



(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 201323441 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：101139328

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 10 月 24 日

(51)Int. Cl. : **C07K16/24 (2006.01)**

(30)優先權：2011/10/24 美國 61/550,619

(71)申請人：艾伯維有限公司 (美國) ABBVIE INC. (US)

美國

(72)發明人：庫夫 卡洛琳 CUFF, CAROLYN (US)；皮瑞茲 珍妮佛 PEREZ, JENNIFER (US)；鍾素珠 ZHONG, SUJU (US)；伊頓 露西亞 EATON, LUCIA (US)；克萊比爾斯 安卡 CLABBERS, ANCA (US)；葛林尼爾 克利斯丁 GRINNEL, CHRISTINE (US)；塔斯卡 艾迪特 TARSCA, EDIT (US)；佛卡斯 多拉 FORKAS, DORA (US)；馬修 蘇薩恩 MATHIEU, SUZANNE (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：59 項 圖式數：1 共 314 頁

(54)名稱

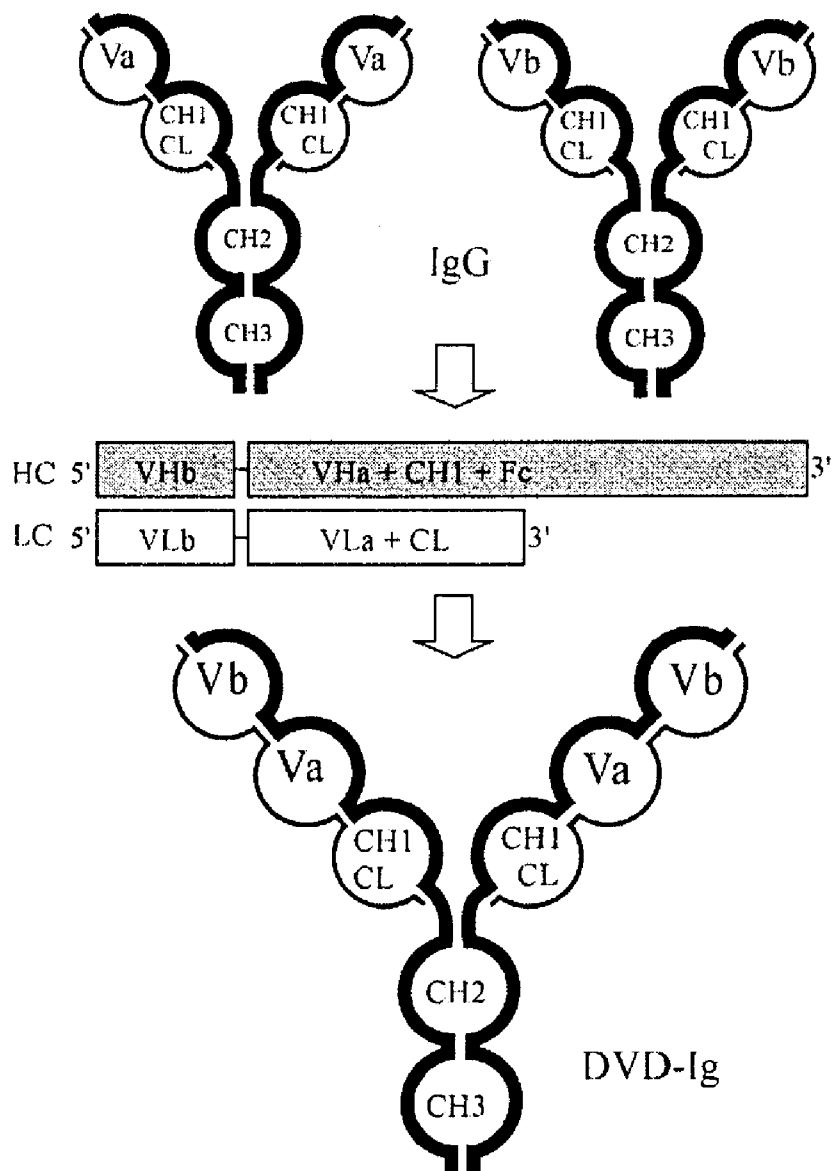
抗 T N F 之雙特異性免疫結合物

BISPECIFIC IMMUNOBINDERS DIRECTED AGAINST TNF

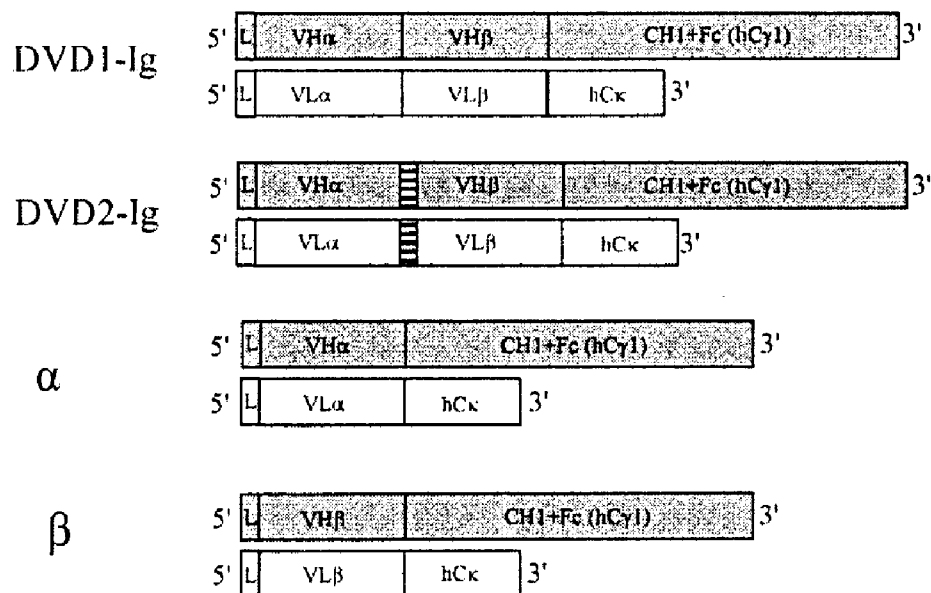
(57)摘要

本發明提供經工程改造之多價及多特異性結合蛋白、其製備方法，且特定言之提供其在預防、診斷及/或治療疾病中的用途。

A



B





(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 201323441 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 16 日

(21)申請案號：101139328

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 10 月 24 日

(51)Int. Cl. : **C07K16/24 (2006.01)**

(30)優先權：2011/10/24 美國 61/550,619

(71)申請人：艾伯維有限公司 (美國) ABBVIE INC. (US)
美國

(72)發明人：庫夫 卡洛琳 CUFF, CAROLYN (US)；皮瑞茲 珍妮佛 PEREZ, JENNIFER (US)；鍾素珠 ZHONG, SUJU (US)；伊頓 露西亞 EATON, LUCIA (US)；克萊比爾斯 安卡 CLABBERS, ANCA (US)；葛林尼爾 克利斯丁 GRINNEL, CHRISTINE (US)；塔斯卡 艾迪特 TARSCA, EDIT (US)；佛卡斯 多拉 FORKAS, DORA (US)；馬修 蘇薩恩 MATHIEU, SUZANNE (US)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：59 項 圖式數：1 共 314 頁

(54)名稱

抗 T N F 之雙特異性免疫結合物

BISPECIFIC IMMUNOBINDERS DIRECTED AGAINST TNF

(57)摘要

本發明提供經工程改造之多價及多特異性結合蛋白、其製備方法，且特定言之提供其在預防、診斷及/或治療疾病中的用途。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※ 申請案號： 101139328

※ 申請日：

101.10.24

※IPC 分類：C07K16/24(2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

抗TNF之雙特異性免疫結合物

BISPECIFIC IMMUNOBINDERS DIRECTED AGAINST TNF

二、中文發明摘要：

○ 本發明提供經工程改造之多價及多特異性結合蛋白、其製備方法，且特定言之提供其在預防、診斷及/或治療疾病中的用途。

三、英文發明摘要：

Engineered multivalent and multispecific binding proteins, methods of making, and specifically to their uses in the prevention, diagnosis, and/or treatment of disease are provided.

○

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明提供結合TNF之多價及多特異性結合蛋白、其製備方法，且特定言之提供其在診斷、預防及/或治療急性及慢性發炎疾病、癌症及其他疾病中的用途。

本申請案主張2011年10月24日申請之美國臨時申請案第61/550,619號之優先權，該臨時申請案係以全文引用的方式併入本文中。

【先前技術】

此項技術中已知能夠結合兩種或兩種以上抗原的經工程改造之蛋白質，諸如多特異性結合蛋白。該等多特異性結合蛋白可使用細胞融合、化學結合或重組DNA技術生成。

雙特異性結合蛋白已使用四源雜交瘤技術(參見Milstein及Cuello (1983) Nature 305(5934):537-40)基於兩種不同的具有該雙特異性抗體之所需特異性的表現鼠類單株抗體(mAb)之融合瘤細胞株的體細胞融合而產生。由於所得雜交-融合瘤(或四源雜交瘤)細胞株內兩種不同的免疫球蛋白(Ig)重鏈與輕鏈的隨機配對，生成多達十種不同的Ig種類，其中僅一者為功能性雙特異性抗體。錯配副產物的存在以及顯著降低的生產產率意謂需要複雜的純化程序。

亦可藉由兩種不同的mAb之化學結合來產生雙特異性結合蛋白(參見Staerz等人，(1985) Nature 314(6012): 628-31)。此方法不能產生均質製劑。其他方法已使用兩種不同的mAb或較小抗體片段的化學結合(參見Brennan等人，

(1985) *Science* 229(4708): 81-3)。

用於產生雙特異性結合蛋白之另一種方法為使兩種親本抗體與異型雙官能交聯劑偶合，但由於該交聯劑與該等親本抗體之反應為非定點反應，因此所得雙特異性抗體具有顯著分子異質性。為獲得雙特異性抗體之更均質製劑，兩種不同的Fab片段已以定點方式在其鉸鏈半胱胺酸殘基處化學交聯(參見Glennie等人，(1987) *J. Immunol.* 139(7): 2367-75)。但此種方法產生Fab'2片段，而非完全IgG分子。

