSIRSRRVAWYQ<br>HKPGQAPRLVIHGVSNRASGISDRFSGSGSGTDFTLTI<br>TRVEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERKRAD<br>AAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVK<br>WKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLT<br>KDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC |
| 46 | IgG2amm-b12-AAKR | 全重鏈 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIH<br>WVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSAKFQDRVT<br>FTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSW<br>DDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSAKTTAPSVYPLA<br>PVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSS<br>GVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVA<br>HPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPS<br>VFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQIS<br>WFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQ<br>DWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQ<br>VYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWT<br>NNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNW<br>VERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG |
| 47 | IgG1 恆定區 | | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST<br>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK<br>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 48 | IgG1-FEA 恆定區 | 帶有 FEA 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST<br>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK<br>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPG |
| 49 | IgG1-FER 恆定區 | 帶有 FER 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPE**FER**GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST<br>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK<br>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPG |
| 50 | IgG1-F405L 恆定區 | 帶有 F405L 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST<br>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK<br>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**L<br>YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPG |
| 51 | IgG1-K409R 恆定區 | 帶有 K409R 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST<br>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK<br>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL<br>YS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPG |
| 52 | IgG1-FEAR 恆定區 | 帶有 FEA 取代和帶有 K409R 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV<br>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS<br>SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP<br>PCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV<br>**A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST<br>YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK<br>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL<br>YS**R**LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL<br>SLSPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 53 | IgG1-FEAL 恆定區 | 帶有 FEA 取代和帶有 F405L 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPE**FE**GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV **A**VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**L YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG |
| 54 | IgG1-FERL 恆定區 | 帶有 FER 取代和帶有 F405L 取代(黑體字) | ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPE**FER**GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSF**L**L YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPG |
| 55 | κ輕鏈恆定區 | 人類κ輕鏈的恆定區 | RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREA KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC |
| 56 | λ輕鏈恆定區 | 人類λ輕鏈的恆定區 | GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGA VTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS |
| 57 | IgG2amm-AAKR | 帶有 AAKR 取代(黑體字) | AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSS TWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPN**AA**GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMV**K**DF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMY S**R**LRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFS RTPG |
| 58 | IgG2amm-AALT | 帶有 AALT 取代(黑體字) | AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEP VTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSS TWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCK CPAPN**AA**GGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVD VSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLR VVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTIS KPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSY**L**MY SKL**T**VEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFS RTPG |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 59 | 人類 EpCAM | 帶有信號胜肽(黑體字)的全長蛋白序列 | **MAPPQVLAFGLLLAAATATFAAA**QEECVCENYKL AVNCFVNNNRQCQCTSVGAQNTVICSKLAAKCLVM KAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYDPDCDESGL FKAKQCNGTSMCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERV RTYWIIIELKHKAREKPYDSKSLRTALQKEITTRYQL DPKFITSILYENNVITIDLVQNSSQKTQNDVDIADVA YYFEKDVKGESLFHSKKMDLTVNGEQLDLDPGQTLI YYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVVVIAVVAGIVV LVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA |
| 60 | 食蟹獼猴 EpCAM | 帶有信號胜肽(黑體字)的全長蛋白序列 | **MAPPQVLAFGLLLAAATASFAAA**QKECVCENYKL AVNCFLNDNGQCQCTSIGAQNTVLCSKLAAKCLVM KAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYDPDCDESGL FKAKQCNGTSTCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERV RTYWIIIELKHKAREKPYDVQSLRTALEEAIKTRYQL DPKFITNILYEDNVITIDLVQNSSQKTQNDVDIADVA YYFEKDVKGESLFHSKKMDLRVNGEQLDLDPGQTLI YYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVVVIAIVAGIVV LVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEIHRELNA |
| 61 | 小鼠 EpCAM | 帶有信號胜肽(黑體字)的全長蛋白序列 | **MAGPQALAFGLLLAVVTATLAAA**QRDCVCDNYK LATSCSLNEYGECQCTSYGTQNTVICSKLASKCLAM KAEMTHSKSGRRIKPEGAIQNNDGLYDPDCDEQGLF KAKQCNGTATCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERVR TYWIIIELKHKERESPYDHQSLQTALQEAFTSRYKLN QKFIKNIMYENNVITIDLMQNSSQKTQDDVDIADVA YYFEKDVKGESLFHSSKSMDLRVNGEPLDLDPGQTL IYYVDEKAPEFSMQGLTAGIIAVIVVVVSLAVIAGIVV LVISTRKKSAKYEKAEIKEMGEIHRELNA |
| 62 | 人類 4-1BB | 帶有信號胜肽(黑體字)的全長蛋白序列 | **MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRS**LQDPCSNCPAGT FCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVF RTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQ GQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDG KSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAR EPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL |
| 63 | 食蟹獼猴 4-1BB | 帶有信號胜肽(黑體字)的全長蛋白序列 | **MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRS**LQDLCSNCPAGT FCDNNRSQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVF KTRKECSSTSNAECDCISGYHCLGAECSMCEQDCKQ GQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDG KSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSATPPAPAR EPGHSPQIIFFLALTSTVVLFLLFFLVLRFSVVKRSRK KLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL |
| 64 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR1 | SYAIS |
| 65 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR2 | GIIPIFGTANYAQKFQG |
| 66 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR3 | DPFLHY |
| 67 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VL_CDR1 | RASQTISNNYLA |
| 68 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VL_CDR2 | AASSRAT |

| | | | |
|---|---|---|---|
| 69 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR1 | DYWMS |
| 70 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR2 | YIDVGGSLYYAASVKG |
| 71 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR3 | GGLTYGFDL |
| 72 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VL_CDR1 | QASEDISSYLA |
| 73 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VL_CDR2 | GASDLAS |
| 74 | IgG1-EpCAM-A37-FERL | VH_CDR1 | SYA |
| 75 | IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | VH_CDR1 | DYW |
| 76 | | VH_CDR1 | GYTFTNYG |
| 77 | | VH_CDR2 | INTYTGEP |
| 78 | | VH_CDR3 | ARFGNYVDY |
| 79 | | VL_CDR1 | KNLLHSNGITY |
| 80 | | VL_CDR2 | QM |
| 81 | | VL_CDR3 | AQNLEIPRT |
| 82 | | VH_CDR1 | NYGMN |
| 83 | | VH_CDR2 | WINTYTGEPTYGEDFKG |
| 84 | | VH_CDR3 | FGNYVDY |
| 85 | | VL_CDR1 | RSSKNLLHSNGITYLY |
| 86 | | VL_CDR2 | QMSNLAS |
| 87 | | VH_CDR1 | NYG |
| 88 | | VL_CDR1 | QSLLHSNGYNY |
| 89 | | VL_CDR2 | LG |
| 90 | | VL_CDR3 | MQALQTFT |
| 91 | | VL_CDR1 | RSSQSLLHSNGYNYLD |
| 92 | | VL_CDR2 | LGSNRAS |
| 93 | | VH_CDR2 | IVPIFGTA |
| 94 | | VL_CDR1 | QSVSSSY |
| 95 | | VL_CDR2 | GA |
| 96 | | VH_CDR2 | GIVPIFGTANYAQKFQG |
| 97 | | VL_CDR1 | RASQSVSSSYLA |
| 98 | | VL_CDR2 | GASSRAT |

【實施方式】

【0347】雖然本揭示文係進一步詳細描述於下，但應了解，本揭示文不限

於文中所述的特定方法、方案和試劑，因為這些可做變化。亦應了解，文中所用的術語僅作為描述特定具體實例之目的，且不希望限制本揭示文之範圍，其範圍僅受限於隨附的申請專利範圍。除非另有定義，否則文中所用的所有技術和科學術語係具有熟習本項技術之一般技術者正常理解的相同意義。

【0348】在下文中，將更詳細描述本揭示文之元件。這些元件係以特定的具體實例列出，然而，應了解，其可以任何方式及以任何數目組合而創造出另外的具體實例。以不同方式描述的實例和具體實例不應理解為本揭示文僅限於明確描述的具體實例。本說明書應了解係支持和涵蓋組合明確描述的具體實例與任何數目的所揭示及/或較佳元件之具體實例。再者，除非內文中另有指出，否則申請案中的所有所述元件之任何排列和組合應視為由本申請案之說明書所揭示。

【0349】較佳地，文中所用的術語係如"A multilingual glossary of biotechnological terms：(IUPAC Recommendations)", H.G.W. Leuenberger, B. Nagel 和 H. Kölbl, Eds., Helvetica Chimica Acta, CH-4010 Basel, Switzerland, (1995)中所描述來定義。

【0350】除非另有指出，否則本揭示文之施行係應用習知的化學、生化、細胞生物學、免疫學和重組 DNA 技術法，其係說明於本領域的參考文獻中(參照，例如，Organikum, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin 1990；Streitwieser/Heathcook, "Organische Chemie", VCH, 1990；Beyer/Walter, "Lehrbuch der Organischen Chemie", S. Hirzel Verlag Stuttgart, 1988；Carey/Sundberg, "Organische Chemie", VCH, 1995；March, "Advanced Organic Chemistry", John Wiley & Sons, 1985；Römpp Chemie Lexikon, Falbe/Regitz (Hrsg.), Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1989；Molecular Cloning： A Laboratory Manual, 2nd Edition, J. Sambrook et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor 1989。

【0351】除非文中另有指出或另外明確與內容相矛盾，否則所有文中所述的方法可以任何適合的順序進行。文中所提供的任何和所有實例或示例語言(例如，「如」)之用法僅希望更佳闡明本揭示文且並非加諸限制於其他聲稱的本揭示文範圍。在本說明書中不應有任何語言被理解為係指任何施行本揭示文所必須之非申請專利範圍的元件。

【0352】文中描述的數值範圍僅希望作為個別指出落在該範圍內的各個別數值的速記方法。除非文中另有指出，否則各個別數值係併入本說明書中如同其個別描述於文中

【0353】整個本說明書之內文引用了數個文獻。文中所引述的各文獻(包括所有的專利、專利申請案、科學刊物、製造商規範、說明書等)，無論上文或下文，係以全文引用的方式併入。不應理解為文中承認本發明無權早於此揭示文。

**定義**

【0354】在下文中，將提供適用於本揭示文所有方面的定義。除非另有指出，否則下列術語係具有下列意義。任何未定義的術語係具有其技術中所理解之意義。

【0355】在整個說明書和隨附的申請專利範圍，除非內容要求，否則詞語「包括」及其變化，例如「包括」和「包含」應了解係意味包括一所述的成員、整數或步驟或成員、整數或步驟之群組，但不排除任何其他成員、整數或步驟或成員、整數或步驟之群組。術語「基本上由….組成」係指排除具有任何重要意義的其他成員、整數或步驟。術語「包括」係涵蓋術語「基本上由...組成」，其，反過來，係涵蓋術語「由….組成」。因此，在本申請書中每次出現時，術語「包括」可以術語「基本上由….組成」或「由….組成」替代。同樣地，在本申請書中每次出現時，術語「基本上由….組成」可以術語「由….組成」替代。

【0356】除非文中另有指出或明確與內容相矛盾，否則用於描述本揭示文內容(特別是在申請專利範圍的內容)之術語「一」和「此」及類似的參照應理解

為涵蓋單數和複數二者。

【0357】 當用於文中時，「及/或」係用作為各二種所指特徵或組份在有或無另一特徵或組份下之特定揭示。例如，「X 及/或 Y」係用作為各(i)X，(ii)Y 和(iii)X 及 Y 之特定揭示，如同各自在文中個別闡述。

【0358】 在本揭示文之內容中，術語「大約」係指熟習一般技術者應理解用以確定所指特徵之技術效應的精確區間。此術語典型地係指偏離所指數值±5%、±4%、±3%、±2%、±1%、±0.9%、±0.8%、±0.7%、±0.6%、±0.5%、±0.4%、±0.3%、±0.2%、±0.1%、±0.05%，例如±0.01%。熟習一般技術者應理解，對於特定技術效應之數值的特定此等偏離將依照技術效應的性質而定。例如，天然或生物技術效應一般可能具有比人為或工程化技術效應更大的此等偏離。

【0359】 在本揭示文之內文中，術語「結合劑」係指能與所欲抗原結合的任何試劑。在本揭示文之特定具體實例中，結合劑為一抗體、抗體片段或其結構。結合劑亦可包括合成的、修飾的或非天然生成的部分，特言之非-胜肽部分。例如，此等部分可，例如連接所欲的抗原-結合功能基或區域，例如抗體或抗體片段。在一具體實例中，該結合劑為包括抗原結合 CDR 或可變區的合成結構。

【0360】 術語「免疫球蛋白」係關於免疫球蛋白超家族之蛋白，較佳地抗原受體，例如抗體或 B 細胞受體(BCR)。免疫球蛋白其特徵為一結構域，亦即，具有特徵性免疫球蛋白(Ig)摺疊之免疫球蛋白結構域。此術語係涵蓋膜結合免疫球蛋白以及可溶性免疫球蛋白。膜結合免疫球蛋白亦稱為表面免疫球蛋白或膜免疫球蛋白，其一般為 BCR 之部分。可溶性免疫球蛋白一般係稱為抗體。

【0361】 免疫球蛋白之結構已經完全定性。參見，例如 Fundamental Immunology Ch. 7 (Paul, W., ed., 2nd ed. Raven Press, N.Y. (1989))，簡言之，免疫球蛋白一般係包括數條鏈，典型地經由雙硫鍵連結之二條相同的重鏈和二條相同的輕鏈。這些鏈主要係包括免疫球蛋白結構域或區，例如 $V_L$ 或 VL(可變輕鏈)結構域/區，$C_L$ 或 CL(恆定輕鏈)結構域/區，$V_H$ 或 VH(可變重鏈)結構域/區，和

$C_H$ 或 CH(恆定重鏈)結構域/區 $C_H1$(CH1)、$C_H2$(CH2)、$C_H3$(CH3)和 $C_H4$(CH4)。重鏈恆定區典型地係由三個結構域所組成，CH1、CH2 和 CH3。絞鏈區為介於重鏈 CH1 和 CH2 結構域之間的區域且為高彈性。絞鏈區中的雙硫鍵為 IgG 分子中二條重鏈之間相互作用的一部分。各輕鏈典型地係由 VL 和 CL 所組成。輕鏈恆定區典型地係由一個結構域 CL 所組成。VH 和 VL 區可進一步細分為高變區(或可在序列及/或結構定義環的形式上具高變性的高變區)，亦稱為互補決定區(CDR)，其間散佈著更保守的區域，稱為框架區(FR)。各 VH 和 VL 典型地係由三個 CDR 和四個 FR 所組成，從胺基端到羧基端以下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4(亦參見 Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196, 901-917 (1987))。除非另有陳述或與內文相矛盾，否則本中的 CDR 序列係根據 IMGT 規則使用 DomainGapAlign 進行識別(Lefranc MP., Nucleic Acids Research 1999；27：209-212 and Ehrenmann F., Kaas Q. and Lefranc M.-P. Nucleic Acids Res., 38, D301-307 (2010)；亦參見網際網路網址 www.imgt.org。然而，應了解，本揭示文不限於僅根據 IMGT 規則確定的 CDR 序列。因此，重鏈可變區(VH)的 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列，例如 SEQ ID NO：1 或 SEQ ID NO：11，或輕鏈可變區(VL)的 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，例如，SEQ ID NO：5 或 SEQ ID NO：15，應涵蓋該等藉由用於測定 CDR 序列的任何方法所確定的 CDR 序列，例如根據 IMGT 規則或 Kabat 規則。此外，亦應包括代表 CDR 序列重疊的序列，這些重疊係由用於測定 CDR 序列的不同方法所確定，例如，根據 IMGT 規則和 Kabat 規則。

【0362】 下表係顯示根據 IMGT 規則和 Kabat 規則就有關 SEQ ID NO：1 和 SEQ ID NO：5 或 SEQ ID NO：11 和 SEQ ID NO：15 所測定的 CDR 序列結果，及亦顯示所測定之 CDR 序列的重疊。

| SEQ ID NO：1 之 CDR 序列[SEQ ID NO 如括弧內所示] | | | |
|---|---|---|---|
| | IMGT | Kabat | 重疊 |
| HCDR1 | GGTFSSYA [2] | SYAIS [64] | SYA [74] |

| | | | |
|---|---|---|---|
| HCDR2 | IIPIFGTA [3] | GIIPIFGTANYAQKFQG [65] | IIPIFGTA [3] |
| HCDR3 | ARDPFLHY [4] | DPFLHY [66] | DPFLHY [66] |
| SEQ ID NO：5 之 CDR 序列[SEQ ID No 如括弧內所示] | | | |
| LCDR1 | QTISNNY [6] | RASQTISNNYLA [67] | QTISNNY [6] |
| LCDR2 | AAS [7] | AASSRAT [68] | AAS [7] |
| LCDR3 | AQGELYPRQ [8] | AQGELYPRQ [8] | AQGELYPRQ [8] |

| SEQ ID NO： 11 之 CDR 序列[SEQ ID NO 如括弧內所示] | | | |
|---|---|---|---|
| | IMGT | Kabat | 重疊 |
| HCDR1 | GFSLNDYW [12] | DYWMS [69] | DYW [75] |
| HCDR2 | IDVGGSL [13] | YIDVGGSLYYAASVKG [70] | IDVGGSL [13] |
| HCDR3 | ARGGLTYGFDL [14] | GGLTYGFDL [71] | GGLTYGFDL [71] |
| SEQ ID NO：15 之 CDR 序列[SEQ ID No 如括弧內所示] | | | |
| LCDR1 | EDISSY [16] | QASEDISSYLA [72] | EDISSY [16] |
| LCDR2 | GAS [17] | GASDLAS [73] | GAS [17] |
| LCDR3 | HYYATISGLGVA [18] | HYYATISGLGVA [18] | HYYATISGLGVA [18] |

【0363】 下表係顯示根據 IMGT 規則和 Kabat 規則就有關 SEQ ID NO:21 和 SEQ ID NO：22 所測定的 CDR 序列結果，及亦顯示所測定之 CDR 序列的重疊。

| SEQ ID NO： 21 之 CDR 序列[SEQ ID NO 如括弧內所示] | | | |
|---|---|---|---|
| | IMGT | Kabat | 重疊 |
| HCDR1 | GYTFTNYG [76] | NYGMN [82] | NYG [87] |
| HCDR2 | INTYTGEP [77] | WINTYTGEPTYGEDFKG [83] | INTYTGEP [77] |
| HCDR3 | ARFGNYVDY [78] | FGNYVDY [84] | FGNYVDY [84] |
| SEQ ID NO： 22 之 CDR 序列[SEQ ID No 如括弧內所示] | | | |
| LCDR1 | KNLLHSNGITY [79] | RSSKNLLHSNGITYLY [85] | KNLLHSNGITY [79] |
| LCDR2 | QM [80] | QMSNLAS [86] | QM [80] |
| LCDR3 | AQNLEIPRT [81] | AQNLEIPRT [81] | AQNLEIPRT [81] |

【0364】 下表係顯示根據 IMGT 規則和 Kabat 規則就有關 SEQ ID NO:25 和 SEQ ID NO：26 所測定的 CDR 序列結果，及亦顯示所測定之 CDR 序列的重

疊。

| SEQ ID NO： 25 之 CDR 序列[SEQ ID NO 如括弧內所示] | | | |
|---|---|---|---|
| | IMGT | Kabat | 重疊 |
| HCDR1 | GGTFSSYA [2] | SYAIS [64] | SYA [74] |
| HCDR2 | IIPIFGTA [3] | GIIPIFGTANYAQKFQG [65] | IIPIFGTA [3] |
| HCDR3 | ARDPFLHY [4] | DPFLHY [66] | DPFLHY [66] |
| SEQ ID NO： 26 之 CDR 序列[SEQ ID No 如括弧內所示] | | | |
| LCDR1 | QSLLHSNGYNY [88] | RSSQSLLHSNGYNYLD [91] | QSLLHSNGYNY [88] |
| LCDR2 | LG [89] | LGSNRAS [92] | LG [89] |
| LCDR3 | MQALQTFT [90] | MQALQTFT [90] | MQALQTFT [90] |

【0365】 下表係顯示根據 IMGT 規則和 Kabat 規則就有關 SEQ ID NO:27 和 SEQ ID NO：28 所測定的 CDR 序列結果，及亦顯示所測定之 CDR 序列的重疊。

| SEQ ID NO： 27 之 CDR 序列[SEQ ID NO 如括弧內所示] | | | |
|---|---|---|---|
| | IMGT | Kabat | 重疊 |
| HCDR1 | GGTFSSYA [2] | SYAIS [64] | SYA [74] |
| HCDR2 | IVPIFGTA [93] | GIVPIFGTANYAQKFQG [96] | IVPIFGTA [93] |
| HCDR3 | ARDPFLHY [4] | DPFLHY [66] | DPFLHY [66] |
| SEQ ID NO： 28 之 CDR 序列[SEQ ID No 如括弧內所示] | | | |
| LCDR1 | QSVSSSY [94] | RASQSVSSSYLA [97] | QSVSSSY [94] |
| LCDR2 | GA [95] | GASSRAT [98] | GA [95] |
| LCDR3 | AQGELYPRQ [8] | AQGELYPRQ [8] | AQGELYPRQ [8] |

【0366】 除非另有說明或與內文矛盾，否則在本揭示文中提及恆定區中的胺基酸位置係根據 EU-編號(Edelman et al., Proc Natl Acad Sci USA. 1969 May；63(1)：78-85；Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition. 1991 NIH Publication No. 91-3242)。

【0367】 有 5 種類型的哺乳動物免疫球蛋白重鏈，亦即，$\alpha$、$\delta$、$\varepsilon$、$\gamma$ 和 $\mu$，其表示不同種類的抗體，亦即，IgA、IgD、IgE、IgG 和 IgM。與可溶性

免疫球蛋白的重鏈相反，膜免疫球蛋白或表面免疫球蛋白之重鏈係在其羧基端包括一跨膜域和一短的細胞質域。在哺乳動物中有二種輕鏈，亦即，λ和κ。免疫球蛋白鏈係包括一可變區和一恆定區。恆定區基本上係保留在不同的免疫球蛋白同型內，其中可變部分為高多樣化並負責抗原辨識。

【0368】術語「胺基酸」和「胺基酸殘基」在文中可交換使用，並且不應理解為限制性的。胺基酸為含有胺(-NH2)和羧基(COOH)官能基團以及各胺基酸特有的側鏈(R基團)之有機化合物。在本揭示文之內文中，胺基酸可以結構和化學特徵為基礎加以分類。因此，胺基酸的類別可能反映在下表的一或二項中：

表2：以R基團之結構和一般化學特性為基礎的主要分類

| 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 |
| 脂肪系不帶電殘基 | G、A、V、L和I |
| 非極性不帶電殘基 | C、M和P |
| 芳香系殘基 | F、Y和W |

表3：胺基酸殘基之替代物理和功能性分類

| 類別 | 胺基酸 |
|---|---|
| 含有羥基基團的殘基 | S和T |
| 脂肪系殘基 | I、L、V和M |
| 連接環烯基之殘基 | F、H、W和Y |
| 疏水性殘基 | A、C、F、G、H、I、L、M、R、T、V、W和Y |
| 帶負電的殘基 | 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 |
| 小的殘基 | A、C、D、G、N、P、S、T和V |
| 非常小的殘基 | A、G和S |
| 涉及轉折形成之殘基 | A、C、D、E、G、H、K、N、Q、R、S、P和T |
| 彈性殘基 | Q、T、K、S、G、P、D、E和R |

【0369】 就本揭示文之目的，胺基酸序列(胜肽、蛋白或多肽)的「變體」係包括胺基酸插入變體、胺基酸加成變體、胺基酸刪除變體及/或胺基酸取代變體。術語「變體」係包括所有的突變體、剪接變體、後轉譯修飾變體、立體構型、異構型、等位基因變體、物種變體和物種同源物，尤其是該等天然生成者。術語「變體」係包括，特言之，胺基酸序列的片段。

【0370】 胺基酸插入變體係包括於一特定的胺基酸序列中插入單一或二個或更多個胺基酸。在具有插入的胺基酸序列變體之情況下，係將一或更多個胺基酸殘基插入一胺基酸序列的特定位置，雖然以適當篩選所產生的產物之隨機插入亦為可能的。

【0371】 胺基酸加成變體係包括一或更多個胺基酸，例如 1、2、3、5、10、20、30、50 個或更多個胺基酸之胺基-及/或羧基-端融合。

【0372】 胺基酸刪除變體其特徵為從序列移除一或更多個胺基酸，例如移除 1、2、3、5、10、20、30、50 個或更多個胺基酸。刪除可在蛋白的任何位置。在蛋白的 N-端及/或 C-端包括刪除的胺基酸刪除變體亦稱為 N-端及/或 C-端截短變體。

【0373】 胺基酸取代變體其特徵為至少一個序列中的殘基係經移除並在其位置插入另外的殘基。一胺基酸經另外的胺基酸取代可分類為保守性和非保守性取代。較佳的係給予該等修飾其在胺基酸序列中的位置在同源蛋白或胜肽間並非保守性及/或以其他具有類似性質的胺基酸取代。較佳地，胜肽和蛋白變體中胺基酸改變為保守性胺基酸改變，亦即類似的帶電或未帶電胺基酸之取代。保守性胺基酸改變係涉及在其側鏈上相關之一胺基酸家族的取代。在本揭示文的內文中，「保守性取代」為一胺基酸係經另一具有相似結構及/或化學特徵的胺基酸取代，此一胺基酸殘基係經如上文任何二表中所定義之相同類別的另一胺基酸殘基取代：例如，白胺酸可經異白胺酸取代，因為其皆為脂肪系、支鏈疏水物。類似地，天門冬胺酸可經麩胺酸取代，因為其皆為小的、帶負電荷的

殘基。天然生成的胺基酸一般亦可分成四個家族：酸性(天門冬胺酸、麩胺酸)，鹼性(離胺酸、精胺酸、組胺酸)，非極性(丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸)及不帶電極性(甘胺酸、天門冬醯胺酸、麩醯胺酸、半胱胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸)胺基酸。苯丙胺酸、色胺酸和酪胺酸有時一起被歸類為芳香系胺基酸。在一具體實例中，保守性胺基酸取代係包括下列基團內的取代：

甘胺酸，丙胺酸；

纈胺酸，異白胺酸，白胺酸；

天門冬胺酸，麩胺酸；

天門冬醯胺酸，麩醯胺酸；

絲胺酸，蘇胺酸；

離胺酸，精胺酸；及

苯丙胺酸，酪胺酸。

【0374】 術語「胺基酸對應位置」及類似詞語如文中所用係指人類 IgG1 重鏈中胺基酸位置編號。在其他免疫球蛋白中的對應胺基酸位置可藉由以人類 IgG1 比對找出。因此，「對應」另外序列之胺基酸或片段的一序列中的胺基酸或片段，係使用標準序列比對程式，例如 ALIGN、ClustalW 或類似程式，典型地係以內建設定，與另一胺基酸比對，且與一人類 IgG1 重鏈具有至少 50%，至少 80%，至少 90%或至少 95%相同性之胺基酸或片段。如何比對一序列或一序列中的片段已為本項技術所熟知，且據此測定出序列中根據本發明胺基酸之對應位置。

【0375】 術語「抗體」(Ab)在本發明內文中，係指具有特異性結合一抗原之能力的免疫球蛋白分子、免疫球蛋白分子的片段或其衍生物，典型地在生理條件下，具有較長時間的半衰期，例如至少約 30 分鐘，至少約 45 分鐘，至少約 1 小時，至少約 2 小時，至少約 4 小時，至少約 8 小時，至少約 12 小時，約 24

小時或更久，約 48 小時或更久，約 3、4、5、6、7 天或更多天等，或任何其他相關功能上定義時期(例如足以引發、提升、增進及/或調節與抗體和抗原結合有關的生理反應之時間及/或此抗體足以招募一效應子活性之時間)。特言之，術語「抗體」係指包括藉由雙硫鍵相互連接的至少二條重(H)鏈和二條輕(L)鏈之糖蛋白。術語「抗體」係包括單株抗體、重組抗體、人類抗體、人源化抗體、嵌合抗體和任何前述之組合。各重鏈典型地係包括重鏈可變區(VH)和重鏈恆定區(CH)。各輕鏈典型地係包括輕鏈可變區(VL)及輕鏈恆定區(CL)。可變區和恆定區在文中分別亦稱為可變結構域和恆定結構域。VH 和 VL 區可進一步細分為高變區，稱為互補決定區(CDR)，其間穿插更保守、稱為框架區(FR)的區域。各 VH 和 VL 典型地係包括三個 CDR 和四個 FR，從胺基酸到羧基端以下列順序排列：FR1，CDR1，FR2，CDR2，FR3，CDR3，FR4。VH 的 CDR 稱為 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3，而 VL 的 CDR 稱為 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3。重鏈和輕鏈的可變區係含有與抗原相互作用的結合區。抗體的恆定區係包括重鏈恆定區(CH)和輕鏈恆定區(CL)，其中 CH 可進一步細分為恆定結構域 CH1、絞鏈區和恆定結構域 CH2 和 CH3 (從胺基酸到羧基端以下列順序排列：CH1、CH2、CH3)。抗體的恆定區可媒介免疫球蛋白與宿主組織或因子，包括各種免疫系統之細胞(例如，效應細胞)和補體系統之組份，例如 C1q 結合。抗體可為衍生自天然來源或重組來源之完整的免疫球蛋白及可為完整免疫球蛋白之免疫活性部分。抗體典型地為免疫球蛋白分子之四聚體。抗體可以各種形式存在，包括，例如，多株抗體、單株抗體、Fv、Fab 和 $F(ab)_2$ 以及單鏈抗體和人源化抗體。

【0376】 免疫球蛋白分子的重鏈和輕鏈之可變區係含有與抗原相互作用的結合結構域。術語「結合區」和「抗原結合區」在文中可交換使用並係指與抗原相互作用且包括 VH 區和 VL 區二者的區域。如本中所用抗體不僅包括單特異性抗體，亦包括包含多數個，例如二或更多個，例如三或更多個不同的抗原結合區之多特異性抗體。

【0377】如上所示，文中術語抗體，除非另有陳述或內容明確矛盾，否則係包括抗原-結合片段，亦即保留與抗原特異性結合之能力的抗體片段。已顯示，抗體的抗原結合功能可由全長抗體之片段來展現。涵蓋在「抗體」內的抗原-結合片段之實例包括(i)Fab'或 Fab 片段、由 VL、VH、CL 和 CH1 區組成的單價片段，或描述於 WO2007059782(Genmab)之單價抗體；(ii)$F(ab')_2$ 片段，包括二個 Fab 片段在絞鏈區藉由雙硫橋連接的二價片段；(iii)基本上由 VH 和 CH1 結構域組成的 Fd 片段；(iv)基本上由抗體單臂之 VL 和 VH 結構域組成的 Fv 片段，(v)dAb 片段(Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989))，其基本上由 VH 結構域組成且亦稱為結構域抗體(Holt et al；Trends Biotechnol. 2003 Nov；21(11)：484-90)；(vi)駱駝化或奈米抗體分子(Revets et al；Expert Opin Biol Ther. 2005 Jan；5(1)：111-24)和(vii)分離的互補決定區(CDR)。再者，雖然 Fv 片段的二個區 VL 和 VH，係由個別的基因所編碼，但其可使用重組法，藉由能使其變成單一蛋白鏈之合成的連接子相連結，在其中成對的 VL 和 VH 區形成單價分子(已知為單鏈抗體或單鏈 Fv(scFv)，參見，例如 Bird et al., Science 242, 423-426 (1988)和 Huston et al., PNAS USA 85, 5879-5883 (1988))。除非內容另有註明或明確指出，否則此單鏈抗體係涵蓋在術語抗體中。雖然此等片段一般係包括在抗體的意義中，但其整體上及各自獨立地為本發明之獨特特徵，具有不同生物性質和利用性。在本發明內文中這些和其他可使用的抗體片段，以及此等片段之雙特異性模式係進一步論述於文中。亦應了解，術語抗體，除非另有指出，否則亦包括以任何已知技術，例如酵素裂解、胜肽合成和重組技術所提供之多株抗體、單株抗體(mAb)、類抗體多肽，例如嵌合抗體和人源化抗體，以及保留特異性結合抗原能力的抗體片段(抗原結合片段)。

【0378】所產生的抗體可具有任何同型。如文中所用，術語「同型」係指由重鏈恆定區基因所編碼的免疫球蛋白種類(例如，IgG(如 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、IgD、IgA(如 IgA1、IgA2)、IgE、IgM 或 IgY)。當文中提及一特定的同

型，例如 IgG1 時，此術語不限於特定的同型序列，例如特定的 IgG1 序列，而是用來指出該抗體在序列上比其他同型更接近該同型，例如 IgG1。因此，例如文中所揭示之 IgG1 抗體可為天然生成 IgG1 抗體之序列變體，包括恆定區中的變異。

【0379】 IgGl 抗體可以稱為同種異型的多種多態性變體存在(綜述於 Jefferis 和 Lefranc 2009.mAbs Vol 1 Issue 4 1-7 中)，其中任一種皆適用於文中的某些具體實例。人類群族中常見的同種異型變體為該等由字母 a、f、n、z 或其組合所命名的變體。在文中的任何具體實例中，抗體可包含一包含人類 IgG Fc 區的重鏈 Fc 區。在另外的具體實例中，人類 IgG Fc 區係包含人類 IgGl。

【0380】 在本揭示文的內文中，術語「多特異性抗體」係指具有至少二個由不同抗體序列定義的不同抗原結合區之抗體。在某些具體實例中，該不同的抗原結合區係結合同一抗原上的不同表位。然而，在較佳的具體實例中，該不同的抗原結合區係結合不同的標靶抗原。在一具體實例中，此多特異性抗體為「雙特異性抗體」或「bs」。多特異性抗體，例如雙特異性抗體，可為任何形式，包括下文描述的任何雙特異性或多特異性抗體形式。

【0381】 就雙特異性抗體，前綴詞 BisG1 和 bsIgG1 在文中可交換使用。

【0382】 術語「全長」當用於抗體之內容中時係指該抗體不是片段，而是含有一般在自然界中發現的特定同型的所有結構域，例如 IgG1 抗體的 VH、CH1、CH2、CH3、絞鏈、VL 和 CL 結構域。

【0383】 術語「人類抗體」如文中所用，希望係包括具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區和框架區以及人類免疫球蛋白恆定結構域的抗體。文中所揭示的人類抗體可包括非人類生殖系免疫球蛋白序列所編碼的胺基酸殘基(例如，藉由活體外逢機或定點誘變或藉由活體內體細胞突變所導入的突變、插入或刪除)。然而，術語「人類抗體」如文中所用，不希望包括其中衍生自另外非人類物種，例如小鼠或大鼠之生殖系的 CDR 序列其已嫁接至人類框架序列

的抗體。

【0384】術語「嵌合抗體」如文中所用，係指其中可變區係衍生自非人類物種(例如衍生自嚙齒類)且恆定區係衍生自不同的物種，例如人類之抗體。嵌合抗體可藉由抗體工程所產生。「抗體工程」為一般用於不同種類的抗體修飾之術語，且用於抗體工程的方法已為熟習技術者所熟知。特言之，嵌合抗體可藉由使用如 Sambrook et al., 1989, Molecular Cloning: A laboratory Manual, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Ch. 15 中所述的標準 DNA 技術來產生。因此，嵌合抗體可為基因上或酵素性工程化重組抗體。其係在熟習技術者所知的產生嵌合抗體範圍內，且因此，產生嵌合抗體可藉由文中所述以外的其他方法來進行。用於人類之治療應用的嵌合單株抗體係經開發用以降低非人類抗體例如嚙齒類抗體之預期的抗體致免疫性。其典型地可含有非人類(例如鼠或兔)可變區，這些可變區對感興趣抗原和人類恆定抗體重鏈和輕鏈結構域具有特異性。術語「可變區」或「可變結構域」如嵌合抗體內容中所用，係指包括免疫球蛋白重鏈和輕鏈二者之 CDR 和框架區的區域。

【0385】術語「人源化抗體」如文中所用，係指基因上工工程化非人類抗體，其係含有人類恆定區和經修飾用於含有高程度與人類可變區序列同源性之非人類可變區。此項可藉由將六個共同形成抗原結合位之非人類抗體互補決定區(CDR)嫁接至同源人類受體框架區(FR)來達成(參見 WO92/22653 和 EP0629240)。為了完全重建親代抗體之結合親和力和特異性，可能需要將來自親代抗體(亦即非人類抗體)的框架殘基以人類框架區(回復突變)取代。結構同源性模擬可幫助鑑別框架區中對抗體結合性質具重要性的胺基酸殘基。因此，人源化抗體可包括非人類 CDR 序列，視需要係包括一或更多個胺基酸回復突變成非人類胺基酸序列之主要人類框架區，以及全人類恆定區。視需要，可應用另外的胺基酸修飾(不一定為回復突變)，得到具有較佳特性，例如親和力和生化性質之人源化抗體。

【0386】如本文所用，「衍生自」另外蛋白例如親代蛋白的蛋白係指該蛋白的一或多個胺基酸序列與另一或親代蛋白的一或多個胺基酸序列為相同或相似。例如，在衍生自另外抗體或親代抗體、結合臂、抗原結合區或恆定區之抗體、結合臂、抗原結合區、恆定區或諸如此類中，一或多個胺基酸序列係與該等另一抗體或親代抗體、結合臂、抗原結合區或恆定區相同或相似。此一或多個胺基酸序列的實例包括，但不限於該等 VH 和 VL CDR 及/或一或多個或所有框架區、VH、VL、CL、絞鏈或 CH 區。例如，人源化抗體在文中可描述為「衍生自」非人類親代抗體，其係指至少 VL 和 VH CDR 序列係與該非人親代抗體之 VH 和 VL CDR 序列相同或相似。嵌合抗體在文中可描述為「衍生自」非人類親代抗體，其係指典型地 VH 和 VL 序列可與該等非人類親代抗體的序列相同或相似。另外的實例為結合臂或抗原結合區，其在本文中可描述為「衍生自」一特定親代抗體，其係指該結合臂或抗原結合區典型地係包括與該親代抗體的結合臂或抗原結合區相同或相似的 VH 及/或 VL CDR，或 VH 及/或 VL 序列。然而，如文中他處所述，可在抗體、結合臂、抗原結合區等之 CDR、恆定區或他處製造胺基酸修飾例如突變，用以導入所欲的特性。當用於衍生自第一或親代蛋白的一或多個序列的內文中時，「相似」胺基酸序列較佳地係具有至少約 50%、例如至少約 60%、至少約 70%，至少約 80%，至少約 90%，至少約 95%，或至少約 97%，98%或 99%的序列相同性。

【0387】非人類抗體可在許多不同的物種中產生，例如小鼠、兔、雞、天竺鼠、美洲駝和山羊。

【0388】單株抗體可藉由各種技術來製造，包括習用的單株抗體法，例如 Kohler 和 Milstein, *Nature* 256：495 (1975)之標準體細胞雜交技術。可應用其他製造單株抗體的技術，例如病毒或 B-淋巴細胞之致癌轉化或使用抗體基因庫的噬菌體展現技術且此等方法已為熟習本項技術者所熟知。

【0389】在非人類物種中產生融合瘤為一建立完整之方法。用於分離融合

用之免疫動物及/或非人類物種之脾細胞的免疫法和技術已為本項技術所知。融合夥伴(例如，鼠類骨髓瘤細胞)和融合程序亦為已知的。

【0390】 當用於文中，除非內容為矛盾的，否則術語「Fab-臂」、「結合臂」或「臂」係指一對重鏈-輕鏈且在文中可與「半-分子」交換使用。

【0391】 術語「包括一抗原結合區的結合臂」係指包括一抗原結合區的抗體分子或片段。因此，結合臂可包括例如六個 VH 和 VL CDR 序列、VH 和 VL 序列、Fab 或 Fab'片段或 Fab 臂。

【0392】 當用於文中時，除非內容為矛盾的，否則術語「Fc 區」係指由免疫球蛋白重鏈的二條 Fc 序列所組成的抗體區，其中該 Fc 序列係包括至少一絞鏈區，一 CH2 區和一 CH3 區。在一具體實例中，術語「Fc 區」，如文中所用係指在從抗體的 N-末端到 C-末端的方向上包含至少一絞鏈區、CH2 區和 CH3 區的區域。抗體的 Fc 區可媒介免疫球蛋白與宿主組織或因子的結合，包括免疫系統的各種細胞(例如效應細胞)和補體系統的組份。

【0393】 在本揭示文的內文中，有關抗體，包括多特異性抗體，所使用的術語「在較小程度上引發 Fc 媒介的效應子功能」係指相較於包括(i)相同 CDR 序列，特言之包括相同的第一和第二抗原結合區，如該抗體和(ii)包括人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區的二條重鏈，此抗體在較小程度上引發 Fc 媒介的效應子功能，此功能特言之係選自 IgG Fc 受體(FcgammaR，FcγR)結合、C1q 結合、ADCC 或 CDC 之列表。

【0394】 Fc-媒介的效應子功能可藉由與 FcγR 結合、與 C1q 結合，或經由 FcγR 導入 Fc-媒介的交聯來測量。

【0395】 術語「絞鏈區」如文中所用係指免疫球蛋白重鏈的絞鏈區。因此，例如，人類 IgG1 抗體的絞鏈區係相當於如 Kabat 所示的 EU 編號之胺基酸 216-230(Kabat, E.A. et al., 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)。然而，絞鏈區亦可為如文中所述的任何其他亞型。

【0396】 術語「CH1 區」或「CH1 結構域」如文中所用係指免疫球蛋白重鏈的 CH1 區。因此，例如，人類 IgG1 抗體的 CH1 區係相當於根據如 Kabat 中所示之 EU 編號的胺基酸 118-215(同上)。然而，CH1 區亦可為如文中所述的任何其他亞型。