已開發出廣泛多種其他重組雙特異性抗體形式(參見Kriangkum等人，(2001) *Biomol. Engin.* 18(2): 31-40)。最廣泛使用串聯單鏈Fv分子及雙功能抗體、以及其各種衍生物。常規而言，此等分子之構築起始於識別不同抗原之兩個單鏈Fv (scFv)片段(參見Economides等人，(2003) *Nat. Med.* 9(1): 47-52)。串聯scFv分子(taFv)表示藉由用額外肽連接子簡單連接兩個scFv分子而形成的直接形式。存在於此等串聯scFv分子中之兩個scFv片段形成獨立的摺疊實體。多種連接子可用於連接兩個scFv片段且連接子具有至多63個殘基之長度(參見Nakanishi等人，(2001) *Ann. Rev. Immunol.* 19: 423-74)。儘管親本scFv片段可正常地以可溶形式於細菌中表現，然而通常觀測到串聯scFv分子在細菌中形成不溶性聚集體。因此，常規地應用再摺疊方案或使用哺乳動物表現系統來產生可溶性串聯scFv分子。Gracie等人，(1999) *J. Clin. Invest.* 104(10): 1393-401報導轉殖

基因兔及牛中抗CD28及黑素瘤相關蛋白聚糖之串聯scFv的活體內表現。在此構築體中，兩個scFv分子係藉由CH1連接子連接且獲得雙特異性抗體高達100 mg/L之血清濃度。使用包括結構域次序變化或使用具有不同長度或撓性之中間連接子的多種策略以允許於細菌中可溶性表現。多項研究已報導使用極短Ala3連接子或富含甘胺酸/絲胺酸之長連接子使可溶性串聯scFv分子於細菌中表現(參見Leung等人，(2000) *J. Immunol.* 164(12): 6495-502；Ito等人，(2003) *J. Immunol.* 170(9): 4802-9；Karni等人，(2002) *J. Neuroimmunol.* 125(1-2): 134-40)。在另一項研究中，使用含有長度為3或6個殘基之隨機化中間連接子的串聯scFv庫之噬菌體呈現來增濃彼等以可溶性及活性形式於細菌中產生之分子。此種方法導致串聯scFv分子與6胺基酸殘基連接子分離(參見Arndt及Krauss (2003) *Methods Mol. Biol.* 207: 305-21)。尚未清楚此連接子序列是否代表著串聯scFv分子之可溶性表現的一般解決方案。然而，此研究表明串聯scFv分子之噬菌體呈現與定向突變誘發組合為增濃可以活性形式於細菌中表現之此等分子的強力工具。

雙特異性雙功能抗體(Db)利用雙功能抗體形式進行表現。雙功能抗體係藉由使連接VH域與VL域之連接子的長度降至約5個殘基而自scFv片段產生(參見Peipp及Valerius (2002) *Biochem. Soc. Trans.* 30(4): 507-11)。此種連接子尺寸縮短有助於兩條多肽鏈藉由VH域與VL域交叉配對而二聚化。雙特異性雙功能抗體係藉由表現在同一細胞內具有

結構 VHA-VLB 及 VHB-VLA (VH-VL 組態) 或 VLA-VHB 及 VLB-VHA (VL-VH 組態) 之兩條多肽鏈而產生。過去已產生多種不同的雙特異性雙功能抗體且其中大多數可以可溶形式於細菌中表現。然而，比較研究表明可變域之定位可影響活性結合位點之表現及形成(參見 Mack 等人，(1995) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92(15): 7021-5)。然而，於細菌中可溶性表現表示優於串聯 scFv 分子之重要優點。然而，因為兩條不同的多肽鏈係在單一細胞內表現，故可產生非活性均二聚體以及活性雜二聚體。此使得必須實施額外純化步驟以獲得雙特異性雙功能抗體之均質製劑。促使生成雙特異性雙功能抗體之一種方法為產生孔洞中瘤節(knob-into-hole)雙功能抗體(參見 Holliger 等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(14): 6444-8.18)。此方法已關於抗 HER2 及 CD3 之雙特異性雙功能抗體得以證實。在抗 HER2 或抗 CD3 可變域中，藉由 Val37 與 Phe 交換以及 Leu45 與 Trp 交換在 VH 域中引入大的瘤節且藉由 Phe98 突變為 Met 以及 Tyr87 突變為 Ala 而在 VL 域中產生互補孔洞。藉由使用此方法，雙特異性雙功能抗體之產生可自 72%(藉由親本雙功能抗體)增加至 90% 以上(藉由孔洞中瘤節雙功能抗體)。重要的是，由於此等突變所致之生產產率僅略微降低。然而，對於若干所分析構築體觀測到抗原結合活性降低。因此，此相對複雜之方法需要分析多種構築體以鑑別彼等產生具有未改變之結合活性之雜二聚分子的突變。另外，該方法需要在恆定區對免疫球蛋白序列進行突變修飾，由此產生

非原生及非天然形式之抗體序列，其可導致免疫原性增加、活體內穩定性不良、以及不合需要之藥物動力學。

單鏈雙功能抗體(scDb)表示用於改良雙特異性雙功能抗體樣分子之形成的替代策略(參見Holliger及Winter (1997) *Cancer Immunol. Immunother.* 45(3-4): 128-30; Wu等人, (1996) *Immunotechnology* 2(1): 21-36)。雙特異性單鏈雙功能抗體係藉由用長度為約15個胺基酸殘基之額外中間連接子連接兩條形成雙功能抗體之多肽鏈而產生。因此，所有具有對應於單體單鏈雙功能抗體之分子量(50-60 kDa)的分子均具雙特異性。若干研究已證實，雙特異性單鏈雙功能抗體以可溶性及活性形式於細菌中表現，其中大多數經純化分子以單體形式存在(參見Holliger及Winter (1997) *Cancer Immunol. Immunother.* 45(3-4): 128-30; Wu等人, (1996) *Immunotechnol.* 2(1): 21-36; Pluckthun及Pack (1997) *Immunotechnol.* 3(2): 83-105; Ridgway等人, (1996) *Protein Engin.* 9(7): 617-21)。因此，單鏈雙功能抗體組合串聯scFv (所有單體均具雙特異性)與雙功能抗體(於細菌中可溶性表現)之優點。

最近已將雙功能抗體與Fc融合以生成更多Ig樣分子，稱作二雙功能抗體(參見Lu等人, (2004) *J. Biol. Chem.* 279(4): 2856-65)。另外，已描述在IgG之重鏈中包含兩個Fab重複單元且能夠結合四個抗原分子之多價抗體構築體(參見PCT公開案第WO 0177342號及Miller等人, (2003) *J. Immunol.* 170(9): 4854-61)。

TNF(亦稱作腫瘤壞死因子、腫瘤壞死因子- α 、TNF- α 及惡病質素)為免疫反應調控中所涉及之細胞激素。其在與多種涉及免疫及發炎要素之疾病(諸如自體免疫疾病，尤其彼等與發炎相關之自體免疫疾病)相關的病理學方面起關鍵作用。因此，本文之結合蛋白可用於治療此等病症。其亦涉及於呼吸道病症、各種器官之發炎性及/或自體免疫病狀、腫瘤或癌症、以及各種類型之病毒、細菌及寄生蟲感染中。

介白素-17 (IL-17)為由活化T細胞分泌之細胞激素，其藉由誘導各種組織中之免疫信號傳導分子向發炎位點募集單核細胞及嗜中性白血球而充當免疫反應中之有效介體。其與TNF協同作用以執行其功能。已將IL-17與包括類風濕性關節炎、哮喘、狼瘡、同種異體移植排斥反應及抗腫瘤免疫性之許多免疫/自體免疫相關疾病相關聯。

此項技術中需要能夠結合TNF之改良型多價結合蛋白。美國專利第7,612,181號提供能夠以高親和力結合兩種或兩種以上抗原的新穎結合蛋白家族，其被稱作雙重可變域結合蛋白(DVD結合蛋白)。提供結合TNF之新穎結合蛋白。

【發明內容】

提供能夠結合TNF之多價結合蛋白。提供能夠以高親和力結合TNF之新穎結合蛋白家族。

在一個實施例中，提供包含一條多肽鏈之結合TNF之結合蛋白，其中該多肽鏈包含VD1-(X1) n -VD2-C-(X2) n ，其中VD1為第一可變域，VD2為第二可變域，C為恆定域，

X1表示胺基酸或多肽，X2表示Fc區且n為0或1。在一實施例中，結合蛋白中之VD1及VD2為重鏈可變域。在另一實施例中，重鏈可變域為鼠類重鏈可變域、人類重鏈可變域、CDR移植重鏈可變域或人類化重鏈可變域。在另一實施例中，VD1及VD2能夠結合相同抗原。在另一實施例中，VD1及VD2能夠結合不同抗原。在另一實施例中，C為重鏈恆定域。在一實施例中，X1為連接子，限制條件為X1不為CH1。在一實施例中，X1為包含以下胺基酸序列之連接子：AKTTPKLEEGEFSEAR (SEQ ID NO: 1)；AKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO: 2)；AKTTPKLGG (SEQ ID NO: 3)；SAKTTPKLGG (SEQ ID NO: 4)；SAKTTP (SEQ ID NO: 5)；RADAAP (SEQ ID NO: 6)；RADAAPTVS (SEQ ID NO: 7)；RADAAAAGGPGS (SEQ ID NO: 8)；RADAAA (G₄S)₄ (SEQ ID NO: 9)；SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO: 10)；ADAAP (SEQ ID NO: 11)；ADAAPTVS IFPP (SEQ ID NO: 12)；TVAAP (SEQ ID NO: 13)；TVAA PSVFIFPP (SEQ ID NO: 14)；QPKAAP (SEQ ID NO: 15)；QPKAAPSVTLFPP (SEQ ID NO: 16)；AKTTPP (SEQ ID NO: 17)；AKTTPPSVTPLAP (SEQ ID NO: 18)；AKTTAP (SEQ ID NO: 19)；AKTTAPSVYPLAP (SEQ ID NO: 20)；ASTKGP (SEQ ID NO: 21)；ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 22)；GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 23)；GEN KVEYAPALMALS (SEQ ID NO: 24)；GPAKELTPLKEAKVS (SEQ ID NO: 25)；或GHEAAVMQVQYPAS (SEQ ID NO:

26); TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 27);
及 ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 28)。
在一實施例中，X2為Fc區。在另一實施例中，X2為變異
Fc區。

在一實施例中，本文揭示之結合蛋白包含結合TNF之一
條多肽鏈，其中該多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，
其中VD1為第一重鏈可變域，VD2為第二重鏈可變域，C
為重鏈恆定域，X1為連接子，限制條件為X1不為CH1，且
X2為Fc區。

在一實施例中，結合蛋白中之VD1及VD2為輕鏈可變
域。在一實施例中，輕鏈可變域為鼠類輕鏈可變域、人類
輕鏈可變域、CDR移植輕鏈可變域或人類化輕鏈可變域。
在一個實施例中，VD1及VD2能夠結合相同抗原。在另一
實施例中，VD1及VD2能夠結合不同抗原。在一實施例
中，C為輕鏈恆定域。在一實施例中，X1為連接子，限制
條件為X1不為CL。在一實施例中，X1包含胺基酸序列
AKTTPKLEEGEFSEAR (SEQ ID NO: 1); AKTTPKLEEGE
FSEARV (SEQ ID NO: 2); AKTTPKLGG (SEQ ID NO: 3);
SAKTPKLGG (SEQ ID NO: 4); SAKTTP (SEQ ID NO:
5); RADAAP (SEQ ID NO: 6); RADAAPTVS (SEQ ID NO:
7); RADAAAAGGPGS (SEQ ID NO: 8); RADAAA(G₄S)₄
(SEQ ID NO: 9); SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO:
10); ADAAP (SEQ ID NO: 11); ADAAPTVSIFPP (SEQ ID
NO: 12); TVAAP (SEQ ID NO: 13); TVAAPSVFIFPP (SEQ

ID NO: 14); QPKAAP (SEQ ID NO: 15); QPKAAPSVTLFPP (SEQ ID NO: 16); AKTTPP (SEQ ID NO: 17); AKTTPP SVTPLAP (SEQ ID NO: 18); AKTTAP (SEQ ID NO: 19); AKTTAPSVYPLAP (SEQ ID NO: 20); ASTKGP (SEQ ID NO: 21); ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 22); GGGGSGG GSGGGGS (SEQ ID NO: 23); GENKVEYAPALMALS (SEQ ID NO: 24); GPAKELTPLKEAKVS (SEQ ID NO: 25); 或 GHEAAAVMQVQYPAS (SEQ ID NO: 26); TVAAPS VFIFPPTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 27); 及 ASTKGPSV FPLAPASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 28)。在一實施例中，結合蛋白不包含X2。

在一實施例中，可變重鏈與可變輕鏈包含相同連接子。在另一實施例中，可變重鏈及可變輕鏈包含不同連接子。在另一實施例中，可變重鏈與可變輕鏈包含短(約6個胺基酸)連接子。在另一實施例中，可變重鏈與可變輕鏈包含長(大於6個胺基酸)連接子。在另一實施例中，可變重鏈包含短連接子且可變輕鏈包含長連接子。在另一實施例中，可變重鏈包含長連接子且可變輕鏈包含短連接子。

在一實施例中，本文揭示之結合蛋白包含結合TNF之一條多肽鏈，其中該多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為第一輕鏈可變域，VD2為第二輕鏈可變域，C為輕鏈恆定域，X1為連接子，限制條件為X1不為CL，且X2不包含Fc區。

在另一實施例中，提供包含兩條多肽鏈之結合TNF之結

合蛋白，其中第一多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為第一重鏈可變域，VD2為第二重鏈可變域，C為重鏈恆定域，X1為第一連接子，且X2為Fc區；且第二多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為第一輕鏈可變域，VD2為第二輕鏈可變域，C為輕鏈恆定域，X1為第二連接子，且X2不包含Fc區。在一些實施例中，第一X1與第二X1相同。在其他實施例中，第一X1與第二X1不同。在一些實施例中，第一X1不為CH1域。在一些實施例中，第二X1不為CL域。

在一特定實施例中，雙重可變域(DVD)結合蛋白包含四條多肽鏈，其中兩條第一多肽鏈各自包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為第一重鏈可變域，VD2為第二重鏈可變域，C為重鏈恆定域，X1為第一連接子，且X2為Fc區；且兩條第二多肽鏈各自包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為第一輕鏈可變域，VD2為第二輕鏈可變域，C為輕鏈恆定域，X1為第二連接子，且X2不包含Fc區。該DVD結合蛋白具有四個抗原結合位點。在一些實施例中，第一X1與第二X1相同。在其他實施例中，第一X1與第二X1不同。在一些實施例中，第一X1不為CH1域。在一些實施例中，第二X1不為CL域。在另一實施例中，本文揭示之結合蛋白能夠結合TNF。因此，在一些實施例中，結合蛋白包含呈任何定位之至少兩個能夠結合TNF之可變域序列(例如VD1及VD2)。在一些實施例中，VD1及VD2係經獨立地選擇。因此，在一些實施例中，VD1與VD2包含相同

SEQ ID NO，且在其他實施例中，VD1與VD2包含不同SEQ ID NO。

在一實施例中，結合蛋白包含VD1及VD2重鏈可變域，以及VD1及VD2輕鏈可變域，其中

(a) VD1或VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，VD1或VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b) VD1及VD2重鏈可變域獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，VD1及VD2輕鏈可變域獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結

合TNF；或

(c) VD1重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114 115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；VD1輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；或

(d) VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且VD1重鏈可變域包含三個來

自以下之CDR：SEQ ID NO：30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO：546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且VD1輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO：31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

在另一實施例中，結合蛋白包含如表1中所示之重鏈及輕鏈序列。

在另一實施例中，提供包含一條多肽鏈之結合TNF之結合蛋白，其中該多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中，VD1為獲自第一親本抗體或其抗原結合部分之第一重鏈可變域；VD2為獲自第二親本抗體或其抗原結合部分之第二重鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為重鏈恆定域；(X1)_n為連接子，限制條件為其不為CH1，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n為Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在。在一實施例中，結合蛋白中不存在Fc區。

在另一實施例中，提供包含一條多肽鏈之結合TNF之結合蛋白，其中該多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其

中，VD1為獲自第一親本抗體或其抗原結合部分之第一輕鏈可變域；VD2為獲自第二親本抗體或其抗原結合部分之第二輕鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為輕鏈恆定域；(X1)_n為連接子，限制條件為其不為CL，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n不包含Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在。在一實施例中，結合蛋白中不存在(X2)_n。

在另一實施例中，結合TNF之結合蛋白包含第一多肽鏈及第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含第一VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為獲自第一親本抗體或其抗原結合部分之第一重鏈可變域；VD2為獲自第二親本抗體或其抗原結合部分之第二重鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為重鏈恆定域；(X1)_n為第一連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n為Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在；且其中該第二多肽鏈包含第二VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為獲自第一親本抗體或其抗原結合部分之第一輕鏈可變域；VD2為獲自第二親本抗體或其抗原結合部分之第二輕鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為輕鏈恆定域；(X1)_n為第二連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n不包含Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在。在另一實施例中，結合蛋白包含兩條第一多肽鏈及兩條第二多肽鏈。在另一實施例中，第二多肽中不存在(X2)_n。在一些實施例中，第一X1與第二X1相同。在其他實施例中，第一X1與

第二X1不同。在一些實施例中，第一X1不為CH1域。在一些實施例中，第二X1不為CL域。在另一實施例中，Fc區若存在於第一多肽中，則為原生序列Fc區或變異序列Fc區。在另一實施例中，Fc區為來自IgG1之Fc區、來自IgG2之Fc區、來自IgG3之Fc區、來自IgG4之Fc區、來自IgA之Fc區、來自IgM之Fc區、來自IgE之Fc區或來自IgD之Fc區。

在另一實施例中，結合TNF之結合蛋白包含四條多肽鏈，其中，第一多肽鏈及第三多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為獲自第一親本抗體或其抗原結合部分之第一重鏈可變域；VD2為獲自第二親本抗體或其抗原結合部分之第二重鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為重鏈恆定域；(X1)_n為第一連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n為Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在；且其中第二多肽鏈及第四多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中VD1為獲自第一親本抗體或其抗原結合部分之第一輕鏈可變域；VD2為獲自第二親本抗體或其抗原結合部分之第二輕鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為輕鏈恆定域；(X1)_n為第二連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n不包含Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在。在一些實施例中，第一X1與第二X1相同。在其他實施例中，第一X1與第二X1不同。在一些實施例中，第一X1不為CH1域。在一些實施例中，第二X1不為CL域。

提供一種製備結合TNF之結合蛋白的方法。在一實施例中，該製備結合IL-13及IL-17之結合蛋白的方法包含以下步驟：a)獲得結合IL-13之第一親本抗體或其抗原結合部分；b)獲得結合IL-17之第二親本抗體或其抗原結合部分；c)構築包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n之第一多肽鏈及第三多肽鏈，其中，VD1為該第一親本抗體或其抗原結合部分之第一重鏈可變域；VD2為該第二親本抗體或其抗原結合部分之第二重鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為重鏈恆定域；(X1)_n為第一連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n為Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在；d)構築包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n之第二多肽鏈及第四多肽鏈，其中，VD1為該第一親本抗體或其抗原結合部分之第一輕鏈可變域；VD2為該第二親本抗體或其抗原結合部分之第二輕鏈可變域；C為輕鏈恆定域；(X1)_n為第二連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n不包含Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在；e)表現該第一多肽鏈、該第二多肽鏈、該第三多肽鏈及該第四多肽鏈；以便生成結合第一抗原及第二抗原之結合蛋白。在一些實施例中，第一X1與第二X1相同。在其他實施例中，第一X1與第二X1不同。在一些實施例中，第一X1不為CH1域。在一些實施例中，第二X1不為CL域。

在另一實施例中，提供一種生成具有所需特性之結合TNF之結合蛋白的方法，其包含以下步驟：a)獲得結合TNF且具有至少一種由該結合蛋白展現之所需特性的第一

親本抗體或其抗原結合部分；b)獲得結合第二抗原且具有至少一種由該結合蛋白展現之所需特性的第二親本抗體或其抗原結合部分；c)構築包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n之第一多肽鏈及第三多肽鏈，其中，VD1為獲自該第一親本抗體或其抗原結合部分之第一重鏈可變域；VD2為獲自該第二親本抗體或其抗原結合部分之第二重鏈可變域，該第二親本抗體可與該第一親本抗體相同或不同；C為重鏈恆定域；(X1)_n為第一連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n為Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在；d)構築包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n之第二多肽鏈及第四多肽鏈，其中，VD1為獲自該第一親本抗體或其抗原結合部分之第一輕鏈可變域；VD2為獲自該第二親本抗體或其抗原結合部分之第二輕鏈可變域；C為輕鏈恆定域；(X1)_n為第二連接子，其中該(X1)_n存在或不存在；且(X2)_n不包含Fc區，其中該(X2)_n存在或不存在；e)表現該第一多肽鏈、該第二多肽鏈、該第三多肽鏈及該第四多肽鏈；以便生成具有所需特性之能夠結合第一抗原及第二抗原之雙重可變域免疫球蛋白。在一些實施例中，第一X1與第二X1相同。在其他實施例中，第一X1與第二X1不同。在一些實施例中，第一X1不為CH1域。在一些實施例中，第二X1不為CL域。