【0397】 術語「CH2 區」或「CH2 結構域」如文中所用係指免疫球蛋白重鏈的 CH2 區。因此，例如，人類 IgG1 抗體的 CH1 區係相當於根據如 Kabat 中所示之 EU 編號的胺基酸 231-340(同上)。然而，CH2 區亦可為如文中所述的任何其他亞型。

【0398】 術語「CH3 區」或「CH3 結構域」如文中所用係指免疫球蛋白重鏈的 CH3 區。因此，例如，人類 IgG1 抗體的 CH3 區係相當於根據如 Kabat 中所示之 EU 編號的胺基酸 341-447(同上)。然而，CH3 區亦可為如文中所述的任何其他亞型。

【0399】 術語「單價抗體」在本揭示文的內文中係指抗體分子能夠結合單一抗原分子且因此不能進行抗原交聯。

【0400】 「EpCAM 抗體」或「抗 EpCAM 抗體」為一特異性結合抗原 EpCAM 之如上所述的抗體。

【0401】 「CD137 抗體」或「抗-CD137 抗體」為一特異性結合 CD137 抗原之如上所述的抗體。

【0402】 「EpCAMxCD137 抗體」或「抗-EpCAMxCD137 抗體」為一包括二個不同抗原結合區之雙特異性抗體，其中一個抗原結合區係與抗原 EpCAM 特異性結合，另一個係與抗原 CD137 特異性結合。

【0403】 術語「生物相似藥」(例如，經核准的參考產品/生物藥物之生物相似藥)如文中所用係指以來自下列之數據為基礎，一生物產品與參考產品為相似的：(a)分析研究，證明該生物產品與參考產品高度相似，儘管臨床非活性成

份有微小差異；(b)動物研究(包括毒性評估)；及/或(c)一或多項臨床研究(包括致免疫性和藥物動力學或藥效學評估)足以證明參考產品在一或多個適當使用條件下的安全性、純度和效力，參考產品已獲批准並打算使用以及正在尋求批准(例如，就產品的安全性、純度和效力而言，生物產品和參考產品之間並無臨床上有意義的差異)。在某些具體實例中，生物相似藥產品和參考產品在擬議標籤中指定、推薦或建議的使用條件下，利用相同機制或作用機制，但僅在參考產品的作用機制或作用機制為已知的範圍內。在某些具體實例中，就生物產品擬議標籤中指定、推薦或建議的一或多個使用條件先前已經批准用於參考產品。在某些具體實例中，生物產品的給藥路徑、劑型及/或強度係與參考產品相同。生物相似藥可為，例如，與市售抗體具有相同一級胺基酸序列之目前已知的抗體，但可在不同的細胞類型中或藉由不同的生產、純化或調配方法來製作。

【0404】 如文中所用，術語「結合」或「能結合」在抗體與預定的抗原或表位結合的內容中，當使用生物膜干涉技術(Bio-Layer Interferometry)(BLI)，或例如，當使用表面電漿共振(SPR)技術以 BIAcore 3000 儀器使用抗原作為配體及抗體作為分析物測定時，典型地為以相當約 $10^{-7}$M或更低，例如約 $10^{-8}$M或更低，例如約 $10^{-9}$M 或更低，約 $10^{-10}$M 或更低，或約 $10^{-11}$M 或甚至更低之 $K_D$的親和力結合。抗體與預定抗原或表位結合的對應 $K_D$親和力，比其對於與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)結合的親和力至少低 10 倍，例如至少低 100-倍，例如至少低 1,000-倍，例如至少低 10,000-倍，例如至少低 100,000-倍。親和力較高之量係依照抗體的 $K_D$而定，使得當抗體的 $K_D$為非常低時(亦即，此抗體為高特異性)，則對抗原的親和力之程度係低於非特異性抗原之親和力可能至少 10,000-倍。

【0405】 術語「$k_d$」($sec^{-1}$)，如文中所用，係指特定抗體-抗原相互作用之解離速率常數。該數值亦稱為 $k_{off}$值。

【0406】 術語「$K_D$」(M)，如文中所用，係指特定抗體-抗原相互作用之解

離平衡常數。

【0407】若二種抗體係與相同的抗原和相同的表位結合，則其係具有「相同的特異性」。無論受試抗體是否辨識與特定抗原結合之抗體相同的表位，亦即抗體係與相同的表位結合，可藉由熟習本項技術者熟知的不同方法來檢測。

【0408】抗體之間的競爭可藉由交叉阻斷分析來偵測。例如，競爭性 ELISA 分析可用作交叉阻斷分析。例如，可將標靶抗原塗覆在微量滴定盤的孔槽上，並可加入抗原-結合抗體和候選競爭受試抗體。與孔槽中抗原結合的抗原結合抗體的量和與其競爭結合相同表位的候選競爭受試抗體之結合能力間接相關。特言之，候選競爭受試抗體對相同表位的親和力越大，則與抗原-塗覆孔槽結合的抗原結合抗體的量就越小。可藉由以可偵測或可測量的標記物質標定抗體來測量與孔槽結合的抗原-結合抗體的量。

【0409】與另外的抗體競爭結合抗原之抗體，例如，包括如文中所述之重鏈和輕鏈可變區的抗體，或對另外抗體的抗原具有特異性的抗體，例如，包含如文中所述之重鏈和輕鏈可變區的抗體，可為包含如文中所述之重鏈及/或輕鏈可變區之變體的抗體，例如，CDR 中的修飾及/或如文中所述之一定程度的相同性。

【0410】「分離的多特異性抗體」如文中所用，希望係指基本上不含具有不同抗原特異性的其他抗體之多特異性抗體(例如，特異性結合 EpCAM 和 CD137 之分離的雙特異性抗體基本上無特異性結合 EpCAM 或 CD137 的單特異性抗體)。

【0411】術語「單株抗體」如文中所用係指單一分子組成物之抗體分子的製備物。單株抗體組成物係對一特定表位展現單一結合特異性和親和力。

【0412】當用於文中時，術語「第一和第二 CH3 區之間的異二聚體相互作用」係指在第一-CH3/第二-CH3 異二聚體抗體中第一 CH3 區和第二 CH3 區之間的相互作用。

【0413】 當用於文中時，術語「第一和第二 CH3 區的同二聚體相互作用」是指第一-CH3/第一-CH3 同二聚體抗體中的一第一 CH3 區和另外第一 CH3 區之間的相互作用，以及第二-CH3/第二-CH3 同二聚體抗體中的一第二 CH3 區和另外第二 CH3 區之間的相互作用。

【0414】 當用於文中時，術語「同二聚體抗體」係指包括二個第一 Fab-臂或半分子的抗體，其中該 Fab-臂或半分子的胺基酸序列為相同的。

【0415】 當用於文中時，術語「異二聚體抗體」係指包括一第一和一第二 Fab-臂或半分子的抗體，其中該第一和第二 Fab-臂或半分子的胺基酸序列為不同的。特言之，該第一和第二 Fab 臂/半分子的 CH3 區或抗原結合區，或 CH3 區和抗原結合區為不同的。

【0416】 術語「還原條件」或「還原環境」係指其中一基質例如抗體絞鏈區中的半胱胺酸殘基更可能被還原而非氧化的條件或環境。

【0417】 本揭示文亦描述多特異性抗體，例如雙特異性抗體，其係包括實例之雙特異性抗體的 VL 區、VH 區或一或更多個 CDR 的功能性變體。用於本文中之雙特異性抗體的 VL、VH 或 CDR 的功能性變體仍能讓雙特異性抗體的各抗原-結合區保留至少一實質比例(至少約 50%、60%、70%、80%、90%、95%或更高)的「參照」或「親代」抗體之親和力及/或專一性/選擇性，且在某些情況下，此雙特異性抗體可能與親和力、選擇性及/或專一性大於親代雙特異性抗體有關。

【0418】 此等功能性變體典型地保留與親代雙特異性抗體顯著的序列相同性。二個序列之間的相同性百分比為序列共享的相同位置數的函數(亦即，同源性百分比= 同位置數#/總位置數# x 100)，同時考慮到需導入供二個序列之最佳比對的缺位數和各缺位的長度。二個核苷酸或胺基酸序列之間的相同性百分比可例如使用已併入 ALIGN 程式(2.0 版)之 E. Meyers 和 W. Miller, Comput. Appl. Biosci 4, 11-17 (1988)的演算法，使用 PAM120 權重殘基表，12 之缺位長度罰分，

4 之缺位罰分來測定。此外，二個胺基酸序列之間的相同性百分比可使用 Needleman 和 Wunsch, J. Mol. Biol. 48, 444 453 (1970)演算法來測定。

【0419】 在本揭示文的內文中，除非另有指出，否則係使用下列符號來描述突變：i)在一給定位置的胺基酸取代寫為例如 K409R，其係指蛋白位置 409 的離胺酸係經精胺酸取代；以及 ii)就特定變體，特定的三或一個字母代碼，包括代碼 Xaa 和 X 係用來指示任何胺基酸殘基。因此，位置 409 中的離胺酸經精胺酸取代係命名為：K409R，而位置 409 中的離胺酸經任何胺基酸殘基取代則命名為 K409X。若位置 409 的離胺酸經刪除，則以 K409*表示。

【0420】 示例的變體包括該等主要藉由保守性取代而與親代抗體的 VH 及/或 VL 及/或 CDR 區不同的變體；例如變體中 12 個，例如 11、10、9、8、7、6、5、4、3、2 或 1 個取代為保守性胺基酸殘基置換。

【0421】 在本揭示文的內文中，保守性取代可藉由表 2 和 3 中所定義的胺基酸類別內的取代來定義。

【0422】 文中所述的抗體序列之功能性變體，例如 VL 區，或 VH 區，或與文中所述的抗體序列具有特定程度的同源性或相同性之抗體序列，例如 VL 區，或 VH 區，較佳地在非-CDR 序列中包括修飾或變異，而 CDR 序列較佳地仍保持不變。

【0423】 術語「EpCAM」如文中所用係指上皮細胞黏附分子，亦稱為 DIAR5、EGP-2、EGP314、EGP40、ESA、HNPCC8、KS1/4、KSA、M4S1、MIC18、MK-1、TACSTD1、TROP1、BerEp4、MOC-31、Ber-Ep4。咸信 EpCAM 係具有許多不同的角色，且似乎在細胞黏附和癌症中扮演一角。在一具體實例中，EpCAM 為人類 EpCAM，具有 UniProt 登錄號 P16422。人類 EpCAM 的序列亦以 SEQ ID NO：59 顯示。SEQ ID NO：59 的胺基酸 1-23 係相當於人類 EpCAM 的信號胜肽；而 SEQ ID NO：59 的胺基酸 24-265 係相當於人類 EpCAM 的胞外結構域；而蛋白的其餘部分，亦即來自 SEQ ID NO：59 之胺基酸 266-288 和

289-314 分別為跨膜和細胞質結構域。

【0424】 術語「CD137」如文中所用係指 CD137(4-1BB)，亦稱為腫瘤壞死因子受體超家族成員 9(TNFRSF9)，其為配體 TNFSF9/4-1BBL 的受體。咸信 CD137(4-1BB)係涉及 T-細胞活化。CD137 的其他同義詞包括，但不限於 4-1BB 配體受體、CDw137、T-細胞抗原 4-1BB 同源物和 T-細胞抗原 ILA。在一具體實例中，CD137(4-1BB)為人類 CD137(4-1BB)，具有 UniProt 登錄號 Q07011。人類 CD137 的序列亦以 SEQ ID NO：37 顯示。SEQ ID NO：37 的胺基酸 1-23 相當於人類 CD137 的信號胜肽；而 SEQ ID NO：37 的胺基酸 24-186 相當於人類 CD137 的胞外結構域；及蛋白的其餘部分，亦即來自 SEQ ID NO：37 的胺基酸 187-213 和 214-255，分別為跨膜和細胞質結構域。

【0425】 「治療週期」在文中係定義為由於結合劑的藥效學而在結合劑的個別劑量的作用範圍內加入的時間期間，或換言之在一對象的身體基本上從施用的結合劑中清除後的時間。在一小的時間窗口，例如在 2-24 小時內，例如 2-12 小時或同一天內多次小劑量，可能等於更大的單一劑量。

【0426】 在本內文中，術語「治療」或「治療性干預」係關於就打擊一症狀，例如一疾病或病症為目的管理和照護一對象。此術語希望係包括全方位治療一對象患有的特定症狀，例如投予治療上有效的化合物用以減輕此等症候和併發症，延緩疾病、病症或症狀的進程，減輕或緩解症候和併發症，及/或治癒或消除疾病、病症或症狀，以及防止症狀，其中防止應理解為就打擊該疾病、症狀或病症為目的管理和照護個體並包括投予活性化合物用以防止症候或併發症的發生。在一具體實例中，「治療」係指投予一有效量的本揭示文之治療活性結合劑，例如治療活性抗體，目的為緩解、改善、遏止或根除(治愈)症候或疾病狀態。

【0427】 對治療的反應以及對以本揭示文之結合劑治療的阻抗性、無反應及/或複發可根據 Evaluation Criteria in Solid Tumors；版本 1.1(RECIST Criteria

v1.1)來測定。

【0428】「最佳總體反應」為從治療開始到疾病惡化/復發所記錄之最佳反應(自治療開始所記錄的最小測量值將用作 PD 的參考)。具有 CR 或 PR 的受試者被認為是客觀反應。具有 CR、PR 或 SD 的對象被視為處於疾病控制中。具有 NE 的對象係計為無反應者。最佳總體反應為從治療開始到疾病惡化/復發所記錄的最佳反應(自治療開始所記錄的最小測量值將用作 PD 的參考)。具有 CR、PR 或 SD 的對象被視為處於疾病控制中。具有 NE 的對象係計為無反應者。

【0429】「反應持續時間(DOR)」僅適用於確認最佳總體反應為 CR 或 PR 的對象且係定義為從第一次記錄客觀腫瘤反應(CR 或 PR)到第一次 PD 或因潛在的癌症之死亡。

【0430】「無惡化存活期(PFS)」係定義為從第 1 週期的第 1 天到首次記錄的惡化或因任何原因死亡的天數。

【0431】「整體存活(OS)」係定義為從第 1 週期的第 1 天到由於任何原因死亡的天數。若不知一對象已死亡，則 OS 將設限在已知該對象還活著的最晚日期(在截止日期或之前)。

【0432】在本揭示文之內文中，術語「治療療法」係指設計用來改善和維持健康之結構治療計劃。

【0433】術語「有效量」或「治療上有效量」係指在必要的劑量和時間內有效達到所欲之治療結果的量。治療上有效量的結合劑，例如抗體，如多特異性抗體或單株抗體，可根據例如個體的疾病狀態、年齡、性別和體重以及結合劑在個體中引發所欲反應之能力等因素而變。治療有效量亦為其中結合劑或其片段的任何毒性或有害作用被治療有益效用所抵消之量。在最初始劑量對病患的反應不充分之情況下，則可使用更高的劑量(或藉由不同的、更局部的給藥路徑達到有效的較高劑量)。在以一劑量治療的病患中發生不欲副作用的情況下，則可使用較低的劑量(或藉由不同的、更局部的給藥路徑達到有效的較低劑量)。

【0434】 如文中所用，術語「癌症」係包括特徵為異常調節的細胞生長、增生、分化、黏附及/或遷移之疾病。「癌細胞」係指異常細胞，其藉由快速、不受控制的細胞增生而生長，並在引發新生長的刺激停止後持續生長。

【0435】 術語「癌症」根據本揭示文亦包括癌症轉移。「轉移」係指癌細胞從其原始部位擴散到身體的另外部位。轉移的形成為一非常複雜的過程且係取決於惡性細胞從原發腫瘤脫離，侵入胞外基質，穿透內皮基底膜進入體腔和血管，及然後經血液運輸後，浸潤目標器官。最後，新腫瘤，亦即繼發性腫瘤或轉移性腫瘤在目標位置的生長係依血管生成而定。即使在原發腫瘤移除後，腫瘤轉移亦經常發生，因為腫瘤細胞或組份可能會殘留並發展為轉移潛在性。在一具體實例中，術語「轉移」根據本揭示文係關於「遠端轉移」，其係關於遠離原發腫瘤和區域淋巴結系統的轉移。

【0436】 術語例如「下降」、「抑制」、「干擾」和「負調節」如文中所用係指在程度(量)上造成，例如約 5%或更多，約 10%或更多，約 15%或更多，約 20%或更多，約 25%或更多，約 30%或更多，約 40%或更多，約 50%或更多，或約 75%或更多之整體下降的能力。術語「抑制」或類似詞語包括完全或基本上完全抑制，亦即降至零或基本上達到零。

【0437】 術語例如「增加」或「增強」在一具體實例中係關於增加或增強至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 40%，至少約 50%，至少約 80%，或至少約 100%。

【0438】 「生理 pH」如文中所用係指 7.5 或約 7.5 之 pH。

【0439】 如本揭示文中所用，「%重量比」係指重量百分比，其為一種以克(g)計之測量物質之量的濃度單位，係用以克(g)計之總組成物總重量的百分比來表示。

【0440】 術語「冷凍」係關於液體的固化，通常伴隨著移除熱。

【0441】 術語「凍乾」或「冷凍乾燥」係指藉由將物質冷凍然後降低周圍

壓力(例如，低於 15 Pa，例如低於 10 Pa，低於 5 Pa，或 1 Pa 或更少)使物質中的冷凍介質從固相直接昇華到氣相。因此，術語「凍乾」和「冷凍乾燥」在文中可交換使用。

【0442】 術語「重組」在本揭示文內文中係指「經過基因工程製造」。在一具體實例中，在本揭示文內文中的「重組物體」並非天然生成的。

【0443】 術語「天然生成的」如文中所用係指一物體可在自然界發現之事實。例如，存在一生物體(包括病毒)中以及可從天然來源分離，且並未以人為方式於實驗室刻意修飾的胜肽或核酸是為天然生成的。術語「在自然界中發現」係指「存在於自然界中」並包括已知的物體以及尚未發現及/或從自然界中分離出來，但將來可能從自然資源中發現及/或分離出的物體。

【0444】 根據本揭示文，術語「胜肽」係包括寡肽和多肽且係指包括約 2 個或更多個，約 3 個或更多個，約 4 個或更多個，約 6 個或更多個，約 8 個或更多個，大約 10 個或更多個，約 13 個或更多個，約 16 個或更多約 20 個或更多個，及至高約 50 個，約 100 個或約 150 個連續胺基酸，經由胜肽鍵相互連接的物質。術語「蛋白」指大的胜肽，特言之，具有至少約 151 個胺基酸之胜肽，但術語「胜肽」和「蛋白」在文中通常係以同義來使用。

【0445】 當以一治療上有效量提供給一對象時，「治療性蛋白」對於該對象之症狀或疾病狀態具有正面或有益的效用。在一具體實例中，治療性蛋白具有治愈或緩和的性質並且可經投予用以改善、緩解、減緩、逆轉、延遲疾病或病症的一或多個症候的發作或減輕其嚴重性。治療性蛋白可具有預防性質並可用於延遲疾病的發作或減輕此等疾病或病理狀況的嚴重度。術語「治療性蛋白」係包括完整的蛋白或胜肽，亦可指其治療活性片段。其亦可包括蛋白之治療活性變體。治療活性蛋白的實例包括，但不限於用於疫苗接種的抗原和免疫刺激物例如細胞激素。

【0446】 術語「部分」係指一分量。有關特定結構例如胺基酸序列或蛋白，

術語其「部分」可指該結構之連續或不連續分量。

【0447】術語「部分」和「片段」在本文中可交換使用並且係指連續的元件。例如，一結構如胺基酸序列或蛋白的一部分係指該結構的連續元件。當用於組成物的內容中時，術語「部分」係指組成物的一部分。例如，組合物的一部分可為該組合物之 0.1%至 99.9%(例如 0.1%、0.5%、1%、5%、10%、50%、90%或 99%)的任何部分。

【0448】「片段」，就胺基酸序列(胜肽或蛋白)而言，係關於胺基酸序列的一部份，亦即代表在 N-端及/或 C-端短縮的胺基酸序列之序列。C-端短縮的片段(N-端片段)可，例如藉由缺少開放閱讀框之 3’-端的截斷開放閱讀框轉譯來獲得。N-端短縮的片段(C-端片段)可，例如藉由缺少開放閱讀框之 5’-端的截斷開放閱讀框轉譯來獲得，只要該截斷的開放閱讀框包括一作為起始轉譯的開始密碼子。一胺基酸序列的片段係包括，例如來自一胺基酸序列至少 50%，至少 60%，至少 70 %，至少 80%，至少 90%的胺基酸殘基。一胺基酸序列的片段較佳地係包括至少 6 個，特言之至少 8 個，至少 12 個，至少 15 個，至少 20 個，至少 30 個，至少 50 個，或至少 100 個來自一胺基酸序列的連續胺基酸殘基。

【0449】根據本揭示文，胜肽或蛋白的一部分或片段較佳地係具有至少一種其所衍生的胜肽或蛋白之功能性質。此等功能性質包括藥理活性、與其他胜肽或蛋白的相互作用、酵素活性、與抗體的相互作用和核酸的選擇性結合。例如，胜肽或蛋白的藥理學活性片段係具有至少一種該片段所衍生的胜肽或蛋白之藥理學活性。生肽或蛋白的一部分或片段較佳地係包括至少 6 個、特言之至少 8 個、至少 10 個、至少 12 個、至少 15 個、至少 20 個、至少 30 個或至少 50 個該胜肽或蛋白之連續胺基酸的序列。胜肽或蛋白的一部分或片段較佳地係包括一至高 8 個、特言之至高 10 個、至高 12 個、至高 15 個、至高 20 個、至高 30 個或至高 55 個該胜肽或蛋白之連續胺基酸的序列。

【0450】「變體」在文中係指一胺基酸序列憑藉至少一個胺基酸修飾而與

親代胺基酸序列不同。親代胺基酸序列可為天然生成的或野生型(WT)胺基酸序列，或可為野生型胺基酸序列之經修飾版本。較佳地，相較於親代胺基酸序列，變體胺基酸序列具有至少一個胺基酸修飾，例如相較於親代，1 至約 20 個胺基酸修飾，及較佳地 1 至約 10 個或 1 至約 5 個胺基酸修飾。

【0451】「野生型」或「WT」或「天然」在文中係指在自然界中發現的胺基酸序列，包括等位基因變異。野生型胺基酸序列、胜肽或蛋白係具有並非故意修改的胺基酸序列。

【0452】較佳地類似性程度，較佳地一給定胺基酸序列和該給定胺基酸序列之變體的胺基酸序列之間的相同性應為至少約 60%、70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%。就一胺基酸區之類似性和相同性程度較佳地為參照胺基酸序列全長的至少約 10%，至少約 20%，至少約 30%，至少約 40%，至少約 50%，至少約 60%，至少約 70%，至少約 80%，至少約 90%或約 100%。例如，若該參照胺基酸序列係由 200 個胺基酸所組成，則類似性或相同性程度較佳地為至少約 20 個，至少約 40 個，至少約 60 個，至少約 80 個，至少約 100 個，至少約 120 個，至少約 140 個，至少約 160 個，至少約 180 個，或約 200 個胺基酸，在某些具體實例中為連續胺基酸。在某些具體實例中，類似性或相同性程度為全長的參照胺基酸序列。測定序列類似性，較佳地序列相同性之比對可以技術中已知的工具來進行，較佳地使用最佳序列比對，例如使用標準設定，較佳地 EMBOSS::needle，Matrix：Blosum62，Gap Open 10.0，Gap Extend 0.5。

【0453】序列類似性」係指相同或代表保守性胺基酸取代的胺基酸百分比。二條胺基酸序列間的「序列相同性」係指序列間相同的胺基酸之百分比。二條核酸序列間的「序列相同性」係指序列間相同的核苷酸之百分比。

【0454】術語「相同性%」或類似術語希望係指，特言之，在欲比較的二序列間最佳比對中相同的核苷酸或胺基酸百分比。該百分比為純統計的，且二

序列間的差異可能但非必要隨機分配於全長的所比較序列。二序列的比較通常係藉由在最佳比對後，就有關片段或「比較窗」將該序列做比較來進行，以便於鑑別對應序列的局部區域。就比較的最佳比對可以手動進行或在 Smith 和 Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482 之局部同源性比對的幫助下，在 Needleman 和 Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48, 443 之局部同源性比對的幫助下以及在 Pearson 和 Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 85, 2444 之類似性搜尋比對之幫助下，或使用該比對的電腦程式幫助下(GAP、BESTFIT、FASTA、BLAST P、BLAST N 和 TFASTA，Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis.)進行。在某些具體實例中，二條序列的相同性百分比係使用美國國家生物技術資訊中心 (NCBI) 網站上 ( 例如，於 blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi)可取得的 BLASTN 或 BLASTP 演算法來測定。在某些具體實例中，用於 NCBI 網站上的 BLASTN 演算法之演算參數係包括：(i)期望閥值設定為 10；(ii)字組大小設定為 28；(iii)查詢範圍內的最大匹配設定為 0；(iv)匹配/錯配得分設定為 1，-2；(v)缺位成本設定為直線；及(vi)使用低複雜度區域之過濾。在某些具體實例中，用於 NCBI 網站上的 BLASTN 演算法之演算參數係包括：(i)期望閥值設定為 10；(ii)字組大小設定為 3；(iii)查詢範圍內的最大匹配設定為 0；(iv)矩陣設定為 BLOSUM62；(v)缺位成本設定為存在：11 延伸：1；及(vi)條件組成得分矩陣調整。

【0455】 藉由測定其中與欲比較序列相符之相同位置的數目，將此數目除以所比較的位置數目(例如，參照序列中的位置數目)並將此結果乘以 100，得到相同性百分比。

【0456】 在某些具體實例中，類似性或相同性的程度為參照序列全長之至少約 50%，至少約 60%，至少約 70%，至少約 80%，至少約 90%或約 100%的區域。例如，若參照核酸係由 200 個核苷酸所組成，則相同性程度為至少約 100 個，至少約 120 個，至少約 140 個，至少約 160 個，至少約 180 個或約 200 個胺

基酸來表示，在某些具體實例中為連續核苷酸。在某些具體實例中，類似性或相同性的程度為全長的參照序列。

【0457】根據本揭示文同源胺基酸序列係具有至少40%，特言之至少50%，至少60%，至少70%，至少80%，至少90%及較佳地至少95%，至少98或至少99%的胺基酸殘基相同性。

【0458】熟習技術者可容易地，例如，藉由重組DNA操縱來製備文中所描述的胺基酸序列變體。製備具有取代、添加、插入或刪除的胜肽或蛋白之DNA序列操縱係詳細描述於，例如Sambrook et al. (1989)。再者，文中所描述的胜肽和胺基酸變體可在已知胜肽合成技術，例如藉由固相合成和類似方法之幫助下容易地製備。

【0459】在一具體實例中，胺基酸序列(胜肽或蛋白)之片段或變體較佳地為「功能性片段」或「功能性變體」。術語胺基酸序列之「功能性片段」或「功能性變體」係關於與從其衍生的胺基酸序列具有任何一或更多種相同或類似的功能性質之片段或變體，亦即其為功能上的同等物。就結合劑而言，一特別的功能為從該胺基酸序列衍生片段或變體所展現的一或多種結合活性。術語「功能性片段」或「功能性變體」，如文中所用，特言之係指一變體分子或序列，其相較於親代分子的胺基酸序列係包括一或更多個胺基酸已改變的胺基酸序列且仍能滿足一或多項親代分子或序列的功能，例如與標靶抗原結合。在一具體實例中，親代分子或序列之胺基酸序列中的修飾並不會顯著影響或改變此分子或序列的特性。在不同的具體實例中，功能性片段或功能性變體之功能可能下降但仍明顯存在，例如功能性變體的結合可能為親代分子或序列的至少50%，至少60%，至少70%，至少80%，或至少90%。然而，在其他的具體實例中，相較於親代分子或序列，功能性片段或功能性變體之結合可能為增強的。

【0460】「衍生自」一指定胺基酸序列(胜肽、蛋白或多肽)之胺基酸序列(胜肽、蛋白或多肽)係指此第一胺基酸序列的來源。較佳地，該衍生自一特定胺

基酸序列胺的基酸序列係具有與該特定序列或其片段相同、基本上相同或同源的胺基酸序列。衍生自一特定胺基酸序列胺的基酸序列可能為該特定序列或其片段的變體。例如，熟習本項技術之一般技術者應了解，用於文中的結合劑可經改變，使其在序列上與衍生該等序列之天然生成或原生序列不同，而同時保留所欲的該天然序列之活性。

【0461】「分離的」係指改變或從天然的狀態移出。例如，天然存在一動物中的核酸或胜肽天並非「分離的」，但部分或完全與其天然狀態的共存物質分開之相同的核酸或胜肽則為「分離的」。分離的核酸或蛋白可以實質上純的形式存在，或可存在於非天然環境，例如，舉例而言，宿主細胞中。在一具體實例中，文中所述的結合劑例如抗體為分離的。「分離的結合劑」如文中所用，希望係指基本上不含具有不同抗原特異性之其他結合劑的結合劑。在一具體實例中，與 EpCAM 和 CD137 特異性結合的分離雙特異性結合劑基本上並無與 EpCAM 或 CD137 特異性結合的單特異性抗體。在一較佳的具體實例中，用於本揭示文的結合劑基本上為純化的形式。

【0462】術語「基因修飾」或簡稱「修飾」係包括以核酸轉染細胞。術語「轉染」係關於將核酸，特言之 RNA，導入一細胞。就本發明之目的，術語「轉染」亦包括將核酸導入一細胞或藉由此細胞吸收核酸，其中該細胞可存在於一對象中，例如，一病患中。因此，根據本揭示文，用於轉染文中所述之核酸的細胞可存在活體外或活體內，例如此細胞可形成一病患的部分器官、組織及/或生物體。根據本揭示文，轉染可為過渡的或穩定的。就某些轉染的應用，若轉染的基因物質僅為過渡性表現便已足夠。RNA 可轉染至細胞中用以過渡性表現其編碼的蛋白。因為在轉染過程中導入的核酸通常不會整合至胞核基因體，因此外來的核酸將會經由有絲分裂稀釋或降解。容許核酸的游離體增幅之細胞大大降低稀釋率。若轉染的核酸實際上仍在細胞的基因體及其子代細胞中為所希望的，則必須進行穩定轉染。此穩定轉染可藉由使用病毒為基礎的系統或轉座

子為基礎的系統來進行轉染。一般而言，編碼抗原的核酸係過渡性轉染至細胞。RNA 可轉染至細胞用以過渡性表現其編碼的蛋白。

【0463】 根據本揭示文，胜肽或蛋白的類似物為該胜肽或蛋白的修飾形式，其係衍生自該胜肽或蛋白並具有至少一種該胜肽或蛋白質的功能性質。例如，胜肽或蛋白的藥理學活性類似物係具有至少一種衍生該類似物之胜肽或蛋白的藥理學活性。此等修飾包括任何化學修飾，並包括與蛋白或胜肽連結的任何分子，例如碳水化合物、脂質及/或蛋白或胜肽之單一或多個取代、刪除及/或添加。在一具體實例中，蛋白或胜肽的「類似物」係包括該等由糖基化、乙醯化、磷酸化、醯胺化、棕櫚醯化、荳蔻醯化、異戊二烯化、脂化、烷基化、衍生化、導入保護/阻斷基團、蛋白水解裂解或與抗體或另外細胞配體結合所產生的修飾型。術語「類似物」亦延伸至該蛋白和胜肽的所有功能性化學同等物。

【0464】 「活化」或「刺激」，如文中所用，係指免疫效應細胞如 T 細胞係經充分刺激用以引發可偵測的細胞增生之狀態。活化亦可能與信號傳遞路徑的啟動、引發細胞激素產生和可偵測的效應子功能相關。術語「活化的免疫效應細胞」係指，尤其是正在進行細胞分裂的免疫效應細胞。

【0465】 術語「啟動」係指一種過程，其中免疫效應細胞例如 T 細胞首先與其特異性抗原接觸並導致分化成效應細胞例如效應 T 細胞。

【0466】 術語「選殖擴增」或「擴增」係指特定實體倍數化的過程。在本揭示文之內文中，該術語較佳地係用於免疫反應的內容中，其中免疫效應細胞係由抗原刺激、增生及擴幅此辨識該抗原的特異性免疫效應細胞。較佳地，選殖擴增導致免疫效應細胞的分化。

【0467】 「抗原」根據本揭示文係涵蓋可與抗體或 T 細胞受體結合的任何物質或分子結構。體內抗原的存在可能引發免疫反應。因此，「抗原」係涵蓋任何對抗免疫反應或免疫機制所針對的物質。此項亦包括其中抗原係經加工成抗原胜肽且免疫反應或免疫機制係針對對抗一或多種抗原胜肽的情況，特言之

若在 MHC 分子的背景下呈現。特言之，「抗原」係關於特異性與抗體或 T-淋巴細胞(T-細胞)反應的任何物質，較佳地胜肽或蛋白。根據本揭示文，術語「抗原」係包括任何包含至少一表位，例如一 T 細胞表位的分子。較佳地，本揭示文中的抗原為一視需要在處理後引發一免疫反應的分子，其較佳地對抗原(包括表現抗原的細胞)具有特異性。在一具體實例中，抗原為疾病相關抗原，例如腫瘤抗原、病毒抗原或細菌抗原，或衍生自此等抗原的表位。

【0468】 術語「表位」係指一分子如抗原中的抗原決定簇，亦即為免疫系統所辨識，例如為抗體 T 細胞或 B 細胞所辨識之分子的一部分或片段，特言之當在 MHC 分子的背景下呈現時。在一具體實例中，「表位」係指能與抗體特異性結合的蛋白決定簇。表位通常係由分子之表面群組所組成，例如胺基酸或糖側鏈，且通常具有特定的三維結構特徵以及特定的電荷特徵。構象和非構象表位的區別在於與前者而非後者的結合在變性溶劑的存在下為丟失的。表位可包括直接涉及結合的胺基酸殘基和其他不直接涉及結合的胺基酸殘基，例如被特異性抗原-結合肽有效阻斷或覆蓋的胺基酸殘基(換言之，胺基酸殘基在特異性抗原-結合肽的足跡內)。

【0469】 蛋白之表位較佳地係包括該蛋白之連續或不連續的部分且較佳地長度係介於約 5 至約 100 個，較佳地介於約 5 至約 50 個，更佳地介於約 8 至約 30 個，最佳地介於約 10 至約 25 個胺基酸，例如，表位較佳地長度可為 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 或 25 個胺基酸。在一具體實例中，表位在本揭示文之內文中為一 T 細胞表位。

【0470】 術語「視需要」如本文所用係指隨後描述的事件、環境或條件可能發生或可能不發生，且此描述係包括該事件、環境或條件發生的情況及其中不發生的情況。

【0471】 如文中所用，術語「連接」或「融合」可交換使用。這些術語係指將二或多個元素或組份或區域連接在一起。

【0472】 術語「疾病」(文中亦稱為病症)係指影響個體之身體的異常狀況。疾病通常係解釋為與特定症候和徵狀有關的醫學症狀。疾病可由源自於外部來源之因子所引起，例如感染性疾病，或其可能由內部功能失調所造成，例如自體免疫疾病。在人類中，「疾病」通常係廣義地用來指對個體造成疼痛、功能失調、痛苦、社會問題或死亡之症狀，或接觸該個體之類似問題。從廣義上來說，其有時候係包括受傷、失能、病症、症候、感染、分離症候、偏差行為和非典型結構和功能之變異，而在其他的內容及就其他目的，這些可視為可區別的項目。疾病通常不僅在身體上影響個體，亦可能在情緒上影響個體，當染上和患有許多疾病可能改變個體的生命觀點及其個性。

【0473】 術語「治療性治療」係關於改善健康狀態及/或延長(增加)個體壽命之任何治療。該治療可消除個體中的疾病，遏止或延緩個體中疾病的發展，抑制或延緩個體中疾病發展，降低個體中症候的頻率和嚴重度，及/或於目前具有或先前具有一疾病之個體中降低復發。

【0474】 術語「預防性治療」或「防止性治療」係關於希望防止一疾病於個體中發生之任何治療。術語「預防性治療」或「防止性治療」在文中可交換使用。類似地，術語「預防方法」在疾病惡化如腫瘤或癌症惡化的情況下係關於希望防止疾病在個體中惡化的任何方法。

【0475】 術語「個體」和「對象」在文中可交換使用。其係指可能罹患或易罹患一疾病或病症(例如癌症)之人類或另外的哺乳動物(例如，小鼠、大鼠、兔、狗、貓、牛、豬、綿羊或靈長類)或任何其他非哺乳動物-動物，包括鳥類(雞)、魚類或任何其他動物物種。除非另有說明，否則術語「個體」和「對象」並非指特定年齡，且因此包括成人、老年者、孩童和新生兒。在本揭示文之具體實例中，「個體」和「對象」為「病患」。

【0476】 術語「病患」係指治療的個體或對象，特言之罹病的個體或對象。

【0477】 術語「多核苷酸」或「核酸」，如文中所用希望係包括 DNA 和

RNA，例如基因體 DNA、cDNA、mRNA、重組製造的和化學合成的分子。核酸可為單股或雙股。RNA 係包括活體外轉錄的 RNA(IVT RNA)或合成的 RNA。

【0478】 核酸可能包括在一載體中。術語「載體」如文中所用係包括任何熟習技術者已知的任何載體，包括質體載體，黏粒載體，噬菌體載體例如 λ 噬菌體，病毒載體例如反轉錄病毒、腺病毒或桿狀病毒載體，或人工染色體載體例如細菌人工染色體(BAC)、酵母菌人工染色體(YAC)或 P1 人工染色體(PAC)。該等載體係包括表現以及選殖載體。表現載體係包括黏粒以及病毒載體且通常含有所欲的編碼序列和用於在一特定的宿主生物(例如，細菌宿主、酵母菌、植物、昆蟲或哺乳動物)或活體外表現系統中表現操作上連接此編碼序列的適當 DNA 序列。選殖載體通常係用來工程化和增幅特定的所欲 DNA 片段且可能缺乏表現該所欲 DNA 片段所需之功能序列。

【0479】 在本揭示文的一具體實例中，核酸係表現在一受治療的對象中用以提供編碼的胜肽或蛋白。在一具體實例中，核酸係過渡性表現在該對象的細胞中。因此，在一具體實例中，核酸並未整合到細胞的基因組中。在一具體實例中，此核酸為 RNA，較佳地活體外轉錄的 RNA。

【0480】 文中所述的核酸可為重組的及/或分離的分子。

【0481】 在本揭示文中，術語「RNA」係關於包括核糖核苷酸殘基之核酸分子。在較佳的具體實例中，RNA 係含有所有或大多數核糖核苷酸殘基。如文中所用，「核糖核苷酸」係指在 β-D-呋喃核糖基基團的 2'-位置具有羥基基團的核苷酸。RNA 係包括，不限於雙股 RNA，單股 RNA，分離的 RNA，例如部分純化的 RNA，基本上純的 RNA，合成的 RNA 和重組產生的 RNA，以及藉由添加、刪除、取代及/或改變一或更多個核甘酸而與天然生成的 RNA 不同之修飾的 RNA。此等改變可指於內部 RNA 核苷酸或於 RNA 的末端添加非核苷酸物質。文中亦涵蓋 RNA 分子中的核苷酸可為非標準核苷酸，例如化學合成的核苷酸或去氧核苷酸。就本揭示文，這些經改變的 RNA 係視為天然生成 RNA 的類似物。

【0482】 在本揭示文之特定的具體實例中，該 RNA 為信使-RNA(mRNA)，其係關於編碼一胜肽或蛋白之 RNA 轉錄。如本項技術中所建立的，mRNA 一般係含有一 5'未轉譯區(5'-UTR)，一胜肽編碼區，一 3'未轉譯區(3'-UTR)。在某些具體實例中，mRNA 可藉由活體外轉錄或化學合成來產生。在一具體實例中，該 mRNA 係藉由活體外轉錄使用一 DNA 模板所產生，其中 DNA 係指含有去氧核糖核苷酸的核酸。

【0483】 在一具體實例中，RNA 為活體外轉錄的 RNA(IVT-RNA)並可藉由活體外一適當的 DNA 模板之轉錄來獲得。用於控制轉錄的啟動子可為任何用於任何 RNA 聚合酶之啟動子。用於活體外轉錄的 DNA 模板可藉由選殖一核酸，尤其是 cDNA，並將其導入一適合活體外轉錄的載體來獲得。cDNA 可藉由反轉錄 RNA 來獲得。

【0484】 在一具體實例中，文中所述的 RNA 可具有修飾的核苷。在某些具體實例中，RNA 係包括一修飾的核苷取代至少一個(例如每一個)尿苷。

【0485】 在某些具體實例中，該修飾的核苷酸係獨立地選自假尿苷(ψ)、N1-甲基-假尿苷(m1ψ)和 5-甲基-尿苷(m5U)。

【0486】 在某些具體實例中，替代 RNA 中一或更多個尿苷之修飾的核苷酸可為一或更多個 3-甲基-尿苷($m^3U$)、5-甲氧基-尿苷($mo^5U$)、5-氮雜-尿苷、6-氮雜-尿苷、2-硫基-5-氮雜-尿苷、2-硫基-尿苷($s^2U$)、4-硫基-尿苷($s^4U$)、4-硫基-假尿苷、2-硫基-假尿苷、5-羥基-尿苷($ho^5U$)、5-胺基烯丙基-尿苷、5-鹵基-尿苷(e.g.、5-碘-尿苷 or 5-溴-尿苷)、尿苷 5-氧乙酸($cmo^5U$)、尿苷 5-氧乙酸甲酯($mcmo^5U$)、5-羧甲基-尿苷($cm^5U$)、1-羧甲基-假尿苷、5-羧基羥基甲基-尿苷($chm^5U$)、5-羧基羥基甲基-尿苷甲酯($mchm^5U$)、5-甲氧基羰基甲基-尿苷($mcm^5U$)、5-甲氧基羰基甲基-2-硫基-尿苷($mcm^5s^2U$)、5-胺甲基-2-硫基-尿苷($nm^5s^2U$)、5-甲基胺甲基-尿苷($mnm^5U$)、1-ethyl-假尿苷、5-甲基胺甲基-2-硫基-尿苷($mnm^5s^2U$)、5-甲基胺甲基-2-硒基-尿苷($mnm^5se^2U$)、5-胺甲醯基甲基-尿苷($ncm^5U$)、5-羧甲基