在一個實施例中，本文揭示之第一多肽鏈及第二多肽鏈之VD1係獲自相同的親本抗體或其抗原結合部分。在另一實施例中，本文揭示之第一多肽鏈及第二多肽鏈之VD1係獲自不同的親本抗體或其抗原結合部分。在另一實施例

中，本文揭示之第一多肽鏈及第二多肽鏈之VD2係獲自相同的親本抗體或其抗原結合部分。在另一實施例中，本文揭示之第一多肽鏈及第二多肽鏈之VD2係獲自不同的親本抗體或其抗原結合部分。

在一個實施例中，第一親本抗體或其抗原結合部分與第二親本抗體或其抗原結合部分為相同抗體。在另一實施例中，第一親本抗體或其抗原結合部分與第二親本抗體或其抗原結合部分為不同抗體。

在一個實施例中，第一親本抗體或其抗原結合部分結合第一抗原且第二親本抗體或其抗原結合部分結合第二抗原。在一特定實施例中，第一抗原與第二抗原為相同抗原。在另一實施例中，該等親本抗體結合相同抗原上之不同抗原決定基。在另一實施例中，第一抗原與第二抗原為不同抗原。在另一實施例中，第一親本抗體或其抗原結合部分結合第一抗原之效能不同於第二親本抗體或其抗原結合部分結合第二抗原之效能。在另一實施例中，第一親本抗體或其抗原結合部分結合第一抗原之親和力不同於第二親本抗體或其抗原結合部分結合第二抗原之親和力。

在另一實施例中，第一親本抗體或其抗原結合部分及第二親本抗體或其抗原結合部分為人類抗體、CDR移植抗體或人類化抗體。在一實施例中，抗原結合部分為Fab片段；F(ab')₂片段，其為包含由在鉸鏈區之二硫橋鍵連接之兩個Fab片段的二價片段；Fd片段，由VH域及CH1域組成；Fv片段，由抗體之單臂之VL域及VH域組成；dAb片

段；孤立之互補決定區(CDR)；單鏈抗體；或雙功能抗體。

在另一實施例中，結合蛋白具有至少一種由第一親本抗體或其抗原結合部分或者第二親本抗體或其抗原結合部分所展現之所需特性。或者，第一親本抗體或其抗原結合部分及第二親本抗體或其抗原結合部分具有至少一種由雙重可變域免疫球蛋白所展現之所需特性。在一實施例中，所需特性為一或多種抗體參數。在另一實施例中，該等抗體參數為抗原特異性、對抗原之親和力、效能、生物功能、抗原決定基識別、穩定性、溶解度、生產效率、免疫原性、藥物動力學、生物可用性、組織交叉反應性或直系同源抗原結合。在一實施例中，結合蛋白為多價的。在另一實施例中，結合蛋白具多特異性。本文所述之多價及或多特異性結合蛋白具有尤其自治療觀點而言所需之特性。舉例而言，多價及或多特異性結合蛋白可：(1)比二價抗體更快地藉由表現該等抗體所結合之抗原的細胞內化(及/或分解代謝)；(2)為促效抗體；及/或(3)誘導表現該多價抗體能夠結合之抗原之細胞的細胞死亡及/或細胞凋亡。提供多價及或多特異性結合蛋白之至少一種抗原結合特異性的「親本抗體」可為藉由表現該抗體所結合之抗原的細胞內化(及/或分解代謝)者；及/或可為促效劑、細胞死亡誘導抗體及/或細胞凋亡誘導抗體，且如本文所述之多價及或多特異性結合蛋白可顯示一或多種此等特性之改良。此外，親本抗體可缺乏此等特性中之任何一或多者，但可在

構築為如本文所述之多價結合蛋白時賦予該一或多種特性。

在另一實施例中，結合蛋白與一或多種標靶之結合速率常數(K_{on})為：至少約 $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少約 $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少約 $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少約 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、或至少約 $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ，如藉由表面電漿子共振所量測。在一實施例中，結合蛋白與一或多種標靶之結合速率常數(K_{on})介於約 $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 與約 $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之間、介於約 $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 與約 $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之間、介於約 $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 與約 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之間、或介於約 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 與約 $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 之間，如藉由表面電漿子共振所量測。

在另一實施例中，結合蛋白與一或多種標靶之脫離速率常數(K_{off})為至多約 10^{-3} s^{-1} 、至多約 10^{-4} s^{-1} 、至多約 10^{-5} s^{-1} 、或至多約 10^{-6} s^{-1} ，如藉由表面電漿子共振所量測。在一實施例中，結合蛋白與一或多種標靶之脫離速率常數(K_{off})為約 10^{-3} s^{-1} 至約 10^{-4} s^{-1} 、約 10^{-4} s^{-1} 至約 10^{-5} s^{-1} 、或約 10^{-5} s^{-1} 至約 10^{-6} s^{-1} ，如藉由表面電漿子共振所量測。

在另一實施例中，結合蛋白與一或多種標靶之解離常數(K_D)為至多約 10^{-7} M 、至多約 10^{-8} M 、至多約 10^{-9} M 、至多約 10^{-10} M 、至多約 10^{-11} M 、至多約 10^{-12} M 、或至多 10^{-13} M 。在一實施例中，結合蛋白與其標靶之解離常數(K_D)為約 10^{-7} M 至約 10^{-8} M 、約 10^{-8} M 至約 10^{-9} M 、約 10^{-9} M 至約 10^{-10} M 、約 10^{-10} M 至約 10^{-11} M 、約 10^{-11} M 至約 10^{-12} M 、或約 10^{-12} M 至約 10^{-13} M 。

在另一實施例中，本文所述之結合蛋白為進一步包含一

種藥劑之結合物。在另一實施例中，該藥劑為免疫黏著分子、顯影劑、治療劑或細胞毒性劑。在一實施例中，該顯影劑為放射性標記、酶、螢光標記、發光標記、生物發光標記、磁性標記或生物素。在另一實施例中，該放射性標記為： ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 或 ^{153}Sm 。在另一實施例中，治療劑或細胞毒性劑為抗代謝物、烷化劑、抗生素、生長因子、細胞激素、抗血管生成劑、抗有絲分裂劑、蒽環黴素 (anthracycline)、毒素或細胞凋亡劑。

在另一實施例中，本文所述之結合蛋白為結晶之結合蛋白且以晶體形式存在。在一實施例中，晶體為不含載劑的控制醫藥劑釋放之晶體。在另一實施例中，結晶之結合蛋白具有比結合蛋白之可溶性對應物更大的活體內半衰期。在另一實施例中，結晶之結合蛋白保留生物活性。

在另一實施例中，本文所述之結合蛋白經糖基化。舉例而言，糖基化為人類糖基化模式。

亦提供編碼本文揭示之結合蛋白中之任一者的經分離核酸。另一實施例提供一種包含本文揭示之經分離核酸的載體，其中該載體為pcDNA；pTT (Durocher等人，(2002) Nucleic Acids Res. 30(2))；pTT3 (具有額外多個選殖位點之pTT)；pEFBOS (Mizushima及Nagata (1990) Nucleic Acids Res. 18(17))；pBV；pJV；pcDNA3.1 TOPO；pEF6 TOPO；pBOS-hCγ1、pHybE或pBJ。在一實施例中，載體為美國專利公開案第20090239259號中所揭示之載體。

在另一態樣中，宿主細胞係經本文揭示之載體轉型。在一實施例中，宿主細胞為原核細胞。在另一實施例中，宿主細胞為大腸桿菌(E.coli)。在一相關實施例中，宿主細胞為真核細胞。在另一實施例中，真核細胞為原生生物細胞、動物細胞、植物細胞或真菌細胞。在另一實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞，包括(但不限於)CHO、COS；NS0、SP2、PER.C6或真菌細胞(諸如釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*))、或昆蟲細胞(諸如Sf9)。

在一實施例中，例如具有不同特異性之兩者或兩者以上產生於單一重組宿主細胞中。舉例而言，抗體混合物之表現已稱作Oligoclonics™ (Merus B.V., The Netherlands)。美國專利第7,262,028號、第7,429,486號。

提供一種產生本文揭示之結合蛋白的方法，其包含在足以產生結合蛋白之條件下在培養基中培養本文亦揭示之宿主細胞中之任一者。在一實施例中，藉由此方法產生之結合蛋白中的50%-75%為雙重特異性四價結合蛋白。在一特定實施例中，藉由此方法產生之結合蛋白中的75%-90%為雙重特異性四價結合蛋白。在一特定實施例中，所產生之結合蛋白中的90%-95%為雙重特異性四價結合蛋白。

一個實施例提供一種用於釋放結合蛋白之組合物，其中該組合物包含：調配物，該調配物又包含如本文揭示之結晶之結合蛋白及一種成分；以及至少一種聚合載劑。舉例而言，該聚合載劑為：聚(丙烯酸)、聚(氰基丙烯酸酯)、聚(胺基酸)、聚(酸酐)、聚(縮肽)、聚(酯)、聚(乳酸)、聚

(乳酸-共-乙醇酸)或PLGA、聚(b-羥基丁酸酯)、聚(己內酯)、聚(二氧環己酮)、聚(乙二醇)、聚((羥丙基)甲基丙烯醯胺)、聚[(有機)磷氮烯]、聚(原酸酯)、聚(乙烯醇)、聚(乙烯吡咯啉酮)、順丁烯二酸酐-烷基乙烯基醚共聚物、普洛尼克多元醇(pluronic polyols)、白蛋白、海藻酸鹽、纖維素及纖維素衍生物、膠原蛋白、血纖維蛋白、明膠、玻尿酸、寡糖、葡糖胺聚糖、硫酸化多糖、或其摻合物及共聚物。舉例而言，該成分可為白蛋白、蔗糖、海藻糖、乳糖醇、明膠、羥丙基- β -環糊精、甲氧基聚乙二醇或聚乙二醇。另一實施例提供一種治療哺乳動物之方法，其包含向該哺乳動物投與有效量之本文揭示之組合物的步驟。

提供一種醫藥組合物，其包含如本文揭示之結合蛋白及醫藥學上可接受之載劑。在另一實施例中，醫藥組合物包含至少一種用於治療病症之其他治療劑。舉例而言，該其他藥劑可為治療劑、顯影劑、細胞毒性劑、血管生成抑制劑(包括(但不限於)抗VEGF抗體或VEGF-trap)、激酶抑制劑(包括(但不限於)KDR及TIE-2抑制劑)、協同刺激分子阻斷劑(包括(但不限於)抗B7.1、抗B7.2、CTLA4-Ig、抗CD20)、黏著分子阻斷劑(包括(但不限於)抗LFA-1抗體、抗E/L選擇素抗體、小分子抑制劑)、抗細胞激素抗體或其功能片段(包括(但不限於)抗IL-18、抗TNF及抗IL-6/細胞激素受體抗體)、甲胺喋呤(methotrexate)、環孢靈(cyclosporin)、雷帕黴素(rapamycin)、FK506、可偵測標記或報導體、TNF拮抗劑、抗風濕藥、肌肉鬆弛劑、麻醉