胺甲基-尿苷(cmnm$^5$U)、5-羧甲基胺甲基-2-硫基-尿苷(cmnm$^5$s$^2$U)、5-丙炔基-尿苷、1-丙炔基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-尿苷(τm$^5$U)、1-牛磺酸基甲基-假尿苷、5-牛磺酸基甲基-2-硫基-尿苷(τm5s2U)、1-牛磺酸基甲基-4-硫基-假尿苷)、5-甲基-2-硫基-尿苷(m$^5$s$^2$U)、1-甲基-4-硫基-假尿苷(m$^1$s$^4$ψ)、4-硫基-1-甲基-假尿苷、3-甲基-假尿苷(m$^3$ψ)、2-硫基-1-甲基-假尿苷、1-甲基-1-去氮-假尿苷、2-硫基-1-甲基-1-去氮-假尿苷、二氫尿苷(D)、二氫假尿苷、5,6-二氫尿苷、5-甲基-二氫尿苷(m$^5$D)、2-硫基-二氫尿苷、2-硫基-二氫假尿苷、2-甲氧基-尿苷、2-甲氧基-4-硫基-尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-甲氧基-2-硫基-假尿苷、N1-甲基-假尿苷、3-(3-胺基-3-羧基丙基)尿苷(acp$^3$U)、1-甲基-3-(3-胺基-3-羧基丙基)假尿苷(acp$^3$ ψ)、5-(異戊烯基胺甲基)尿苷(inm$^5$U)、5-(異戊烯基胺甲基)-2-硫基-尿苷(inm$^5$s$^2$U)、α-硫基-尿苷、2′-O-甲基-尿苷(Um)、5,2′-O-二甲基-尿苷(m$^5$Um)、2′-O-甲基-假尿苷(ψm)、2-硫基-2′-O-甲基-尿苷(s$^2$Um)、5-甲氧基羰基甲基-2′-O-甲基-尿苷(mcm$^5$Um)、5-胺甲醯基甲基-2′-O-甲基-尿苷(ncm$^5$Um)、5-羧甲基胺甲基-2′-O-甲基-尿苷(cmnm$^5$Um)、3,2′-O-di 甲基-尿苷(m$^3$Um)、5-(異戊烯基胺甲基)-2′-O-甲基-尿苷(inm$^5$Um)、1-硫基-尿苷、去氧胸腺苷、2′-F-阿拉伯糖-尿苷、2′-F-尿苷、2′-OH-阿拉伯糖-尿苷、5-(2-甲氧羰基乙烯基) 尿苷、5-[3-(1-E-丙烯基胺基)尿苷，或任何本項技術中已知的其他修飾尿苷。

【0487】在某些具體實例中，根據本揭示文之 RNA 係包括一 5’-端帽。在一具體實例中，本揭示文之 RNA 不具有未加帽的 5'-三磷酸。在一具體實例中，RNA 可經 5'-端帽類似物修飾。術語「5'-端帽」係指在 mRNA 分子 5'-端所發現的結構且一般係由鳥嘌呤核苷酸經由 5'-對 5'-三磷酸鍵連與 mRNA 相連接所組成。在一具體實例中，此鳥苷係在 7-位置經甲基化。帶有 5'-端帽或 5'-端帽類似物的 RNA 可藉由活體外轉錄來提供，其中 5'-端帽係共轉錄表現於 RNA 股，或可使用加帽酵素轉錄後連接 RNA。

【0488】在某些具體實例中，此 RNA 係包含 cap0、cap1 或 cap2。根據本

揭示文，術語「cap0」係指結構「m7GpppN」，其中 N 為在位置 2'帶有一 OH 基團的任何核苷。根據本揭示文，術語「cap1」係指結構「$m^7$GpppNm」，其中 Nm 為在位置 2'帶有一 $OCH_3$ 基團的任何核苷。根據本揭示文，術語「cap2」係指結構「$m^7$GpppNmNm」，其中各 Nm 為獨立地在位置 2'帶有一 $OCH_3$ 基團的任何核苷。

【0489】在某些具體實例中，此 RNA 係包括一由下列組成之群中選出的 5'-端帽結構：$m_2^{7,2'O}$G(5')ppSp(5')G(特言之，其 D1 非對映異構物)，$m_2^{7,3'O}$G(5')ppp(5')G 和 $m_2^{7,3'-O}$Gppp($m_1^{2'-O}$)ApG。

【0490】在某些具體實例中，根據本揭示文之 RNA 係包括一 5'-UTR 及/或 3'-UTR。術語「非轉譯區」或「UTR」係關於一 DNA 分子中的區域，其係經轉錄但未轉譯成一胺基酸序列，或係關於一 RNA 分子，例如一 mRNA 分子中的對應的區域。非轉譯區(UTR)可為當前的開放閱讀框之 5'端(上游)(5'-UTR)及/或一開放閱讀框之 3'端(下游)(3'-UTR)。5'-UTR 若存在，係位於 5'端，蛋白編碼區之開始密碼子的上游。5'-UTR 為 5'-端帽(若存在的話)的下游，例如直接與 5'-端帽相鄰。3'-UTR，若存在，係位於 3'端，蛋白編碼區之終止密碼子的下游，但術語「3'-UTR」較佳地不包括 poly(A)序列。因此，3'-UTR 為 poly(A)序列(若存在的話)之上游，例如直接與 poly(A)序列相鄰。

【0491】在某些具體實例中，根據本揭示文RNA係包括一3'-poly(A)序列。如文中所用，術語「poly(A)序列」或「poly(A)尾」係指不間斷或間斷的腺苷酸殘基序列，其典型地係位於 RNA 分子的 3'端。Poly(A)序列已為熟習本項技術者所知並可接在文中所述的 RNA 中 3'-UTR 之後。Poly(A)序列可為任何長度。在某些具體實例中，Poly(A)序列係包括或由至少 20 個，至少 30 個，至少 40 個，至少 80 或至少 100，及至高 500 個，至高 400 個，至高 300 個，至高 200 個或至高 150 個核苷酸，及，特言之，約 110 個核苷酸所組成。在某些具體實例中，Poly(A)序列僅由 A 核苷酸所組成。在某些具體實例中，Poly(A)序列基本上係由

A 核苷酸所組成，但穿插四種核苷酸(A、C、G 和 U)之隨機序列，如 WO 2016/005324 A1 中所揭示，其係以引用的方式併入。此等隨機序列長度可為 5 至 50 個，10 至 30 個，或 10 至 20 個核苷酸。基本上由 dA 核苷酸所組成的，但其中穿插具有相同分布的四種核苷酸(dA、dC、dG、dT)之隨機序列並具有長度例如 5 至 50 個核苷酸的 poly(A)卡匣顯示，在 DNA 量上，在大腸桿菌(*E.coli*)中質體 DNA 的常量增殖，且在 RNA 量上，仍與有關支持 RNA 安定性和轉譯效能的有利性質相關。在某些具體實例中，在其 3'-端，poly(A)序列的側邊並無任何 A 核苷酸以外的核苷酸，亦即，poly(A)序列在其 3'-端不會遮蔽或跟隨 A 以外的核苷酸。

【0492】 在本揭示文之內文中，術語「轉錄」係關於一種過程，其中 DNA 序列中的基因碼係轉錄成 RNA。隨後，該 RNA 可轉譯成胜肽或蛋白。

【0493】 「編碼」係指在一多核苷酸中特定核苷酸序列之固有性質，例如一基因，cDNA 或 mRNA，在生物過程作為合成其他聚合物和大分子的模板，其係具有一定義核苷酸(亦即，rRNA、tRNA 和 mRNA)或一定義胺基酸序列且該生物性質係從其所產生。因此，若對應一基因之 mRNA 的轉錄和轉譯在細胞或其他生物系統中製造蛋白，則該基因係編碼該蛋白。編碼股，其核苷酸序列係與 mRNA 序列相同且通常係以序列列表提供，以及非編碼股，用作為基因或 cDNA 轉錄之模板，二者可稱為編碼該蛋白或該基因或 cDNA 之其他產物。類似地，若 RNA 的轉譯在細胞或其他生物系統中產生一蛋白，則 RNA，例如 mRNA 係編碼該蛋白。

【0494】 RNA 可為裸露的或包覆的，例如調配於諸如蛋白及/或脂質顆粒的粒子中，例如脂質奈米粒子。

【0495】 如文中所用「內生性」係指任何來自或於生物體、細胞、組織或系統內部所產生的物質。

【0496】 如文中所用，術語「外生性」係指任何從生物體、細胞、組織或

系統外部所導入或所產生的物質。

【0497】 術語「表現」，如文中所用係定義為一特定核苷酸序列之轉錄及/或轉譯。

【0498】 Fc 區可在其 C-端具有一離胺酸。此離胺酸的來源為在人類中發現的天然生成序列，從其衍生這些 Fc 區。在重組抗體的細胞培養生產期間，此端點離胺酸可藉由內生性羧基胜肽酶的蛋白水解來裂解，產生具有相同序列但缺乏 C-端離胺酸之恆定區。就抗體的製造目的，可從序列中省略編碼該端點離胺酸的 DNA，從而產生無離胺酸之抗體。由編碼或不編碼端點離胺酸的核酸序列所產生的抗體在序列和功能上基本相同，因為端點離胺酸的處理程度通常很高，例如於使用 CHO-為基礎的生產系統中所產生的抗體(Dick, L.W. et al. Biotechnol. Bioeng. 2008；100：1132–1143)。因此，請了解，依照本發明蛋白，例如抗體，可在有或無編碼或具有端點離胺酸的情況下產生。

**本揭示文之方面和具體實例**

*與 EpCAM 和 CD137 結合的結合劑*

【0499】 在一第一方面，本揭示文係提供包括一與 EpCAM 結合的第一結合區和一與 CD137 結合的第二結合區之結合劑。.

【0500】 文中所揭示之結合劑基本上可為任何同型的抗體。同型之選擇典型地將由所欲的 Fc-媒介效應子功能來引導，例如 ADCC 引發，或要求缺乏 Fc-媒介的效應子功能之抗體(「惰性」抗體)。示例的同型有 IgG1、IgG2、IgG3 和 IgG4。可使用人類輕鏈恆定區、κ 或 λ。文中所述之抗體的效應子功能可藉由同型互換來改變，例如，各種治療用途之 IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgA、IgE 或 IgM 抗體。在一具體實例中，文中所述抗體之二條重鏈為 IgG1 同型，例如 IgG1，κ 的二條重鏈。視需要，重鏈可如文中他處所述在絞鏈及/或 CH3 區經修飾。

【0501】 較佳地，各抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)和一輕鏈可變區

(VL)，且其中該可變區各自係包括三個CDR序列，分別為CDR1、CDR2和CDR3，及四個框架序列，分別為 FR1、FR2、FR3 和 FR4。再者，較佳的，抗體係包括二個重鏈恆定區(CH)和二個輕鏈恆定區(CL)。

【0502】 在一具體實例中，此結合劑為一全長抗體，例如全長 IgG1 抗體。例如，在一具體實例中，此結合劑，例如雙特異性抗體，係包括二個各自包括一抗原結合區的半分子。

【0503】 許多不同形式的雙特異性抗體已為本項技術所知並如 Kontermann；Drug Discov Today，2015 Jul；20(7)：838-47和；MAbs，2012 Mar-Apr；4(2)：182-97 所綜述。所有這些型式都包含在本文中。雙特異性抗體根據本揭示文係不限於任何特定的雙特異性型式或其製造方法。

【0504】 可用於本揭示文之雙特異性抗體分子的實例包括(i)具有二臂包括不同抗原結合區之單一抗體；(ii)對二個不同表位具有特異性的單鏈抗體，例如，經由二個 scFvs 以串聯與額外的胜肽連接子連接；(iii)雙可變區抗體(DVD-Ig)，其中各輕鏈和重鏈含有二個可變區經由短胜肽鍵連串聯(Wu et al., Generation and Characterization of a Dual Variable Domain Immunoglobulin (DVD-Ig™) Molecule, In： Antibody Engineering, Springer Berlin Heidelberg (2010))；(iv)化學連接的雙特異性(Fab')2 片段；(v)串聯抗體(Tandab)，其為二個單鏈雙抗體融合產生四價雙特異性抗體，其對各標靶抗原具有二個結合位；(vi)彈性抗體(flexibody)，其為 scFvs 與雙抗體組合，產生一多價分子；(vii)所謂的「塢與鎖(dock and lock)」分子，以蛋白激酶 A 中的二聚化和對接結構域為基礎，當用於 Fab 時，可產生由二個相同Fab片段與一不同Fab片段相連結所組成的三價雙特異性結合蛋白；(viii)所謂的蠍子分子(Scorpion molecule)，其係包括，例如，二個 scFvs 與人類 Fab-臂二端融合；及(ix)雙抗體(diabody)。

【0505】 在一具體實例中，本文所述的結合劑為雙抗體或交叉抗體。在一具體實例中，此結合劑係經由受控的 Fab 臂交換所獲得的雙特異性抗體(如

WO2011131746 (Genmab)中所述)。

【0506】 不同類別的結合劑之實例包括，但不限於(i)具有互補 CH3 結構域用以強制異二聚化的類-IgG 分子；(ii)重組的類-IgG 雙靶向分子，其中分子的兩側各含有至少二種不同抗體的 Fab 片段或部分 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 Fab 片段融合；(iv)Fc 融合分子，其中單鏈 Fv 分子或穩定化的雙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 片段融合在一起，與重鏈恆定結構域、Fc 區或其部分融合，及(vi)以 ScFv 和雙抗體為基礎及重鏈抗體(例如，結構域抗體、奈米抗體)，其中不同的單鏈 Fv 分子或不同的雙抗體或不同的重鏈抗體(例如，結構域抗體、奈米抗體)係彼此融合或與融合重鏈恆定結構域、Fc 區或其部分的另外蛋白或載體分子相融合。

【0507】 具有互補 CH3 結構域分子的類-IgG 分子之實例包括，但不限於 Triomab/Quadroma 分子(Trion Pharma/Fresenius Biotech；Roche，WO2011069104)，所謂的旋鈕入孔洞(Knobs-into-Holes)分子(Genentech，WO9850431)、CrossMAbs (Roche, WO2011117329)和靜電匹配分子(Amgen，EP1870459 和 WO2009089004；Chugai, US201000155133；Oncomed, WO2010129304)、LUZ-Y 分子(Genentech，Wranik et al. J. Biol. Chem. 2012 , 287(52)： 43331-9, doi：10.1074/jbc.M112.397869. Epub 2012 Nov 1)，DIG-體和 PIG-體分子(Pharmabcine，WO2010134666，WO2014081202)，標準交換工程化結構域體(Strand Exchange Engineered Domain body)(SEEDbody))分子(EMD Serono，WO2007110205)，Biclonics 分子(Merus，WO2013157953)，FcΔAdp 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)、二價雙特異性抗體(WO2009080254)和 DuoBody®分子(Genmab，WO2011131746)。

【0508】 重組的類-IgG 雙靶向分子之實例包括，但不限於雙靶向(DT)-Ig

分子(WO2009058383)、二合一抗體(Genentech；Bostrom, et al 2009. Science 323, 1610- 1614.)、交聯 Mab(Karmanos Cancer Center)，mAb2 (F-Star, WO2008003116)、Zybody 分子(Zyngenia；LaFleur et al. MAbs. 2013 Mar-Apr；5(2)：208-18)、具有共同的輕鏈之方法(Crucell/Merus, US7,262,028)、κλ 抗體(NovImmune，WO2012023053)和 CovX 體(CovX/Pfizer；Doppalapudi, V.R., et al 2007. Bioorg. Med. Chem. Lett. 17,501–506.)。

【0509】IgG 融合分子的實例包括，但不限於雙可變結構域(DVD)-Ig 分子(Abbott，US7,612,181)、雙結構域雙頭抗體(Unilever；Sanofi Aventis，WO20100226923)、類-IgG 雙特異性分子(ImClone/Eli Lilly, Lewis et al. Nat Biotechnol. 2014 Feb；32(2)：191-8)，Ts2Ab(MedImmune/AZ；Dimasi et al. 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)和 TvAb 分子(Roche，WO2012025525，WO2012025530)。

【0510】Fc 融合分子之實例子包括，但不限於 ScFv/Fc 融合(Pearce 等人，Biochem Mol Biol Int. 1997 Sep；42(6)：1179-88)、SCORPION 分子(Emergent BioSolutions/Trubion， Blankenship JW, et al. AACR 100th Annual meeting 2009 (Abstract # 5465)；Zymogenetics/BMS, WO2010111625)，雙親和力重靶向技術(Dual Affinity Retargeting Technology)(Fc-DART)分子(MacroGenics，WO2008157379，WO2010080538)和雙(ScFv)2-Fab 分子(國家抗體醫學研究中心—中國)。

【0511】Fab 融合雙特異性抗體之例子包括，但不限於 F(ab)2 分子(Medarex/AMGEN；Deo et al J Immunol. 1998 Feb 15；160(4)：1677-86.)，雙作用或 Bis-Fab 分子(Genentech, Bostrom, et al 2009. Science 323, 1610–1614.)，塢和鎖(Dock-and-Lock)(DNL)分子(ImmunoMedics，WO2003074569，WO2005004809)，

二價雙特異性分子(Biotecnol, Schoonjans, J Immunol . 2000 Dec 15；165(12)：7050-7.)和 Fab-Fv 分子(UCB-Celltech, WO 2009040562 A1)。

【0512】以 ScFv、雙抗體-為基礎和結構域抗體之實例包括，但不限於雙特異性 T 細胞銜接(BiTE)分子(Micromet，WO2005061547)、串聯雙抗體分子(TandAb)(Affimed)Le Gall et al., Protein Eng Des Sel. 2004 Apr；17(4)：357-66.)，雙親和力重靶向技術(DART)分子(MacroGenics，WO2008157379，WO2010080538)，單鏈雙抗體分子(Lawrence, FEBS Lett. 1998 Apr 3；425(3)：479-84)，類-TCR 抗體(AIT, ReceptorLogics)，人類血清白蛋白 ScFv 融合物(Merrimack，WO2010059315)和 COMBODY 分子(Epigen Biotech, Zhu et al. Immunol Cell Biol. 2010 Aug；88(6)：667- 75.)，雙靶向奈米抗體(Ablynx，Hmila et al., FASEB J. 2010)和雙靶向僅重鏈結構域抗體。

【0513】在一方面，本揭示文之雙特異性抗體係包括一包含第一 CH3 區的第一 Fc 序列和一包含第二 CH3 區的第二 Fc 序列，其中第一和第二 CH3 區的序列為不同的並且使得該第一和第二 CH3 區之間的異二聚體相互作用強於該第一和第二 CH3 區的各同二聚體相互作用。這些相互作用及其如何達成之更多詳情係提供於 WO2011131746 和 WO2013060867(Genmab)中，其係以引用的方式併入。

【0514】如文中進一步描述，基於一同二聚體起始 EpCAM 抗體和一同二聚體起始 CD137 抗體其在 CH3 區中僅含有少量、保守、不對稱突變的基礎上，可使用一特定方法以高產率獲得穩定的雙特異性 EpCAMxCD137 抗體。不對稱突變係指該第一和第二 CH3 區的序列在不同位置含有胺基酸取代。

【0515】在一具體實例中，如文中所揭示之任一具體實例所定義的雙特異性抗體係包括一第一 CH3 區，其在由下列組成之群中選出的位置具有一胺基酸取代：在人類 IgGl 重鏈中的 366、368、370、399、405、407 和 409，以及一第二 CH3 區，其在由下列組成之群中選出的位置具有一胺基酸取代：人類 IgGl 重

鏈中的 366、368、370、399、405、407 和 409，且其中該第一和第二 CH3 區並非在相同的位置經取代。

【0516】在一具體實例中，如文中所揭示之任何具體實例中所定義的雙特異性抗體係包括含有不對稱突變的該第一和第二 CH3 區的序列，亦即二個 CH3 區中不同位置的突變，例如在其中一個 CH3 區中位置 405 的突變和在另一個 CH3 區中位置 409 的突變。在一具體實例中，位置 405 的突變為 F405L。在一具體實例中，位置 409 的突變為 K409R。

【0517】在一具體實例中，雙特異性抗體係包括第一重鏈和第二重鏈，其中該第一重鏈和第二重鏈各包括至少一絞鏈區、一 CH2 和一 CH3 區，其中(i)在人類 IgGl 中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈中為 L 而在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈中為 R，或(ii)在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈中為 R，而在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈中為 L。

【0518】傳統方法如融合瘤和化學接合法(Marvin and Zhu (2005)Acta Pharmacol Sin 26：649)可用於製備文中所述的雙特異性抗體。在宿主細胞中共表現由不同重鏈和輕鏈所組成的二種抗體，除了所欲的雙特異性抗體外，亦產生可能的抗體產物之混合物，然後可藉由，例如親和層析或類似方法將其分離。

【0519】亦可使用有利於在共表現不同抗體結構後形成功能性雙特異性產物之策略，例如 Lindhofer 等人所描述的方法(1995 J Immunol 155：219)。因為優先的物種限制性重鏈/輕鏈配對，產生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體蛋白。另一種促進異二聚體優於同二聚體形成的策略是「旋鈕入孔洞」策略，其中係在第一重鏈多肽上導入一突起及在第二個重鏈多肽中導入相應的空腔，使得突起可置入這二條重鏈界面處的空腔中，而促進異二聚體形成並阻礙同二聚體形成。「突起」係藉由以較大的側鏈置換來自第一個多肽界面的小胺基酸側鏈來構建。藉由以較小的側鏈置換較大的胺基酸側鏈，

在第二多肽的界面中創建了與突起大小相同或相似的互補「空腔」(美國專利5,731,168)。EP1870459 (Chugai)和 WO2009089004(Amgen)描述了在宿主細胞中共表現不同抗體結構域後有利於異二聚體形成的其他策略。在這些方法中，在二個CH3結構域中構成CH3-CH3界面的一或多個殘基係經帶電的胺基酸取代，使得同二聚體形成為靜電上不利的，而異二聚化為靜電上有利的。WO2007110205(Merck)描述了另外的策略，其中係利用 IgA 和 IgG CH3 結構域之間的差異來促進異二聚化。

【0520】 WO2008119353(Genmab)中描述了另外於活體外產生雙特異性抗體的方法，其中雙特異性抗體係藉由「Fab-臂」或「半分子」交換(交換重鏈和連附的輕鏈)在還原條件下於培養後，在二個單特異性 IgG4-或類-IgG4 抗體之間形成。所產生的產物為一具有二個可能包含不同序列之 Fab 臂的雙特異性抗體。

【0521】 用於製備本揭示文之雙特異性 EpCAMxCD137 抗體的較佳方法包括描述於 WO2011131746 和 WO2013060867(Genmab)中的方法，其係包括下列步驟：

a) 提供包括一 Fc 區的第一抗體，該 Fc 區係包括一第一 CH3 區；

b) 提供包括一第二 Fc 區的第二抗體，該 Fc 區係包括一第二 CH3 區，其中該第一抗體為 EpCAM 抗體且該第二抗體為 CD137 抗體，或反之亦然；

其中該第一和第二 CH3 區的序列為不同的並且使得該第一和第二 CH3 區之間的異二聚體相互作用強於該第一和第二 CH3 區的各同源二聚體相互作用；

c) 在還原條件下一起培養該第一抗體和該第二抗體；及

d) 得到該雙特異性 EpCAMxCD137 抗體。

【0522】 同樣地，係提供一製造根據本揭示文之抗體的方法，其係包括下列步驟：

a) 培養一產生第一抗體的宿主細胞，而該第一抗體係包括能與如文中所定義之

人類 EpCAM 結合的抗原結合區，並從培養物中純化該第一抗體；

b) 培養一產生第二抗體的宿主細胞，而該第二抗體係包括能與如文中所定義的人類 CD137 結合的抗原結合區，並從培養物中純化該第二抗體；

c) 在足以使絞鏈區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化的還原條件下一起培養該第一抗體和該第二抗體，及

d) 得到該雙特異性抗體。

【0523】 在本揭示文之一具體實例中，係在足以使絞鏈區中的半胱胺酸經歷雙硫鍵異構化的還原條件下一起培養該第一抗體和該第二抗體，其中在所生成的異二聚抗體中該第一抗體和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 下並無 Fab-臂交換發生。

【0524】 不受限於理論，在步驟 c)中，親代抗體絞鏈區中的重鏈雙硫鍵被還原及然後所生成的半胱胺酸能與另外的親代抗體分子(最初具有不同的特異性)的半胱胺酸殘基形成重鏈間雙硫鍵。在此方法的一具體實例中，步驟 c)中的還原條件包括添加還原劑，例如由下列組成之群中選出的還原劑：2-巰基乙胺(2-MEA)、二硫蘇糖醇(DTT)、二硫赤蘚糖醇(DTE)、麩胱甘肽、三(2-巰基)膦(TCEP)、L-半胱胺酸和 β-巰基-乙醇，較佳由下列組成之群中選出的還原劑：2-巰基乙胺、二硫蘇糖醇和三(2-庚基)膦。在另一具體實例中，步驟 c)係包括恢復條件，變成非還原性或較低還原性，例如藉由移除還原劑，例如藉由脫鹽。

【0525】 如上所述，在一具體實例中，同二聚體起始抗體之第一和第二 CH3 區的序列不同，並使得該第一和第二 CH3 區之間的異二聚體相互作用強於該第一和第二 CH3 區之各同二聚體相互作用。更多這些相互作用之詳情以及其如何可達成係提供於 WO2011131746 和 WO2013060867(Genmab)中，該文係以全文引用的方式併入。

【0526】 特言之，以分別結合 EpCAM 和 CD137 且在 CH3 區僅包含少數不對稱突變的二個同二聚體起始抗體為基礎，使用上述方法可以高產量獲得穩

定的雙特異性 EpCAMxCD137 抗體。不對稱突變係指該第一和第二 CH3 區的序列含有在不同位置的胺基酸取代。

【0527】 在某些具體實例中，根據本揭示文之結合劑除了抗原結合區之外亦包括由二條重鏈之 Fc 序列所組成的 Fc 區。

【0528】 第一和第二 Fc 序列各自可為任何同型，包括，但不限於 IgGl、IgG2、IgG3 和 IgG4，並可包括一或多個突變或修飾。在一具體實例中，各第一和第二 Fc 序列為 IgG1 同型或由其衍生的 Fc 序列，視需要具有一或多個突變或修飾。在一具體實例中，各第一和第二 Fc 序列為 IgG4 同型或由其衍生的 Fc 序列，視需要具有一或多個突變或修飾。在另外的具體實例，一 Fc 序列為 IgG1 同型而另一個則為 IgG4 同型，或為由此等個別同型所衍生的 Fc 序列，視需要具有一或多個突變或修飾。

【0529】 在一具體實例中，一個或二個 Fc 序列為效應子功能缺陷。例如，Fc 序列可為 IgG1 同型或非 IgG1 同型，例如 IgG2、IgG3 或 IgG4 之 Fc 序列，其已經突變，使得媒介效應子功能，例如 ADCC 的能力下降或甚至消除。

【0530】 術語「效應子功能」如文中所用係包括由免疫系統組份所媒介的任何功能，其造成，例如殺死罹病細胞如腫瘤細胞，或抑制腫瘤生長及/或抑制腫瘤發展，包括抑制腫瘤傳播和轉移。較佳地，在本揭示文之內中效應子功能為 T 細胞媒介的效應子功能。此等功能包括 ADCC、ADCP 或 CDC。

*抗體-依賴的細胞媒介細胞毒性(ADCC)*

【0531】 抗體依賴的細胞媒介細胞毒性(ADCC)為細胞毒性效應細胞經由非吞噬過程殺死抗體-包被的標靶細胞，其特徵為釋放細胞毒性顆粒之內容物或表現細胞-死亡誘發分子。ADCC 獨立於免疫補體系統，免疫補體系統亦解離標靶但不需要任何其他細胞。ADCC 係經由標靶結合抗體(屬於 IgG 或 IgA 或 IgE 類)與特定 Fc 受體(FcR)的相互作用而觸發，Fc 受體為呈現在效應細胞表面結合免疫球蛋白(Ig)Fc 區的糖蛋白。媒介 ADCC 的效應細胞包括天然殺手(NK)細胞、

單核細胞、巨噬細胞、嗜中性粒細胞、嗜酸性粒細胞和樹突細胞。ADCC 為一快速的效應子機制，其功效係依許多參數而定(標靶細胞表面抗原之密度和穩定性；抗體親和力和 FcR-結合親和力)。涉及人類 IgG1 的 ADCC 為治療性抗體最常用的 IgG 亞類，係高度依賴其 Fc 部分的糖基化特性和 Fcγ 受體的多態性。

*抗體依賴的細胞吞噬作用(ADCP)*

【0532】 ADCP 為許多抗體療法的重要作用機制之一。其係定義為一高度調節的過程，藉由該過程，抗體經由將其 Fc 結構域與吞噬細胞上的特定受體相連接並引發吞噬作用來消除結合的標靶。與 ADCC 不同，ADCP 可由單核細胞、巨噬細胞、嗜中性粒細胞和樹突狀細胞經由 FcγRIIa、FcγRI 和 FcγRIIIa 媒介，其中巨噬細胞上的 FcγRIIa(CD32a)代表主要路徑。

*補體依賴的細胞毒性(CDC)*

【0533】 CDC 為可由抗體引導之另外的殺死細胞方法。IgM 為用於補體活化之最有效的同型。IgG1 和 IgG3 二者在經由經典補體活化路徑引導 CDC 上亦非常有效。較佳地，在此級聯中，抗原-抗體複合物的形成導致在參與抗體分子諸如 IgG 分子之 $C_H2$ 結構域上緊鄰的多個 C1q 結合位點暴露(C1q 為補體 C1 的三個亞組份之一)。較佳地，這些暴露的 C1q 結合位點將先前低親和力的 C1q-IgG 相互作用轉化為高親和力之一，從而觸發涉及一系列其他補體蛋白的事件，並導致效應細胞趨化劑/活化劑 C3a 和 C5a 之蛋白水解釋放。較佳地，補體級聯以形成膜攻擊複合物終結，其在細胞膜中產生孔洞，促進水和溶質自由進出細胞。

【0534】 文中所述的抗體可包括 Fc 區中的修飾。當抗體包括此等修飾時，其可能變成惰性或非活化抗體。術語「惰性」或「非活化」如文中所用，係指至少不能結合任何 Fcγ 受體、引發 Fc 媒介的 FcR 交聯或引發經由單別抗體的二個 Fc 區之 FcR-媒介的標靶抗原交聯，或者不能結合 C1q。使用單特異性形式的抗體有利地檢測人源化或嵌合 EpCAM 或 CD137 抗體的 Fc 區之惰性。

【0535】 可構建數種變體用以使抗體的 Fc 區對與 Fcγ(γ)受體和 Clq 的相互

作用失活，用於治療性抗體開發。此等變體之實例係描述於本文中。

【0536】 因此，在文中所述的抗體之一具體實例中，該抗體係包括一第一和一第二重鏈，其中一或二條重鏈係經修飾，使得該抗體引發 Fc 媒介的效應子功能相對於除了包括未修飾的第一和第二重鏈外其為相同之抗體，程度較小。該 Fc 媒介的效應子功能可藉由與 Fcγ 受體結合、與 Clq 結合或引發 Fc 媒介的 FcR 交聯來測定。

【0537】 在另外的此具體實例中，重鏈和輕鏈恆定序列係經修飾，使得 Clq 與該抗體的結合相較與未修飾的抗體減少至少 70%、至少 80%、至少 90%，在 至少 95%，至少 97%，或 100%，其中 C1q 結合係藉由 ELISA 來測定。

【0538】 因此，Fc 區中在與 Clq 和 Fcγ 受體的相互作用中扮演主角的胺基酸可經修飾。

【0539】 可經修飾的胺基酸位置之實例，例如在 IgG1 同型抗體中，包括位置 L234、L235、G236、D265 和 P331。其組合，例如 L234F/L235E/D265A 或 L234F/L235E/G236R 可造成與人類 CD64、CD32、CD16 和 Clq 的結合極度下降。

【0540】 L234F 和 L235E 胺基酸取代可造成 Fc 區與 Fcγ 受體和 C1q 的相互作用被消除(Canfield et al., 1991, J. Exp. Med. (173)：1483-91；Duncan et al., 1988, Nature (332)：738-40)。因此，在一具體實例中，在對應 L234 和 L235 位置的胺基酸可分別為 F 和 E。D265A 或 G236R 胺基酸取代可降低與所有 Fcγ 受體的結合並防止 ADCC(Shields et al., 2001, J. Biol. Chem. (276)：6591-604；Wilkinson et al., 2021, PloS one (16(12)) e0260954)。因此，在一具體實例中，對應 D265 位置的胺基酸可為 A 或對應 G236 位置的胺基酸可為 R。

【0541】 在本揭示文之一具體實例中，在該第一和第二重鏈二者中，對應人類 IgGl 重鏈中位置 L234 和 L235 之位置的胺基酸分別為 F 和 E。

【0542】 在一具體實例中，在一或二條該第一和第二重鏈中，對應人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 D265 之位置的胺基酸分別為 F、E 和 A。

【0543】在一具體實例中，在一或二條該第一和第二重鏈中，對應人類IgGl重鏈中位置L234、L235和G236之位置的胺基酸分別為F、E和R。

【0544】L234F-L235E-D265A非活化突變(在文中亦稱為FEA或FEA形式)已顯示具有良好的安全特性和強烈抑制Fc-媒介的效應子功能之能力。然而，據觀察，就作為補體依賴的細胞毒性(CDC)之有效誘導劑的IgG1抗體，帶有FEA突變可能顯現一些殘留的CDC。再者，據觀察，相較於野生型IgG1 Fc區，具有FEA形式的重組表現抗體可能因其N-聚醣的額外處理而展現增加的糖基化異質性，且這些抗體亦顯示更容易因低pH條件而引發聚集。同時，當突變L234F、L235E和G236R(在文中亦稱為FER或FER形式)組合於IgG1抗體中時，此項造成一提升的惰性形式能避免潛在的殘留CDC活性，提供類似野生型糖基化並對低pH條件具有提高的耐受性。因此，FER形式為一種高度有利的非活化抗體形式，充分適合臨床開發和臨床使用。就雙特異性抗體，此FER惰性形式亦可就有關的惰性形式取代以異二聚體形式組合，例如，雙特異性抗體可由一條帶有惰性形式取代之鏈所組成，而另一條鏈可包括不同的惰性形式取代，例如FEA。因此，FER惰性模式充分適合，例如與現有已進行開發供臨床使用的候選抗體組合，而無需重新設計和重做所有需要的分析，從而允許利用諸如控制的Fab-臂交換等技術快速生成雙特異性抗體。

【0545】在一特佳的具體實例中，該第一重鏈和第二重鏈中對應人類IgGl重鏈中位置L234、L235和D265之位置的胺基酸分別為F、E和A，在該第一重鏈和第二重鏈中對應人類IgGl重鏈中位置L234、L235和G236之位置的胺基酸分別為F、E和R。

【0546】在另一特佳的具體實例中，此結合劑為一包括第一和第二重鏈的雙特異性抗體，其中根據第一重鏈和第二重鏈二者的EU編號在人類IgGl重鏈中對應位置L234和L235的位置分別為F和E，其中(i)根據第一重鏈的EU編號在人類IgGl重鏈中對應F405的位置為L而根據第二重鏈的EU編號在人類IgGl

重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，而根據第二重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0547】 在另一特佳的具體實例中，此結合劑為一包括第一和第二重鏈的雙特異性抗體，其中

(1) 根據第一重鏈和第二重鏈二者的EU編號在人類IgGl重鏈中對應位置L234、L235 和 D265 的位置分別為 F、E 和 A，

(2) 根據第一重鏈和第二條重鏈二者的EU編號在人類IgGl重鏈中對應位置L234、L235 和 G236 的位置分別為 F、E 和 R，或

(3) 根據其中一條第一重鏈和第二條重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置分別為 F、E 和 A，而根據另一條第一重鏈和第二條重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置分別為 F、E 和 R，

且其中(i)根據第一重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L 而根據第二重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，而根據第二重鏈的 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0548】 具有三個胺基酸取代 L234F、L235E 和 D265A 以及另外 K409R 或 F405L 突變之組合的抗體變體在文中分別用字尾「FEAR」或「FEAL」命名。

【0549】 具有三個胺基酸取代 L234F、L235E 和 G236R 以及另外 K409R 或 F405L 突變之組合的抗體變體在文中分別用字尾「FERR」或「FERL」命名。

【0550】 在一較佳的具體實例中，文中所述之雙特異性抗體係包括：

(i) 一衍生自 IgG1-EpCAM-FEAL 的半分子抗體和一衍生自 IgG1-CD137-FEAR 的半分子抗體，

(ii) 一衍生自 IgG1-EpCAM-FEAR 的半分子抗體和一衍生自

IgG1-CD137-FEAL 的半分子抗體，

(iii) 一衍生自 IgG1-EpCAM-FERL 的半分子抗體和一衍生自 IgG1-CD137-FEAR 的半分子抗體，或

(iv) 一衍生自 IgG1-EpCAM-FEAR 的半分子抗體和一衍生自 IgG1-CD137-FERL 的半分子抗體。

【0551】在另一具體實例中，文中所述的結合劑或雙特異性抗體係與一或多個治療基團，例如細胞因子、免疫抑制劑、免疫刺激分子及/或放射性同位素連接或結合。此等結合物在文中戲稱為「免疫結合物」或「藥物結合物」。包括一或多個細胞毒素的免疫接合物係稱為「免疫毒素」。

【0552】在一具體實例中，第一及/或第二 Fc 序列係與一藥物或前藥接合，或含有相同的受體基團。此等受體基團可為，例如非天然胺基酸。

【0553】在與 EpCAM 和 CD137 結合的結合劑之一具體實例中，EpCAM 為人類 EpCAM，特言之包括 SEQIDNO：59 中所列序列之人類 EpCAM。在與 EpCAM 和 CD137 結合的結合劑之一具體實例中，CD137 為人類 CD137，特言之包括 SEQIDNO：62 所示序列之人類 CD137。在一具體實例中，EpCAM 為人類 EpCAM 而 CD137 為人類 CD137。在一具體實例中，EpCAM 為包括 SEQIDNO：59 所示序列之人類 EpCAM，CD137 為包括 SEQIDNO：62 所示序列之人類 CD137。

【0554】在此結合劑的一具體實例中，

a) 與人類 EpCAM 結合的第一結合區係包括一包含 SEQ ID NO：1 之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含 SEQ ID NO：5 之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的輕鏈可變區(VL)；

及

b) 與人類 CD137 結合的第二結合區係包括一包含 SEQ ID NO：11 之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含 SEQ ID NO：15 之 CDR1、

CDR2 和 CDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0555】 在此結合劑的一具體實例中，

a) 與人類 EpCAM 結合的第一結合區係包括一包含分別如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含分別如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的輕鏈可變區(VL)；及

b) 與人類 CD137 結合的第二結合區包括一包含分別如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的重鏈可變區(VH)以及一包含分別如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之 CDR1、CDR2 和 CDR3 序列的輕鏈可變區(VL)。

【0556】 在此結合劑的一具體實例中，

a) 與人類 EpCAM 結合的第一結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包含與 SEQ ID NO：1 具有至少 90%，至少 95%，至少 97%，至少 99%或 100%序列相同性的胺基酸序列，以及一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包含與 SEQ ID NO：5 具有至少 90%，至少 95%，至少 97%，至少 99%或 100%序列相同性的胺基酸序列，及

b) 與人類 CD137 結合的第二結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包含與 SEQ ID NO：11 具有至少 90%，至少 95%，至少 97%，至少 99%或 100%序列相同性的胺基酸序列，以及一輕鏈可變區(VL)，而該 VL 係包含與 SEQ ID NO：15 具有至少 90%，至少 95%，至少 97%，至少 99%或 100%序列相同性的胺基酸序列。

【0557】 在此結合劑的一具體實例中，

a) 與人類 EpCAM 結合的第一結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列的重鏈可變區(VH)以及一包含如 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列的輕鏈可變區(VL)，及

b) 與人類 CD137 結合的第二結合區係包括一包含如 SEQ ID NO：11 所示之胺

基酸序列的重鏈可變區(VH)以及一包含如 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列的輕鏈可變區(VL)。

【0558】 此結合劑特言之可為抗體，例如多特異性抗體，例如雙特異性抗體。此外，此結合劑可為全長抗體或抗體片段之形式。

【0559】 更佳的此結合劑為人類抗體或人源化抗體。

【0560】 各可變區可包括三個互補決定區(CDR1、CDR2 和 CDR3)以及四個框架區(FR1、FR2、FR3 和 FR4)。

【0561】 互補決定區(CDR)和框架區(FR)從胺基-端到羧基-端可以下列順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【0562】 在一具體實例中，此結合劑係包括

i) 一包含一第一重鏈可變區(VH)(該第一結合區的 VH)和一第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 一包含一第二重鏈可變區(VH)(該第二結合區的 VH)和一第二重鏈恆定區(CH)之多肽。

【0563】 在一具體實例中，此結合劑係包括

i) 一包含一第一輕鏈可變區(VL)(該第一結合區的 VL)和一第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，及

ii) 一包含一第二輕鏈可變區(VL)(該第一結合區的 VL)和一第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0564】 在一具體實例中，此結合劑為包括一第一結合臂和一第二結合臂之抗體，其中該第一結合臂係包括

i) 一包含該第一重鏈可變區(VH)和該第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 一包含該第一輕鏈可變區(VL)和該第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

及該第二結合臂係包括

iii) 一包含該第二重鏈可變區(VH)和該第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 一包含該第二輕鏈可變區(VL)和該第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【0565】 在一具體實例中，此結合劑係包括 i)一包含該能與 EpCAM 結合之抗原結合區的第一重鏈和輕鏈，包含一第一重鏈恆定區的第一重鏈和包含一第一輕鏈恆定區的第一輕鏈；及 ii)一包含該能與 CD137 結合之抗原結合區的第二重鏈和輕鏈，包含一第二重鏈恆定區的第二重鏈和包含一第二輕鏈恆定區的第二輕鏈 。

【0566】 各第一和第二重鏈恆定區(CHs)可包括一或多個恆定重鏈 1(CHl)區、絞鏈區、恆定重鏈 2(CH2)區和恆定重鏈鏈 3(CH3)區，較佳地至少一絞鏈區、一 CH2 區和一 CH3 區。

【0567】 各第一和第二重鏈恆定區(CHs)可包括一 CH3 區，其中二個 CH3 區係包含不對稱突變。不對稱突變係指該第一和第二 CH3 區的序列在不相同的位置含有胺基酸取代。例如，其中一個該第一和第二 CH3 區根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應位置 405 的位置含有一突變而另一個該第一和第二 CH3 區根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應位置 409 的位置含有一突變。

【0568】 在該第一重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 中至少一個在對應由位置 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置之胺基酸可經取代，且在該第二重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 中至少一個在對應由位置 T366、L368、K370、D399、F405、Y407 和 K409 組成之群中選出的位置之胺基酸可經取代。在一特定的具體實例中，第一和第二重鏈並非在相同的位置經取代(亦即，第一和第二重鏈含有不對稱突變)。

【0569】 在此結合劑的一具體實例中，(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第

二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【0570】在一具體實例中，相較於包括相同第一和第二抗原結合區以及包含人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區之二個重鏈恆定區(CH)的另外抗體，該結合劑在較小程度上引發 Fc-媒介的效應子功能。

【0571】在一結合劑之特定的具體實例中，該第一和第二重鏈恆定區(CH)係經修飾，使得相較於除了包括未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)之外的相同抗體，該抗體引發 Fc-媒介的效應子功能的程度更小。特言之，該未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)各自或二者係包括，或由或基本上由 SEQ ID NO：47 中所示的胺基酸序列所組成。

【0572】該 Fc-媒介的效應子功能可藉由測量與 Fcγ 受體結合、與 Clq 結合或引發 Fc-媒介的 Fcγ 受體交聯來測定。特言之，該 Fc-媒介的效應子功能可藉由測量該結合劑與 C1q 的結合來測定。

【0573】結合劑的第一和第二重鏈恆定區係經修飾，使得相較於野生型抗體，Clq 與該抗體的結合減少，較佳地減少至少 70%、至少 80%、至少 90%、至少 95%，至少 97%，或 100%，其中 C1q 結合較佳地係藉由 ELISA 來測定。

【0574】在此結合劑的一具體實例中，在至少一個該第一和第二重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235、D265、N297、P331 和 G236 之位置中的一或多個胺基酸分別不為 L、L、D、N、P 和 G。

【0575】在此結合劑的一具體實例中，根據 EU 編號，在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈中分別可為 F 和 E。

【0576】特言之，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別可為 F、E 和 R，及/或根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A。在一具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在其中一個該第一和

第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在另一個該第一和第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A。在一具體實例中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別可為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A。

【0577】 在此結合劑的一具體實例中，根據第一和第二重鏈恆定區二者之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置分別為 F 和 E，其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0578】 在此結合劑的一具體實例中，根據第一和第二重鏈恆定區二者之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置分別為 F、E 和 A，及根據第一和第二重鏈恆定區二者之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，或根據其中一個第一和第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置分別為 F、E 和 A，及根據另一個第一和第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置分別為 F、E 和 R，其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【0579】 在一具體實例中，此結合劑係包括一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0580】 在一具體實例中，此結合劑係包括一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定

區。

【0581】在此結合劑的一具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區或一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。

【0582】在此結合劑的一具體實例中，該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區或一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0583】在此結合劑的一具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。在此結合劑的一具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區。在此結合劑的一具體實例中，該第一輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區，或該第一輕鏈恆定區為一拉姆達(lambda)(λ)輕鏈恆定區而該第二輕鏈恆定區為一卡帕(kappa)(κ)輕鏈恆定區。

【0584】在一具體實例中，此結合劑(特言之，抗體)為由 IgGl、IgG2、IgG3 和 IgG4 組成之群中選出的同型。特言之，此結合劑可為全長 IgG1 抗體。在較佳的具體實例中，此結合劑(特言之，抗體)為 IgG1m(f)同種異型的結合劑。

*與 EpCAM 和 CD137 結合之結合劑的用途*

【0585】文中所揭示的結合劑可用於治療腫瘤或癌症。在一具體實例中，該腫瘤或癌症為表現 EpCAM 之腫瘤或癌症。在一具體實例中，EpCAM 為人類 EpCAM，特言之包括 SEQ ID NO：59 所示之序列的人類 EpCAM。

【0586】根據本揭示文待治療的對象較佳地為人類對象。

【0587】在一較佳的具體實例中，待治療的腫瘤或癌症為實體腫瘤或癌症。該腫瘤或癌症可為轉移腫瘤或癌症。

【0588】較佳地，該腫瘤或癌症可由下列組成之群中選出：黑色素瘤、卵巢癌、肺癌(例如，非小細胞肺癌(NSCLC))、大腸直腸癌、頭頸癌、胃癌、乳腺癌 癌症、腎癌、泌尿上皮癌、膀胱癌、食道癌、胰腺癌、肝癌、胸腺瘤和胸腺

癌、腦癌、神經膠質瘤、腎上腺皮質癌、甲狀腺癌、其他皮膚癌、肉瘤、多發性骨髓瘤、白血病、淋巴瘤、骨髓增生不良症候群、子宮內膜癌、前列腺癌、陰莖癌、子宮頸癌、何杰金淋巴瘤、非何杰金淋巴瘤、默克細胞癌(Merkel cell carcinoma)和間皮瘤。更佳地，該腫瘤或癌症係由下列組成之群中選出：黑色素瘤、肺癌、大腸直腸癌、胰腺癌和頭頸癌。

【0589】在一特定的具體實例中，該腫瘤或癌症係由下列組成之群中選出：肺癌(例如非小細胞肺癌(NSCLC)、泌尿上皮癌(膀胱癌、輸尿管癌、尿道癌或腎盂癌)、子宮內膜癌(EC)、乳癌(例如三陰性乳癌(TNBC))、頭頸之鱗狀細胞癌(SCCHN)(例如口腔癌、咽癌或喉癌)和子宮頸癌。

【0590】在某些具體實例中，在各劑量及/或各治療週期中，所投予的結合劑之量為

約 0.3-5 mg/kg 體重或總計約 25-400 mg；及/或

約 2.1 x $10^{-9}$ – 3.4 x $10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 1.7 x $10^{-7}$ – 2.7 x $10^{-6}$ mol。

【0591】根據這些具體實例，以施用結合劑的對象之中位數體重 80 kg 為基礎，以 mg/kg 定義的劑量可轉換為平穩劑量(flat dose)，反之亦然。

【0592】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約 0.3-4.0 mg/kg 體重或總計約 25-320 mg；及/或

約 2.1 x $10^{-9}$ – 2.7 x $10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 1.7 x $10^{-7}$ – 2.2 x $10^{-6}$ mol。

【0593】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約 0.38-4.0 mg/kg 體重或總計約 30-320 mg；及/或

約 2.6 x $10^{-9}$ – 2.7 x $10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 2.4 x $10^{-7}$ – 2.2 x $10^{-6}$ mol。

【0594】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約 0.5-3.3 mg/kg 體重或總計約 40-260 mg；及/或

約 3.4 x $10^{-9}$ – 2.2 x $10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 2.7 x $10^{-7}$ – 1.8 x $10^{-6}$ mol。

【0595】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

0.6-2.5 mg/kg 體重或總計約 50-200 mg；及/或

約 $4.3 \times 10^{-9}$ – $1.7 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 $3.4 \times 10^{-7}$ – $1.4 \times 10^{-6}$ mol。

【0596】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

0.8-1.8 mg/kg 體重或總計約 60-140 mg；及/或

約 $5.1 \times 10^{-9}$ – $1.2 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 $4.1 \times 10^{-7}$ – $9.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0597】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

0.9-1.8 mg/kg 體重或總計約 70-140 mg；及/或

約 $6.0 \times 10^{-9}$ – $1.2 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 $4.8 \times 10^{-7}$ – $9.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0598】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

1-1.5 mg/kg 體重或總計約 80-120 mg；及/或

約 $6.8 \times 10^{-9}$ – $1.0 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 $5.5 \times 10^{-7}$ – $8.2 \times 10^{-7}$ mol。

【0599】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

1.1-1.4 mg/kg 體重或總計約 90-110 mg；及/或

約 $7.7 \times 10^{-9}$ – $9.4 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計約 $6.1 \times 10^{-7}$ – $7.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0600】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

1.2-1.3 mg/kg 體重或總計約 95-105 mg；及/或

約 $6.8 \times 10^{-9}$ - $8.9 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計約 $6.5 \times 10^{-7}$ – $7.2 \times 10^{-7}$ mol。

【0601】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

0,8-1.5 mg/kg 體重或總計約 65-120 mg；及/或

約 $5.5 \times 10^{-9}$ – $1.0 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計約 $4.4 \times 10^{-7}$ – $8.2 \times 10^{-7}$ mol。

【0602】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為約

0.9-1.3 mg/kg 體重或總計約 70-100 mg；及/或

約 $6.0 \times 10^{-9}$ – $8.5 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計約 $4.8 \times 10^{-7}$ – $6.8 \times 10^{-7}$ mol。

約 0.9-1.1 mg/kg 體重或總計約 75-90 mg；及/或

約 $6.4 \times 10^{-9}$ – $7.7 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計約 $5.1 \times 10^{-7}$ – $6.1 \times 10^{-7}$ mol。

【0603】另外，在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 0.3-4.0 mg/kg 體重或總計 25-320 mg；及/或

$2.1 \times 10^{-9} – 2.7 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $1.7 \times 10^{-7} – 2.2 \times 10^{-6}$ mol。

【0604】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 0.38-4.0 mg/kg 體重或總計 30-320 mg；及/或

$2.6 \times 10^{-9} – 2.7 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $2.4 \times 10^{-7} – 2.2 \times 10^{-6}$ mol。

【0605】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 0.5-3.3 mg/kg 體重或總計 40-260 mg；及/或

$3.4 \times 10^{-9} – 2.2 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $2.7 \times 10^{-7} – 1.8 \times 10^{-6}$ mol。

【0606】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 0.6-2.5 mg/kg 體重或總計 50-200 mg；及/或

$4.3 \times 10^{-9} – 1.7 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $3.4 \times 10^{-7} – 1.4 \times 10^{-6}$ mol。

【0607】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 0.8-1.8 mg/kg 體重或總計 60-140 mg；及/或

$5.1 \times 10^{-9} – 1.2 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $4.1 \times 10^{-7} – 9.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0608】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 0.9-1.8 mg/kg 體重或總計 70-140 mg；及/或

$6.0 \times 10^{-9} – 1.2 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $4.8 \times 10^{-7} – 9.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0609】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 1-1.5 mg/kg 體重或總計 80-120 mg；及/或

$6.8 \times 10^{-9} – 1.0 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $5.5 \times 10^{-7} – 8.2 \times 10^{-7}$ mol。

【0610】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為 1.1-1.4 mg/kg 體重或總計 90-110 mg；及/或

$7.7 \times 10^{-9} – 9.4 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計 $6.1 \times 10^{-7} – 7.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0611】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為

1.2-1.3 mg/kg 體重或總計 95-105 mg；及/或

$6.8 \times 10^{-9}$ - $8.9 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計 $6.5 \times 10^{-7}$ – $7.2 \times 10^{-7}$ mol。

【0612】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為

0,8-1.5 mg/kg 體重或總計 65-120 mg；及/或

$5.5 \times 10^{-9}$ – $1.0 \times 10^{-8}$ mol/kg 體重或總計 $4.4 \times 10^{-7}$ – $8.2 \times 10^{-7}$ mol。

【0613】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為

0.9-1.3 mg/kg 體重或總計 70-100 mg；及/或

$6.0 \times 10^{-9}$ – $8.5 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計 $4.8 \times 10^{-7}$ – $6.8 \times 10^{-7}$ mol。

【0614】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量特言之可為

0.9-1.1 mg/kg 體重或總計 75-90 mg；及/或

$6.4 \times 10^{-9}$ – $7.7 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計 $5.1 \times 10^{-7}$ – $6.1 \times 10^{-7}$ mol。

【0615】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量可為

約 1.1 mg/kg 體重或總計約 80 mg；及/或

約 $6.8 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計約 $5.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0616】在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量為

1.1 mg/kg 體重或總計 80 mg；及/或

$6.8 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計 $5.5 \times 10^{-7}$ mol。

【0617】目前較佳的在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量為

約 1.25 mg/kg 體重或總計約 100 mg；及/或

約 $8.5 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計約 $6.8 \times 10^{-7}$ mol。

【0618】同樣較佳的在各劑量及/或各治療週期中所投予的結合劑之量為

1.25 mg/kg 體重或總計 100 mg；及/或

$8.5 \times 10^{-9}$ mol/kg 體重或總計 $6.8 \times 10^{-7}$ mol。

【0619】結合劑可以本項技術已知的任何方式和任何路徑來給藥。在一較佳的具體實例中，此結合劑係以全身性給藥，例如非經腸，特言之靜脈內。

【0620】結合劑可以如文中所述之任何適合的藥物組成物形式來給藥。在一較佳的具體實例中，此結合劑以輸注的形式給藥。

【0621】此結合劑可藉由使用靜脈內(IV)輸注來給藥，例如藉由 30 分鐘期間內的靜脈輸注，例如 60 分鐘期間內的靜脈輸注，例如藉由使用 30 至 120 分鐘期間內的靜脈輸注。較佳地，此結合劑係藉由使用 30 分鐘期間內的靜脈內(IV)輸注來給藥。

【0622】文中所述之結合劑可以本身或編碼此結合劑之核酸形式來給藥。

【0623】結合劑或編碼結合劑的核酸可以任何適合的形式給藥(例如，裸露的方式或以包括結合劑或核酸的適合顆粒之形式包裝)。然而，較佳的結合劑或核酸係以文中所述之任何適合的醫藥組成物形式來給藥。

【0624】結合劑可與一或多種另外的治療劑共投予。在某些具體實例中，此一或多種另外的治療劑係包括一或多種化學治療劑，特言之，該等通常用於治療如文中所述的腫瘤或癌症之化學治療劑。例如，此一或多種化療劑係包括鉑為基礎的化合物(例如，順鉑(cisplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)和卡鉑(carboplatin))、紫杉烷(taxane)為基礎的化合物(例如，太平洋紫杉醇(paclitaxel)和奈米白蛋白結合型太平紫杉醇(nab-paclitaxel))、核苷類似物(例如，5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)和吉西他濱(gemcitabine))及其組合(例如，順鉑/卡鉑 + 5-氟尿嘧啶或奈米白蛋白結合型太平洋紫杉醇+吉西他濱)。

【0625】組成物或醫藥組成物可與載劑、賦形劑及/或稀釋劑以及任何其他適用於醫藥組成物的組份調配，包括已知的佐劑，依照習知技術例如該等揭示於 Remington：The Science and Practice of Pharmacy，第 19 版，Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995。醫藥上可接受的載劑或稀釋劑以及任何已知的佐劑和賦形劑應適用於結合劑及/或核酸及/或，若存在，一或多種另外的治療劑和選擇的給藥模式。以對所選化合物或醫藥組成物之所欲的生物學特性無顯著

負面影響為基礎來確定載劑和醫藥組成物的其他組份的適性。

【0626】 組成物，特言之醫藥組成物，可包括稀釋劑、填充劑、鹽類、緩衝劑、清潔劑(例如，非離子清潔劑，例如 Tween-20 或 Tween-80)、安定劑(例如，無糖或蛋白的胺基酸)、防腐劑、增溶劑及/或其他適用於包含在醫藥組成物內的物質。

【0627】 本揭示文之醫藥組成物可包括一或多種醫藥上可接受的載劑、賦形劑及/或稀釋劑。用於治療用途的醫藥上可接受載劑、賦形劑或稀釋劑已為醫藥技術所熟知的且係描述於例如 Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R Gennaro edit. 1985)中。

【0628】 醫藥載劑、賦形劑或稀釋劑可就有關希望的給藥路徑和標準醫藥施行來選擇。

【0629】 術語「載劑」係指可為天然、合成、有機之組份，其中係與活性成份組合以便於促進、提升或能夠投予該醫藥組成物。載劑如文中所用可為一或多種適合投予一對象之相容的固體或液體填充劑、稀釋劑或包膠物質。適合的載劑包括，不限於無菌水、林格氏液、乳酸林格氏液、無菌氯化鈉溶液、等張食鹽水、聚二醇類、氫化萘及，特言之，生物相容的交酯聚合物、交酯/乙醇酸交酯共聚物或聚氧乙烯/聚氧-丙烯共聚物。在一具體實例

【0630】 中，本揭示文之醫藥組成物係包括等張食鹽水。

【0631】 可用於(醫藥)組成物之適合的水性和非水性載劑的實例包括水、食鹽水、磷酸鹽緩衝食鹽水、乙醇、葡萄糖、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇及諸如此類)及其適合的合物，植物油，例如橄欖油、玉米油、花生油、棉籽油和芝麻油，羧甲基纖維素膠體溶液，黃耆膠和可注射的有機酯類，例如油酸乙酯及/或各種緩衝劑。其他載劑已為醫藥技術所熟知。

【0632】 藥學上可接受的載劑包括無菌水溶液或分散液和用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。此等用於醫藥活性物質的媒劑和試劑已

為本項技術所知。除非任何習知的媒劑或試劑與活性化合物不相容，否則考慮將其用於(醫藥)組成物中。

【0633】 術語「賦形劑」如文中所用係指可存在本揭示文之醫藥組成物中，但並非活性成份之物質。賦形劑之實例，包括(不限於)載劑、結著劑、稀釋劑、潤滑劑、增稠劑、界面活性劑、防腐劑、安定劑、乳化劑、緩衝劑、調味劑或色劑。

【0634】 術語「稀釋劑」係關於稀釋及/或降黏劑。再者，術語「稀釋劑」係包括任何一或多種流體、液體或固體懸浮液及/或混合媒劑。適合的稀釋劑之實例包括乙醇、甘油和水。

【0635】 適合用於本揭示文之醫藥組成物的防腐劑包括，不限於，苯扎氯銨(benzalkonium chloride)、氯丁醇(chlorobutanol)、對羥基苯甲酸酯(paraben)和硫柳汞(thimerosal)。

【0636】 (醫藥)組成物亦可包括醫藥上可接受的抗氧化劑，例如(1)水溶性抗氧化劑，例如抗壞血酸、半胱胺酸鹽酸鹽、亞硫酸氫鈉、焦亞硫酸鈉、亞硫酸鈉及諸如此類；(2)油溶性抗氧化劑，如棕櫚酸抗壞血酸酯、丁基羥基茴香醚(BHA)、丁基羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、丙基沒食子酸酯、α-生育酚及諸如此類；以及(3)金屬螯合劑，如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸及諸如此類。

【0637】 (醫藥)組成物亦可在組成物中包括等張劑，例如糖、多醇，例如甘露醇、山梨糖醇、甘油或氯化鈉。

【0638】 (醫藥)組成物亦可含有一或多種適用於所選給藥路徑的佐劑，例如防腐劑、潤濕劑、乳化劑、分散劑、防腐劑或緩衝劑，其可提高組成物的保存期限或有效性。組成物如文中所用可以保護化合物免於快速釋放的載劑來製備，例如控制釋放調配物，包括植入物、經皮貼布和微膠化遞送系統。此等載劑可包括明膠、單硬脂酸甘油酯、二硬脂酸甘油酯、生物可降解的、生物相容

的聚合物例如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯和聚乳酸單獨或與蠟共同，或其他本項技術熟知的物質。製備此等調配物的方法一般已為熟習本項技術者所知，參見，例如 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

【0639】「醫藥上可接受鹽類」包括例如酸加成鹽，其可例如藉由使用醫藥上可接受的酸如鹽酸、硫酸、延胡索酸、馬來酸、琥珀酸、乙酸、苯甲酸、檸檬酸、酒石酸、碳酸或磷酸來形成。再者，適合的醫藥上可接受鹽可包括鹼金屬鹽類(例如，鈉鹽或鉀鹽)；鹼土金屬鹽類(例如，鈣鹽或鎂鹽)；銨(NH4+)；以及與適合的有機配體所形成的鹽類(例如，四級銨鹽以及使用反陰離子所形成的胺陽離子，例如鹵化物、氫氧化物、羧酸鹽、硫酸鹽、磷酸鹽、硝酸鹽、烷基磺酸鹽和芳基磺酸鹽)。醫藥上可接受鹽的說明性實例包括，但不限於乙酸鹽、己二酸鹽、藻酸鹽、精胺酸鹽、抗壞血酸鹽、天門冬胺酸鹽、苯磺酸鹽、苯甲酸鹽、碳酸氫鹽、硫酸氫鹽、酒石酸氫鹽、硼酸鹽、溴化物、丁酸鹽、依地酸鈣、樟腦酸鹽、樟腦磺酸鹽、甘草酸鹽、碳酸鹽、氯化物、檸檬酸鹽、克拉維酸鹽、環戊烷丙酸鹽、二葡萄糖酸鹽、二鹽酸鹽、十二烷基硫酸鹽、乙二胺四乙酸、乙二磺酸鹽、乙磺酸鹽、乙磺酸鹽、乙磺酸鹽、甲酸鹽、延胡索酸鹽、半乳糖酸鹽、半乳糖醛酸鹽、葡庚糖酸鹽、葡萄糖庚酸鹽、葡萄糖酸鹽、麩胺酸鹽、甘油磷酸鹽、甘胺酸胺基苯胂酸鹽(glycolylarsanilate)、半硫酸鹽、庚酸鹽、己酸鹽、己基間苯二酚酸鹽、氫巴胺(hydrabamine)、氫溴酸鹽、鹽酸鹽、氫碘酸鹽、2-羥基-乙磺酸鹽、羥基萘甲酸鹽、碘化物、異丁酸鹽、異硫磺酸鹽、乳酸鹽、乳糖酸鹽、月桂酸鹽、十二烷基硫酸鹽、蘋果酸鹽、馬來酸鹽、丙二酸鹽、扁桃酸鹽、甲磺酸鹽、甲磺酸鹽 、甲基硫酸鹽、黏酸鹽、2-萘磺酸鹽、萘磺酸鹽、菸酸鹽、硝酸鹽、N-甲基葡萄糖胺銨鹽、油酸鹽、草酸鹽、帕莫酸延(pamoate)(恩波酸鹽(embonate))、棕櫚酸鹽、泛酸鹽、果膠酸鹽、過硫酸鹽、3-苯基丙酸鹽、磷酸鹽/二磷酸鹽、鄰苯二甲酸鹽、苦味酸鹽、新戊酸鹽、聚半乳

糖醛酸鹽、丙酸鹽、水楊酸鹽、硬脂酸鹽、硫酸鹽、辛二酸鹽、琥珀酸鹽、單寧酸鹽、酒石酸鹽、茶氯酸鹽(teoclate)、甲苯磺酸鹽、三硫碘化物、十一酸鹽、戊酸鹽及諸如此類(參見，例如，S. M. Berge et al., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci., 66, pp. 1-19 (1977))。非醫藥上可接受之鹽類可用於製備醫藥上可接受鹽並包括在本揭示文中。

【0640】在一具體實例中，文中所使用的結合劑可經調配以確保活體內適當分佈。用於非經腸給藥的醫藥上可接受載劑包括無菌水溶液或分散液和用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。此等媒劑和試劑用於醫藥活性物質的用途已為本項技術所。除非任何習知媒劑或試劑與活性化合物不相容，否則考慮將其用於組成物中。其他活性或治療化合物亦可併入組成物中。

【0641】用於注射的醫藥組成物典型地必須為無菌的且在製造和儲存條件下為穩定的。該組成物可調配成溶液、微乳液、脂質體或其他適合高藥物濃度的有序結構。載劑可為水性或非水性溶劑或分散媒劑，包含例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇、聚乙二醇及諸如此類)和其合適的混合物、植物油，例如橄欖油和可注射的有機酯類，例如油酸乙酯。適當的流動性可，例如藉由使用諸如卵磷脂的塗層，在分散液的情況下藉由維持所需的粒度以及藉由使用界面活性劑來維持。在許多情況下，較佳的係在組成物中包含等張劑，例如糖、多元醇如甘油、甘露醇、山梨糖醇或氯化鈉。可藉由在組成物中包含延遲吸收的試劑，例如單硬脂酸鹽和明膠，來延長可注射組成物的吸收。無菌可注射溶液可藉由將所需量之活性化合物與一成份或成份之組合，例如，如上所述併入一適當的溶劑中，若需要，接著滅菌微過濾來製備。一般而言，分散液係藉由將活性化合物併入一含有基本分散媒劑和所需的其他成份，例如來自該等上文所列舉的成份之無菌媒劑中所製備。在用於製備無菌注射溶液之無菌粉末的情況下，製備方法之實例為真空乾燥和冷凍乾燥(凍乾)，產生活性成份的粉末加上任何來自其先前無菌過濾溶液之額外所需成份。

【0642】無菌可注射溶液可藉由將所需量之活性化合物與一如上所列舉之成份或成份之組合併入一適當的溶劑中，若需要，接著滅菌微過濾來製備。一般而言，分散液係藉由將活性化合物併入一含有基本分散媒劑和來自該等如上所列舉之需要的其他成份之無菌媒劑中所製備。在用於製備無菌注射溶液之無菌粉末的情況下，製備方法之實例為真空乾燥和冷凍乾燥(凍乾)，產生活性成份的粉末加上任何來自其先前無菌過濾溶液之額外所需成份。

【0643】在特定的具體實例中，結合劑係調配於包括組胺酸、蔗糖和聚山梨醇酯-80 並具有約 5 至約 6，例如 5 至 6 之 pH 的組成物或調配物中。特言之，結合劑可在包括約 20 mM 組胺酸、約 250 mM 蔗糖、約 0.02%聚山梨醇酯-80 和具有約 5.5 之 pH 的組成物或調配物中，例如包括 20 mM 組胺酸、250 mM 蔗糖、0.02%聚山梨醇酯-80 和 pH 值為 5.5 的組成物或調配物。調配物在特定的具體實例中可包括約 10 至約 30 mg 結合劑/mL，例如 10-30 mg 結合劑/mL，特言之約 20 mg 結合劑/mL，例如 20 mg 結合劑/mL。

【0644】結合劑可以如上所定義的組成物來提供及然後可在給藥前以 0.9% NaCl(食鹽水)稀釋。

【0645】根據本揭示文之醫藥組成物一般係以一「醫藥上有效量」及「醫藥上可接受的製備物」來施用。

【0646】術語「醫藥上可接受」係指不會與醫藥組成物的活性成份之作用交互作用的無毒物質。

【0647】文中參照的文件和研究的引用並非意在承認任何前述內容是相關的先前技術。這些文件內容的所有陳述係以申請人可獲得的資訊為基礎，並不構成對這些文件內容正確性的任何承認。

【0648】呈現下列說明係使熟習本項技術之一般技術者能製作和使用不同的具體實例。僅提供特定的裝置、技術和施用之說明作為實例。文中所述之實例的各種修飾對於熟習本項技術之一般技術者為顯而易見的，且在不悖離各

種具體實例的精神和範圍下，文中所定義的通則可適用於其他實例和應用。因此，該等各種實例不希望受限於文中所描述和顯示的實例，而是應符合與專利申請項一致的範圍。

## 實例

### 實例 1：藉由 2-MEA-引發的 Fab-臂交換，產生 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體

【0649】在實例中係使用下列抗體：

*EpCAM 抗體*

【0650】UBS-54 的 VH 和 VL 序列已揭示於專利號 EP 1479696A1(Crucell Holland BV)中，且以這些序列為基礎的抗體在文中稱為「IgG1-EpCAM-UBS-54」。A37 的 VH 和 VL 序列已揭示於專利號 EP 1479696A1(Crucell Holland BV)中，以這些序列為基礎的抗體在文中稱為「IgG1-EpCAM-A37」。C52 的 VH 和 VL 序列已揭示於 EP 1479696A1(CrucellHollandBV)中，以這些序列為基礎的抗體在文中稱為「IgG1-EpCAM-C52」。323/A3 的整條 κ 輕鏈和重鏈序列已揭示於專利號 US 7,648,703B2(GlaxoSmithKline LLC)中，且以 323/A3 之 VH 和 VL 序列為基礎的的抗體在文中稱為「IgG1-EpCAM-323-A3」。

*4-1BB 抗體*

【0651】CD137 抗體選殖株 005，如 WO2018/011421(Genmab A/S；BioNTech AG)之實例 1 和表 1 中所述。CD137 抗體選殖株 005 在文中稱為「IgG1-CD137-005」。

【0652】CD137 抗體選殖株 009，如 WO2018/011421(Genmab A/S；BioNTech AG)之實例 1 和表 1 中所述。CD137 抗體選殖株 009 在文中稱為「IgG1-CD137-009」。

【0653】CD137-009 人源化抗體(HC7 和 LC2)，如 WO2018/011421(Genmab A/S；BioNTech AG)之實例 7 和表 1 中所述。名稱 4-1BB-009-HC7LC2 在文中稱為「IgG1-CD137-009-HC7LC2」。

*抗體表現*

【0654】 在有或無 Fc 結構域中 Fc-靜默及/或 DuoBody®技術胺基酸取代下(參見下文)，將抗體序列選殖到 pcDNA3.3 表現載體(Invitrogen，美國)中並表現為 IgG1，κ或 IgG1，λ，。所有抗體均在無血清條件下使用 ExpiFisher Scientific 293(Thermo Fisher Scientific；型號 A14525)在 Expi293FTM 細胞中(Thermo Fisher Scientific，美國；型號 A14527)藉由共轉染相關重鏈和輕鏈表現載體所產生，基本上係如製造商所述。

*產生雙特異性抗體*

【0655】 雙特異性抗體係使用 DuoBody®平台技術在活體外產生，亦即，如 WO2011147986、WO2011131746 和 WO2013060867(Genmab)，Labrijn et al., PNAS 2013, 110：5145-50 和 Gramer et al., MAbs 2013, 5： 962- 973 中所述之 2-MEA 引發的控制 Fab-臂交換(cFAE)。為了能藉由此法產生雙特異性抗體，係產生在 CH3 結構域中攜帶一單一突變的 IgG1 分子：在一親代 IgG1 抗體中為 F405L 突變，而在另一親代 IgG1 抗體中為 K409R 突變。除了這些突變之外，親代 IgG1 抗體亦包括產生無法與 IgG Fc 受體(Fcγ 受體)及/或補體因子，例如 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。

【0656】 Fc-靜默和 DuoBody®技術突變之組合係指定如下：

L234F、L235E、D265A 和 F405L：FEAL

L234F、L235E、D265A 和 K409R：FEAR

L234F、L235E、G236R 和 F405L：FERL

【0657】 小鼠雙特異性抗體係於體外藉由 2-MEA 引發的控制 Fab-臂交換(cFAE)產生，如 Labrijn et al., Sci Rep 2017, 7：2476 中所述。為了能藉由此法產生雙特異性抗體，係產生在 CH3 結構域中攜帶雙重匹配點突變之小鼠 IgG2a 分子(IgG2amm)：在一親代 IgG2amm 抗體中為 F405L/R411T (LT)突變，而在另一

親代 IgG2amm 抗體中為 T370K/K409R (KR) 突變。除了這些突變之外，親代 IgG2amm 抗體係包括產生無法與 IgG Fc 受體(Fcγ 受體)以及/或補體因子，例如 C1q：L234A、L235A 相互作用的 Fc 結構域之取代，如 Labrijn et al., Sci Rep 2017, 7：2476 所述 。

【0658】 就小鼠的雙特異性抗體，靜默和 cFAE 突變之組合係指定如下：

L234A、L235A、F405L/R411T： AALT

L234A、L235A、T370K/K409R： AAKR

【0659】 親代抗體的重鏈(HC)和輕鏈(LC)序列係如下列 SEQ ID NO 所示：

| | |
|---|---|
| IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR | SEQ ID NO：25 (HC)和 SEQ ID NO：26 (LC). |
| IgG1-EpCAM-A37-FEAR | SEQ ID NO：29 (HC)和 SEQ ID NO：10 (LC). |
| IgG1-EpCAM-A37-FERL | SEQ ID NO：9 (HC)和 SEQ ID NO：10 (LC). |
| IgG1-EpCAM-C52-FEAR | SEQ ID NO：27 (HC)和 SEQ ID NO：28 (LC). |
| IgG1-EpCAM-323-A3 | SEQ ID NO：24 (HC)和 SEQ ID NO：22 (LC). |
| IgG1-EpCAM-323-A3-FEAL | SEQ ID NO：21 (HC)和 SEQ ID NO：22 (LC). |
| IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR | SEQ ID NO：23 (HC)和 SEQ ID NO：22 (LC). |
| IgG1-CD137-005-FEAR | SEQ ID NO：33 (HC)和 SEQ ID NO：34 (LC). |
| IgG1-CD137-009-FEAR | SEQ ID NO：31 (HC)和 SEQ ID NO：32 (LC). |
| IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | EQ ID NO： 19 (HC)和 SEQ ID NO： 20 (LC). |
| IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL | SEQ ID NO：30 (HC)和 SEQ ID NO：20 (LC). |
| IgG2amm-EpCAM-323-A3-AAKR | SEQ ID NO：39 (HC)和 SEQ ID NO：40 (LC). |
| IgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT | SEQ ID NO：41 (HC)和 SEQ ID NO：40 (LC). |
| IgG2amm-m4-1BB-3H3-AAKR | SEQ ID NO：42 (HC)和 SEQ ID NO：43 (LC). |

【0660】 就產生雙特異性抗體，係將二種親代抗體以等莫耳比率混合於 PBS 緩衝液中(磷酸鹽緩衝食鹽水；8.7 mM $HPO4^{2-}$、1.8 mM $H2PO^{4-}$、163.9 mM

Na+、140.3 mM Cl-、pH 7.4)。添加 2-巯基乙胺-HCl(2-MEA)至最終濃度 75 mM，並將反應混合物於 31°C 培養 5h。根據製造商的方法，使用 10 kDa 分子量截留 Slide-A-Lyzer 濾心(Thermo Fisher Scientific)藉由透析到 PBS 緩衝液中移除 2-MEA。將樣品儲存於 4°C 至隔夜，以便使雙硫鍵再氧化並形成完整的雙特異性抗體。如 Gramer 等人所述，藉由電噴霧電離質譜(ESI-MS)評估 cFAE 的效力為> 95%。(MAbs. 2013 Nov 1；5(6)：962–973.)。

非結合的對照抗體 b12

【0661】 IgG1-b12 為一種 HIV-1 gp120 特異性抗體(Barbas, CF. J Mol Biol. 1993 Apr 5；230(3)：812-23)，其在某些實例中係用作單特異性和雙特異性抗體之陰性、非結合的對照抗體。

【0662】 親代抗體的重鏈(HC)和輕鏈(LC)序列係如下列 SEQ ID NO 所示：

| | |
|---|---|
| IgG1-b12-FEAL | SEQ ID NO：36 (HC)和 SEQ ID NO：37 (LC). |
| IgG1-b12-FEAR | SEQ ID NO：35 (HC)和 SEQ ID NO：37 (LC). |
| IgG1-b12-FERL | SEQ ID NO：38 (HC)和 SEQ ID NO：37 (LC). |
| IgG2amm-b12-AALT | SEQ ID NO：44 (HC)和 SEQ ID NO：45 (LC). |
| IgG2amm-b12-AAKR | SEQ ID NO：46 (HC)和 SEQ ID NO：45 (LC). |

**實例 2–使用生物膜干涉測定 EpCAM-特異性抗體之結合親和力**

*方法*

【0663】 於 Octet HTX 儀器上(FortéBio)藉由無標記生物膜干涉(BLI)測定 EpCAM 特異性抗體之標靶結合親和力。

【0664】 實驗係在 30°C 同時以 1,000 RPM 振盪來進行。將抗-Penta-HIS (HIS1K)生物感測器(FortéBio，型號 18-5120)藉由暴露於 pH 1.5 之 10 mM 甘胺酸(Sigma-Aldrich，型號 15527)緩衝液 5 秒進行預處理，接著以樣本稀釋液(FortéBio，

型號 18-1104)中和 5 秒；二個步驟皆重複 2 次。將抗-Penta-HIS 生物感測器載入 100 nM(2.8 μg/mL)重組的人類 EpCAM(R&D systems，型號 9277-EP)或重組的食蟹獼猴 EpCAM(R&D systems，型號 10451-EP)歷時 600 秒。在樣本稀釋液中進行基線測量後(300 秒)，使用 1.56–100 nM 之濃度範圍，以樣本稀釋液進行二倍稀釋步驟，測定功能性單價抗體的結合(200 秒)和解離(1,000 秒)。功能性單價 EpCAM 抗體為含有一 EpCAM 特異性 Fab 臂和一非結合的對照 Fab 臂(以實例 1 中描述的 HIV gp-120 特異性 b12 抗體為基礎)之雙特異性分子，從而確保在此分析中與 EpCAM 的結合為功能上單價的。使用以所用抗體之胺基酸序列為基礎的分子量(146.0–148.6kDa)來計算。就各抗體，係使用一參考感測器，將其以樣本稀釋劑取代抗體加以培養。

【0665】 使用數據擷取軟體 V12.0(FortéBio)得到數據並以數據分析軟體 v12 (FortéBio)分析。藉由減去參考感測器來校正每個抗體的數據軌跡。將 Y 軸與基線的最後 10 秒對齊。應用解離和 Savitzky-Golay 過濾的步間校正對齊。將反應<0.05 nm 的數據軌跡從分析中排除。使用興趣區間 200 秒之結合及解離時間設定為 50 秒和 200 秒，將數據與 1：1 Global Full fit 模型擬合(如表 4 和表 5 所示)。

【0666】 以曲線擬合和最高 $R^2$ 值的目視檢查為基礎，選擇用於提報數據之解離時間。將對應 $R^2$<0.98 之曲線擬合的數據從分析中排除。

【0667】 「$K_D$」(M)係指抗體-抗原相互作用的平衡解離常數，且係藉由將 $k_d$ 除以 $k_a$ 所獲得。「$kd$」($sec^{-1}$)係指抗體-抗原相互作用的解離速率常數。有時候亦稱為 $k_{off}$ 值或解離率。「$k_a$」($M^{-1}$ x $sec^{-1}$)係指抗體-抗原相互作用的結合速率常數。有時候亦稱為 $k_{on}$ 值或結合率。

*結果*

【0668】 表 4 係顯示如藉由生物膜干涉所測定之重組人類 EpCAM 的雙特異性、功能性單價 EpCAM 抗體的結合速率常數 $k_a$(1/Ms)、解離速率常數 $k_d$(1/s)

和平衡解離常數 $K_D$(M)。抗體對人類 EpCAM 之親和力範圍為 3.2–55 nM。

【0669】 表 5 係顯示如藉由生物膜干涉所測定之 EpCAM 抗體對食蟹獼猴 EpCAM 的結合速率常數 $k_a$(1/Ms)、解離速率常數 $k_d$(1/s)和平衡解離常數 $K_D$(M)。僅 BisG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR 顯示與食蟹獼猴 EpCAM 結合的可信賴結果，親和力為 41 nM。雖然就 BisG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR，觀察到相較於人類 EpCAM，與食蟹獼猴之結合動力學差異(與食蟹獼猴 EpCAM 的結合之結合解離速率更快)，但親和力僅有 2-倍差異($K_D$)。

*表 4：如藉由無標記生物膜干涉所測定之雙特異性、功能性單價 EpCAM 抗體與人類 EpCAM 胞外結構域之結合親和力*

| 抗體 | 反應 | Fit 時間(s) | 全 $R^2$ | 結合速率 $k_a$ (1/Ms) | 解離速率 $k_d$ (1/s) | $K_D$ (M) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| BisG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS-54-FEAR | 0.60 | 50 | 1.00 | $5.3 \times 10^5$ | $3.0 \times 10^{-2}$ | $5.5 \times 10^{-8}$ |
| BisG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR | 1.44 | 50 | 1.00 | $3.2 \times 10^5$ | $6.3 \times 10^{-3}$ | $2.0 \times 10^{-8}$ |
| BisG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR | 0.73 | 50 | 1.00 | $4.6 \times 10^5$ | $2.2 \times 10^{-2}$ | $4.8 \times 10^{-8}$ |
| BisG2amm-EpCAM-323-A3-AALT/m4-1BB-3H3-AAKR | 1.21 | 200 | 1.00 | $3.4 \times 10^5$ | $1.1 \times 10^{-3}$ | $3.2 \times 10^{-9}$ |

*表 5：如藉由無標記生物膜干涉所測定之雙特異性、功能性單價 EpCAM 抗體與食蟹獼猴 EpCAM 胞外結構域之結合親和力*

| 抗體 | 反應 | Fit 時間(s) | 全 $R^2$ | 結合速率 $k_a$ (1/Ms) | 解離速率 $k_d$ (1/s) | $K_D$ (M) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| BisG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS-54-FEAR | 0.11 | 50 | 0.90 | 全 $R^2 < 0.98$ | | |
| BisG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR | 0.59 | 50 | 1.00 | $5.5 \times 10^5$ | $2.3 \times 10^{-2}$ | $4.1 \times 10^{-8}$ |
| BisG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR | 0.28 | 50 | 0.97 | 全 $R^2 < 0.98$ | | |
| BisG2amm-EpCAM-323-A3-AALT/m4-1BB-3H3-AAKR | 0.02 | N/A | N/A | 反應<0.05 | | |

**實例 3-***如藉由生物膜干涉所測定之 EpCAM 抗體的交叉阻斷*

*方法*

【0670】 藉由 BLI 於 Octet HTX 儀器(FortéBio)上進行經典三明治形式的抗體交叉阻斷分析(表位結合)。實驗係於 30°C 同時以 1,000 RPM 震盪來進行。