藥 (narcotic)、非類固醇消炎藥 (NSAID)、止痛劑、麻醉劑 (anesthetic)、鎮靜劑、局部麻醉劑、神經肌肉阻斷劑、抗微生物劑、抗牛皮癬藥、皮質類固醇、同化類固醇 (anabolic steroid)、紅血球生成素 (erythropoietin)、免疫法、免疫球蛋白、免疫抑止劑、生長激素、激素替代藥物、放射性醫藥劑、抗抑鬱劑、抗精神病藥、興奮劑、哮喘藥物、 β 促效劑、吸入型類固醇、腎上腺素或類似物、細胞激素、或細胞激素拮抗劑。

提供一種治療罹患一或多種能夠由本文揭示之結合蛋白結合之標靶有害之病症的人類個體的方法，其包含向該人類個體投與本文揭示之結合蛋白以使得該人類個體中該一或多種標靶之活性得以抑制且一或多種症狀減輕或達成治療。在一實施例中，可用該等組合物及方法治療或診斷的疾病包括(但不限於)免疫及發炎要素，諸如自體免疫疾病，尤其彼等與發炎相關之自體免疫疾病，包括克羅恩氏病 (Crohn's disease)、牛皮癬(包括斑塊牛皮癬)、關節炎(包括類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、骨關節炎或青少年特發性關節炎)、多發性硬化症、僵直性脊椎炎、全身性紅斑狼瘡、多發性硬化症、敗血症及神經退化性疾病、神經元再生、脊髓損傷、及原發性及轉移性癌症。在另一實施例中，病症為呼吸道病症；哮喘；過敏性及非過敏性哮喘；由於感染所致之哮喘；由於感染呼吸道融合性病毒(respiratory syncytial virus, RSV)所致之哮喘；慢性阻塞性肺病(COPD)；涉及氣管發炎之病狀；嗜伊紅血球

增多症；纖維化及過量黏液產生；囊腫性纖維化；肺纖維化；異位性病變；異位性皮炎；蕁麻疹；濕疹；過敏性鼻炎；過敏性腸胃炎；發炎性及/或自體免疫皮膚病狀；發炎性及/或自體免疫胃腸器官病狀；發炎性腸病(IBD)；潰瘍性結腸炎；發炎性及/或自體免疫肝臟病狀；肝硬化；肝纖維化；由B型及/或C型肝炎病毒造成之肝纖維化；硬皮病；腫瘤或癌症；肝細胞癌；神經膠母細胞瘤；淋巴瘤；霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma)；病毒感染；細菌感染；寄生蟲感染；HTLV-1感染；1型保護性免疫反應之表現的抑止，及在疫苗接種期間1型保護性免疫反應之表現的抑止。

在一實施例中，抗體或其抗原結合部分在單獨或與放射線療法及/或其他化學治療劑組合使用時係用於治療癌症或用於預防或抑制本文所述腫瘤之轉移。

在另一態樣中，提供一種治療罹患病症之患者的方法，其包含在投與如本文所論述之第二藥劑之前、同時或之後投與本文揭示之結合蛋白中之任一者的步驟。在一特定實施例中，第二藥劑為布替耐德(budenoside)；表皮生長因子；皮質類固醇；環孢靈；柳氮磺胺吡啶(sulfasalazine)；胺基水楊酸鹽；6-巰基嘌呤；硫唑嘌呤(azathioprine)；甲硝噻唑(metronidazole)；脂肪加氧酶抑制劑；美沙拉嗪(mesalamine)；奧沙拉嗪(olsalazine)；巴柳氮(balsalazide)；抗氧化劑；血栓素(thromboxane)抑制劑；IL-1受體拮抗劑；抗IL-1 β mAb；抗IL-6或IL-6受體mAb；生長因子；彈

性蛋白酶抑制劑；吡啶基-咪唑化合物；TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12、IL-13、IL-15、IL-16、IL-18、IL-23、EMAP-II、GM-CSF、FGF及PDGF之抗體或促效劑；CD2、CD3、CD4、CD8、CD-19、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90或其配體之抗體；甲胺喋呤；環孢靈；FK506；雷帕黴素；黴酚酸嗎啉乙酯 (mycophenolate mofetil)；來氟米特 (leflunomide)；NSAID；布洛芬 (ibuprofen)；皮質類固醇；潑尼松龍 (prednisolone)；磷酸二酯酶抑制劑；腺苷促效劑；抗血栓劑；補體抑制劑；腎上腺素激導劑；IRAK、NIK、IKK、p38、MAP激酶抑制劑；IL-1 β 轉化酶抑制劑；TNF α 轉化酶抑制劑；T細胞信號傳導抑制劑；金屬蛋白酶抑制劑；柳氮磺胺吡啶；硫唑嘌呤；6-巰基嘌呤；血管收縮素轉化酶抑制劑；可溶性細胞激素受體；可溶性p55 TNF受體；可溶性p75 TNF受體；sIL-1RI；sIL-1RII；sIL-6R；消炎細胞激素；IL-4；IL-10；IL-11；IL-13；或TGF β 。在一特定實施例中，本文揭示之醫藥組合物係藉由非經腸、皮下、肌肉內、靜脈內、關節內、支氣管內、腹內、囊內、軟骨內、腔內、體腔內 (intracelial)、小腦內、腦室內、結腸內、子宮頸內、胃內、肝內、心肌內、骨內、骨盆內、心包內、腹膜內、胸膜內、前列腺內、肺內、直腸內、腎內、視網膜內、脊椎內、滑膜內、胸腔內、子宮內、膀胱內、快速注射、經陰道、經直腸、經頰、舌下、鼻內或經皮投藥投與至患者。亦提供至少一種結合蛋白之至少一種

抗個體基因型抗體。該抗個體基因型抗體包括含有包含免疫球蛋白分子之至少一部分之分子的任何蛋白質或肽，該免疫球蛋白分子之至少一部分為諸如(但不限於)可併入本文提供之結合蛋白中的重鏈或輕鏈或其配體結合部分的至少一個互補決定區(CDR)、重鏈或輕鏈可變區、重鏈或輕鏈恆定區、構架區或其任何部分。

提供一種測定試樣中之TNF (或其片段)之存在、量或濃度的方法。該方法包含藉由免疫分析法分析試樣中之抗原(或其片段)。該免疫分析法(i)使用至少一種結合蛋白及至少一種可偵測標記以及(ii)包含將試樣中作為抗原(或其片段)之存在、量或濃度的直接或間接指示而由可偵測標記生成之信號與對照物或校準物中作為抗原(或其片段)之存在、量或濃度的直接或間接指示而生成的信號進行比較。該校準物視情況為一系列校準物之一部分，其中每一校準物根據抗原(或其片段)濃度而不同於該等系列中之其他校準物。至少一種結合蛋白中之一者包含本文揭示之結合蛋白，諸如DVD結合蛋白。該方法可包含(i)使該試樣與至少一種捕捉劑接觸，該捕捉劑結合於抗原(或其片段)上之抗原決定基以形成捕捉劑/抗原(或其片段)複合物，(ii)使該捕捉劑/抗原(或其片段)複合物與至少一種偵測劑接觸，該偵測劑包含可偵測標記且結合於抗原(或其片段)上未經捕捉劑結合之抗原決定基，以形成捕捉劑/抗原(或其片段)/偵測劑複合物，以及(iii)基於(ii)中所形成之捕捉劑/抗原(或其片段)/偵測劑複合物中由可偵測標記生成之信號來測

定試樣中抗原(或其片段)之存在、量或濃度，其中至少一種捕捉劑及/或至少一種偵測劑為至少一種結合蛋白。

或者，該方法可包含(i)使試樣與至少一種捕捉劑接觸，該捕捉劑結合於抗原(或其片段)上之抗原決定基以形成捕捉劑/抗原(或其片段)複合物，且同時或以任一次序依序使試樣與經可偵測標記之抗原(或其片段)接觸，該經可偵測標記之抗原(或其片段)可與試樣中之任何抗原(或其片段)競爭結合於至少一種捕捉劑，其中存在於試樣中之任何抗原(或其片段)與經可偵測標記之抗原彼此競爭以分別形成捕捉劑/抗原(或其片段)複合物及捕捉劑/經可偵測標記之抗原(或其片段)複合物，以及(ii)基於(ii)中所形成之捕捉劑/經可偵測標記之抗原(或其片段)複合物中由可偵測標記生成之信號來測定試樣中抗原(或其片段)之存在、量或濃度，其中至少一種捕捉劑為至少一種結合蛋白且其中捕捉劑/經可偵測標記之抗原(或其片段)複合物中由可偵測標記生成之信號與試樣中抗原(或其片段)之量或濃度成反比。

在一些實施例中，本文揭示之方法包含藉由免疫分析法分析試樣中之抗原(或其片段)。該免疫分析法(i)使用至少一種結合蛋白及至少一種可偵測標記以及(ii)包含將試樣中作為抗原(或其片段)之存在、量或濃度的直接或間接指示而由可偵測標記生成之信號與對照物或校準物中作為抗原(或其片段)之存在、量或濃度的直接或間接指示而生成的信號進行比較。該校準物視情況為一系列校準物之一部分，其中每一校準物根據抗原(或其片段)濃度而不同於該

等系列中之其他校準物。至少一種結合蛋白中之一者包含本文揭示之結合蛋白，諸如DVD結合蛋白。

若試樣係來自患者，則本文揭示之方法可進一步包含診斷、預測或評估患者之治療性/預防性治療的功效。若該等方法進一步包含評估患者之治療性/預防性治療的功效，則該等方法視情況進一步包含按照需要修改患者之治療性/預防性治療以改良功效。本文揭示之方法可係配合用於自動系統或半自動系統中。

亦提供一種用於分析試樣中之抗原(或其片段)的套組。該套組包含至少一種用於分析試樣中之抗原(或其片段)的組分及用於分析試樣中之抗原(或其片段)的說明書，其中該至少一種組分包括至少一種包含本文揭示之結合蛋白的組合物。

【實施方式】

提供能夠結合兩種或兩種以上抗原之多價及/或多特異性結合蛋白。提供雙重可變域結合蛋白(DVD結合蛋白)及其醫藥組合物，以及用於製備該等DVD結合蛋白之核酸、重組表現載體及宿主細胞。亦提供使用該等DVD結合蛋白在活體外或活體內偵測特異性抗原之方法。

除非本文另外定義，否則本文所用之科技術語具有一般技術者通常所瞭解之含義。若存在任何隱含歧義，則本文中所提供之定義優先於任何字典或外來定義。除非上下文另有需要，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。除非另外陳述，否則「或」的使用意謂「及/或」。術

語「包括(including)」以及其他形式(諸如「包括(includes)」及「包括(included)」)的使用不具限制性。除非另外特定陳述，否則諸如「要素」或「組分」之術語涵蓋構成一個單元之要素及組分以及構成一個以上次單元之要素及組分。

一般而言，關於本文所述之細胞及組織培養、分子生物學、免疫學、微生物學、遺傳學及蛋白質與核酸化學及雜交所用之命名為此項技術中熟知且常用之彼等命名。除非另外指出，否則本文所提供之方法及技術一般根據此項技術中所熟知且如在本說明書中所引用並論述之各個一般參考文獻及更特定之參考文獻中所述的習知方法來進行。酶促反應及純化技術係根據製造商之說明書，如此項技術中通常所實現或如本文所述來進行。關於本文所述之分析化學、合成有機化學及醫藥化學所用之命名以及本文所述之分析化學、合成有機化學及醫藥化學之實驗室程序及技術為此項技術中熟知且常用之彼等命名、實驗室程序及技術。對化學合成、化學分析、醫藥製備、調配及傳遞、以及患者治療使用標準技術。

為了可更容易地理解本發明，以下定義所選術語。

術語「抗體」泛指包含四條多肽鏈(兩條重(H)鏈及兩條輕(L)鏈)之任何免疫球蛋白(Ig)分子或其保留Ig分子之必需抗原決定基結合特徵的任何功能片段、突變體、變異體或衍生物。該等突變體、變異體或衍生物抗體形式為此項技術中已知的，且本文論述其非限制性實施例。

在全長抗體中，各重鏈包含重鏈可變區(本文中縮寫為HCVR或VH)及重鏈恆定區。重鏈恆定區包含三個結構域：CH1、CH2及CH3。各輕鏈包含輕鏈可變區(本文中縮寫為LCVR或VL)及輕鏈恆定區。輕鏈恆定區包含一個結構域：CL。VH及VL區可進一步細分成散置有稱為構架區(FR)之較保守區域的高變區，稱為互補決定區(CDR)。各VH及VL由三個CDR及四個FR組成，其自胺基端至羧基端按以下順序排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。免疫球蛋白分子可為任何類型(例如IgG、IgE、IgM、IgD、IgA及IgY)、種類(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及IgA2)或子類。

術語「Fc區」用以定義免疫球蛋白重鏈之C端區域，其可藉由完整抗體之木瓜蛋白酶消化而生成。Fc區可為原生序列Fc區或變異Fc區。免疫球蛋白之Fc區一般包含兩個恆定域(CH2域及CH3域)，且視情況包含CH4域。置換Fc部分中之胺基酸殘基以改變抗體效應功能在此項技術中為已知的(美國專利第5,648,260號及第5,624,821號)。抗體之Fc部分介導若干重要效應功能，例如細胞激素誘導、ADCC、吞噬作用、補體依賴性細胞毒性(CDC)，及抗體及抗原-抗體複合物之半衰期/清除率。視治療目標而定，此等效應功能在一些情況下為治療性抗體所需但在其他情況下可能為不必要或甚至有害的。某些人類IgG同型、尤其IgG1及IgG3經由分別結合於FcγRs及補體C1q而介導ADCC及CDC。新生兒Fc受體(FcRn)為決定抗體之循環半衰期之關

鍵組分。在另一實施例中，置換抗體之恆定區(例如抗體之Fc區)中之至少一個胺基酸殘基，以便改變抗體之效應功能。免疫球蛋白之兩個相同重鏈之二聚化係由CH3域之二聚化介導且由鉸鏈區內之二硫鍵穩定化(Huber等人，Nature 264: 415-20；Thies等人，(1999) J. Mol. Biol. 293:67-79)。鉸鏈區內之半胱胺酸殘基突變以阻止重鏈-重鏈二硫鍵將使CH3域之二聚化失去穩定。已鑑別負責CH3二聚化之殘基(Dall'Acqua (1998) Biochem. 37: 9266-73)。因此，有可能生成單價半Ig。有趣的是，已在自然界中發現IgG及IgA子類之此等單價半Ig分子(Seligman (1978) Ann. Immunol. 129:855-70；Biewenga等人，(1983) Clin. Exp. Immunol. 51: 395-400)。FcRn: Ig Fc區之化學計量已測定為2:1 (West等人，(2000) Biochem. 39: 9698-708)，且半Fc足以介導FcRn結合(Kim等人，(1994) Eur. J. Immunol. 24: 542-548)。破壞CH3域二聚化之突變對於其FcRn結合可能不具有更大不利影響，此係因為對於CH3二聚化重要之殘基位於CH3 b片狀結構之內部界面上，而負責FcRn結合之區域位於CH2-CH3域之外部界面上。然而，半Ig分子可由於其尺寸小於規則抗體而在組織滲透方面具有某種優勢。在一個實施例中，置換本文提供之結合蛋白之恆定區(例如Fc區)中的至少一個胺基酸殘基，以便破壞重鏈之二聚化，從而產生半DVD結合蛋白分子。IgG之消炎活性取決於IgG Fc片段之N連接聚糖之唾液酸化。已確定消炎活性之精確聚糖需求，以使得可產生適當IgG1 Fc片段，進

而生成具有極大增強效能之完全重組、唾液酸化IgG1 Fc (Anthony等人, (2008) Science 320:373-376)。

術語抗體之「抗原結合部分」係指保留與抗原特異性結合之能力之抗體之一或多個片段。已展示可由全長抗體之片段執行抗體之抗原結合功能。該等抗體實施例亦可為雙特異性、雙重特異性或多特異性形式；特異性結合於兩種或兩種以上不同抗原。涵蓋於術語抗體之「抗原結合部分」內之結合片段的實例包括：(i) Fab片段，其為由VL、VH、CL及CH1域組成之單價片段；(ii) F(ab')₂片段，其為包含由在鉸鏈區之二硫橋鍵連接之兩個Fab片段的二價片段；(iii)由VH及CH1域組成之Fd片段；(iv)由抗體之單臂之VL及VH域組成之Fv片段；(v)包含單一可變域之dAb片段(Ward等人, (1989) Nature 341:544-546；PCT公開案第WO 90/05144號)；及(vi)經分離之互補決定區(CDR)。此外，儘管Fv片段之兩個域(VL及VH)由獨立基因編碼，但其可使用重組方法由合成連接子接合，該連接子能夠使其製成其中VL及VH區配對形成單價分子之單一蛋白質鏈(稱為單鏈Fv (scFv)；參見例如Bird等人, (1988) Science 242:423-426；及Huston等人, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883)。該等單鏈抗體亦意欲涵蓋於術語抗體之「抗原結合部分」內。亦涵蓋其他形式之單鏈抗體，諸如雙功能抗體。雙功能抗體為二價、雙特異性抗體，其中VH及VL域表現於單一多肽鏈上，但使用過短而不允許同一鏈上之兩個結構域之間配對的連接子，藉此迫使該等

結構域與另一鏈之互補結構域配對且產生兩個抗原結合位點(參見例如 Holliger 等人, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak 等人, (1994) *Structure* 2:1121-1123)。該等抗體結合部分在此項技術中為已知的 (Kontermann 及 Dubel 編, *Antibody Engineering* (2001) Springer-Verlag. New York. 第790頁 (ISBN 3-540-41354-5))。另外, 單鏈抗體亦包括「線性抗體」, 其包含與互補輕鏈多肽一起形成一對抗原結合區之一對串聯 Fv 區段 (VH-CH1-VH-CH1)(Zapata 等人, (1995) *Protein Eng.* 8(10): 1057-1062; 及美國專利第 5,641,870 號)。

術語「多價結合蛋白」在本說明書中用於表示包含兩個或兩個以上抗原結合位點之結合蛋白。在一實施例中, 多價結合蛋白經工程改造以具有三個或三個以上抗原結合位點, 且一般不為天然產生之抗體。術語「多特异性結合蛋白」係指能夠結合兩種或兩種以上相關或無關標靶之結合蛋白。本文提供之雙重可變域(DVD)結合蛋白包含兩個或兩個以上抗原結合位點且為四價或多價結合蛋白。DVD 結合蛋白可為單特异性, 亦即能夠結合一種抗原; 或為多特异性, 亦即能夠結合兩種或兩種以上抗原。包含兩個重鏈 DVD 多肽及兩個輕鏈 DVD 多肽之 DVD 結合蛋白稱作 DVD。DVD 結合蛋白之每一半包含一個重鏈 DVD 多肽及一個輕鏈 DVD 多肽, 以及兩個抗原結合位點。各結合位點包含重鏈可變域及輕鏈可變域, 每個抗原結合位點總共有 6 個 CDR 涉及於抗原結合中。

術語「雙特異性抗體」係指藉由以下技術生成之全長抗體：四源雜交瘤技術(參見Milstein及Cuello (1983) Nature 305(5934): 537-40)；藉由兩個不同單株抗體之化學結合(參見Staerz等人，(1985) Nature 314(6012): 628-31)；或藉由在Fc區中引入突變之孔洞中瘤節法或類似方法(參見Holliger等人，(1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90(14): 6444-6448)，該等技術產生多種不同免疫球蛋白物質，其中僅一者為功能性雙特異性抗體。藉由分子功能，雙特異性抗體在其兩個結合臂之一者(一對HC/LC)上結合一種抗原(或抗原決定基)，且在其第二臂(另一對HC/LC)上結合另一抗原(或抗原決定基)。藉由此定義，雙特異性抗體具有兩個不同之抗原結合臂(在特異性及CDR序列方面)，且對於其結合之每一抗原而言為單價的。

術語「雙重特異性抗體」係指可在其兩個結合臂之每一者(一對HC/LC)中結合兩種不同抗原(或抗原決定基)之全長抗體(參見PCT公開案第WO 02/02773號)。因此，雙重特異性結合蛋白具有兩個具備相同特異性及相同CDR序列之相同抗原結合臂，且對於其結合之每一抗原而言為二價的。