【0671】 將胺反應性第二代(AR2G)生物感測器(FortéBio，型號 18-5092)以 20 mM EDC(N-[3-二甲基胺基丙基]-N'-乙基碳二亞胺鹽酸鹽；FortéBio，18-1033)和 10 mM s-NHS(N-羥基磺基琥珀醯亞胺鈉鹽；FortéBio，18-1067)活化 300 秒。將活化的 AR2G 感測器載入溶於 10 mM 乙酸鈉 pH 6.0(FortéBio，型號 18-1070)之 20 μg/mL 第一 EpCAM 抗體，歷時 600 秒，並以 pH 8.5 之 1 M 乙醇胺(FortéBio 型號 18-1071)驟冷 300 秒。

【0672】 在樣本稀釋液(FortéBio，型號 18-1104)之基線測量(50 秒)後，以重組人類 EpCAM(100 nM 或 2.8 μg/mL 經樣本稀釋液稀釋；R&Dsystems，型號 9277-EP))載入含有固定化抗體的 AR2G 生物感測器，歷時 300 秒。使用以胺基酸序列為基礎的人類 EpCAM 之理論分子量(28 kDa)進行計算。測定第二 EpCAM 抗體(10 μg/mL，溶於樣本稀釋液)之結合(300 秒)。

【0673】 使用數據擷取軟體 v12.0.1.8 (FortéBio)得到數據，並以數據分析 HT 軟體 v12.0.1.55(FortéBio)分析。藉由減去參考曲線(樣本稀釋液取代二抗體)校正數據跡線，以便於校正人類 EpCAM 從固定化第一抗體之解離。將 Y 軸與結合步驟開始對齊，並應用 Savitzky-Golay 過濾。將第二抗體之校正結合反應以矩陣形式作圖。一般而言，就第二抗體，反應>0.1 nm 係視為第二抗體結合之指標，且因此為第一和第二抗體之間無或不完全的結合競爭之指標。相反的，介於-0.1 和 0.1 nm 之間的反應係視為阻斷抗體對。

*結果*

【0674】 進行抗體 IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR、IgG1-EpCAM-C52-FEAR、IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR 和 IgG1-EpCAM-A37-FEAR 之交叉阻斷結合競爭實

驗。所有的 EpCAM 抗體均阻斷其他 EpCAM 抗體與重組的人類 EpCAM 結合(表6)。

*表 6：如藉由生物膜干涉所測定之抗體交叉阻斷.*

| | IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR | IgG1-EpCAM-C52-FEAR | IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR | IgG1-EpCAM-A37-FEAR |
|---|---|---|---|---|
| IgG1-EpCAM-323-A3-FEAR | 0.00 | -0.01 | 0.00 | -0.01 |
| IgG1-EpCAM-C52-FEAR | -0.02 | -0.02 | -0.01 | 0.00 |
| IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR | -0.01 | 0.00 | -0.02 | 0.00 |
| IgG1-EpCAM-A37-FEAR | -0.02 | -0.03 | -0.03 | -0.04 |

【0675】 第一列顯示固定化抗體(第一抗體)，第一行顯示溶於溶液中的抗體(第二抗體)。顯示溶液中抗體之校正結合反應。抗體的交叉阻斷係以深灰色表示。

**實例 4 –人類腫瘤細胞株上 EpCAM 之表現**

*方法*

【0676】 為了得以就有關 EpCAM 表現對腫瘤細胞株排序，係使用流式細胞術評估下列人類腫瘤細胞株之相對 EpCAM 表面表現量：T84(大腸癌之肺轉移；ATCC，登錄號 CLL- 248)、DiFi(直腸癌；由德國基爾 Thomas Valerius Christian Albrechts 大學友情提供)，HPAF-II(胰腺癌；ATCC，登錄號 CRL-1997)、NCI-N87(胃癌；ATCC，登錄號 CRL-5822)、Calu-3(非小細胞肺癌；ATCC，登錄號 HTB-55)、NCI-H747(大腸直腸腺癌；ATCC，登錄號 CLL-252)和 A549(非小細胞肺腺癌；ATCC，登錄號 CLL-185)。

【0677】 將細胞($5x10^4$ 個細胞/孔)於聚苯乙烯 96-孔圓底盤(Greinerbio-one，型號 650180)中與別藻藍蛋白(allophycocyanin)(APC)-接合的抗-EpCAM 抗體(選植株 EBA-1 ,IgG1λ；BDBioscience，型號 347200)、APC-接合的非結合對照抗體(選植株 11711，IgG1k；R&DSystems，型號 IC002A)或無抗體之 50μ LFACS 緩

衝液(磷酸鹽緩衝液[PBS；Lonza，型號 BE17-517Q]添補 0.1%牛血清白蛋白[BSA,fractionV, Roche, 型號 10735086001]和 0.02% $NaN^3$[Bio-world, 型號 41920044-3])於 4°C 培養 30 分鐘。以 FACS 緩衝液清洗細胞，並在 FACSCelesta 流式細胞儀(BDBiosciences，美國)上藉由流式細胞術分析。藉由使用 Graphpad Prism 軟體和 Microsoft Office Excel 從經抗-EpCAM 抗體染色的細胞之幾何平均(Geomean)MFI 減去以非結合對照抗體培養細胞的幾何平均 MFI，計算各細胞株的 Δ 幾何平均螢光強度(GeoMFI)。

結果

【0678】 圖 1 係顯示如使用流式細胞術所測定之腫瘤細胞株上的相對 EpCAM 表現，其確認了所有受試細胞株上的 EpCAM 表現。腫瘤細胞株係以 EpCAM 表現為基準排序如下：T84 > DiFi > HPAF-II > NCI-N87 > Calu-3 > NCI-H747 >> A549。

**實例 5-EpCAM 抗體與 EpCAM-陽性人類腫瘤細胞之結合**

*方法*

【0679】 藉由流式細胞術分析二價 EpCAM 抗體或攜帶一 EpCAM 結合臂的雙特異性抗體與表現 EpCAM 之人腫瘤細胞株 DiFi、HPAF-II 和 A549 的結合。將細胞(3-5x$10^4$ 個細胞/孔)於聚苯乙烯 96-孔圓底盤(Greinerbio-one，型號 650180)中，以連續稀釋的二價或單價 EpCAM 抗體(圖 2A-D：範圍 0.005 ng/mL 至 50 μg/mL，5-倍稀釋步驟；圖 2E：範圍 0.5 ng/mL 至 30μg/mL，3-倍稀釋步驟)於 50μ LPBS(圖 2A-C；Hyclone GE Healthcare, 型號 SH3A3830.03)或 FACS 緩衝液(圖 2D、E)中於 4°C 黑暗中培養 30 分鐘。以 FACS 緩衝液清洗一次(A-D)或二次(E)後，將細胞與 50μ LR-藻紅蛋白(R-PE)AffiniPureF(ab')2 片段山羊-抗-人類 IgG(Jackson ImmunoResearch，型號 109-116-098；以 FACS 緩衝液[A-D]以 1：500 稀釋或以 FACS 緩衝液[E]以 1：200 稀釋，於 4℃ 黑暗中培養 30 分鐘。接著，以 FACS 緩衝液清洗細胞一次(A-D)或二次(E)，再懸浮於 100 μL FACS 緩衝液中，

並在 BD LSRFortessa FACS(BD Biosciences，美國)、Celesta(BD Biosciences，美國)或 iQue(Sartoriu，德國)上分析。使用 GraphPad Prism V7.02 軟體(GraphPad Software，美國加州聖地牙哥)，使用非線性回歸分析結合曲線(具有可變斜率的 S 形劑量反應)。

*結果*

【0680】圖 2 係顯示單特異性、二價(單株)EpCAM 抗體(A)IgG1-EpCAM-A37-FEAR，(B)IgG1-EpCAM-C52-FEAR 和(C)IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR 顯現與表現人類 EpCAM 的 DiFi、HPAF-II 和 A549 腫瘤細胞之劑量-依賴的結合。雙特異性、單價 EpCAMxb12 抗體(A)bsIgG1-b12-FEALxEpCAM-A37-FEAR，(B)bsIgG1-b12-FEALxEpCAM-C52-FEAR 和(C)bsIgG1-b12-FEALxEpCAM-UBS-54-FEAR，分別相較於 IgG1-EpCAM-A37-FEAR、IgG1-EpCAM-C52-FEAR 或 IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR，顯現在更高抗體濃度上結合。與 DiFi、HPAF-II 和 A549 腫瘤細胞的最大結合係與其各別的單特異性、二價 EpCAM 對應物之結合為相當的。再者，單特異性、二價 EpCAM 抗體 IgG1-323-A3-FEAR 顯現與 DiFi 和 HPAF-II 腫瘤細胞之劑量-依賴的結合(D)。納入這些實驗中的陰性對照抗體 IgG1-b12-FEAL 並未顯示與 DiFi、HPAF-II 和 A549 腫瘤細胞結合。

【0681】接著，研究了二種雙特異性 EpCAMx4-1BB 抗體與 DiFi 腫瘤細胞結合的能力，此二種抗體含有相同的可變結構域但其 Fc 結構域不同：一種含有在二條重鏈(HC)中包含 L234F/L235E/D265A(FEA)惰性突變的 Fc 結域構，及一種含有在 4-1BB 結合臂之 HC 中的 FEA 惰性突變和在 EpCAM-結合臂之 HC 中的 L234F/L235E/G236R(FER)惰性突變。如 EC50 值所示(分別為 3.841 nM 和 3.961 nM；圖 2E)，此二種雙特異性抗體顯示相當的結合。納入這些實驗中的陰性對照抗體 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 並未顯示與 DiFi 腫瘤細胞結合，其表示 EpCAMx4-1BB 雙特異

性抗體對 EpCAM 的結合具有特異性。

**實例 6-EpCAM 抗體與經轉染人類、食蟹獼猴或小鼠 EpCAM 之 CHO 細胞的結合**

【0682】 將中國倉鼠卵巢(CHO)-S 細胞($1.0\times10^6$ 個細胞/mL；ThermoFisher Scientific，型號 R800-07)以 FreestyleTM CHO 表現培養基(ThermoFisher Scientific，型號 12651022)培養。在以編碼全長人類(SEQ ID：59)、食蟹獼猴(SEQ ID：60)或小鼠 EpCAM(SEQ ID：61；對於所有結構為 1.25 μg/mL)的結構轉染之前，於培養基中添補 50 單位青黴素和 50 μg/mL 鏈黴素(Pen/Strep；Lonza，型號 DE17-603E)。根據製造商的說明，使用 Freestyle MaxTM 轉染試劑(ThermoFisher Scientific，型號 16447100)和 OptiPROTM SFM 培養基(ThermoFisher Scientific，型號 12309019)進行轉染。轉染後，將細胞於 37°C、85%濕度、8% $CO_2$ 同時振盪下培養 24 h，及然後冷凍於添補 10% DMSO 之 FreestyleTM CHO 表現培養基中，直到進一步使用。

【0683】 藉由流式細胞術分析 EpCAM 抗體與經全長人類、食蟹獼猴或小鼠 EpCAM 過渡性轉染的 CHO-S 細胞之結合。將細胞以添補 10%的含鐵供體牛血清(DBSI；Life technologies，型號 20371)之 Roswell Memorial Park Institute 1640 培養基(RPMI；Lonza，型號 12-115F)解凍。將細胞($3\times10^4$ 個細胞/孔)置於聚苯乙烯 96-孔圓底盤中(Greiner bio-one，型號 650180)，以連續稀釋的 EpCAM 抗體(範圍 0.0001 至 50 μg/mL，5-倍稀釋步驟)於 50 μL PBS/0.1% BSA/0.02%疊氮化物(FACS 緩衝液)中，在 4°C 培養 30 min。以 FACS 緩衝液清洗二次後，將細胞以 50 μL R-藻紅蛋白(PE)-接合的山羊-抗-人類 IgG $F(ab')_2$(1：500 溶於 FACS 緩衝液；Jackson ImmunoResearch Laboratories，型號 109 -116-098)於 4°C 培養 30 min。以 FACS 緩衝液清洗二次，再懸浮於添補 TO-PRO™-3 碘化物(1：20000 稀釋；Invitrogen，型號 T3605)之 20 μL 的 FACS 緩衝液中，並於 iQue 篩選器(Intellicyt Corporation，USA)上分析。使用 GraphPad Prism V8.4.1 軟體(GraphPad Software，

San Diego，CA，USA)藉由非線性回歸分析結合曲線(具有可變斜率之 S 形劑量反應)。

【0684】圖 3A 係顯示二價 EpCAM 結合抗體 IgG1-EpCAM-UBS-54-FEAR、IgG1-EpCAM-A37-FEAR、IgG1-EpCAM-C52-FEAR 和 IgG1-EpCAM-323-A3 與經全長人類、食蟹獼猴和小鼠 EpCAM 轉染的 CHO-S 細胞之劑量依賴的結合。類似地，圖 3B 係顯示單價 EpCAM 結合抗體 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS-54-FEAR、bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR、bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR 和 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR 與經全長人類、食蟹獼猴和小鼠 EpCAM 轉染的 CHO-S 細胞之劑量依賴的結合。相反地，無觀察到單價或二價 EpCAM 抗體與未轉染的 CHO-WT 細胞結合。

**實例 7-用來測定 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體的 4-1BB 促效劑活性以及促效劑活性對標靶交聯的依賴性之以細胞為基礎的報導子分析**

【0685】就測定 Fc-惰性 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體之 4-1BB 促效劑活性，係在 NF-κB 反應元件(HEK293_NFK_gfp_luc 細胞)控制下以人類 4-1BB(HEK293_NFK_h4-1BB_gfp_luc 細胞)轉導表現螢光素酶的報導子細胞株。就測定 4-1BB 促效劑活性對標靶交聯之依賴性，係單獨使用報導子細胞株，或與表現 EpCAM 的 OV-90-SC12 細胞共培養進行此報導子分析。

【0686】HEK293_NFK_h4-1BB_gfp_luc 細胞係藉由轉座子媒介將人類 4-1BB 轉染到 HEK293_NFK_gfp_luc 細胞(BioCatGmbH，型號 TR860A-1)，接著滅瘟素(blasticidin)選擇所產生。將細胞以 $3\times10^4$ 個細胞/孔植入 96-孔白色平底盤(Fisher Scientific，型號 10072151)中，並於添補 10%非熱失活 FBS(Biochrom，型號 S0115)的 DMEM(Thermo Fisher Scientific，型號 31966-047)中培養至隔夜。隔日，以含有 0.5% 非熱失活 FBS 的 DMEM 製備 BsIgG1-CD137-005-FEAR/EpCAM-323-A3-FEAL 的連續稀釋液，並將其加到含

有 HEK293_NKF_h4-1BB_gfp_luc 細胞的孔槽中(3-倍連續稀釋，最終濃度範圍 8.2-0.01 μg/mL)。將在含有 0.5%非熱失活 FBS 之 DMEM 中的 OV-90-SC12 細胞(OV-90 的亞選植株，ATCC，登錄號 CRL-11730)($3\times10^4$ 個細胞/孔)或僅培養基加到孔槽中，並將培養盤培養至隔夜。隔日，丟棄培養物上清液並將 50 μL RPMI1640 培養基(Life Technologies GmbH，型號 61870-010)以及 50 μL Bio-Glo™ 螢光素酶分析基質(Promega，型號 G7940)添加到各孔槽中。將培養盤避光培養 10 分鐘。使用 Tecan Infinite F200 Pro 盤式判讀儀測量發光。

【0687】 BsIgG1-CD137-005-FEAR/EpCAM-323-A3-FEAL 之 4-1BB 促效劑活性係在 8.2-0.01 μg/mL 的 3 倍連續稀釋液中分析(圖 4)。僅在表現 EpCAM 的 OV-90-SC12 細胞存在下觀察到劑量-依賴增加的螢光素酶發光。這些結果顯示，Fc 惰性 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體在活體外展現條件性 4-1BB 促效劑活性。

**實例 8–藉由含有惰性突變之 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC—腫瘤細胞共培養中引發 CD4+和 CD8+ T 細胞增生的能力**

*方法*

【0688】 以表現 EpCAM 的腫瘤細胞株和初級人類周邊血液單核細胞(PBMC)的活體外共培養評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體經由 4-1BB 共刺激增加 PBMC 增生的能力，PBMC 細胞係使用 Ficoll 梯度(Corning；淋巴細胞分離培養基，型號 25-072-CI)從健康人類捐贈者血沉棕黃層(buffy coats)(Sanquin，阿姆斯特丹，荷蘭)所分離。就帶有在二條重鏈(HC)中含有 FEA 惰性突變之 Fc-結構域的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體，和帶有在 4-1BB 結合臂之 HC 中含有 FEA 惰性突變以及在 EpCAM 結合臂之 HC 中含有 FER 惰性突變之 Fc 結構域的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體，評估增強 PBMC 增生的能力。

【0689】 在第一組實驗中(圖 5-7)，將表現 EpCAM 的腫瘤細胞(DiFi、T84、HPAF-II、NCI-N87、Calu-3 或 NCI-H747；如上文所述)以 6,250 個細胞/孔之密

度植入聚苯乙烯 96-孔平底盤(Greinerbio-one，型號 655180)中添補 5%人類血清[Sanquin 血液銀行，型號 B0626]和 1%Pen/Strep，Lonza，型號 DE17-603E)的 T 細胞培養基(Iscove's Modified Dulbecco's Medium[IMDM；Lonza，型號 12-722F)中]，並放置於 37°C 黏附 4 h。將 PBMC 以溶於 PBS(磷酸鹽緩衝鹽水，Hyclone，型號 SH3A383003)中的 0.5 μM CellTrace™ CFSE(羧基螢光素琥珀醯亞胺酯；ThermoFisher Scientific；型號 C34554A)於 37°C 標定 20 min。清洗後，將 T 細胞培養基中的PBMC靜置0.5-1.5 h並再次清洗，將PBMC與抗CD3抗體(0.1 μg/mL；選植株 UCHT1；Stemcell，型號 60011)混合並以 16：1 比率(100,000 個細胞/孔)加到腫瘤細胞中。加入雙特異性 EpCAMx4-1BB、EpCAMxb12 或非結合對照抗體(最終濃度連續稀釋：8–25,000 ng/mL，5-倍稀釋[圖 5 和 7]，或單一濃度 10 μg/mL[圖 6])並將培養盤於 37°C 培養 96 h。接著，將含有 PBMC 之 150 μL 上清液轉置於 96-孔圓底盤中。以 PBS 清洗細胞後，用 50 μL BD Horizon™ Fixable Viability Stain 510(FVS510；1：5000 稀釋度之 PBS；BD Biosciences；型號 564406)於 RT 避光染色 20 min。在評估 CD4+和 CD8+T 細胞亞群增生的實驗中，細胞係另外以亮紫(BV)-785 標定的抗-CD19(選殖株 SJ25C1，1：50；BioLegend，型號 363028)、APC-eF780-標定的抗-CD4(選殖株 OKT4,1:50；eBioscience，型號 47-0048-42),AF700-標定的抗-CD8(選殖株 RPA-T8,1:100；BioLegend，型號 301028))和 BV605 標記的抗 CD14(選殖株：M5E2，1：200；BioLegend，型號 301834)抗體在 50μ LFACS 緩衝液中，於 4°C 避光染色 30 min。清洗細胞後，將細胞再懸浮於添補 0.1%牛血清白蛋白[BSA，fraction V，Roche，型號 10735086001]，0.02%NaN3[Bio-world，型號 41920044-3]和 2m MEDTA[Sigma-Aldrich，型號 BCCB3789])之 30-60 μLFACS 緩衝液中(PBS [Lonza，BE17-517Q]，並使用 Intellicyt 軟體於 iQue 流式細胞儀上(圖 5 和 7)或使用 FlowJo 軟體於 BD Symphony 流式細胞儀上(圖 6)分析。

【0690】第二組實驗基本上如上所述進行，但有下列除外。雙特異性

EpCAMx4-1BB、EpCAMxb12 或非結合對照抗體的連續稀釋最終濃度為 0.32–25,000 ng/mL(圖 8)。以 50 μL BD Horizon™ Fixable Viability Stain 510(PBS 1∶5000 稀釋)將細胞染色後，將培養盤於 RT 避光培養 30 min。將細胞另外以亮紫(BV)785-標定的抗-CD19(選殖株 SJ25C1，1：80)、APC-eF780-標定的抗-CD4(選殖株 OKT4，1∶100)、AF700-標定的抗-CD8(選殖株 RPA-T8，1∶100；BioLegend，型號 301028)和 PE-Cy7-標定的抗-CD14(選殖株∶M5E2；1∶50；BD，型號 557742)抗體，在 50 μL FACS 緩衝液中於 4°C 避光染色 30 min。 清洗後，將細胞再懸浮於 80 μL FACS 緩衝液中，並使用 BD Symphony 流式細胞儀使用 FlowJo 軟體於 iQue 流式細胞儀上分析(圖 8)。就評估 PBMC 增生，將細胞針對淋巴細胞(以 FSC/SSC 為基礎)和活細胞(FVS510-群族)進行門控。就評估 CD4+或 CD8+ T 細胞，係對 PBMC 進行淋巴細胞(以 FSC/SSC 為基礎)、活細胞(FVS510- 群體)、T 細胞(CD14-CD19- 群體)和最後的 CD4+或 CD8+ T 細胞(CD4+CD8-或 CD4-CD8+群族)之門控。測量 CFSE-染色的細胞用以評估 PBMC、CD4+或 CD8+ T 細胞增生。分裂指數，代表每個細胞的平均分裂數，係使用 Microsoft Office Excel 計算及使用 Graphpad Prism，使用以下公式可視化：

$\sum (x_i/2i*i) / \sum (x_i/2i)$，其中 i 為波峰數，未分裂波峰為 0，第一分裂的為 1 等等，而 $x_i$ 為對應波峰中的細胞數。

*結果*

【0691】 以表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞株和 PBMC 之活體外共培養評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體經由 4-1BB 共刺激增加 T-細胞增生的能力。圖 5 係顯示 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-UBS54-FEAR(A)，bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR(B)，bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-C52-FEAR(C) 和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR(D)增強 CFSE-標定細胞之劑量-依賴的增生(顯示為分裂指數之增加)。所有四種 EpCAMx4-1BB 抗體引發的分裂指數之最大增加為相當的。相反

的，雙特異性 EpCAMxb12 抗體 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS54-FEAR(A)，bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR(B)，bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR(C))和 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR(D)並未增強增生，因為分裂指數與同型對照抗體 IgG1-b12-FEAL 相當。

【0692】再者，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體對 CD4+和 CD8+ T 細胞增生的效應係藉由對這些 T-細胞亞群之特異性門控來評估。圖 6 係顯示 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-UBS54-FEAR，bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR 和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-C52-FEAR 增強了 (A)CD4+ 和 (B)CD8+ T 細胞的增生(顯示為分裂指數之增加)。相反的，雙特異性 EpCAMxb12 抗體 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-UBS54-FEAR，bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR，bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-C52-FEAR 不影響 CD4+或 CD8+ T-細胞增生，因為分裂指數與同型對照抗體 IgG1-b12-FEAL 相當。

【0693】接著，選擇具有一定範圍之 EpCAM 表現量的腫瘤細胞株(描述於實例 4)用於進一步評估 EpCAMx4-1BB 抗體對 PBMC 增生的效應。圖 7 係顯示 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR 和 bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR，在 T84、DiFi、HPAF-II、NCI-N87、Calu-3 或 NCI-H747 腫瘤細胞存在下，增強 PBMC 增生(顯示為分裂指數之增加)。相反的，雙特異性 EpCAMxb12 抗體 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-A37-FEAR 和 bsIgG1-b12-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR 在任何 PBMC-腫瘤細胞共培養中並不影響增生，因為分裂指數與同型對照抗體 IgG1-b12-FEAL 相當。這些結果顯示 EpCAMx-4-1BBbsAb 能增加所有受試腫瘤細胞株中活化 PBMC 的增生，而在本處試驗範圍內 EpCAM 表現並無明顯影響。

【0694】比較具有在二個 HC 中含有 FEA 突變的 Fc 結構域，或具有在一

HC中具有FEA突變和在另一HC中具有FER突變的Fc結構域之EpCAMx4-1BB雙特異性抗體增強活化CD4+和CD8+T細胞增生的能力(圖8)。在PBMC和DiFi腫瘤細胞與一系列濃度的 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 或 bsIgG1-EpCAM-A37- FEAR/CD137-009-HC7LC2-FEAL 共培養96 h後，觀察到高度相當程度的CD4+和CD8+T細胞增生。其表示當FEA惰性突變與二個HC其中之一的FER惰性突變交換時，EpCAMx4-1BB雙特異性抗體增強T細胞增生的能力並未改變。

【0695】總結，EpCAMx4-1BB雙特異性抗體在與具有一範圍EpCAM表現量之腫瘤細胞共培養中增強了活化PBMC的增生，包括CD4+和CD8+ T細胞二者的增生。對於在二個HC中含有FEA惰性突變，或者在一HC中含有FEA惰性突變而在另一HC中含有FER惰性突變之EpCAMx4-1BB雙特異性抗體，增強T-細胞增生的能力為相當的。

**實例9-用以測定EpCAM×4-1BB雙特異性抗體引發腫瘤浸潤T細胞和NK細胞增生之能力的活體外TIL擴增分析**

【0696】就測定EpCAM×4-1BB雙特異性抗體對TIL亞群的效應，係使用來自人類非小細胞肺癌病患之手術切除的原發性腫瘤組織進行活體外 TIL 擴增分析。

【0697】將冷凍保存的腫瘤組織碎片解凍並切成大約1 $mm^3$的片段。將片段植入24-孔盤(Greiner，型號662160；每個孔槽2片段，每種條件12-16個孔槽)之添補2%人類血清白蛋白(CLS Behring，PZN-00504775)，1%青黴素/鏈黴素(Thermo Fisher Scientific，型號15140-122)，1%兩性黴素B(amphotericin B)(Thermo Fisher Scientific，型號152-900-26)和50 U/mL白介素(IL)-2(Proleukin-S，Novartis Pharma GmbH，PZN-02238131)的X-VIVO™15培養基(Lonza，型號BE02-060Q)中。將雙特異性抗體(BsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-323-A3-FEAR 或 BsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-

A37-FEAR)加到孔槽中(0.2 或 5 μg/mL 最終濃度)。將片段培養 3 天。第 3 天加入含有 IL-2 和抗體(與上述相同的濃度)的新鮮培養基。在剩餘的培養期間，經由顯微鏡定期監測 TIL 生長和 TIL 微感染群的形成。在第 7 天，藉由將原始 24 孔盤之二個孔槽中的內容物轉移到新的 6-孔盤(Greiner，型號 657160)的一個孔槽中來匯集細胞。加入含有 IL-2(33 U/mL 最終濃度)的新鮮培養基。在第 10 天，將各孔槽中一半的培養上清液替換為含有 IL-2 的新鮮培養基(15 U/mL 最終濃度)。在第 14 天，按治療條件收取和匯集細胞用於流式細胞術分析。

【0698】 將來自各收取細胞治療組的 100 μL 等份以下列抗-人類抗體染色：V500-接合的-抗-CD45(BD Biosciences，型號 560777)，亮紫(BV)786-接合的抗-CD56(BD Biosciences，型號 740979)、Pacific Blue-接合的-抗-CD3(BD Biosciences，型號 558117)、PerCP-eFluor780 接合的-抗-CD4(Thermo Fisher Scientific，型號 46-0047-42)和 BV605-接合的-抗-CD8α(BD Biosciences，型號 564116)。另外，將細胞以可固定活性染劑 eFluor780(Thermo Fisher Scientific，型號 65-0865-14)染色。在採集之前，將 30 μL 參考微珠(CountBright™ 絕對計數微珠，Invitrogen，型號 C36950)添加到各樣本中。於 FACS Celesta 流式細胞儀(BD Biosciences)上收集數據。

【0699】 使用 Flowjo 軟體版本 10.7.1 分析流式細胞數據。使用下列公式測定絕對細胞數：

$$細胞數 = \frac{事件計數(細胞)}{事件計數(微珠)} \times 微珠濃度 \times 樣本體積$$

【0700】 在活體外 TIL 擴增分析中，相較於無抗體對照組，以 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體處理的培養物中所有 TIL(CD45+)以及 CD4+T 細胞、CD8+T 細胞和 NK 細胞的數目增加(圖 9)。相較於 5 μg/mL，以 0.2 μg/mL EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體處理的培養物中細胞數目之增加更為明顯。這些結果顯示，EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體可在增進活體外來自人類腫瘤標本之 CD8+ T 細胞、CD4+ T 細胞和 NK 細胞的擴增。

**實例 10-用以測定活體內 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體之抗腫瘤活性的 MC38-腫瘤攜帶小鼠之治療**

【0701】就評估 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體的抗腫瘤活性，係使用一攜帶過度表現人類 EpCAM 之 MC38 腫瘤(MC38_hEpCAM)的人類 EpCAM 基因轉殖小鼠(傑克遜實驗室，品系 B6.FVB-Tg(TACSTD1)02Leij/J)活體內模型。MC38_hEpCAM 細胞係藉由人類 EpCAM 之反轉錄病毒轉導到 MC38 細胞(Kerafast，型號 ENH204-FP)所產生。

【0702】以 $5\times10^5$ 個溶於 100 μL PBS(Thermo Fisher Scientific，型號 141-902-50)中之 MC38_hEpCAM 細胞皮下接種年齡和性別匹配的小鼠。使用游標尺每周至少二次評估腫瘤生長，並從游標尺測量計算腫瘤體積為([長度]×[寬度]2)/2，其中長度是最長的腫瘤直徑，寬度為與長度垂直之最長的腫瘤直徑。當腫瘤達到約 30 $mm^3$ 的中位數大小時，開始以 BsIgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT/m4-1BB-3H3-AAKR 或同型對照抗體 IgG2amm-b12-AAKR 治療。在腫瘤接種後第 12、17、21、24、28 和 31 天，以溶於 200 μL PBS 之 100 μg 個別抗體以腹膜內治療小鼠。每週測量小鼠體重 3 次。當腫瘤體積超過 1,500 $mm^3$ 或當小鼠達到其他人道終點(例如，體重減輕≥20%、腫瘤潰瘍(>75%)或出現疾病的臨床體徵)時，將個別動物安樂死。

【0703】相較於同型對照治療的小鼠，以 BsIgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT/m4-1BB-3H3-AAKR 治療的小鼠中 MC38_hEpCAM 腫瘤的生長顯著下降(圖 10)。此外，BisIgG2amm-EpCAM-323-A3-AALT/m4-1BB-3H3-AAKR 治療的小鼠之存活率亦顯著提升。這些結果顯示 EpCAM×4-1BB 雙特異性抗體展現活體內抗腫瘤活性。

**實例 11–EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體與 EpCAM 和 4-1BB-特異性抗體之組合在 PBMC–腫瘤細胞共培養中的比較**

【0704】比較 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體和 IgG1-EpCAM-A37-FEAR 和

IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR 抗體之組合或 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 抗體之組合間在 PBMC-腫瘤細胞共培養中增強 CD4+和 CD8+T 細胞增生和活化(由 T 細胞活化標記 CD25 和 4-1BB 之表現來定義)的能力。

*方法*

【0705】以表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞和 PBMC 的活體外共培養評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強 CD4+和 CD8+ T 細胞增生及活化的能力，而 PBMC 係從健康人類捐贈者的血沉棕黃層所純化(Sanquin，阿姆斯特丹，荷蘭)。

【0706】在第一組實驗中，比較 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 與二價單株抗體 IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合增強 CD4+和 CD8+ T 細胞增生的能力(圖 11)。這些實驗基本上係如實例 8 中所述來進行，但下列除外。將 PBMC 以溶於 PBS 中的 0.5 μM CellTrace™ Violet(CTV；1：10,000，Thermo Fisher Scientific；型號 C34557)於 37°C 避光標定 20 分鐘。IgG1-EpCAM-A37-FERL、IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR（單獨或組合）和 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的最終濃度為 0.3 或 3 μg/mL(就組合而言：各抗體 0.3 或 3 μg/mL)。以抗體培養 96 h 並清洗後，將細胞以 50 μL BD Horizon™ Fixable Viability Stain 510(FVS510；1：1000 稀釋於 PBS；BD Biosciences；型號 564406)於 4°C 避光染色 30 min。接著，將細胞以 BV785-標定的抗-CD19(選植株 SJ25C1，1：80；BioLegend，型號 363028)、APC-eF780-標定的抗-CD4(選植株 OKT4，1：100；eBioscience，型號 47-0048-42)、AF700-標定的抗-CD8(選植株 RPA-T8，1:100；BioLegend，型號 301028)和 PE-Cy7-標定的抗-CD14(選植株:M5E2，1:50；BD Biosciences，型號 557742)抗體於 50 μL FACS 緩衝液中，在 4°C 避光染色 30 分鐘。清洗後，將細胞再懸浮於 80 μL FACS 緩衝液中，並在 BD FACSCelesta™細胞分析儀(BDBiosciences)上擷取細胞，及使用 FlowJo 軟

體分析。就評估 CD4+或 CD8+ T 細胞，係對 PBMC 進行淋巴細胞和單一細胞(以 FSC/SSC 為基礎)、活細胞(FVS510-群族)、T 細胞(CD14-CD19-群族)和最後的 CD4+或 CD8+T 細胞(分別為 CD4+CD8-或 CD4-CD8+群族)之門控。測量 CTV-染色的細胞用以評估 CD4+或 CD8+ T 細胞增生。測定分裂細胞百分比為總 CD4+或 CD8+ T 細胞群中已經歷細胞分裂(以 CTV 稀釋度為基礎)的細胞之百分比。擴增指數值係如下計算：

擴增指數=細胞總數/開始培養時的細胞數目=(G*0* + G*1* + G*2* + G*3* + G*4* + G*5* + G*6* + G*7*)/(G*0* + G*1*：2 + G*2*：4 + G*3*：8 + G*4*：16 + G*5*：32 + G*6*：64 + G*7*：128)

G*n* = 第 n 代波峰中的細胞數(其中 n=0 至 7)

【0707】在第二組實驗中，比較 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體與單價 EpCAM- 和 4-1BB- 特異性 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 之組合增強 CD4+和 CD8+ T 細胞增生和活化的能力(圖 12 和圖 13)。這些實驗基本上係如實例 8 中所述來進行，但下列除外。將 PBMC 以溶於 PBS 之 0.5 μM CellTrace™ Violet(CTV，1：10,000，Thermo Fisher Scientific；型號 C34557)於 37°C 避光標定 20 分鐘。雙特異性 EpCAMx4-1BB 的最終連續稀釋濃度為 0.0005–3 μg/mL。bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 組合的最終濃度為各抗體 3 μg/mL。以抗體培養 96 h 及清洗後，將 PBMC 以 50 μL BD Horizon™ Fixable Viability Stain 575V(FVS575；1：1000 稀釋於 PBS 中；BD Biosciences；型號 565694)於 4°C 避光染色 30 min。接著，將細胞以 BV785-標定的抗-CD19(選植株 SJ25C1，1：80；BioLegend，型號 363028)、APC-eF780-標定的抗-CD4(選植株 OKT4，1：100；eBioscience，型號 47-0048-42)、AF700-標定的抗-CD8(選植株 RPA-T8，1:100；BioLegend，型號 301028)、APC-標定的抗-4-1BB(選植株:4B4-1，1：40，Biolegend，型號 309810)、PE-標定的抗-CD25(選植株:M-A251，1:200，Biolegend，型號 356104)和 PE-Cy7-標定的抗-CD14(選植

株:M5E2，1：50；BD Biosciences，型號 557742)抗體於 50 μL FACS 緩衝液中，在 4°C 避光染色 30 min。清洗後，將細胞再懸浮於 80 μL FACS 緩衝液中，並在 BD LSRFortessa FACS(BD Biosciences，美國)上擷取細胞，及使用 FlowJo 軟體分析。就評估 CD4+或 CD8+ T 細胞，係對 PBMC 進行淋巴細胞和單一細胞(以 FSC/SSC 為基礎)、活細胞(FVS575-群族)、T 細胞(CD14-CD19-群族)和最後的 CD4+或 CD8+T 細胞(分別 CD4+CD8-或 CD4-CD8+群族)之門控。測量 CTV-染色的細胞用以評估 CD4+或 CD8+ T 細胞增生。由於無法計算這些實驗的擴增指數，因此以提報分裂細胞之百分比取代，並測定為總 CD4+或 CD8+ T 細胞群族中已經歷細胞分裂(以 CTV-稀釋為基礎)之細胞的百分比。於 CD4+和 CD8+T 細胞群族內測定 CD25+細胞的%或 4-1BB+細胞的%或 CD25+或 4-1BB+群族之幾何平均螢光強度(FI)。

*結果*

【0708】 在表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞和 PBMC 的活體外共培養中評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強 CD4+和 CD8+ T 細胞增生和活化的能力。將以 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體處理的 T 細胞之增生和活化與 EpCAM 特異性和 4-1BB 特異性抗體(單價或二價，單獨或組合)進行比較。

【0709】 圖 11 係顯示，如擴增指數之增加所示，相較於二價單株抗體 IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR(單獨或組合)，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 增強了 CTV-標定的 CD4+和 CD8+ T 細胞之增生。在所有受試的 PBMC 供體中，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 一致地顯示出 CD4+和 CD8+ T 細胞增生之最高的增加(數據未顯示)。

【0710】 圖 12 係顯示，如分裂細胞百分比之增加所示，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 劑量-依賴地增強 CTV-標定的 CD4+和 CD8+ T 細胞之增生。相反地，單價 EpCAM 和 4-1BB 特異性抗體

bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 的組合並未增強 CD4+或 CD8+ T 細胞增生，因為分裂細胞的百分比與在不添加抗體下和 DiFi 腫瘤細胞共培養之抗-CD3-刺激的 PBMC 相當。

【0711】圖 13 係顯示，如 T 細胞活化標記 CD25 和 4-1BB 之表現增加所示，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 劑量依賴地增強 CD4+和 CD8+ T 細胞的活化。bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 增加了表現 CD25 和 4-1BB 之 CD4+和 CD8+ T 細胞的百分比，以及 CD25+或 4-1BB+群族的幾何平均 FI。相反地，單價 EpCAM 和 4-1BB 特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-HC7LC2-FEAR 之組合並未增強 CD4+和 CD8+ T 細胞的活化，因為表現 CD25 和 4-1BB 的細胞百分比以及 CD25+或 4-1BB+群族的幾何平均 FI 與在不添加抗體下和 DiFi 腫瘤細胞共培養之抗-CD3 刺激的 PBMC 相當。

【0712】總結，相較於二價或單價 EpCAM 和 4-1BB 特異性抗體之組合相比，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC 腫瘤細胞共培養中顯現增強的 CD4+和 CD8+ T 細胞增生和活化。

**實例 12–使用癌症病患-衍生的 PBMC 在 PBMC-腫瘤細胞共培養中 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體對 T 細胞增生和活化的效應**

【0713】使用衍生自癌症病患的 PBMC 來評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在 PBMC-腫瘤細胞共培養中增強 CD4+和 CD8+ T 細胞之增生和活化(以 T 細胞活化標記 CD25 和 4-1BB 的表現定義)的能力。

*方法*

【0714】以表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞和癌症病患-衍生的 PBMC(Discovery Life Sciences)之活體外共培養，評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強 CD4+和 CD8+ T 細胞增生和活化的能力。這些實驗基本上係如實例 8 中所述來進行，但下列除外。

【0715】 PBMC 係衍生自接受化療和其他治療的大腸直腸癌病患，且在血液收集時展現穩定的疾病。將 PBMC 以 0.5 μM CellTrace™ Violet(CTV；1：10,000，ThermoFisher Scientific；型號 C34557)於 PBS 中在 37°C 避光標定 20 min。bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的最終濃度為 0.0004-3 μg/mL，而 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 之組合，各抗體為 3 μg/mL。以抗體培養 96 h(37°C，5% $CO_2$)及以 PBS 清洗後，將細胞以 50 μL BD Horizon™ Fixable Viability Stain 510 (FVS510；1：1000 稀釋於 PBS；BD Biosciences；型號 564406)在 4°C 避光染色 30 min。接著，將細胞以 BV785-標定的-抗 CD19(選植株 SJ25C1，1：80；BioLegend，型號 363028)、APC-eF780-標定的-抗 CD4(選植株 OKT4，1：100；eBioscience，型號 47-0048-42)、AF700-標定的抗-CD8(選植株 RPA-T8，1:100；BioLegend，型號 301028)、APC-標定的抗-4-1BB(選植株：4B4-1, 1：40，Biolegend，型號 309810)、PE-標定的抗-CD25(選植株：M-A251，1:200，Biolegend，型號 356104)和 PE-Cy7-標定的抗-CD14(選植株：M5E2，1：50；BD Biosciences，型號 557742)抗體在 50 μL FACS 緩衝液中，於 4°C 避光染色 30 min。清洗後，將細胞再懸浮於 80 μL FACS 緩衝液中，並在 BD LSRFortessa FACS(BD Biosciences，美國)上擷取細胞，及使用 FlowJo 軟體分析。就 CD4+或 CD8+ T 細胞之評估，係將 PBMC 進行淋巴細胞和單一細胞(以 FSC/SSC 為基礎)、活細胞(FVS510-群族)、T 細胞(CD14-CD19-群族)和最後的 CD4+或 CD8+ T 細胞(分別為 CD4+CD8-或 CD4-CD8+群族)門控。測量 CTV-染色的細胞用以評估 CD4+或 CD8+T 細胞增生。分裂細胞百分比係測定為總 CD4+或 CD8+T 細胞群族中已經歷細胞分裂(以 CTV-稀釋為基礎)之細胞的百分比。於 CD4+和 CD8+T 細胞群族內測定 CD25+或 4-1BB+細胞之百分比或 CD25+或 4-1BB+細胞群族之幾何平均螢光強度(FI)。