結合蛋白之「功能性抗原結合位點」為能夠結合標靶抗原之一結合位點。抗原結合位點之抗原結合親和力未必如抗原結合位點所來源之親本抗體一樣強，但結合抗原之能力可使用已知用於評估抗體與抗原結合之多種方法中之任一者量測。此外，本文中多價抗體之每一抗原結合位點之

抗原結合親和力不需在數量上相同。

術語「連接子」用於表示包含由肽鍵連接之兩個或兩個以上胺基酸殘基的多肽且將其用於連接一或多個抗原結合部分。該等連接子多肽為此項技術中所熟知(參見例如 Holliger等人, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448; Poljak等人, (1994) *Structure*, 2:1121-1123)。

「免疫球蛋白恆定域」係指重鏈或輕鏈恆定域。人類 IgG 重鏈及輕鏈恆定域胺基酸序列在此項技術中為已知的。

術語「單株抗體」或「mAb」係指自實質上同源抗體之群體獲得之抗體, 亦即構成該群體之個別抗體除可以微小量存在的可能天然產生之突變外皆相同。單株抗體針對單一抗原具高度特異性。此外, 與典型地包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體的多株抗體製劑相比, 每一 mAb 針對抗原上之單一決定子。修飾語「單株」不應理解為需要藉由任何特定方法產生抗體。

術語「人類抗體」包括具有來源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體。本文提供之人類抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如由活體外隨機或位點特異性突變誘發或由活體內體細胞突變引入之突變), 例如在 CDR 中且詳言之在 CDR3 中。然而, 術語「人類抗體」不包括來源於另一哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系的 CDR 序列已移植至人類構架序列上之抗體。

如本文所用之術語「重組人類抗體」意欲包括由重組方式製備、表現、產生或分離之所有人類抗體，諸如使用轉染至宿主細胞中之重組表現載體表現之抗體、自重組性組合人類抗體文庫分離之抗體(Hoogenboom H.R. (1997) TIB Tech. 15:62-70；Azzazy H.及Highsmith W.E. (2002) Clin. Biochem. 35:425-445；Gavilondo J.V.及Larrick J.W. (2002) BioTechniques 29:128-145；Hoogenboom H.及Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378)、自針對人類免疫球蛋白基因進行基因轉殖之動物(例如小鼠)分離之抗體(參見Taylor, L. D.等人，(1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295；Kellermann S-A.及Green L.L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597；Little M.等人，(2000) Immunology Today 21:364-370)、或藉由涉及將人類免疫球蛋白基因序列拼接至其他DNA序列之任何其他方式製備、表現、產生或分離之抗體。該等重組人類抗體具有來源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區。然而，在某些實施例中，該等重組人類抗體經受活體外突變誘發(或當使用針對人類Ig序列進行基因轉殖之動物時，則經受活體內體細胞突變誘發)，且因此重組抗體之VH及VL區之胺基酸序列為儘管來源於人類生殖系VH及VL序列且與之相關，但可能天然不存在於活體內人類抗體生殖系譜系內的序列。

「親和力成熟」抗體為一或多個CDR中具有一或多個變化之抗體，該等變化導致與不具有彼等變化之親本抗體相

比，抗體對於抗原之親和力改良。例示性親和力成熟抗體將具有對於標靶抗原為奈莫耳濃度或甚至皮莫耳濃度之親和力。親和力成熟抗體係藉由此項技術中已知之程序製備。Marks等人，(1992) BioTechnology 10:779-783描述藉由VH及VL域改組之親和力成熟。CDR及/或構架殘基之隨機突變誘發由例如 Barbas等人，(1994) Proc. Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813描述且在選擇性突變誘發位置、接觸或超突變位置由活性增強胺基酸殘基進行之選擇性突變如美國專利第6,914,128號中所述。

術語「嵌合抗體」係指包含來自一個物種之重鏈及輕鏈可變區序列及來自另一物種之恆定區序列的抗體，諸如具有與人類恆定區連接之鼠類重鏈及輕鏈可變區的抗體。

術語「CDR移植抗體」係指包含來自一個物種之重鏈及輕鏈可變區序列，但VH及/或VL之一或多個CDR區之序列經另一物種之CDR序列置換的抗體，諸如一或多個鼠類CDR (例如CDR3)已經人類CDR序列置換的具有鼠類重鏈及輕鏈可變區之抗體。

術語「人類化抗體」係指包含來自非人類物種(例如小鼠)之重鏈及輕鏈可變區序列但其中VH及/或VL序列中之至少一部分已變得更「類人類」，亦即與人類生殖系可變序列更相似的抗體。一類人類化抗體為CDR移植抗體，其中人類CDR序列經引入非人類VH及VL序列中以置換相應非人類CDR序列。「人類化抗體」亦為抗體或其變異體、衍生物、類似物或片段，其免疫特異性地結合於相關抗原

且其包含實質上具有人類抗體之胺基酸序列之構架(FR)區及實質上具有非人類抗體之胺基酸序列之CDR。在CDR情形中之術語「實質上」係指胺基酸序列與非人類抗體CDR之胺基酸序列至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%一致的CDR。人類化抗體包含實質上所有至少一個且典型地兩個可變域(Fab、Fab'、F(ab')₂、FabC、Fv)，其中所有或實質上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白(亦即供體抗體)之彼等CDR區且所有或實質上所有FR區為人類免疫球蛋白共同序列之彼等FR區。在一實施例中，人類化抗體亦包含免疫球蛋白Fc區、典型地人類免疫球蛋白之Fc區的至少一部分。在一些實施例中，人類化抗體含有輕鏈以及至少重鏈之可變域。抗體亦可包括重鏈之CH1、鉸鏈、CH2、CH3及CH4區。在一些實施例中，人類化抗體僅含有人類化輕鏈。在一些實施例中，人類化抗體僅含有人類化重鏈。在特定實施例中，人類化抗體僅含有輕鏈及/或人類化重鏈之人類化可變域。

術語「Kabat編號」、「Kabat定義」及「Kabat標記」在本文中可互換使用。此項技術中公認之此等術語係指對於抗體或其抗原結合部分之重鏈及輕鏈可變區中相較於其他胺基酸殘基更加可變(亦即高變)之胺基酸殘基進行編號的系統(Kabat等人，(1971) Ann. NY Acad. Sci. 190:382-391；及Kabat, E.A.等人，(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest，第五版，U.S. Department of Health and Human Services, NIH公開號91-3242)。對於重鏈可變

區，高變區之範圍為CDR1之胺基酸位置31至35、CDR2之胺基酸位置50至65，及CDR3之胺基酸位置95至102。對於輕鏈可變區，高變區之範圍為CDR1之胺基酸位置24至34、CDR2之胺基酸位置50至56，及CDR3之胺基酸位置89至97。

術語「CDR」係指抗體可變序列內之互補決定區。在重鏈及輕鏈之各可變區中存在三個CDR，對於各可變區指定為CDR1、CDR2及CDR3。術語「CDR組」係指出現於能夠結合抗原之單一可變區中之三個CDR之群組。已根據不同系統來不同地定義此等CDR之精確邊界。Kabat所述之系統(Kabat等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest* (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987)及(1991))不僅提供適用於抗體之任何可變區之明確殘基編號系統，而且提供界定三個CDR之精確殘基邊界。此等CDR可稱為Kabat CDR。Chothia及同事(Chothia及Lesk (1987) *J. Mol. Biol.* 196:901-917；Chothia等人，(1989) *Nature* 342:877-883)發現，Kabat CDR內之某些子部分儘管在胺基酸序列層面上具有極大差異，但採用幾乎相同之肽骨架構形。此等子部分指定為L1、L2及L3或H1、H2及H3，其中「L」及「H」分別表示輕鏈區及重鏈區。此等區域可稱為Chothia CDR，其具有與Kabat CDR重疊之邊界。界定與Kabat CDR重疊之CDR的其他邊界已由Padlan (1995) *FASEB J.* 9:133-139及MacCallum (1996) *J. Mol. Biol.* 262(5):732-45)描述。其他CDR邊界定義可能不

嚴格遵循本文中系統之一，但仍然與Kabat CDR重疊，惟鑒於特定殘基或殘基群組或甚至整個CDR不會顯著影響抗原結合之預測或實驗發現而可將其縮短或延長。儘管某些實施例使用Kabat或Chothia定義之CDR，但本文所用之方法可利用根據任何此等系統定義之CDR。

術語「構架」或「構架序列」係指可變區減去CDR之剩餘序列。因為CDR序列之精確定義可由不同系統確定，所以可相應不同地解釋構架序列之含義。六個CDR (輕鏈之CDR-L1、CDR-L2及CDR-L3以及重鏈之CDR-H1、CDR-H2及CDR-H3)亦將輕鏈及重鏈上之構架區在各鏈上劃分為四個子區 (FR1、FR2、FR3及FR4)，其中CDR1位於FR1與FR2之間，CDR2位於FR2與FR3之間，且CDR3位於FR3與FR4之間。在不指定特定子區為FR1、FR2、FR3或FR4的情況下，如其他所提及之構架區表示單一天然產生之免疫球蛋白鏈之可變區內的組合FR。FR表示四個子區之一，且FRs表示構成構架區之四個子區中之兩者或兩者以上。

術語「生殖系抗體基因」或「基因片段」係指由未經歷引起遺傳重排及突變以供特定免疫球蛋白表現之成熟過程的非淋巴樣細胞編碼之免疫球蛋白序列。(參見例如Shapiro等人，(2002) Crit. Rev. Immunol. 22(3): 183-200；Marchalonis等人，(2001) Adv. Exp. Med. Biol. 484:13-30)。各種實施例所提供之優勢之一係源於以下認識：生殖系抗體基因與成熟抗體基因相比更可能使物種中之個體所特有之基本胺基酸序列結構保守，因此當治療性地用於

該物種中時不太可能被認為是來自外來來源。

術語「中和性」係指當結合蛋白特異性結合抗原時抵消該抗原之生物活性。在一實施例中，中和性結合蛋白結合細胞激素且使其生物活性降低至少約20%、40%、60%、80%、85%或85%以上。

術語「活性」包括DVD結合蛋白對兩種或兩種以上抗原之諸如結合特異性及親和力之活性。

術語「抗原決定基」包括能夠特異性結合免疫球蛋白或T細胞受體之任何多肽決定子。在某些實施例中，抗原決定基決定子包括諸如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基之分子之化學活性表面基團，且在某些實施例中可具有特定三維結構特徵及/或特定電荷特徵。抗原決定基為抗原中由抗體結合之區域。抗原決定基因此由已知結合特異性結合搭配物上之互補位點之抗原(或其片段)的區域之胺基酸殘基組成。抗原片段可含有一個以上抗原決定基。在某些實施例中，當抗體在蛋白質及/或巨分子之複雜混合物中優先識別其標靶抗原時，稱其特異性結合該抗原。若抗體交叉競爭(一者阻止另一者之結合或調節效應)，則稱該等抗體「結合同一抗原決定基」。另外，抗原決定基之結構定義(重疊、類似、相同)具資訊性，但因為功能定義涵蓋結構(結合)及功能(調節、競爭)參數，所以其通常更具相關性。