*結果*

【0716】 以表現 EpCAM 的 DiFi 腫瘤細胞和大腸直腸癌病患-衍生的 PBMC

之活體外共培養來評估 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強 CD4+和 CD8+ T 細胞增生和活化的能力，並與單價 EpCAM 特異性和 4-1BB 特異性抗體之組合比較。

【0717】圖 14 係顯示，如分裂細胞百分比之增加所示，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 劑量依賴地增強 CTV-標定的 CD4+和 CD8+ T 細胞之增生。相反的，3 μg/mL 之單價 EpCAM 和 4-1BB 特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的組合並未增強 CD4+或 CD8+ T 細胞的增生。

【0718】圖 15 係顯示，如 T 細胞活化標記 CD25 和 4-1BB 之增加所示，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 劑量依賴地增強 CD4+和 CD8+ T 細胞的活化。bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 增加了表現 CD25 或 4-1BB 之 CD4+和 CD8+ T 細胞的百分比，以及 CD25+或 4-1BB+群體中的幾何平均 FI。相反的，單價 EpCAM 和 4-1BB 特異性抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的組合並未增強 CD4+和 CD8+T 細胞之活化，因為表現 CD25 或 4-1BB 之細胞的百分比以及二種標記的幾何平均 FI 與無添加抗體之 PBMC 和 DiFi 腫瘤細胞共培養的抗-CD3-刺激 PBMC 相當。

【0719】總結，相較於單價 EpCAM-和 4-1BB-特異性抗體之組合，EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體在癌症病患-衍生的 PBMC 和 DiFi 腫瘤細胞共培養中顯示增強的 CD4+和 CD8+T 細胞增生和活化。

**實例 13–用以測定 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體增強對腫瘤細胞之 T 細胞媒介的細胞毒性能力的活體外殺滅分析**

【0720】在以腫瘤細胞作為標靶細胞的共培養中研究 DuoBody EpCAMx4-1BB 對人類 CD8+ T 細胞之細胞毒活性的效應。藉由流式細胞術評估 CD8+T 細胞對細胞毒性相關分子顆粒酶 B(GzmB)和 CD107a 之表現。使用 xCELLigence 系統藉由即時細胞分析來評估標靶細胞殺滅。以模型抗原 claudin-6

和人類 EpCAM(MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 細胞)穩定轉導人類乳癌細胞株 MDA-MB-231(ATCC®、HTB-26TM)並用作為標靶細胞株。

*方法*

【0721】 將 MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 細胞以每孔 $1.5\times10^4$ 個細胞植入 96 孔平底盤(Greiner，型號#655180)和 xCELLigence E 盤(Agilent，型號#05232368001)中添補 10%胎牛血清(FBS；Sigma-Aldrich，型號#F7524)的 100 µL 達爾伯克氏改良伊格爾氏培養基(DMEM，Thermo Fisher Scientific，型號#31966-047)。讓細胞在 RT 靜置 30 min。將 96 孔平底盤(用於流式細胞分析)和 E 盤(用於即時細胞分析)分別在培養箱或 xCELLigence 即時細胞分析儀(Acea Biosciences)中培養 1 天(二種情況下均為 37°C，5% $CO_2$)。

【0722】 使用 CD8 微珠(Miltenyi Biotec，型號#130-045-201)藉由磁性-活化細胞分選(MACS)從衍生自 HLA-A*02：01 陽性健康人類捐贈者的 PBMC 中純化 CD8+ T 細胞。在 500 V、3 ms 和 1 個脈衝下，以編碼 CLDN6-特異性 TCR(TCR#12α、TCR#12β；各 10 µg RNA)的 α 和 β 鏈的 RNA 將純化的 CD8+T 細胞進行電穿孔。電穿孔後，立即將添補 5%混合人類血清(PHS；One 拉姆達(lambda)Inc.，型號#A25761)的經預熱 IMDM GlutaMAX(Life Technologies GmbH，型號#31980030)加到細胞中。將電穿孔的 T 細胞轉置到 6 孔盤中並培養至隔夜(37°C，5%CO2)。隔天，藉由流式細胞術測定電穿孔效率>85%。

【0723】 培養至隔夜後，將 CD8+ T 細胞再懸浮於含有 10%FBS 的 DMEM 中。將 CD8+ T 細胞加到含有前一天植入的 MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 細胞的孔槽(96 孔盤和 E 盤)中。每孔加入 $7.5\times10^4$ 個 CD8+ T 細胞，產生 5：1 之效應子：標靶比例。作為對照，係在不添加 T 細胞下培養 MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 細胞。將 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 或對照抗體以含有 10%FBS 之 DMEM 稀釋並加到孔槽中。使用含有一 EpCAM 特異性 Fab 臂或一 4-1BB 特異性 Fab 臂和一非結合 Fab 臂配

對的 Fc-惰性單價雙特異性抗體(分別為 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERLxCD137-009-HC7LC2-FEAR) 以及 Fc-惰性非結合抗體 bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 作為對照。bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 係在 0.0032 至 3.2 μg/mL 的最終濃度範圍內試驗，而對照抗體係在 3.2 μg/mL 的單一最終濃度下試驗。最終體積為 200 μL/孔。

【0724】 將螢光團-標定的抗-CD107a 抗體(Biolegend，型號#328611；最終稀釋度 1：2,500)加入 96 孔盤的孔槽中，但不加入 E-盤。將 96 孔盤中的細胞於培養箱(37°C，5% $CO_2$)中培養 2 天。在培養的最後 4 小時前間，加入 20 μL Golgi-Plug(BD Biosciences，型號#555029，最終稀釋度 1：1,100)。培養結束時，以螢光團-標定的抗-CD8α 抗體染色(BD Biosciences，型號#564116，以 1：400 的杜氏磷酸鹽緩衝食鹽水稀釋[DPBS，Thermo Fisher，型號#14190250]含 2% EDTA[Sigma-Aldrich，型號#03690]和 5%FBS[Sigma-Aldrich，型號#F7524])，固定在 2% Histofix(Carl Roth GmbH，型號#P087.4，以 PBS 稀釋)並以螢光團-標定的抗-GzmB 抗體(BDBiosciences，型號#561142；以 1：300 透化緩衝液稀釋[Thermo Fisher，型號#00-8333-56])胞內染色。在 BD FACS Celesta 流式細胞儀(BDBiosciences)上擷取流式細胞數據，並以 FlowJo(Tree Star Inc.)分析。

【0725】 將 E 盤中的細胞以 xCELLigence 即時細胞分析儀器在無干擾下培養 5 至 6 天，其中以 2 至 3 小時間隔進行阻抗測量。阻抗測量值係以細胞指數值表示。細胞指數係與黏附的腫瘤細胞單層之總面積相關。因此，相較於腫瘤細胞，T 細胞/腫瘤細胞共培養中較低的細胞指數僅代表腫瘤細胞被殺死。將各條件的細胞指數正常化為開始 T 細胞/腫瘤細胞共培養的時間點。使用 GraphPad Prism 將隨時間而變的正常化細胞指數曲線可視化。

【0726】 就匯總供體之間和整個分析期間的即時細胞分析數據之評估，係使用 GraphPad Prism 計算曲線下面積(AUC)。將從共培養開始到結束的正常化細胞指數數據用於 AUC 分析。將各治療組的 AUC 正常化至經

bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 治療的共培養之 AUC。

*結果*

【0727】圖 16A 係顯示，當與表現其同源抗原的腫瘤細胞共培養時，CD8+ T 細胞上調 CD107a 和 GzmB 表現。圖 16 顯示 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 劑量依賴地增強 CD107a 和 GzmB 表現，而單價對照抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FEAR/CD137-009-HC7LC2-FEAR 並未增加優於非結合對照抗體 bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 的表現量。表 7 係顯示就 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 媒介的 CD107a 和 GzmB 表現增加，$EC_{50}$ 值係在亞奈莫耳範圍內：CD107a 為 0.18 ± 0.10 nM，GzmB 為 0.12 ± 0.02 nM (n=5 至 6 個供體的平均值 ± 標準差)。在 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 濃度為 0.2 和 0.8 μg/mL 時，相較於二種單價對照抗體，CD107a 和 GzmB 表現量的增加為統計上顯著的。

【0728】圖 17 係顯示抗原 - 刺激的 CD8+ T 細胞對 MDA-MB-231_hCLDN6_hEpCAM 細胞展現出細胞毒性之活性，如相較於單獨培養的腫瘤細胞，與非結合對照抗體 bsIgG1-b12-FERL/b12-FEAR 處理的 $CD8^+$T-細胞 / 腫瘤細胞共培養之較低的細胞指數值所示。相較於 bsIgG-b12-FERL/b12-FEAR，bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 劑量依賴地增強 CD8+ T 細胞媒介的細胞毒性之活性，其中在濃度≥0.2 μg/mL 時觀察到的最大效應。相反的，單價對照抗體 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/b12-FEAR 和 bsIgG1-b12-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 對細胞毒性之活性並無明顯效應。在 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 濃度為 0.2 和 0.8μg/mL 時，相較於二種單價對照抗體，細胞毒性之活性的增加為統計上顯著的。

*表 7. $CD8^+$ T 細胞的 CD107a 和 GzmB 表現之 $EC_{50}$ 值*

| 供體編號 | $EC_{50}$ CD107a GMFI (μg/mL) | $EC_{50}$ GzmB GMFI (μg/mL) |
|---|---|---|
| 1 | 0.0503 | 0.0179 |
| 2 | 0.0300 | 0.0176 |
| 3 | 0.0217 | 0.0204 |
| 4 | 0.0120 | 0.0121 |
| 5 | N/A[a] | 0.0201 |
| 6 | 0.0210 | 0.0224 |
| 平均±SD (μg/mL) | 0.0270 ± 0.0145 | 0.0184 ± 0.0036 |
| 平均±SD (nM) | 0.1834 ± 0.0986 | 0.1226 ± 0.0237 |

[a] $EC_{50}$值並未測定，因為並未獲得 S 型的劑量反應曲線。

$EC_{50}$=半數最大有效濃度；GMFI=幾何平均螢光強度；GzmB=顆粒酶 B；N/A=不適用；SD=標準差

**實例 14-具有不同 Fc-惰性突變(FER/FEA、FEA/FEA、FER/FER)的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體與 FcγR 和 FcRn 的結合**

【0729】藉由表面電漿共振(SPR)分析 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體中 Fc-惰性突變的不同組合(FER/FEA、FEA/FEA、FER/FER)對 FcγR 和 FcRn 結合的效應。

*方法*

【0730】藉由 SPR 使用 Biacore 8K SPR 系統分析帶有各種 Fc-惰性突變(FER/FEA、FEA/FEA、FER/FER)的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體與固定化人重組 FcγR 變體(FcγRIa、FcγRIIa、FcγRIIb 和 FcγRIIIa)的結合。將 Biacore S 系列感測器晶片 CM5(Cytiva，型號 29104988)根據按照製造商的說明，使用胺偶聯和 His-捕捉套組(Cytiva，型號 BR100050 和型號 29234602)共價塗覆抗-組胺酸(His)抗體。

【0731】將 His-標記的 FcγR 蛋白(表 8)等份以 HBS-EP+(Cytiva，型號 BR100669)稀釋，並用於捕捉至塗覆抗-His 的感測器晶片的表面，其中流速為 10 μL/min 和 60 秒的接觸時間。此舉產生大約 215-365 共振單位(RU)的捕捉量。

【0732】 三個HBS-EP+緩衝液之啟動循環後，使用如表9所示之抗體範圍注射抗體(IgG1-EpCAM-A37-FERL、IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR、bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR,bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR、bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FERR,IgG1-b12)用以產生結合曲線。將在具有捕捉的 FcγR(活性表面)之表面上分析之各樣本亦於無捕捉的 FcγR(參考表面)之平行流式細胞上分析，用作背景校正。

【0733】 在各循環結束時，使用 10 mM 甘胺酸-HCl pH 1.5(Cytiva，型號BR100354)再生表面。使用 Biacore Insight 評估軟體(Cytiva)產生傳感圖，並將四參數邏輯擬合應用於端點測量(結合平台對捕捉後基線)用以計算 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體對具有一野生型 Fc 區之 IgG1-b12 抗體的相對結合。

*表 8.用於 SPR 之重組的人類 FcγR 蛋白*

| 名稱 | 說明 | SinoBiological 型號 | 塗覆濃度 |
|---|---|---|---|
| FcγRIa | CD64 蛋白，人類，重組的(His 標籤)，生物素畫 | 10256-H08S-B | 70 nM |
| FcγRIIa-H131 | CD32A 蛋白，人類，重組的(167 His，His 標籤) | 10374-H08H1 | 160 nM |
| FcγRIIa-R131 | CD32A 蛋白，人類，重組的(167 Arg，His & AVI 標籤)， | 10364-H27H | 70 nM |
| FcγRIIb | CD32B/Fcgr2b 蛋白，人類，重組的(His & AVI 標籤) | 10259-H27H | 70 nM |
| FcγRIIIa-V158 | CD16a 蛋白，人類，重組的(176 Val，His & AVI 標籤) | 10389-H27H1 | 110 nM |
| FcγRIIIa-F158 | CD16a 蛋白，人類，重組的 (ECD，176 Phe，His & AVI 標籤) | 10389-H27H | 150 nM |

*表 9. SPR 中個別的 FcγR 之試驗條件*

| FcγR | 受試的抗體濃度範圍 | | |
|---|---|---|---|
| | 起始濃度(nM) | 最低濃度(nM) | 稀釋倍數 |
| FcγRIa | 3,000 | 0.02 | 1：3 |

| FcγR | 受試的抗體濃度範圍 | | |
|---|---|---|---|
| | 起始濃度(nM) | 最低濃度(nM) | 稀釋倍數 |
| FcγRIIa-H131 | 10,000 | 0.42 | 1：2.5 |
| FcγRIIa-R131 | 10,000 | 0.42 | 1：2.5 |
| FcγRIIb | 10,000 | 4.88 | 1：2 |
| FcγRIIIa-V158 | 10,000 | 0.06 | 1：3 |
| FcγRIIIa-F158 | 10,000 | 0.42 | 1：2.5 |

【0734】在一個別的實驗中，係以 SPR，使用具有下列改變之上述方法的動力學分析，試驗與新生兒 Fc 受體(FcRn)的結合。將 His-標記的 FcRn(SinoBiological，型號 CT009-H08H-B)以 PBS-P+緩衝液(Cytiva，型號 28995084)稀釋成 5 nM(pH 6.0)或 7.3 nM(pH 7.4)。IgG1-b12 的抗體濃度曲線為 0-100 nM，而 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR、IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR 為 0-500 nM。於 pH 6.0(在酸性條件下，IgG 與 FcRn 結合)進行實驗三次，及於 pH 7.4 進行二次(預計在此 pH 不會與 IgG 結合)。

*結果*

【0735】圖 18 係顯示偵測到 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR、bsIgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAL/EpCAM-A37-FEAR、bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009- HC7LC2-FERR 與 FcγRIa、FcγRIIa(H131 或 R131 變體)、FcγRIIb 和 FcγRIIIa(F158 或 V158 變體)無結合。此外，單株抗體 IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR 亦未顯示與這些 FcγR 的任何結合。相反的，陽性對照抗體 IgG1-b12 則顯示與所有受試 FcγR 劑量依賴的結合。

【0736】表 10 係顯示 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR、IgG1-EpCAM-A37-FERL 和 IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR 保留與 FcRn 的結合，其中平均結合親和力($K_D$)分別為 312 nM、230 nM 和 375 nM。具有野生型 IgG1 骨架的 IgG1-b12 親和力經測定為 29 nM($K_D$)。在 pH 7.4 時，並未觀察到任何受試抗體與 FcRn 結合。

【0737】總結，含有不同惰性突變(FER/FEA、FEA/FEA 或 FER/FER)的 EpCAMx4-1BB 雙特異性抗體經由 SPR 均未顯示與 FcγR 結合，同時保留與 FcRn 結合。

*表 10.具有不同 Fc-惰性突變(FER/FEA、FEA 或 FER)之抗體與 FcRn 的結合*

| 抗體 | **結合常數 ($k_a$)($M^{-1}s^{-1}$)** | **解離常數 ($k_d$) ($s^{-1}$)** | **平均結合親和力 ($K_D$)** |
|---|---|---|---|
| bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR | 1.59E+05 | 4.89E-02 | 312 nM |
| IgG1-EpCAM-A37-FERL | 1.80E+05 | 4.13E-02 | 230 nM |
| IgG1-CD137-009-HC7LC2-FEAR | 1.43E+05 | 5.39E-02 | 375 nM |
| IgG1-b12 | 1.10E+06 | 3.22E-02 | 29 nM |

**實例 15-bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 在食蟹獼猴中的非臨床毒理學研究**

【0738】在食蟹獼猴中進行一 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 的毒理學評估。藉由檢驗臨床徵象、體重、ECG、毒物動力學、免疫分型、臨床化學參數(包括脂肪酶和澱粉酶)、大體解剖和組織病理學來評估毒性。初步結果指出，當 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 以每周靜脈注射高達 5 次時，至高 50 mg/kg 的劑量為耐受性良好的。僅在第三次和隨後的輸注後 4 小時觀察到血漿 IL-6、MCP-1 和 MIP-1b 量的非-不良過渡性增加，其在給藥後 24 小時已解決。總結，就任何受試的參數，在至高 50 mg/kg 的劑量並無不良的效應，且因此看來 bsIgG1-EpCAM-A37-FERL/CD137-009-HC7LC2-FEAR 產生了可接受的非臨床安全性樣貌，支持其在首次人體臨床試驗中的進一步試驗。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

無

```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing  dtdVersion="V1_3" fileName="112044-SeqListing.xml"
softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0" productionDate="2023-09-
07">
 <ApplicantFileReference>674-448 PCT2</ApplicantFileReference>
 <EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>EP</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>PCT/EP2022/056734</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2022-03-15</FilingDate>
 </EarliestPriorityApplicationIdentification>
 <ApplicantName languageCode="zh">丹麥商健瑪寶股份有限公司</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>Genmab A/S</ApplicantNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="zh">與EPCAM和CD137結合之結合劑</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>98</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q1">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>VH</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQ
KFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q3">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>VH_CDR1</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGTFSSYA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <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_quals>
     <INSDQualifier id="q5">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VH_CDR2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <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>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IIPIFGTA</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
 <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_quals>
     <INSDQualifier id="q7">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VH_CDR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <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>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ARDPFLHY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="5">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>108</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q9">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VL</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..108</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q10">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQTISNNYLAWYQQKRGQAPRLLIYAASSRATGIPDR
FSGTGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCAQGELYPRQFGGGTKLEIK</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="6">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q11">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VL_CDR1</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q12">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QTISNNY</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="7">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length/>
    <INSDSeq_moltype/>
    <INSDSeq_division/>
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="8">
   <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_quals>
     <INSDQualifier id="q15">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VL_CDR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q16">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AQGELYPRQ</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>444</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q17">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q18">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQ
KFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence
>
    </INSDSeq>
   </SequenceData>
   <SequenceData sequenceIDNumber="10">
    <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_quals>
       <INSDQualifier id="q19">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q20">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQTISNNYLAWYQQKRGQAPRLLIYAASSRATGIPDR
FSGTGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCAQGELYPRQFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDS
eq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="11">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>117</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q21">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>VH</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..117</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q22">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMSWVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAAS
VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFDLWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q23">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>VH_CDR1</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
```

```
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q24">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFSLNDYW</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="13">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q25">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VH_CDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
```

```
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q26">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>IDVGGSL</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="14">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q27">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VH_CDR3</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
```

```
      <INSDQualifier id="q28">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>ARGGLTYGFDL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q29">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VL</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q30">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDISSYLAWYQQKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRF
SASGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="16">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q31">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>VL_CDR1</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>EDISSY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q35">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VL_CDR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <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>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
```

```
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>HYYATISGLGVA</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="19">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q37">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..446</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <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>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMSWVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAAS
VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
```

SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="20">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>217</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q39">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<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>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASEDISSYLAWYQQKPGKAPKRLIYGASDLASGVPSRFSASGSGTDYTFTISSLQPEDIATYYCHYYATISGLGVAFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="21">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q41">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGE
DFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT
HTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequenc
e>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q43">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPHLLIYQMSNLASG
VPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN
NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</I
NSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="23">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q45">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<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>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGE
DFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT
HTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequenc
e>
</INSDSeq>

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q47">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGE
DFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG
CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKT
HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequenc
e>
```

```
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="25">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>444</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q49">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQ
KFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_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_quals>
      <INSDQualifier id="q51">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..218</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIELTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASG
VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTFTFGPGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN
FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</IN
SDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="27">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>444</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q53">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<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>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIVPIFGTANYAQ
KFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence
>
</INSDSeq>

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="28">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q55">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIELTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR
FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCAQGELYPRQFGGGTKLDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDS
eq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="29">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>444</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q57">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..444</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQ
KFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARDPFLHYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC
LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTH
TCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS
VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence
>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="30">
<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_quals>
<INSDQualifier id="q59">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..446</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<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>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFSLNDYWMSWVRQAPGKGLEWVGYIDVGGSLYYAAS
VKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCARGGLTYGFDLWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAL
GCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDK
THTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequen
ce>
</INSDSeq>

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="31">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>443</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..443</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q61">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..443</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QSLEESGGRLVTPGTPLTLTCTVSGFSLNDYWMSWVRQAPGKGLEWIGYIDVGGSLYYASWA
KGRFTISRTSTTVDLKMTSLTTEDTATYFCARGGLTYGFDLWGPGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL
VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHT
CPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

```
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="32">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>217</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q63">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..217</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQTPASVSEPVGGTVTINCQASEDISSYLAWYQQKPGQRPKRLIYGASDLASGVPSRF
SASGSGTEYALTISDLESADAATYYCHYYATISGLGVAFGGGTEVVVKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNF
YPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INS
DSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="33">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>448</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..448</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q65">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..448</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QSVEESGGRLVTPGTPLTLTCTASGFTISDFHVTWVRQAPGKGLEWIGTIITSASTTAYATW
ARGRFTISKSSTTVNLKIVSPTTEDTATYFCARSTYTDTSGYYFDFWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
DKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="34">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>220</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q67">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..220</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<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>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AQVLTQTASPVSAAVGGTVIINCQSSQSIYNGNRLSWYQQKPGQPPKLLIYSASTLASGVSS
RFKGSGSGTQFTLAISDVQSDDAATYYCLGSYDCDSADCFAFGGGTEVVVERTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL
NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</
INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="35">
<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_quals>
       <INSDQualifier id="q69">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <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>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAPSS
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSD
Seq_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_quals>
      <INSDQualifier id="q71">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAPSS
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</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_quals>
      <INSDQualifier id="q73">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSSHSIRSRRVAWYQHKPGQAPRLVIHGVSNRASGISDR
FSGSGSGTDFTLTITRVEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP
REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDS
eq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="38">
  <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_quals>
       <INSDQualifier id="q75">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <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>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSASTKGPSVFPLAPSS
KSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSD
Seq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="39">
```

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q77">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q78">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGE
DFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYWGQGTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLG
CLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP
CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVV
SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWTN
NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSDSeq_sequenc
e>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="40">
<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_quals>
<INSDQualifier id="q79">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..219</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q80">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKNLLHSNGITYLYWYLQKPGQSPHLLIYQMSNLASG
VPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLN
NFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC</I
NSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="41">
<INSDSeq>

<INSDSeq_length>445</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q81">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..445</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q82">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVRQASGEGLKWMGWINTYTGEPTYGE
DFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARFGNYVDYWGQGTTLTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLG
CLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKP
CPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVV
SALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTN
NGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSDSeq_sequenc
e>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="42">

```
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>453</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..453</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q83">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..453</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q84">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EMQLVESGGGLVQPGRSMKLSCAGSGFTLSDYGVAWVRQAPKKGLEWVAYISYAGGTTYYRE
SVKGRFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCTIDGYGGYSGSHWYFDFWGPGTMVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDT
TGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIE
PRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHRED
YNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPE
DIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSDSeq
_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
```

<SequenceData sequenceIDNumber="43">
<INSDSeq>
<INSDSeq_length>213</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..213</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier id="q85">
<INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
<INSDFeature>
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..213</INSDFeature_location>
<INSDFeature_quals>
<INSDQualifier>
<INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q86">
<INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
<INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_quals>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSLLSASVGDRVTLNCRTSQNVYKNLAWYQQKLGEAPKLLIYNANSLQAGIPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCQQYYSGNTFGAGTNLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKD
INVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC</INSDSeq
_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="44">
<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_quals>
       <INSDQualifier id="q87">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q88">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSAKTTAPSVYPLAPVC
GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK
KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTH
REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDF
MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSD
Seq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="45">
```

```
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q89">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Full light chain</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..215</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q90">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EIVLTQSPGTLSLSPGERATFSCRSSHSIRSRRVAWYQHKPGQAPRLVIHGVSNRASGISDR
FSGSGSGTDFTLTITRVEPEDFALYYCQVYGASSYTFGQGTKLERKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYP
KDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC</INSDS
eq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="46">
  <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_quals>
       <INSDQualifier id="q91">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Full heavy chain</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..456</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q92">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCQASGYRFSNFVIHWVRQAPGQRFEWMGWINPYNGNKEFSA
KFQDRVTFTADTSANTAYMELRSLRSADTAVYYCARVGPYSWDDSPQDNYYMDVWGKGTTVIVSSAKTTAPSVYPLAPVC
GDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDK
KIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTH
REDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVKDF
MPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSD
Seq_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_quals>
       <INSDQualifier id="q93">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1 constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q94">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
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_quals>
       <INSDQualifier id="q95">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1-FEA constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q96">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</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_quals>
       <INSDQualifier id="q97">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1-FER constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q98">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</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_quals>
       <INSDQualifier id="q99">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1-F405L constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q100">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</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_quals>
      <INSDQualifier id="q101">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>IgG1-K409R constant region</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q102">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</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_quals>
       <INSDQualifier id="q103">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1-FEAR constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q104">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="53">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q105">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1-FEAL constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q106">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="54">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q107">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG1-FERL constant region</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q108">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEFERGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="55">
   <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_quals>
```

```
      <INSDQualifier id="q109">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>kappa light chain constant
region</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q110">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSK
DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="56">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q111">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>lambda light chain constant
region</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..106</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q112">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQS
NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="57">
  <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_quals>
      <INSDQualifier id="q113">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>IgG2amm-AAKR</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q114">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY
TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMV
TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKP
KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVKDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSRLRVEKKNWVE
RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="58">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q115">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>IgG2amm-AALT</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..329</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q116">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLY
TLSSSVTVTSSTWPSQSITCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISLSPMV
TCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVLTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKALPAPIERTISKP
KGSVRAPQVYVLPPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYLMYSKLTVEKKNWVE
RNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="59">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>314</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..314</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q117">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MAPPQVLAFGLLLAAATATFAAAQEECVCENYKLAVNCFVNNNRQCQCTSVGAQNTVICSKL
AAKCLVMKAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYDPDCDESGLFKAKQCNGTSMCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERVRTY
WIIIELKHKAREKPYDSKSLRTALQKEITTRYQLDPKFITSILYENNVITIDLVQNSSQKTQNDVDIADVAYYFEKDVKG
ESLFHSKKMDLTVNGEQLDLDPGQTLIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVVVIAVVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEI
KEMGEMHRELNA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="60">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>314</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..314</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q118">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Cynomolgus monkey EpCAM</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..314</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q119">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
```

```
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MAPPQVLAFGLLLAAATASFAAAQKECVCENYKLAVNCFLNDNGQCQCTSIGAQNTVLCSKL
AAKCLVMKAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYDPDCDESGLFKAKQCNGTSTCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERVRTY
WIIIELKHKAREKPYDVQSLRTALEEAIKTRYQLDPKFITNILYEDNVITIDLVQNSSQKTQNDVDIADVAYYFEKDVKG
ESLFHSKKMDLRVNGEQLDLDPGQTLIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVVVIAIVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEI
KEMGEIHRELNA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="61">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>315</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..315</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q120">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Mus musculus</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MAGPQALAFGLLLAVVTATLAAAQRDCVCDNYKLATSCSLNEYGECQCTSYGTQNTVICSKL
ASKCLAMKAEMTHSKSGRRIKPEGAIQNNDGLYDPDCDEQGLFKAKQCNGTATCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERVRTY
WIIIELKHKERESPYDHQSLQTALQEAFTSRYKLNQKFIKNIMYENNVITIDLMQNSSQKTQDDVDIADVAYYFEKDVKG
ESLFHSSKSMDLRVNGEPLDLDPGQTLIYYVDEKAPEFSMQGLTAGIIAVIVVVSLAVIAGIVVLVISTRKKSAKYEKAE
IKEMGEIHRELNA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="62">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>255</INSDSeq_length>
```

```
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..255</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q121">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>Homo sapiens</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTC
DICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLD
GKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLY
IFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="63">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>254</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..254</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q122">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>Cynomolgus monkey 4-1BB</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
```

```
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..254</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <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>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDLCSNCPAGTFCDNNRSQICSPCPPNSFSSAGGQRTC
DICRQCKGVFKTRKECSSTSNAECDCISGYHCLGAECSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLD
GKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSATPPAPAREPGHSPQIIFFLALTSTVVLFLLFFLVLRFSVVKRSRKKLLYI
FKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
 <SequenceData sequenceIDNumber="64">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier id="q124">
       <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>VH_CDR1</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <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>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SYAIS</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="65">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier id="q126">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VH_CDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <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>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GIIPIFGTANYAQKFQG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
 <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_quals>
     <INSDQualifier id="q128">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VH_CDR3</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <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>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>DPFLHY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q130">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VL_CDR1</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q131">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RASQTISNNYLA</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="68">
 <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_quals>
     <INSDQualifier id="q132">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VL_CDR2</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <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>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AASSRAT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="69">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q134">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VH_CDR1</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q135">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>DYWMS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="70">
 <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_quals>
       <INSDQualifier id="q136">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VH_CDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q137">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YIDVGGSLYYAASVKG</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="71">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q138">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VH_CDR3</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q139">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GGLTYGFDL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>REGION</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier id="q140">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>VL_CDR1</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
      <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q141">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QASEDISSYLA</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="73">
   <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_quals>
       <INSDQualifier id="q142">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>VL_CDR2</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q143">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>GASDLAS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="74">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="75">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q149">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GYTFTNYG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q151">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>INTYTGEP</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="78">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q153">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>ARFGNYVDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="79">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q155">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>KNLLHSNGITY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="80">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q159">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>AQNLEIPRT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q161">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>NYGMN</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="83">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q163">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>WINTYTGEPTYGEDFKG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="84">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q165">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>FGNYVDY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="85">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
```

```
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q167">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RSSKNLLHSNGITYLY</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="86">
   <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
     <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_quals>
       <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
       <INSDQualifier id="q169">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QMSNLAS</INSDSeq_sequence>
```

```
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="88">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q173">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QSLLHSNGYNY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="89">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
```

```
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="90">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q177">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>MQALQTFT</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="91">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q179">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RSSQSLLHSNGYNYLD</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="92">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q181">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>LGSNRAS</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="93">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
```

```
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q183">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>IVPIFGTA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="94">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q185">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
```

```
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QSVSSSY</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="95">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length/>
  <INSDSeq_moltype/>
  <INSDSeq_division/>
  <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="96">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q189">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>GIVPIFGTANYAQKFQG</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
```

```
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q191">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
    </INSDFeature_quals>
   </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>RASQSVSSSYLA</INSDSeq_sequence>
 </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
 <INSDSeq>
  <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
   <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_quals>
     <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
     </INSDQualifier>
     <INSDQualifier id="q193">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
       </INSDQualifier>
      </INSDFeature_quals>
     </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GASSRAT</INSDSeq_sequence>
   </INSDSeq>
  </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```

# 【發明申請專利範圍】

【請求項1】　一種結合劑，其係包括一與 EpCAM 結合的第一抗原結合區和一與 CD137 結合的第二抗原結合區。

【請求項2】　如請求項 1 之結合劑，其中該 EpCAM 為人類 EpCAM。

【請求項3】　如請求項 1 或 2 之結合劑，其中該 CD137 為人類 CD137。

【請求項4】　如請求項 1 至 3 中任一項之結合劑，其中該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係與表現在腫瘤細胞上的 EpCAM 結合。

【請求項5】　如請求項 1 至 4 中任一項之結合劑，其中該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，而該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：4 所示之序列的 HCDR3 序列。

【請求項6】　如請求項 1 至 5 中任一項之結合劑，其中該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)，該 VH 係包括包含如 SEQ ID NO：3 所示之序列的 HCDR2 序列。

【請求項7】　如請求項1至6中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)，該VH係包括包含如SEQ ID NO：2所示之序列的HCDR1序列。

【請求項8】　如請求項1至7中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列。

【請求項9】　如請求項 1 至 8 中任一項之結合劑，其中該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該 VL 係包括包含如 SEQ ID NO：8 所示之序列的 LCDR3 序列。

【請求項10】　如請求項 1 至 9 中任一項之結合劑，其中該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該 VL 係包括包含如 SEQ ID NO：7

所示之序列的 LCDR2 序列。

【請求項11】　如請求項1至10中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該VL係包括一包含如SEQ ID NO：6所示之序列的LCDR1序列。

【請求項12】　如請求項1至11中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列。

【請求項13】　如請求項1至12中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)和包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列。

【請求項14】　如請求項1至13中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括一重鏈可變區(VH)，該VH係包括與如SEQ ID NO：1所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【請求項15】　如請求項1至14中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括包含如SEQ ID NO：1所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【請求項16】　如請求項1至15中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該VL係包括一與如SEQ ID NO：5所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【請求項17】　如請求項1至16中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括包含如SEQ ID NO：5所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【請求項18】　如請求項1至17中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：1所示之序列及該VL係包括如SEQ ID NO：5所示之序列。

【請求項19】　如請求項 1 至 18 中任一項之結合劑，其中該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區係包括抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如請求項 5 至 18 中任一項所示之重鏈可變區(VH)及/或輕鏈可變區(VL)之抗體相競爭與 EpCAM 結合及/或對該抗體之 EpCAM 具有特異性。

【請求項20】　如請求項 1 至 19 中任一項之結合劑，其中該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)，該 VH 係包括包含如 SEQ ID NO：14 所示之序列的 HCDR3 序列。

【請求項21】　如請求項 1 至 20 中任一項之結合劑，其中該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)，該 VH 係包括一包含如 SEQ ID NO：13 所示之序列的 HCDR2 序列。

【請求項22】　如請求項1至21中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)，該VH係包括一包含如SEQ ID NO：12所示之序列的HCDR1序列。

【請求項23】　如請求項1至22中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列。

【請求項24】　如請求項 1 至 23 中任一項之結合劑，其中該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：18 所示之序列的 LCDR3 序列。

【請求項25】　如請求項 1 至 24 中任一項之結合劑，其中該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該 VL 係包括一包含如 SEQ ID NO：

17所示之序列的LCDR2序列。

【請求項26】　如請求項1至25中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括輕鏈可變區(VL)，該VL係包括包含如SEQ ID NO：16所示之序列的LCDR1序列。

【請求項27】　如請求項1至26中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【請求項28】　如請求項1至27中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，和包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【請求項29】　如請求項1至28中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)，該VH係包括與如SEQ ID NO：11所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【請求項30】　如請求項1至29中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括一包含如SEQ ID NO：11所示之序列的重鏈可變區(VH)。

【請求項31】　如請求項1至30中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區 係包括一輕鏈可變區(VL)，該VL係包括與如SEQ ID NO：15所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性的序列。

【請求項32】　如請求項1至31中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括包含如SEQ ID NO：15所示之序列的輕鏈可變區(VL)。

【請求項33】　如請求項1至32中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的第二抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列及該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【請求項34】　如請求項 1 至 33 中任一項之結合劑，其中該與 CD137 結合的第二抗原結合區係包括抗體的重鏈和輕鏈可變區，其係與包括如請求項 20 至 33 中任一項所示之重鏈可變區及/或輕鏈可變區之抗體相競爭與 CD137 結合及/或對該抗體之 CD137 具有特異性。

【請求項35】　如請求項1至34中任一項之結合劑，其中

a)　該與EpCAM結合的第一抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列；及

b)　該與CD137結合的第二抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)以及包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【請求項36】　如請求項 1 至 35 中任一項之結合劑，其中該結合劑為全長抗體或抗體片段之形式。

【請求項37】　如請求項 1 至 36 中任一項之結合劑，其中該結合劑係包括 Fc 區。

【請求項38】　如請求項 1 至 37 中任一項之結合劑，其中該結合劑為一多特異性，例如雙特異性結合劑。

【請求項39】　如請求項 1 至 38 中任一項之結合劑，其中該結合劑為雙特

異性、二價的結合劑。

【請求項40】　如請求項 1 至 39 中任一項之結合劑，其不包括該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區以外之與 EpCAM 結合的抗原結合區，且不包括該與 CD137 結合的第二抗原結合區以外之與 CD137 結合的抗原結合區。

【請求項41】　如請求項 1 至 40 中任一項之結合劑，其中該結合劑為抗體，其係包括包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i)　包含第一重鏈可變區(VH)和第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii)　包含第一輕鏈可變區(VL)和第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii)　包含第二重鏈可變區(VH)和第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv)　包含第二輕鏈可變區(VL)和 第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【請求項42】　如請求項 41 之結合劑，其中

該第一 VH 係包含第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列且該第一 VL 係包含第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之序列，而第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列；及

該第二 VH 係包含第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列且該第二 VL 係包含第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列。

【請求項43】　如請求項 41 或 42 之結合劑，其中

該第一 VH 係包括與 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，而該第一

VL 係包括與 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及

該第二 VH 係包括與 SEQ ID NO:11 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，而該第二 VL 係包括與 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【請求項44】　如請求項 41 至 43 中任一項之結合劑，其中

該第一 VH 係包括如 SEQ ID NO:1 所示之胺基酸序列且該第一 VL 係包括如 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列；及

該第二 VH 係包括如 SEQ ID NO:11 所示之胺基酸序列且該第二 VL 係包括如 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列。

【請求項45】　如請求項 41 至 44 中任一項之結合劑，其中各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括下列一或多個：恆定重鏈 1 (CH1)區、絞鏈區、恆定重鏈 2 (CH2)區和恆定重鏈 3 (CH3)區，較佳地至少絞鏈區、CH2 區和 CH3 區。

【請求項46】　如請求項 41 至 45 中任一項之結合劑，其中各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【請求項47】　如請求項 41 至 46 中任一項之結合劑，其中(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【請求項48】　如請求項 41 至 47 中任一項之結合劑，其中相較於包括相同第一和第二抗原結合區以及包含人類 IgGl 絞鏈、CH2 和 CH3 區之二個重鏈恆定區(CH)的另外抗體，該結合劑在較小程度上引發 Fc-媒介的效應子功能。

【請求項49】　如請求項 41 至 48 中任一項之結合劑，其中該第一和第二重鏈恆定區(CH)係經修飾，使得相較於除了包括未修飾的第一和第二重鏈恆定區(CH)之外的相同抗體，該抗體引發 Fc-媒介的效應子功能的程度更小。

【請求項50】　如請求項 41 至 49 中任一項之結合劑，其中在至少一個該第一和第二重鏈恆定區(CH)中，根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235、D265、N297、P331 和 G236 之位置中的一個或多個胺基酸分別不為 L、L、D、N、P 和 G。

【請求項51】　如請求項 50 之結合劑，其中根據 EU 編號，在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈中分別為 F 和 E。

【請求項52】　如請求項 50 或 51 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及/或根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R。

【請求項53】　如請求項 50 至 52 中任一項之結合劑，其中

(i) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F、E 和 A；

(ii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F、E 和 R；或

(iii) 根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在其中一個該第一和第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在另一個該第一和第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【請求項54】　如請求項 50 至 53 中任一項之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234 和 L235 的位置在該第一和第二重鏈恆定區二者中分別為 F 和 E，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對

應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【請求項55】　如請求項 50 至 54 中任一項之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【請求項56】　如請求項 50 至 55 中任一項之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【請求項57】　如請求項 41 至 56 中任一項之結合劑，其中

a)　該第一重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO:54 所示的胺基酸序列；及

b)　該第二重鏈的恆定區係包括 SEQ ID NO:52 所示的胺基酸序列。

【請求項58】　如請求項 1 至 57 中任一項之結合劑，其中該結合劑為一抗體，其係包括包含該與 EpCAM 結合的第一抗原結合區之第一結合臂和包含該與 CD137 結合的第二抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含第一重鏈可變區(VH)和第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含第一輕鏈可變區(VL)和第一輕鏈恆定區(CL)之多肽，

其中該第一 VH 係包含第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第一 VL 係包含第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之序列，而第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列；

及該第二結合臂係包括

iii) 包含第二重鏈可變區(VH)和第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含第二輕鏈可變區(VL)和第二輕鏈恆定區(CL)之多肽；

其中該第二 VH 係包含第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列而該第二 VL 係包含第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列；

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 G236 在第一 CH 中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中位置 L234、L235 和 D265 在第二 CH 中分別為 F、E 和 A；及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中在對應 F405 位置中的胺基酸在第一 CH 中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置中的胺基酸在第二 CH 中為 R。

【請求項59】 如請求項 1 至 58 中任一項之結合劑，其係包括

i) 第一重鏈，其係包括與 SEQ ID NO：9 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列

ii) 第一輕鏈，其係包括與 SEQ ID NO：10 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列，

iii) 第二重鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列具有至少 80%、

至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列；及

iv) 第二輕鏈，其係包括一與 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性的胺基酸序列。

【請求項60】 如請求項 1 至 59 中任一項之結合劑，其係包括

i) 第一重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：9 所示之胺基酸序列，

ii) 第一輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：10 所示之胺基酸序列，

iii) 第二重鏈，其係包括如 SEQ ID NO：19 所示之胺基酸序列；及

iv) 第二輕鏈，其係包括如 SEQ ID NO：20 所示之胺基酸序列。

【請求項61】 一種結合劑，其係包括第一結合臂以及第二結合臂，該第一結合臂係包括第一抗原結合區和包含恆定重鏈 2 (CH2)區之第一重鏈恆定區，該第二結合臂係包括第二抗原結合區和包含恆定重鏈 2(CH2)之第二重鏈恆定區，其中該第一和第二抗原結合區之至少一個係與 EpCAM 結合，及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在至少其中一個該第一和第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【請求項62】 如請求項 61 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【請求項63】 如請求項 61 或 62 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區二者中分別為 F、E 和 R。

【請求項64】 如請求項 61 或 62 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一或第二重鏈恆定區之一個中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一或第二重鏈恆定區之另一個中分別為 F、E 和 A。

【請求項65】　如請求項 61 至 64 中任一項之結合劑，其中該第一和第二抗原結合區二者係與 EpCAM 結合。

【請求項66】　如請求項 61 至 64 中任一項之結合劑，其中該第一和第二抗原結合區之一個係與 EpCAM 結合，而該第一和第二抗原結合區之另一個係與 EpCAM 以外的抗原結合。

【請求項67】　如請求項 61 至 64 和 66 中任一項之結合劑，其中該第一和第二抗原結合區之一個係與 EpCAM 結合，而該第一和第二抗原結合區之另一個係與 CD137 結合。

【請求項68】　一種結合劑，其係包括第一結合臂以及第二結合臂，該第一結合臂係包括第一抗原結合區和包含恆定重鏈 2 (CH2)區之第一重鏈恆定區，該第二結合臂係包括一第二抗原結合區和包含恆定重鏈 2 (CH2)之第二重鏈恆定區，

其中該第一和第二抗原結合區之至少一個係與 CD137 結合，及

其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區之至少一個中分別為 F、E 和 R。

【請求項69】　如請求項 68 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區中分別為 F、E 和 R。

【請求項70】　如請求項 68 或 69 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區二者中分別為 F、E 和 R。

【請求項71】　如請求項 68 或 69 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區之一個中分別為 F、E 和 R，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第一及/或第二重鏈恆定區之另一個中分別為 F、E 和 A。

【請求項72】　如請求項68至71中任一項之結合劑，其中該第一和第二抗原結合區二者係與CD137結合。

【請求項73】　如請求項68至71中任一項之結合劑，其中，其中一個該第一和第二抗原結合區係與CD137結合而另一個該第一和第二抗原結合區係與CD137以外的抗原結合。

【請求項74】　如請求項68至71和73中任一項之結合劑，其中，該第一和第二抗原結合區之一個係與CD137結合而該第一和第二抗原結合區之另一個係與EpCAM結合。

【請求項75】　如請求項61至67和74中任一項之結合劑，其中該EpCAM為人類EpCAM。

【請求項76】　如請求項61至67、74和75中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的抗原結合區係與表現在腫瘤細胞上的EpCAM結合。

【請求項77】　如請求項61至67和74至76中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列。

【請求項78】　如請求項61至67和74至77中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括與如SEQ ID NO：1所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性之序列，而該VL係包括與如SEQ ID NO：5所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性之序列。

【請求項79】　如請求項61至67和74至78中任一項之結合劑，其中該與EpCAM結合的抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其中該

VH係包括如SEQ ID NO：1所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：5所示之序列。

【請求項80】　如請求項67至79中任一項之結合劑，其中該CD137為人類CD137。

【請求項81】　如請求項67至80中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【請求項82】　如請求項67至81中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括與如SEQ ID NO：11所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性之序列，而該VL係包括與如SEQ ID NO：15所示之序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%相同性之序列。

【請求項83】　如請求項67至82中任一項之結合劑，其中該與CD137結合的抗原結合區係包括重鏈可變區(VH)和輕鏈可變區(VL)，其中該VH係包括如SEQ ID NO：11所示之序列，而該VL係包括如SEQ ID NO：15所示之序列。

【請求項84】　如請求項61至64、66至71和73至83中任一項之結合劑，其係包括與EpCAM結合的抗原結合區和與CD137結合的抗原結合區，其中

a)　該與EpCAM結合的抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：2、3和4所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：6、7和8所示之序列；及

b) 該與CD137結合的抗原結合區係包括包含HCDR1、HCDR2和HCDR3序列的重鏈可變區(VH)，以及包含LCDR1、LCDR2和LCDR3序列的輕鏈可變區(VL)，其中該HCDR1、HCDR2和HCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：12、13和14所示之序列，而該LCDR1、LCDR2和LCDR3序列分別包括如SEQ ID NO：16、17和18所示之序列。

【請求項85】 如請求項 61 至 84 中任一項之結合劑，其中該結合劑為二價結合劑。

【請求項86】 如請求項 61 至 85 中任一項之結合劑，其中該結合劑係包括 Fc 區。

【請求項87】 如請求項61至86中任一項之結合劑，其中該結合劑為抗體，例如全長抗體之形式。

【請求項88】 如請求項 61 至 64、66 至 71 和 73 至 87 中任一項之結合劑，其係包括包含與 EpCAM 結合的抗原結合區之第一結合臂，和包含與 CD137 結合的抗原結合區之第二結合臂，其中

該第一結合臂係包括

i) 包含第一重鏈可變區(VH)和第一重鏈恆定區(CH)之多肽，及

ii) 包含第一輕鏈可變區(VL)和第一輕鏈恆定區(CL)之多肽；

而該第二結合臂係包括

iii) 包含第二重鏈可變區(VH)和第二重鏈恆定區(CH)之多肽，及

iv) 包含第二輕鏈可變區(VL)和第二輕鏈恆定區(CL)之多肽。

【請求項89】 如請求項 88 之結合劑，其中

該第一 VH 係包括第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列且該第一 VL 係包括第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第一 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：2、3 和 4 所示之序列，而該第一 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：6、7 和 8 所示之序列；及

該第二 VH 係包括第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列且該第二 VL 係包括第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列，其中該第二 HCDR1、HCDR2 和 HCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：12、13 和 14 所示之序列，而該第二 LCDR1、LCDR2 和 LCDR3 序列分別包括如 SEQ ID NO：16、17 和 18 所示之序列。

【請求項90】　如請求項 88 或 89 之結合劑，其中

該第一 VH 係包括一與 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，而該第一 VL 係包括一與 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列；及

該第二 VH 係包括一與 SEQ ID NO：11 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列，而該第二 VL 係包括一與 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列具有至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 97%，或至少 99%相同性之胺基酸序列。

【請求項91】　如請求項 88 至 90 中任一項之結合劑，其中

該第一 VH 係包括如 SEQ ID NO：1 所示之胺基酸序列，而該第一 VL 係包括如 SEQ ID NO：5 所示之胺基酸序列；及

該第二 VH 係包括如 SEQ ID NO：11 所示之胺基酸序列，而該第二 VL 係包括如 SEQ ID NO：15 所示之胺基酸序列。

【請求項92】　如請求項 61 至 91 中任一項之結合劑，其中各第一和第二重鏈恆定區(CH)係包括 CH3 區且其中此二個 CH3 區係包括不對稱突變。

【請求項93】　如請求項 92 之結合劑，其中(i)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 L，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第二重鏈恆定區(CH)中為 R，或(ii)根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 位置的胺基酸在該第一重鏈恆定區(CH)中為 R，而根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 位置的胺基酸在

該第二重鏈恆定區(CH)中為 L。

【請求項94】 如請求項 92 或 93 之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中(i)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，或(ii)根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L。

【請求項95】 如請求項 92 至 94 中任一項之結合劑，其中根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 D265 的位置在該第二重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 A，及根據 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應位置 L234、L235 和 G236 的位置在該第一重鏈恆定區(HC)中分別為 F、E 和 R，且其中根據第一重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 F405 的位置為 L，及根據第二重鏈恆定區之 EU 編號在人類 IgGl 重鏈中對應 K409 的位置為 R。

【請求項96】 一種多核苷酸或一組多核苷酸，其係編碼如請求項 1 至 95 中任一項之結合劑。

【請求項97】 一種醫藥組成物，其係包括如請求項 1 至 95 中任一項之結合劑或如請求項 96 之多核苷酸。

【請求項98】 一種用於治療對象的方法，其係包括投予該對象如請求項 1 至 95 中任一項之結合劑或如請求項 96 之多核苷酸或如請求項 97 之醫藥組成物。

【請求項99】 如請求項 98 之方法，其為於對象中治療或防止癌症的方法。

【請求項100】 如請求項 99 之方法，其中該對象為人類。

【請求項101】 如請求項 1 至 95 中任一項之結合劑、如請求項 96 之多核苷

酸或如請求項 97 之醫藥組成物，係作為醫藥用途，例如用作為醫藥品。

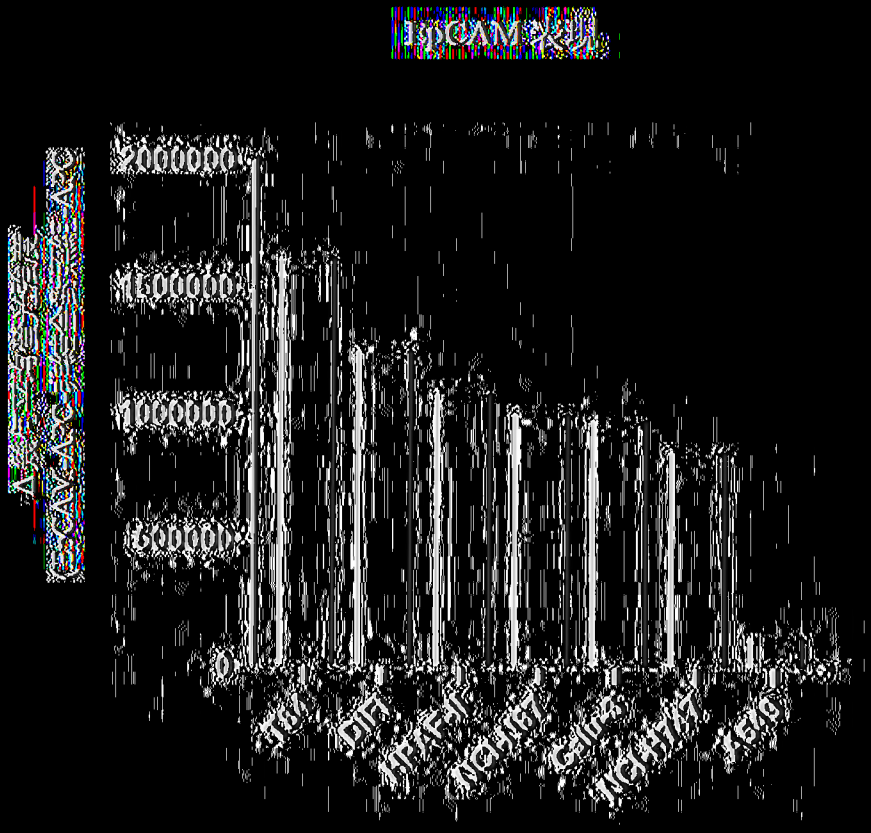
【請求項102】 如請求項 101 之結合劑、多核苷酸或醫藥組成物，係用於治療性或預防性治療疾病或病症。

【請求項103】 如請求項 102 之結合劑、多核苷酸或醫藥組成物，其中該疾病或病症為癌症。

【請求項104】 如請求項 1 至 95 中任一項之結合劑、如請求項 96 之多核苷酸或如請求項 97 之醫藥組成物係用於對象中治療或防止癌症。

【請求項105】 如請求項 104 之結合劑、多核苷酸或醫藥組成物，其中該對象為人類。

# [(發明)圖式]


PROGRAM 程式
2000000
1500000
1000000
500000
0
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
190
200
210
220
230
240
250
260
270
280
290
300
310
320
330
340
350
360
370
380
390
400
410
420
430
440
450
460
470
480
490
500
510
520
530
540
550
560
570
580
590
600
610
620
630
640
650
660
670
680
690
700
710
720
730
740
750
760
770
780
790
800
810
820
830
840
850
860
870
880
890
900
910
920
930
940
950
960
970
980
990
1000
1010
1020
1030
1040
1050
1060
1070
1080
1090
1100
1110
1120
1130
1140
1150
1160
1170
1180
1190
1200
1210
1220
1230
1240
1250
1260
1270
1280
1290
1300
1310
1320
1330
1340
1350
1360
1370
1380
1390
1400
1410
1420
1430
1440
1450
1460
1470
1480
1490
1500
1510
1520
1530
1540
1550
1560
1570
1580
1590
1600
1610
1620
1630
1640
1650
1660
1670
1680
1690
1700
1710
1720
1730
1740
1750
1760
1770
1780
1790
1800
1810
1820
1830
1840
1850
1860
1870
1880
1890
1900
1910
1920
1930
1940
1950
1960
1970
1980
1990
2000
2010
2020
2030
2040
2050
2060
2070
2080
2090
2100
2110
2120
2130
2140
2150
2160
2170
2180
2190
2200
2210
2220
2230
2240
2250
2260
2270
2280
2290
2300
2310
2320
2330
2340
2350
2360
2370
2380
2390
2400
2410
2420
2430
2440
2450
2460
2470
2480
2490
2500
2510
2520
2530
2540
2550
2560
2570
2580
2590
2600
2610
2620
2630
2640
2650
2660
2670
2680
2690
2700
2710
2720
2730
2740
2750
2760
2770
2780
2790
2800
2810
2820
2830
2840
2850
2860
2870
2880
2890
2900
2910
2920
2930
2940
2950
2960
2970
2980
2990
3000
3010
3020
3030
3040
3050
3060
3070
3080
3090
3100
3110
3120
3130
3140
3150
3160
3170
3180
3190
3200
3210
3220
3230
3240
3250
3260
3270
3280
3290
3300
3310
3320
3330
3340
3350
3360
3370
3380
3390
3400
3410
3420
3430
3440
3450
3460
3470
3480
3490
3500
3510
3520
3530
3540
3550
3560
3570
3580
3590
3600
3610
3620
3630
3640
3650
3660
3670
3680
3690
3700
3710
3720
3730
3740
3750
3760
3770
3780
3790
3800
3810
3820
3830
3840
3850
3860
3870
3880
3890
3900
3910
3920
3930
3940
3950
3960
3970
3980
3990
4000
4010
4020
4030
4040
4050
4060
4070
4080
4090
4100
4110
4120
4130
4140
4150
4160
4170
4180
4190
4200
4210
4220
4230
4240
4250
4260
4270
4280
4290
4300
4310
4320
4330
4340
4350
4360
4370
4380
4390
4400
4410
4420
4430
4440
4450
4460
4470
4480
4490
4500
4510
4520
4530
4540
4550
4560
4570
4580
4590
4600
4610
4620
4630
4640
4650
4660
4670
4680
4690
4700
4710
4720
4730
4740
4750
4760
4770
4780
4790
4800
4810
4820
4830
4840
4850
4860
4870
4880
4890
4900
4910
4920
4930
4940
4950
4960
4970
4980
4990
5000
5010
5020
5030
5040
5050
5060
5070
5080
5090
5100
5110
5120
5130
5140
5150
5160
5170
5180
5190
5200
5210
5220
5230
5240
5250
5260
5270
5280
5290
5300
5310
5320
5330
5340
5350
5360
5370
5380
5390
5400
5410
5420
5430
5440
5450
5460
5470
5480
5490
5500
5510
5520
5530
5540
5550
5560
5570
5580
5590
5600
5610
5620
5630
5640
5650
5660
5670
5680
5690
5700
5710
5720
5730
5740
5750
5760
5770
5780
5790
5800
5810
5820
5830
5840
5850
5860
5870
5880
5890
5900
5910
5920
5930
5940
5950
5960
5970
5980
5990
6000
6010
6020
6030
6040
6050
6060
6070
6080
6090
6100
6110
6120
6130
6140
6150
6160
6170
6180
6190
6200
6210
6220
6230
6240
6250
6260
6270
6280
6290
6300
6310
6320
6330
6340
6350
6360
6370
6380
6390
6400
6410
6420
6430
6440
6450
6460
6470
6480
6490
6500
6510
6520
6530
6540
6550
6560
6570
6580
6590
6600
6610
6620
6630
6640
6650
6660
6670
6680
6690
6700
6710
6720
6730
6740
6750
6760
6770
6780
6790
6800
6810
6820
6830
6840
6850
6860
6870
6880
6890
6900
6910
6920
6930
6940
6950
6960
6970
6980
6990
7000
7010
7020
7030
7040
7050
7060
7070
7080
7090
7100
7110
7120
7130
7140
7150
7160
7170
7180
7190
7200
7210
7220
7230
7240
7250
7260
7270
7280
7290
7300
7310
7320
7330
7340
7350
7360
7370
7380
7390
7400
7410
7420
7430
7440
7450
7460
7470
7480
7490
7500
7510
7520
7530
7540
7550
7560
7570
7580
7590
7600
7610
7620
7630
7640
7650
7660
7670
7680
7690
7700
7710
7720
7730
7740
7750
7760
7770
7780
7790
7800
7810
7820
7830
7840
7850
7860
7870
7880
7890
7900
7910
7920
7930
7940
7950
7960
7970
7980
7990
8000
8010
8020
8030
8040
8050
8060
8070
8080
8090
8100
8110
8120
8130
8140
8150
8160
8170
8180
8190
8200
8210
8220
8230
8240
8250
8260
8270
8280
8290
8300
8310
8320
8330
8340
8350
8360
8370
8380
8390
8400
8410
8420
8430
8440
8450
8460
8470
8480
8490
8500
8510
8520
8530
8540
8550
8560
8570
8580
8590
8600
8610
8620
8630
8640
8650
8660
8670
8680
8690
8700
8710
8720
8730
8740
8750
8760
8770
8780
8790
8800
8810
8820
8830
8840
8850
8860
8870
8880
8890
8900
8910
8920
8930
8940
8950
8960
8970
8980
8990
9000
9010
9020
9030
9040
9050
9060
9070
9080
9090
9100
9110
9120
9130
9140
9150
9160
9170
9180
9190
9200
9210
9220
9230
9240
9250
9260
9270
9280
9290
9300
9310
9320
9330
9340
9350
9360
9370
9380
9390
9400
9410
9420
9430
9440
9450
9460
9470
9480
9490
9500
9510
9520
9530
9540
9550
9560
9570
9580
9590
9600
9610
9620
9630
9640
9650
9660
9670
9680
9690
9700
9710
9720
9730
9740
9750
9760
9770
9780
9790
9800
9810
9820
9830
9840
9850
9860
9870
9880
9890
9900
9910
9920
9930
9940
9950
9960
9970
9980
9990
10000

[(圖1)]

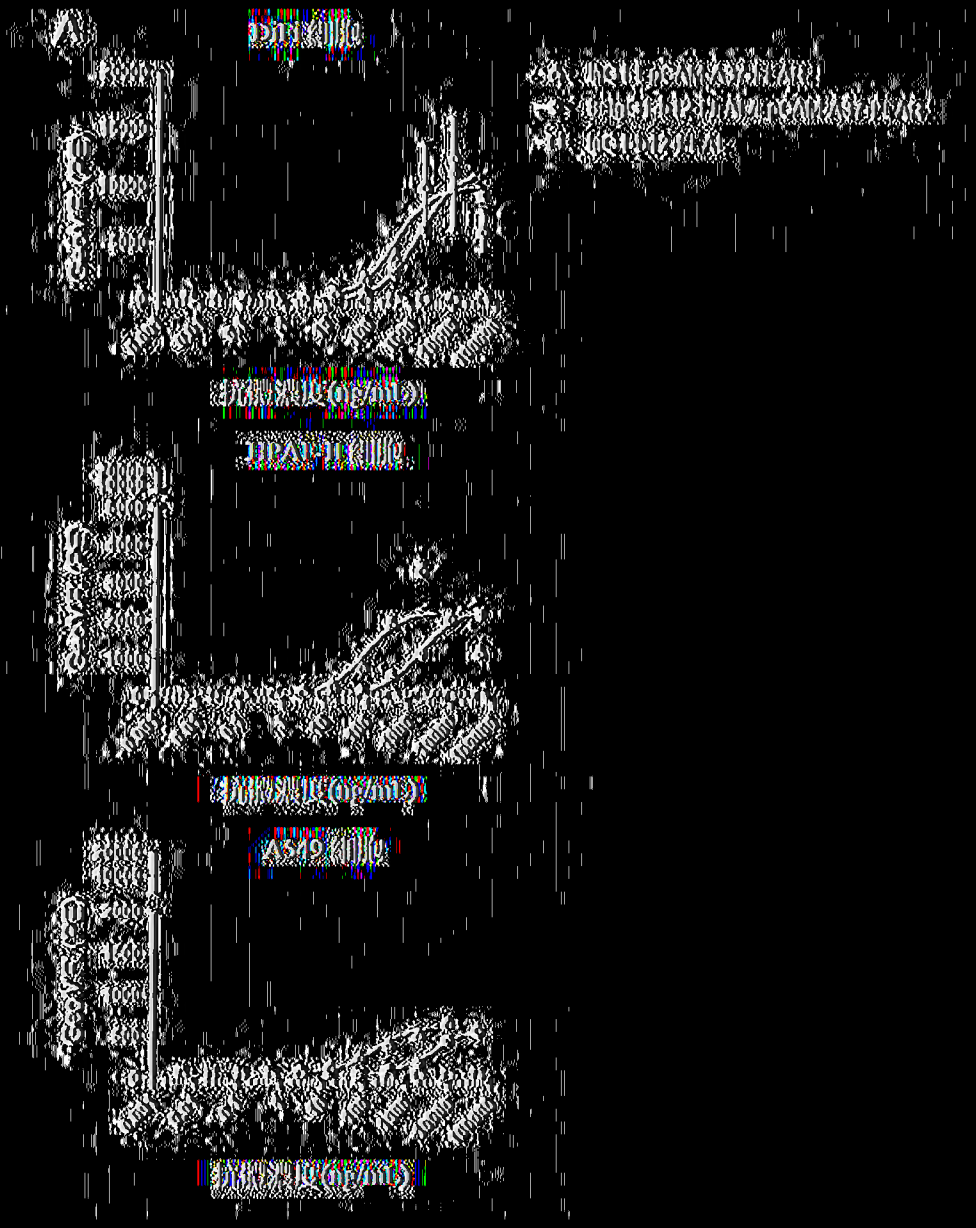


圖2

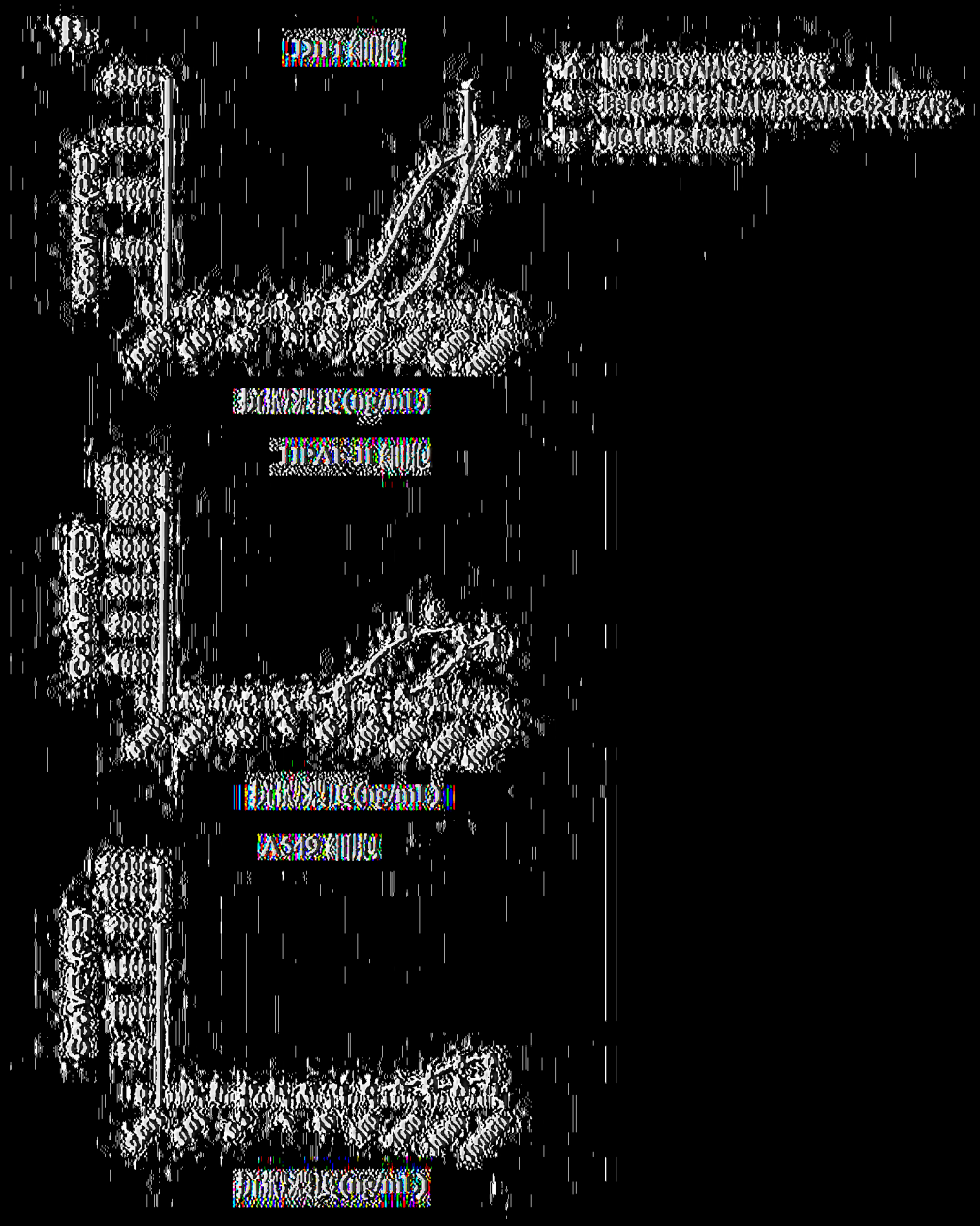


圖2



[圖2.]

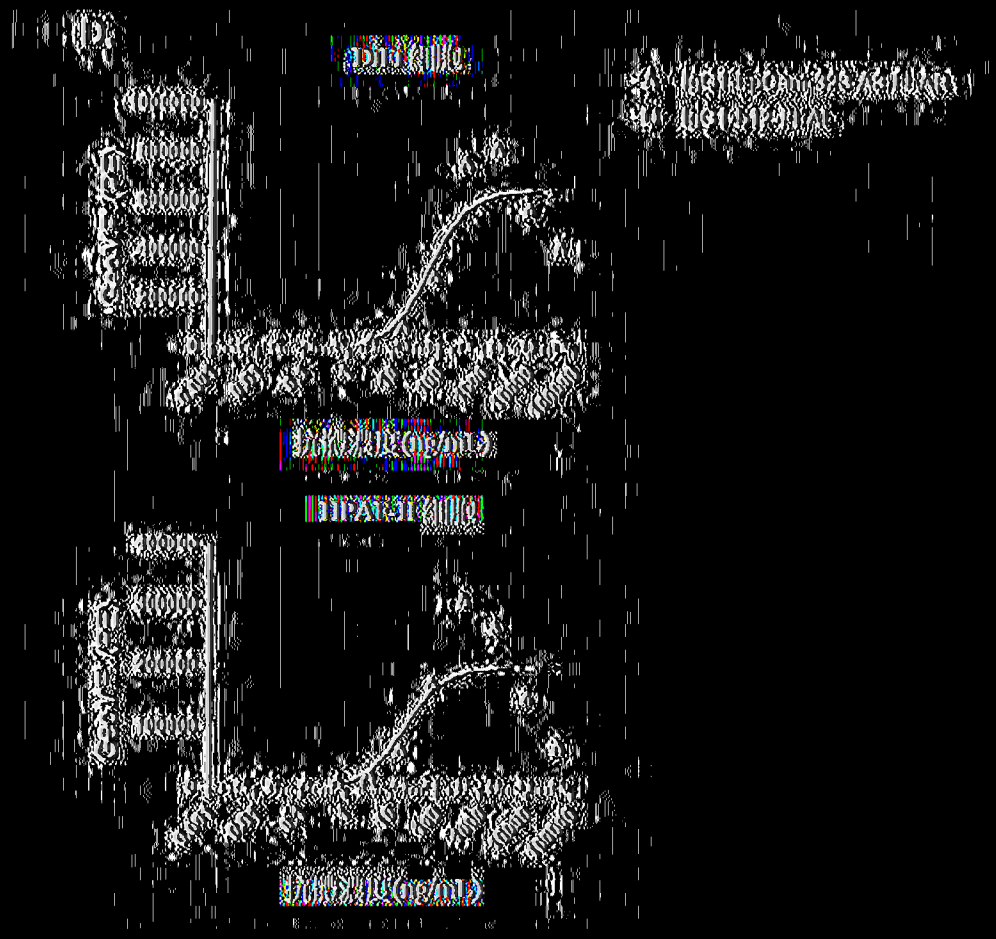


圖2



圖2

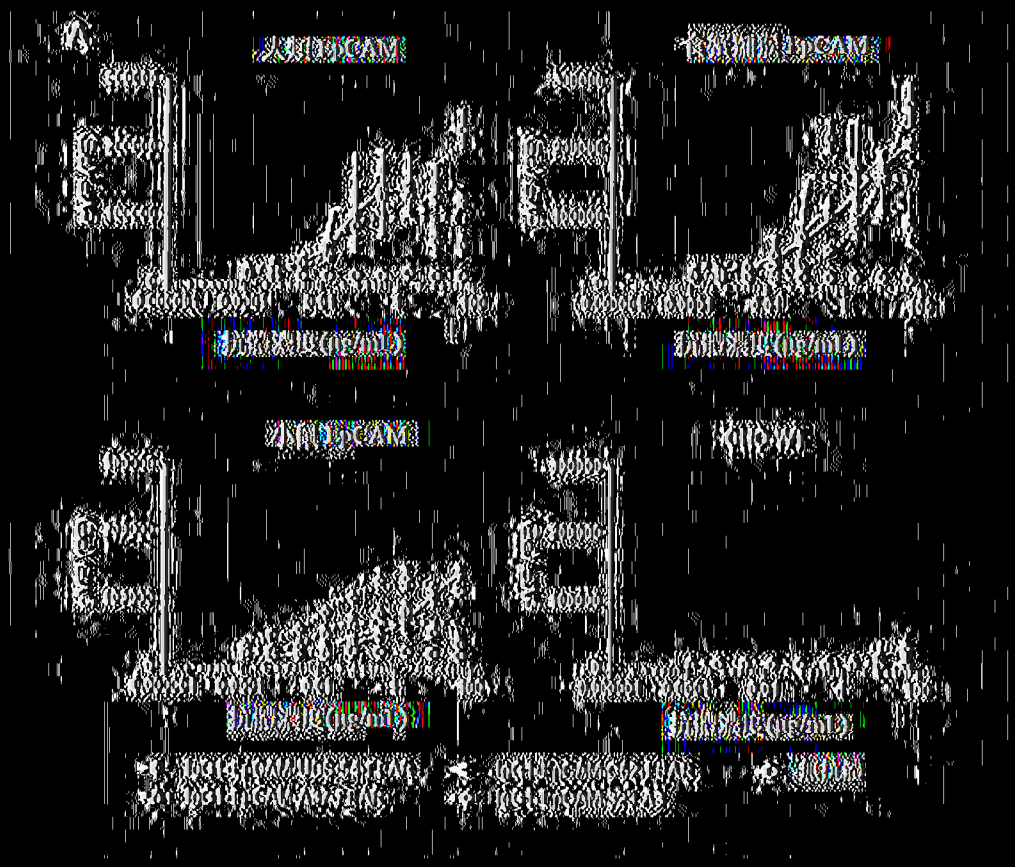


圖3



圖3

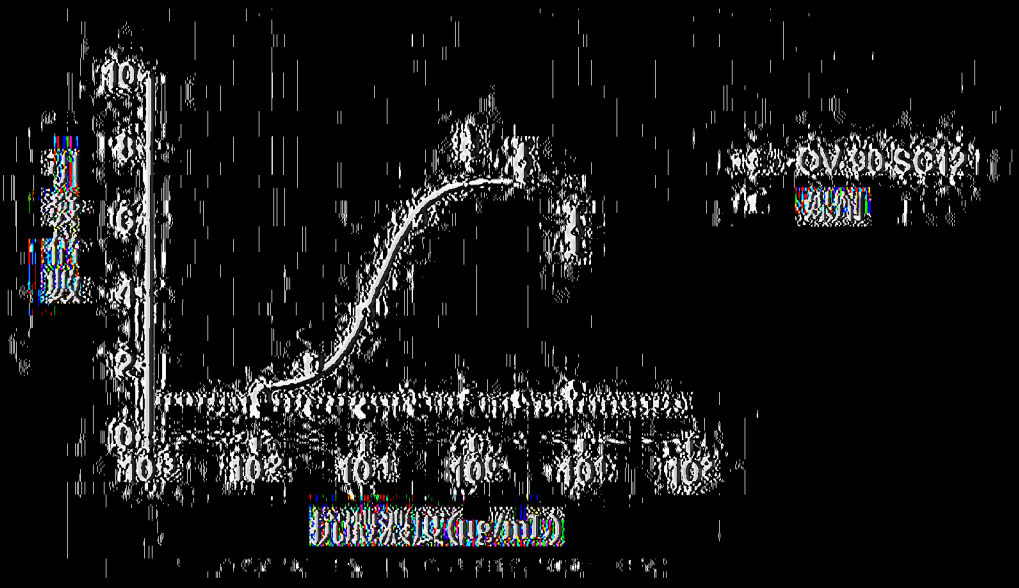
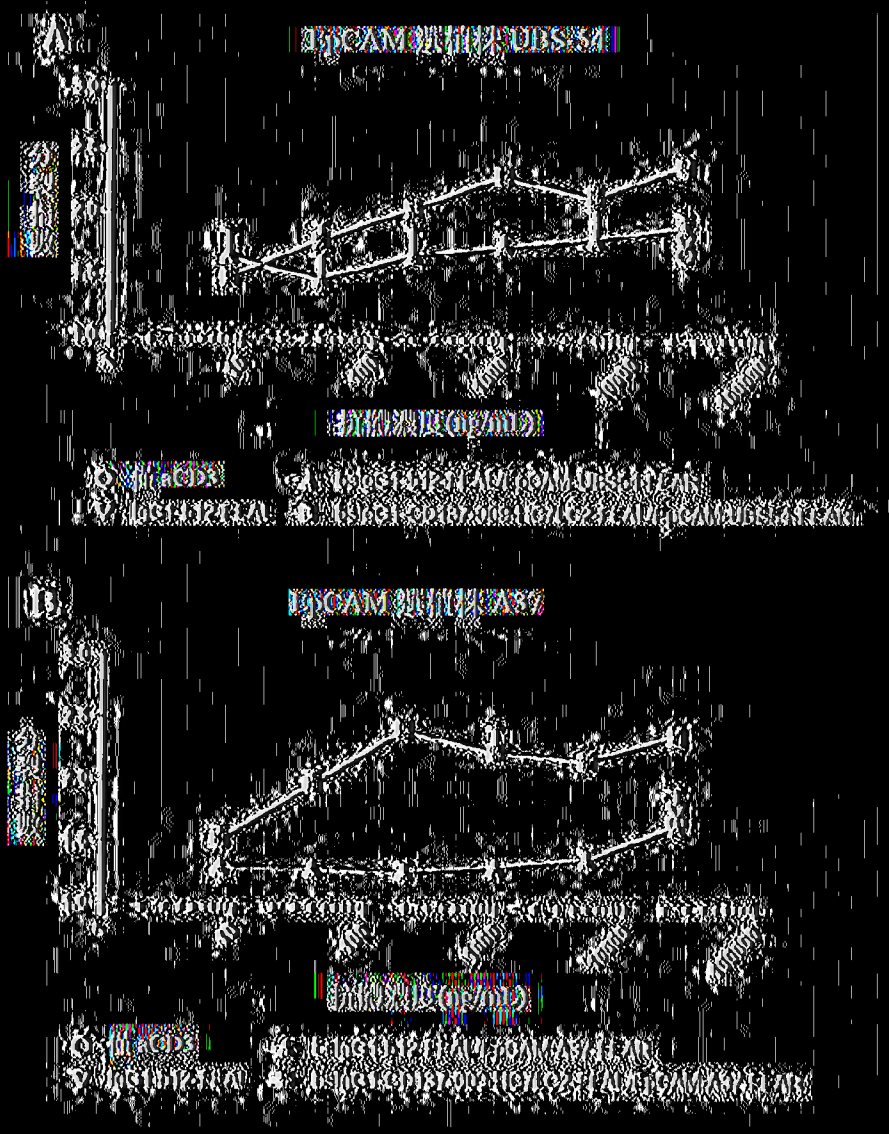


圖4



圖(圖5)

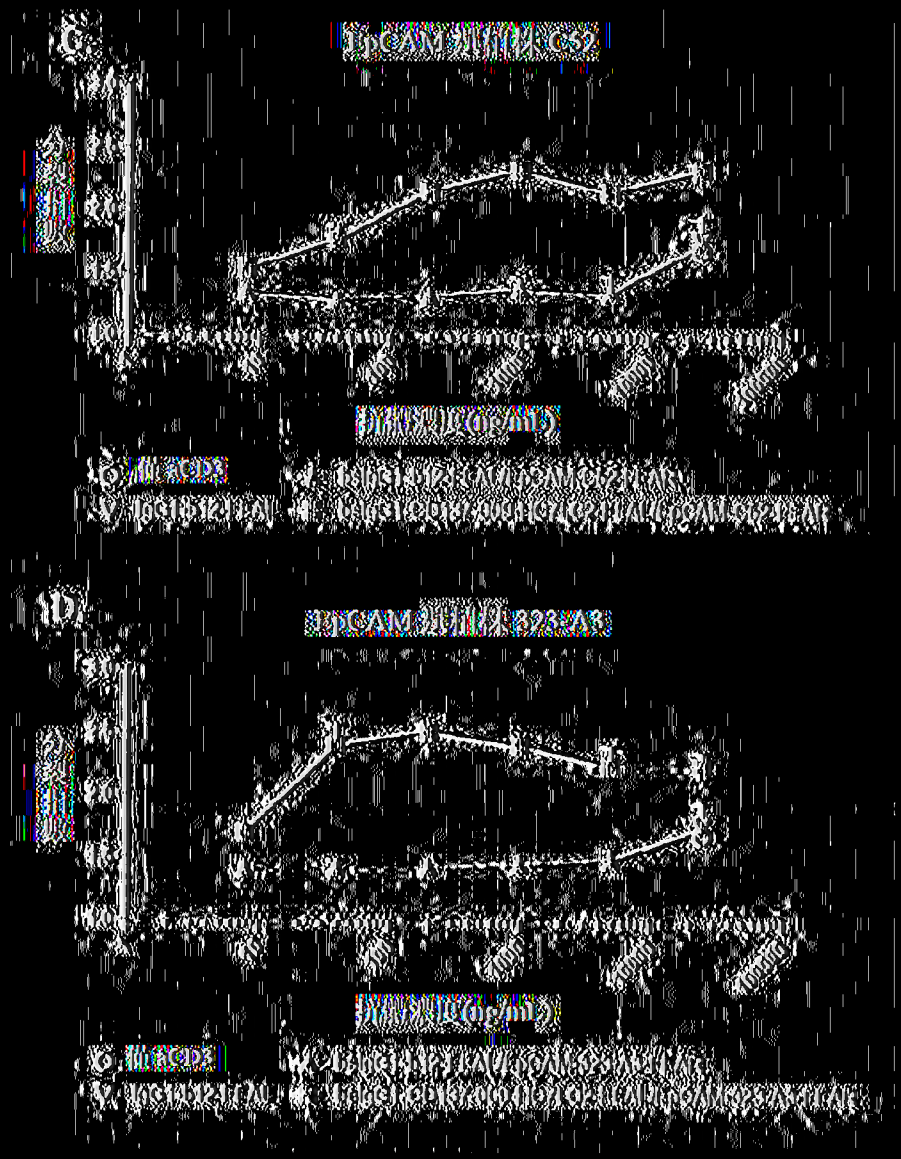

(C)
TpCAM 第1代(TpCAM-G52)
細胞核(DAPI)
(D)
TpCAM 第1代(TpCAM-B23-A3)
細胞核(DAPI)

圖5

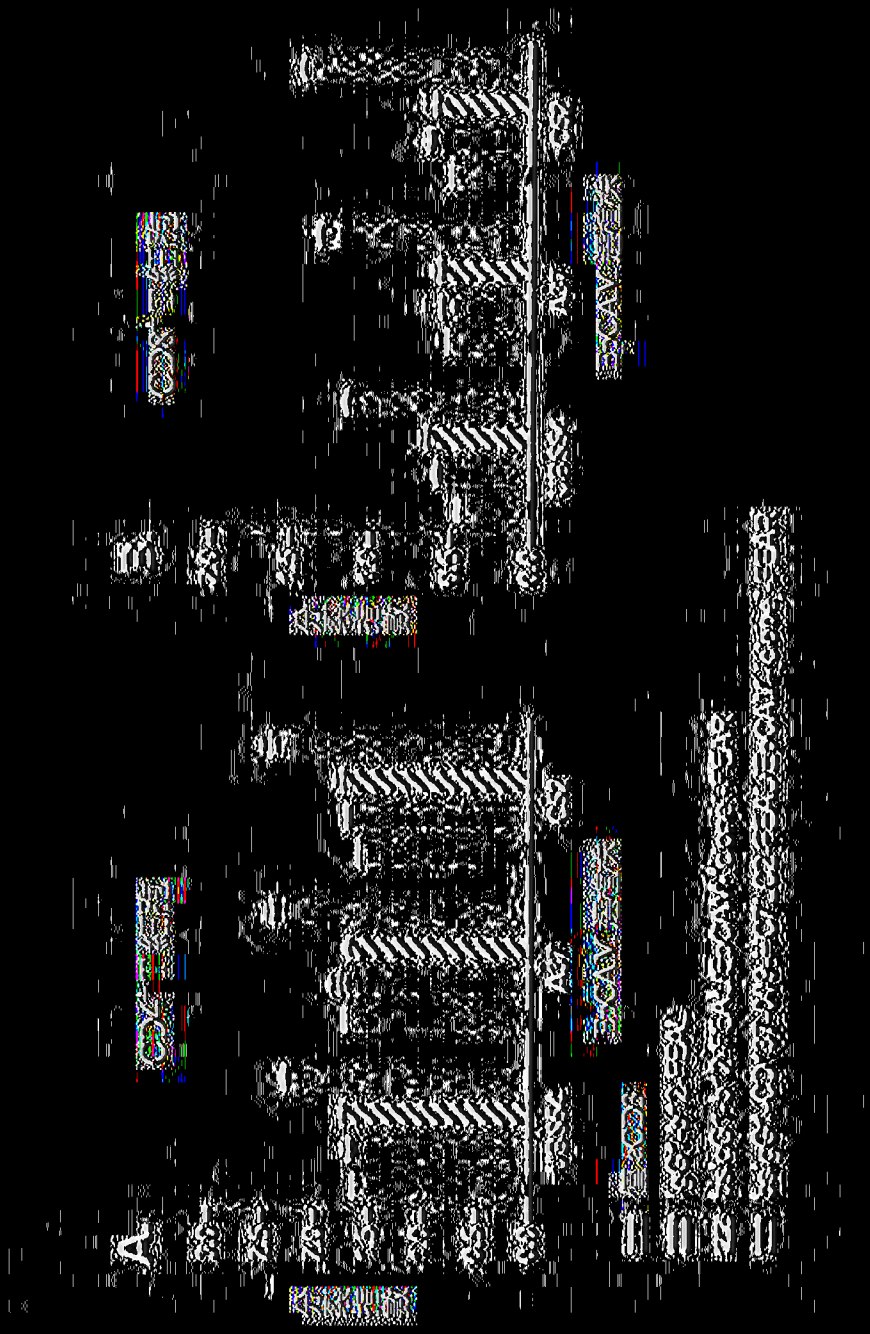
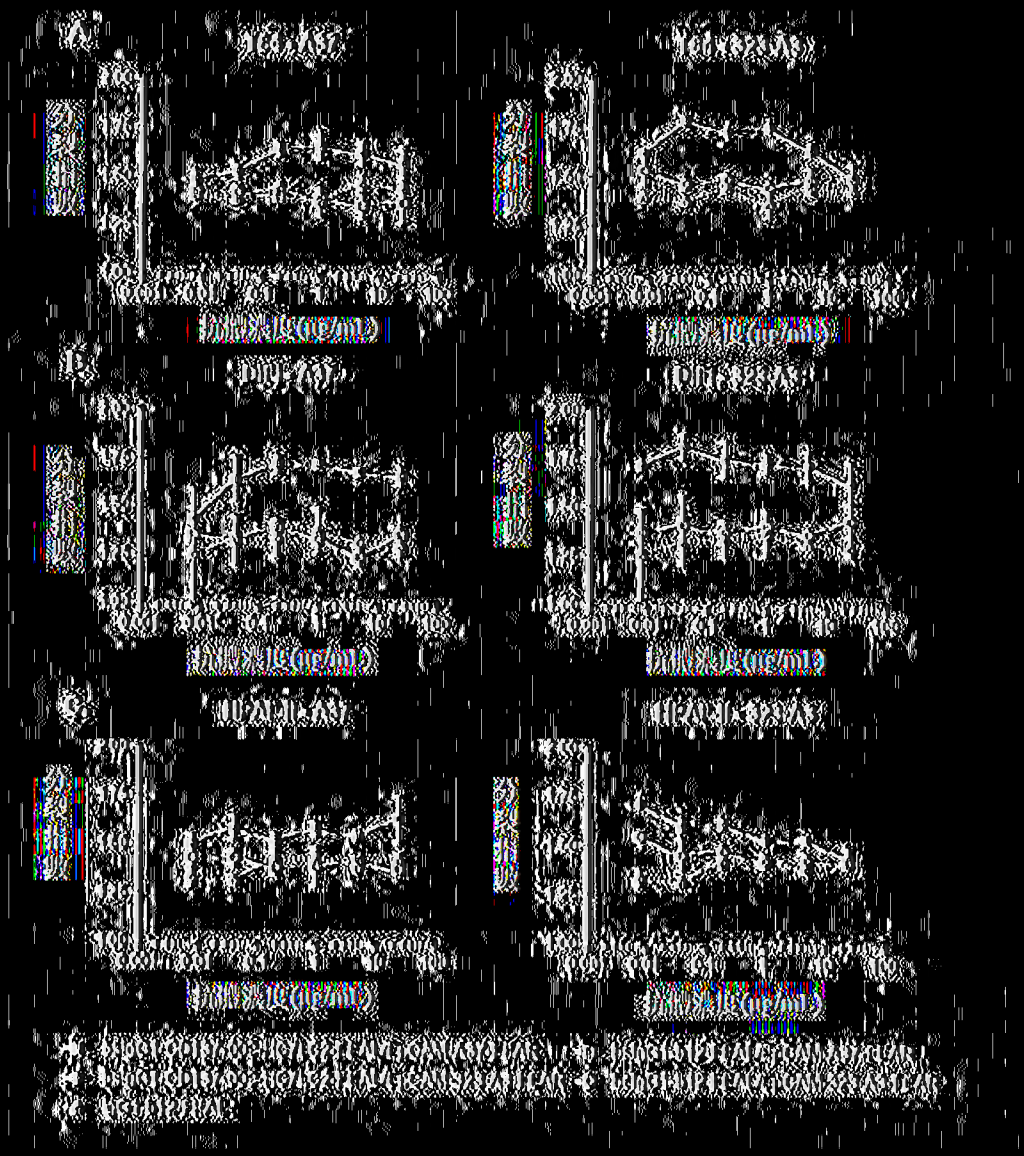
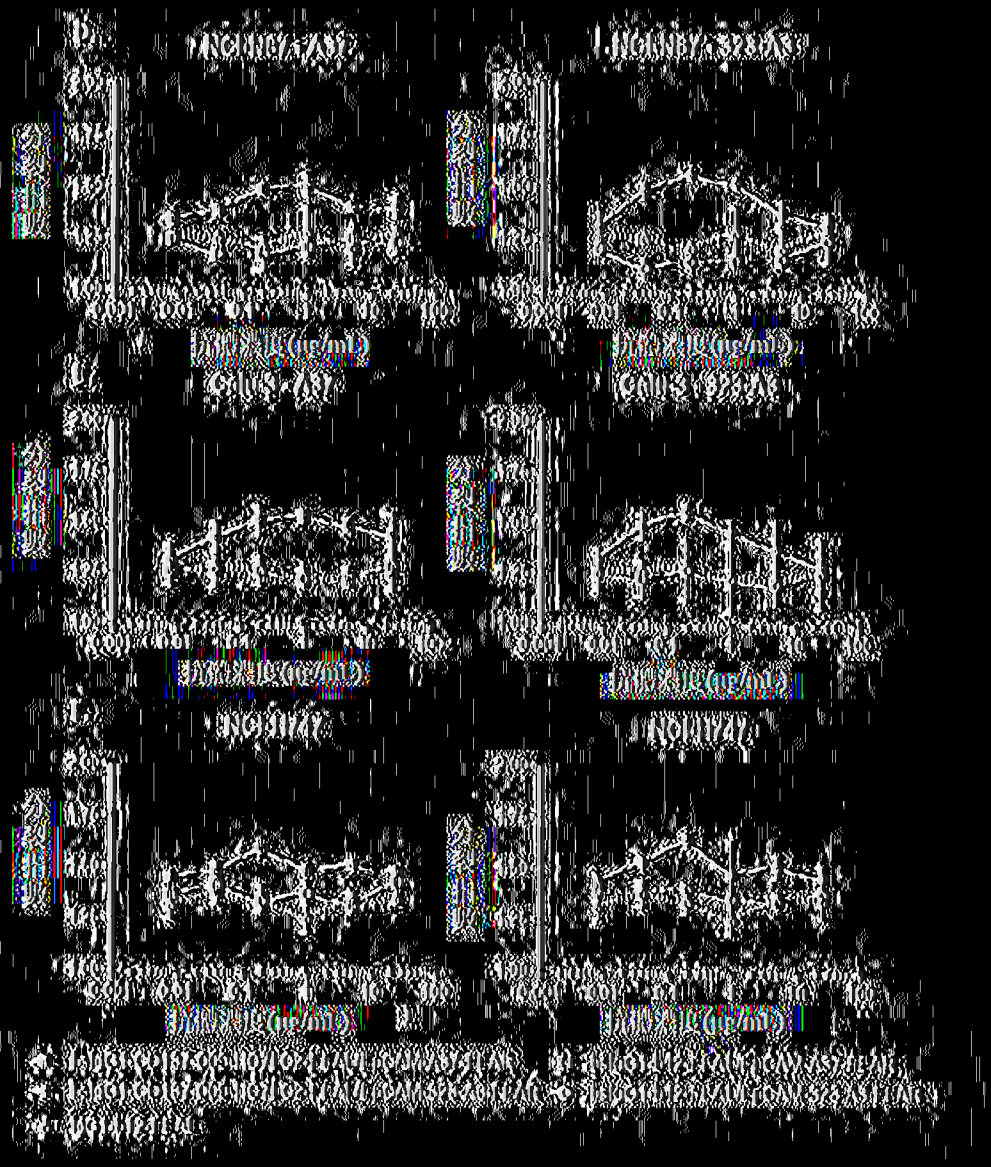


圖6

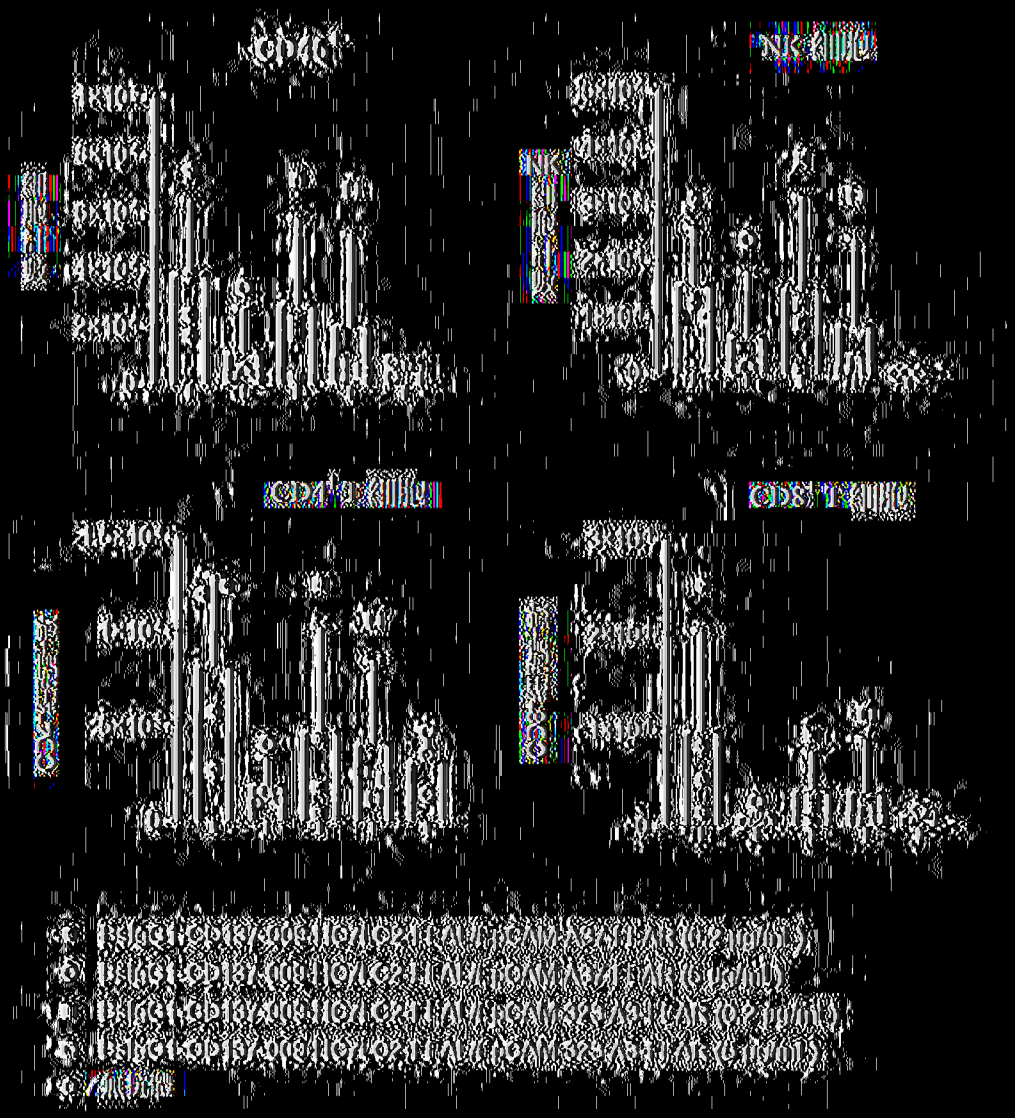




圖(圖7)



圖(圖8)



圖(圖9)

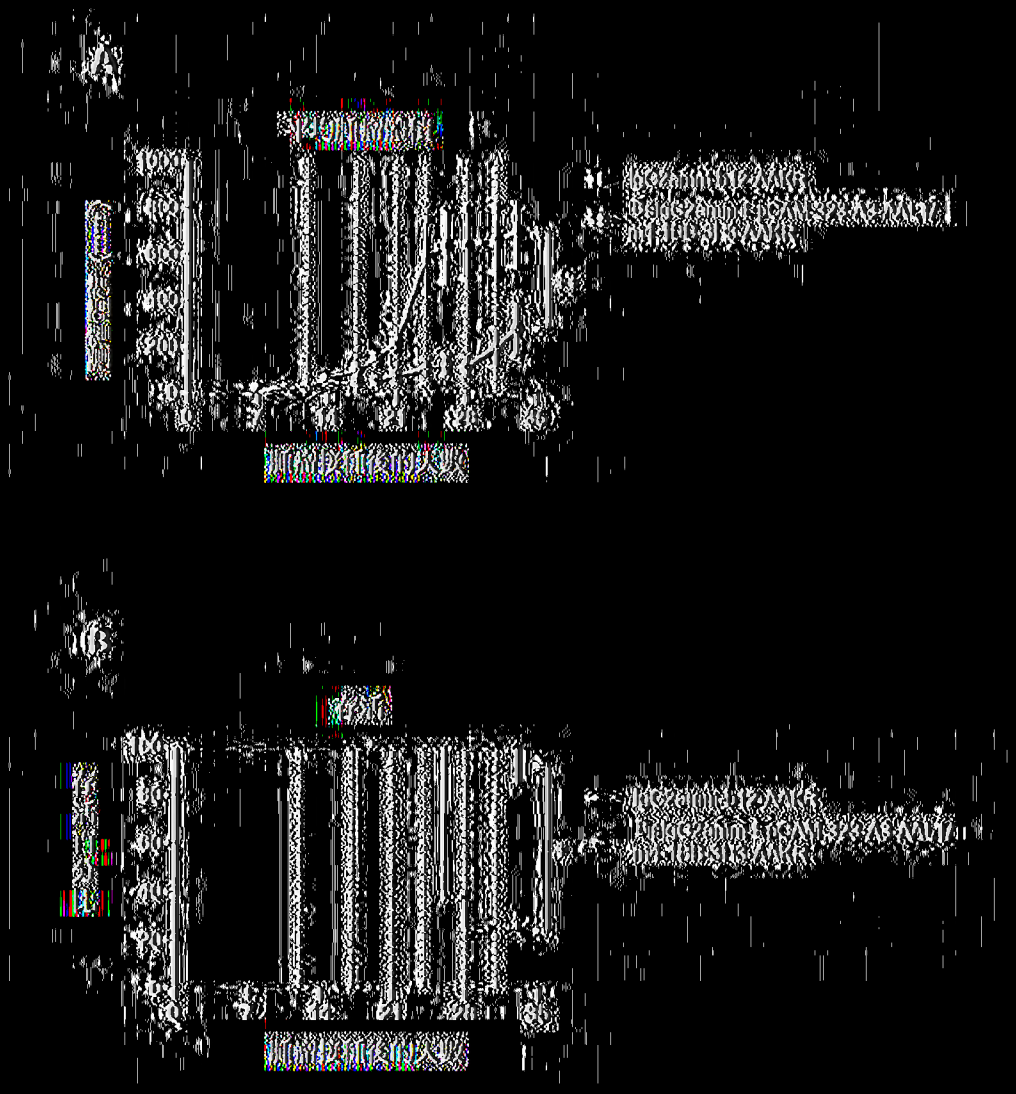
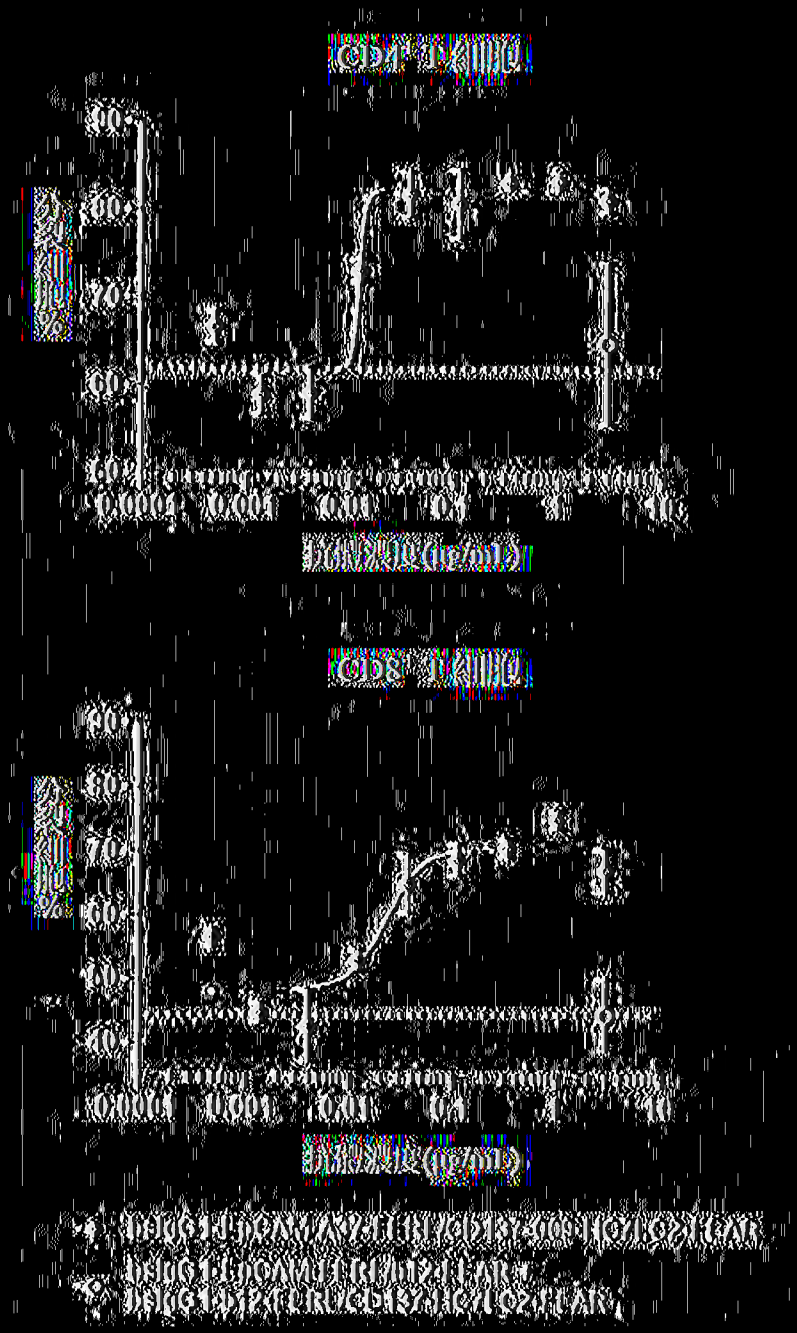
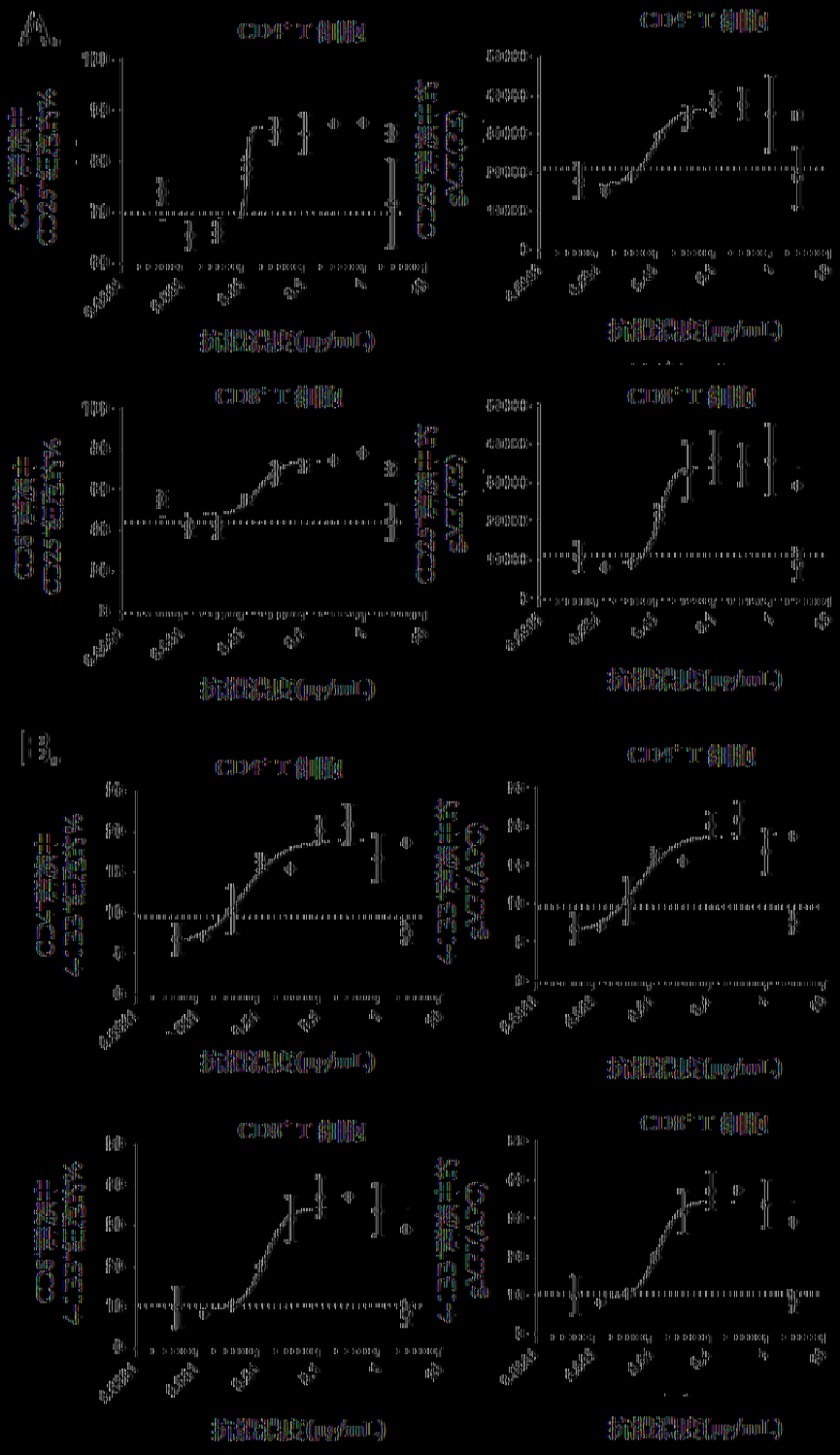


圖10

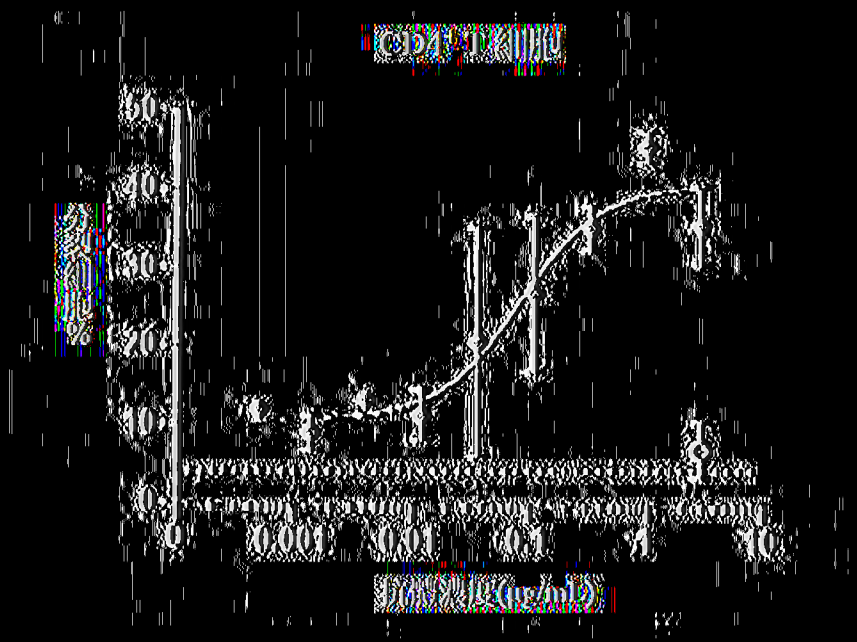

6.0 mm
6.0 mm
1.0 mm
1.0 mm
1

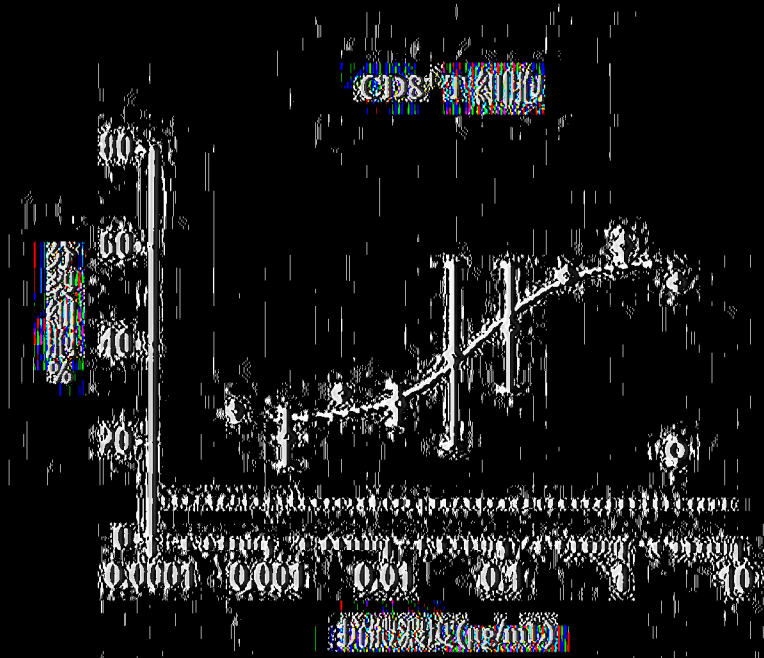


[(圖12)]

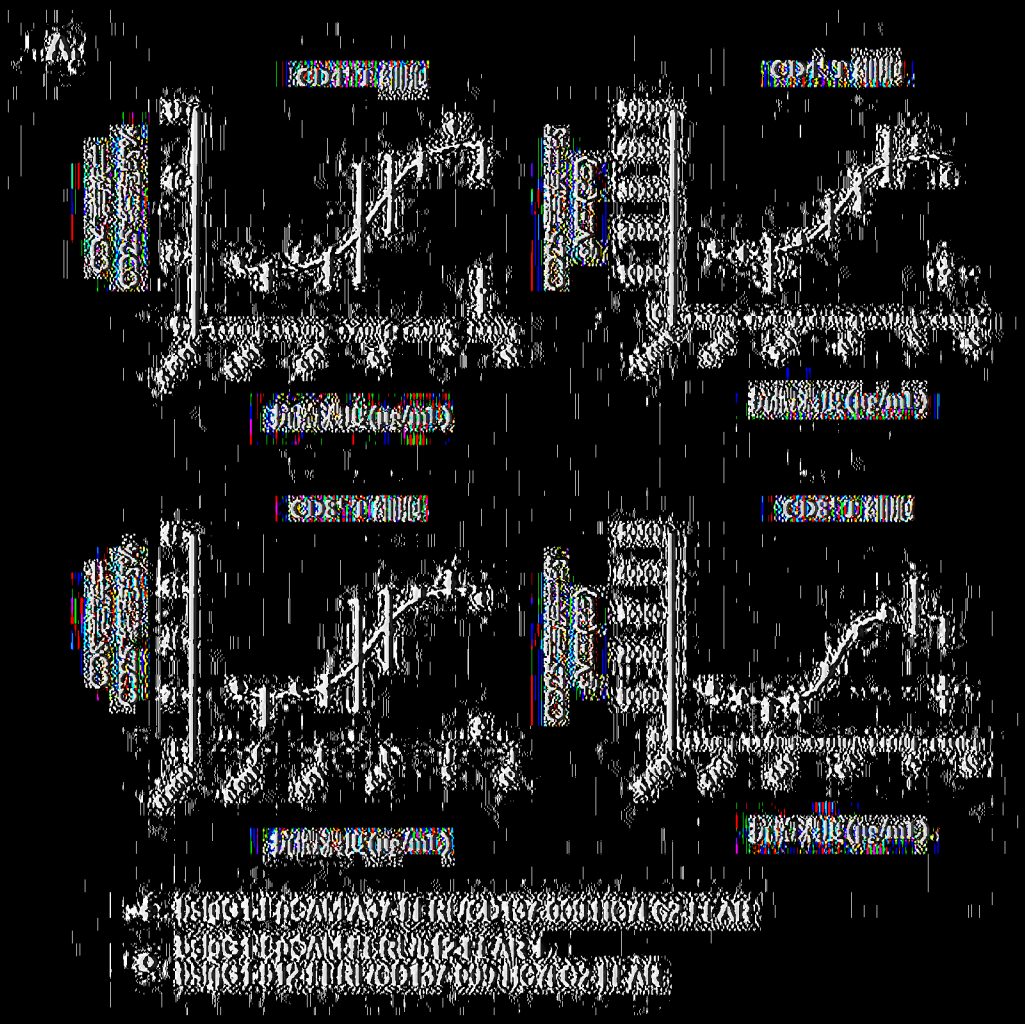

A.
B.
cor*r 值(%)
cor*r 值(%)
b1[C1-1 pCAM-A37-1 IR IC0137-009-1 IC71 C2-1 AR
b1[C1-1 pCAM-1 IR IB12-1 AR +
b1[C1-b12-1 IR IC0137-IIC71 C2-1 IR

[(圖13)]

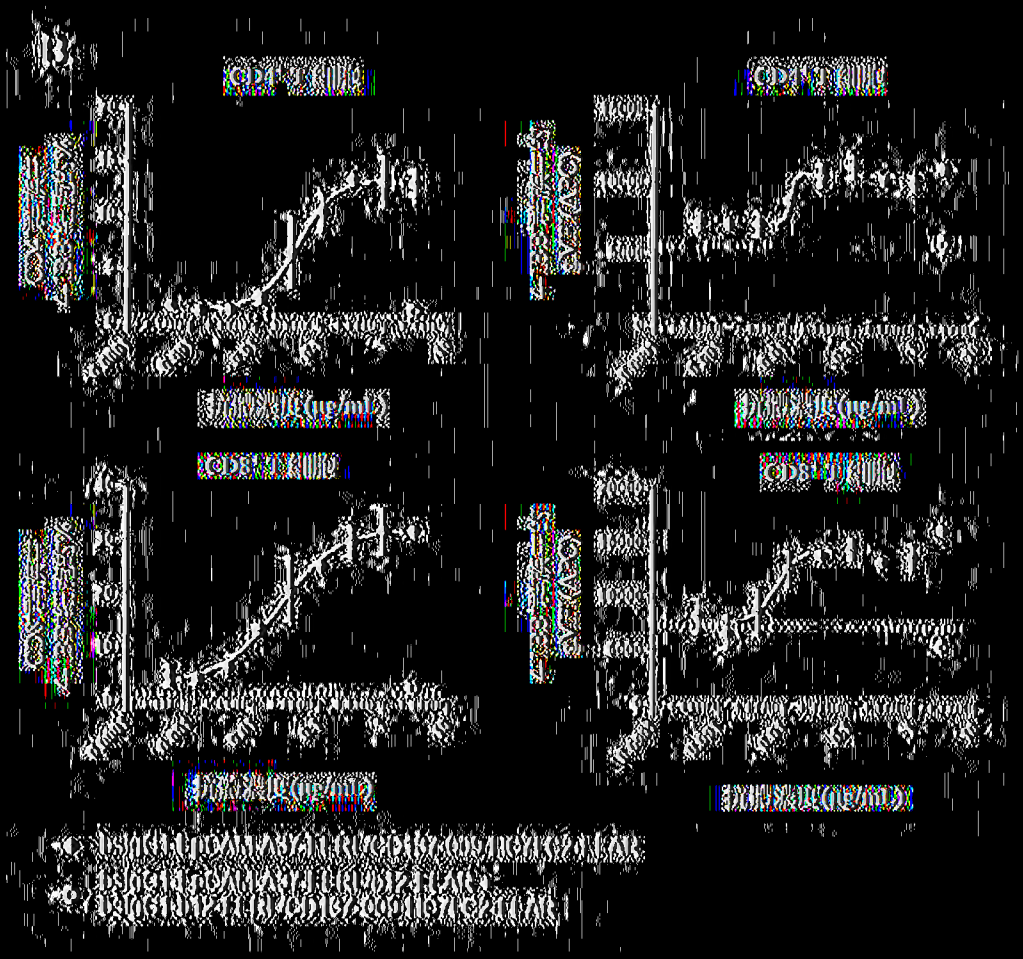



[圖14]



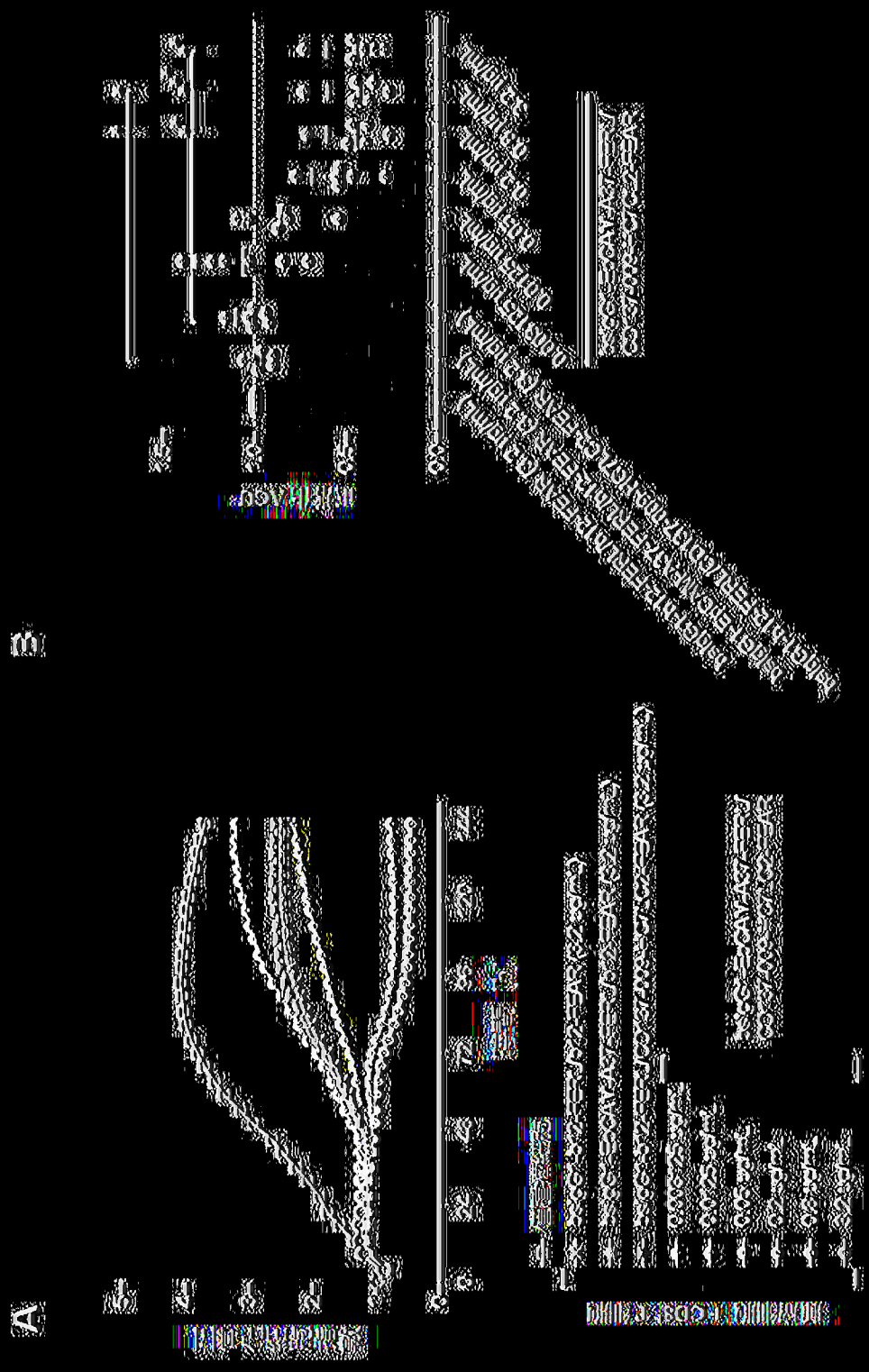
[圖15]

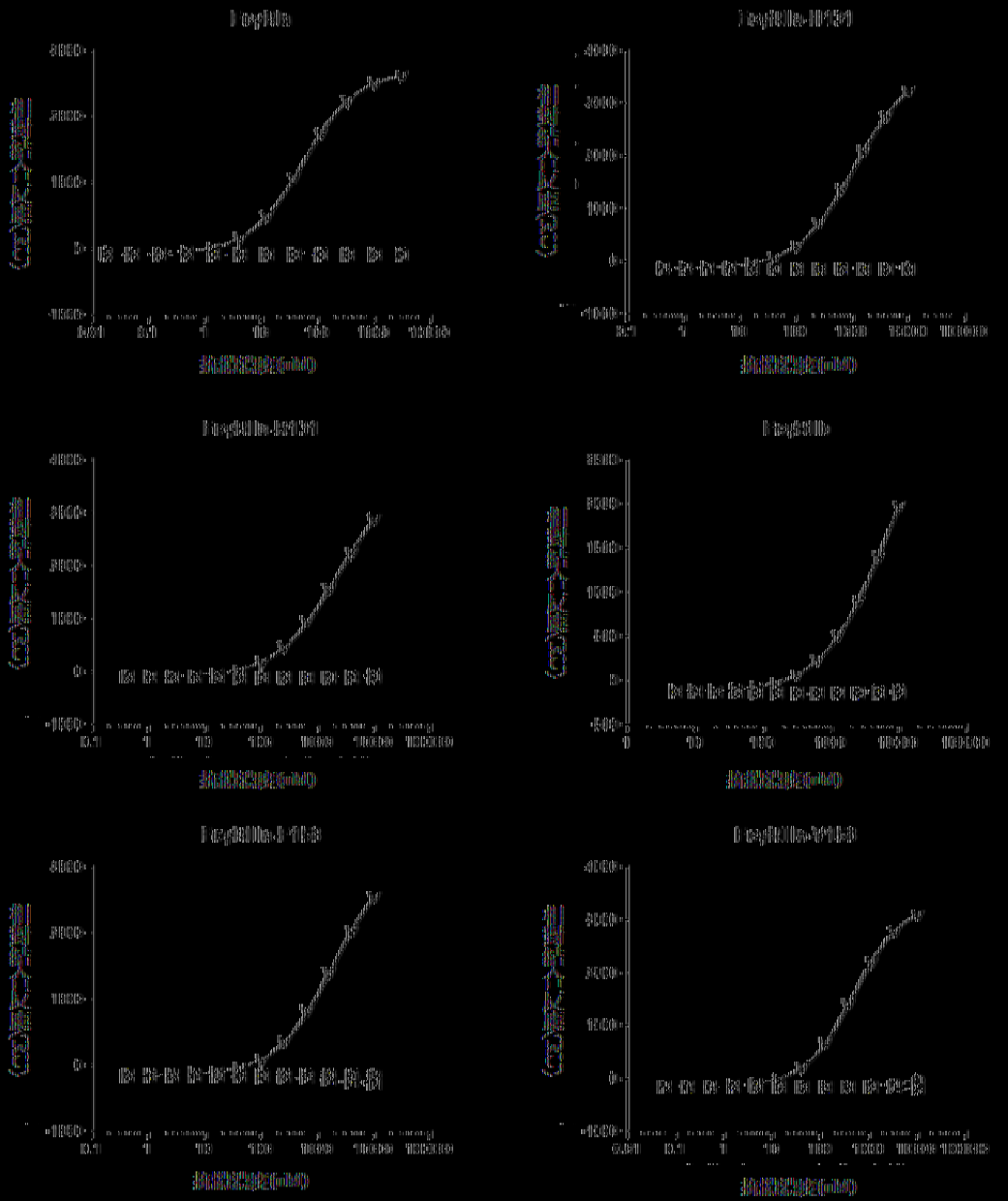



[圖15]



圖16




hIgG1-1
hIgG1-CD137-009-IgG1 C2-1 Alt
hIgG1-CD137-009-IgG1 C2-1 Alt pCAM-A97-1 Alt
hIgG1-1 pCAM-A97-1 Alt (CD137-009-IgG1 C2-1 Alt)
hIgG1-1 pCAM-A97-1 Alt
hIgG1-CD137-009-IgG1 C2-1 Alt

|(圖18)|