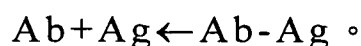
如本文所用之術語「表面電漿子共振」係指藉由使用例如BIAcore®系統(BIAcore International AB, GE Healthcare

公司 (Uppsala, Sweden及 Piscataway, NJ))偵測生物感測器基質內蛋白質濃度之變化來分析即時生物特異性相互作用的光學現象。關於進一步描述，參見Jönsson等人，(1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26；Jönsson。

術語「 K_{on} 」係指如在此項技術中已知之結合蛋白(例如抗體)與抗原締合以形成例如抗體/抗原複合物之結合速率常數。「 K_{on} 」亦稱為術語「締合速率常數」或「 k_a 」，其在本文中可互換使用。此值指示抗體與其標靶抗原之結合速率或抗體與抗原之間之複合物形成速率，亦由以下方程式所示：



術語「 K_{off} 」係指如在此項技術中已知之結合蛋白(例如抗體)自例如抗體/抗原複合物解離之脫離速率常數或「解離速率常數」。「 K_{off} 」亦稱為術語「解離速率常數」或「 k_d 」，其在本文中可互換使用。此值指示抗體自其標靶抗原解離或Ab-Ag複合物隨時間分離為游離抗體及抗原之解離速率，如由以下方程式所示：



術語「 K_D 」及「平衡解離常數」係指在滴定量測中在平衡狀態下獲得之值，或藉由將解離速率常數(k_{off})除以締合速率常數(k_{on})而獲得之值。締合速率常數、解離速率常數及平衡解離常數用於表示抗體對抗原之結合親和力。測定締合及解離速率常數之方法為此項技術中所熟知。使用基於螢光之技術提供高靈敏度及檢查在生理緩衝液中處在

平衡狀態下之樣本的能力。可使用其他實驗性方法及儀器，諸如 BIAcore® (生物分子相互作用分析) 分析法(例如可獲自 BIAcore International AB, GE Healthcare 公司(Uppsala, Sweden)之儀器)。另外，亦可使用 KinExA® 分析法(動態排除分析法(Kinetic Exclusion Assay))，其可獲自 Sapidyne Instruments (Boise, Idaho)。

術語「可操作地連接」係指所述組分處於允許其以其預定方式起作用之關係中的拼接。「可操作地連接」至編碼序列之控制序列以使得在與控制序列相容之條件下達成編碼序列之表現的方式接合。「可操作地連接」之序列包括與相關基因鄰接之表現控制序列與在對側或隔開一定距離起作用以控制相關基因的表現控制序列。如本文所用之術語「表現控制序列」係指為實現其所接合之編碼序列之表現及處理所必需之聚核苷酸序列。表現控制序列包括適當轉錄起始序列、終止序列、啟動子序列及強化子序列；有效 RNA 處理信號，諸如拼接信號及聚腺苷酸化信號；使細胞質 mRNA 穩定之序列；增強轉譯效率之序列(亦即 Kozak 共同序列)；增強蛋白質穩定性之序列；及在需要時增強蛋白質分泌之序列。該等控制序列之性質視宿主有機體而不同；在原核生物中，該等控制序列一般包括啟動子、核糖體結合位點及轉錄終止序列；在真核生物中，該等控制序列一般包括啟動子及轉錄終止序列。術語「控制序列」意欲包括其存在對於表現及處理必不可少的組分，且亦可包括其存在為有利的其他組分，例如前導序列及融合搭配

物序列。

術語「重組宿主細胞」(或簡稱為「宿主細胞」)意指已引入有外源DNA之細胞。在一實施例中，宿主細胞包含兩個或兩個以上(例如多個)編碼抗體之核酸，諸如美國專利第7,262,028號中所述之宿主細胞。應瞭解該等術語意欲不僅指特定個體細胞，而且指此類細胞之子代。因為某些修飾可能由於突變或環境影響而於繼代中存在，所以該子代實際上可能不與母細胞相同，但仍包括於如本文所用之術語「宿主細胞」之範疇內。在一實施例中，宿主細胞包括選自生物界中之任一者的原核及真核細胞。在另一實施例中，真核細胞包括原生生物、真菌、植物及動物細胞。在另一實施例中，宿主細胞包括(但不限於)原核細胞株大腸桿菌；哺乳動物細胞株CHO、HEK 293、COS、NS0、SP2及PER.C6；昆蟲細胞株Sf9；及真菌細胞釀酒酵母。

標準技術可用於重組DNA、寡核苷酸合成及組織培養與轉型(例如電穿孔、脂質體轉染)。酶促反應及純化技術可根據製造商之說明書或如此項技術中通常實現或如本文所述來進行。以上技術及程序一般可根據此項技術中所熟知且如本說明書中所引用並論述之各個一般參考文獻及更特定之參考文獻中所述之習知方法來進行。參見例如 Sambrook 等人，MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (第2版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989))，該文獻出於任何目的以引用的方式併入本文中。

「預定截止值」及「預定含量」一般係指藉由針對預定截止值/含量比較分析結果而用於評估診斷/預後/治療功效結果的分析截止值，其中預定截止值/含量已與各種臨床參數(例如疾病之嚴重程度、進展/無進展/改善等)相聯繫或相關聯。雖然本發明可提供例示性預定含量，但吾人熟知，截止值可視免疫分析法之性質(例如，所用之抗體等)而變化。此外，基於本發明針對其他免疫分析法修改本文中之揭示內容以獲得用於彼等其他免疫分析法之免疫分析法特定截止值完全屬於此項技術者之一般技能範圍內。儘管預定截止值/含量之確切值在不同分析法之間可能有所不同，但如本文所述之相關性(若存在)一般應為適用的。

如本文所述之診斷分析法中所用之「預處理試劑」(例如溶解、沈澱及/或增溶試劑)為一種可溶解存在於試樣中之任何細胞及/或使存在於試樣中之任何分析物增溶的試劑。如本文中進一步所述，預處理並非為所有樣本所必需。其中，使分析物(例如相關多肽)增溶可能需要自存在於樣本中之任何內源性結合蛋白釋放分析物。預處理試劑可為均質的(無需分離步驟)或異質的(需要分離步驟)。藉由使用異質預處理試劑，自試樣移除任何沈澱之分析物結合蛋白，隨後進行分析法之下一步驟。

在本文所述之免疫分析法及套組之上下文中的「品質控制試劑」包括(但不限於)校準物、對照物及靈敏度套件。典型地使用「校準物」或「標準物」(例如一或多個，諸如複數個校準物或標準物)來建立校正(標準)曲線以便內插

分析物(諸如抗體或分析物)之濃度。或者，可使用接近預定陽性/陰性截止值之單個校準物。可聯合使用多個校準物(亦即，一種以上校準物或不同量之校準物)，以便構成「靈敏度套件」。

術語「特異性」在特異性結合對之成員(例如抗原(或其片段)與抗體(或其抗原反應性片段))之間的相互作用之情形下係指該相互作用之選擇反應性。短語「特異性結合」及其類似短語係指抗體(或其抗原反應性片段)特異性結合分析物(或其片段)且不特異性結合其他實體之能力。

術語「特異性結合搭配物」為特異性結合對之成員。特異性結合對包含兩個不同分子，其經由化學或物理方式彼此特異性結合。因此，除常見免疫分析法之抗原與抗體特異性結合對以外，其他特異性結合對可包括生物素與抗生物素蛋白(或抗生蛋白鏈菌素)；碳水化合物與凝集素；互補核苷酸序列；效應分子與受體分子；輔因子與酶；酶抑制劑與酶；及其類似者。此外，特異性結合對可包括為原始特異性結合成員之類似物的成員，例如分析物-類似物。免疫反應性特異性結合成員包括經分離或以重組方式產生之抗原、抗原片段及抗體，包括單株及多株抗體以及其複合物、片段及變異體(包括變異體之片段)。

術語「變異體」意謂因胺基酸之添加(例如插入)、缺失或保守性取代而在胺基酸序列方面不同於既定多肽，但保留既定多肽之生物活性(例如變異IL-17可與抗IL-17抗體競爭結合IL-17)的多肽。胺基酸之保守性取代(亦即以具有類

似特性(例如親水性及程度及帶電區域分佈)之不同胺基酸置換胺基酸)在此項技術中公認為典型地涉及較小變化。如此項技術中所瞭解，此等較小變化可部分地藉由考慮胺基酸之親水指數(hydropathic index)來鑑別(參見例如 Kyte 等人，(1982) J. Mol. Biol. 157:105-132)。胺基酸之親水指數係基於對其疏水性及電荷之考慮。在此項技術中已知具有類似親水指數之胺基酸可經取代且仍保留蛋白質功能。在一個態樣中，具有 ± 2 之親水指數之胺基酸經取代。胺基酸之親水性亦可用於揭示將會產生保留生物功能之蛋白質的取代。對胺基酸親水性之考慮在肽之情況下允許計算該肽之最大局部平均親水性，其為一種已經報導與抗原性及免疫原性密切相關之適用量度(參見例如美國專利第 4,554,101 號)。如在此項技術中所瞭解，具有類似親水性值之胺基酸之取代作用可產生保留生物活性(例如免疫原性)之肽。在一個態樣中，以親水性值處於彼此之 ± 2 範圍內之胺基酸進行取代。胺基酸之疏水性指數及親水性值皆受該胺基酸之特定側鏈的影響。與觀察結果一致，與生物功能相容之胺基酸取代作用應理解為取決於胺基酸且尤其彼等胺基酸之側鏈的相對相似性，如由疏水性、親水性、電荷、大小及其他特性所揭示。「變異體」亦可用於描述已經差異性處理(諸如藉由蛋白水解、磷酸化或其他轉譯後修飾)，但仍保留其生物活性或抗原反應性(例如結合 IL-18 之能力)的多肽或其片段。除非上下文另外相矛盾，否則本文中使用的「變異體」意欲涵蓋變異體之片段。

I) DVD結合蛋白之生成

提供能夠結合TNF之雙重可變域結合蛋白及其製備方法。該結合蛋白可使用多種技術生成。提供生成該結合蛋白之表現載體、宿主細胞及方法。

A) 構築DVD結合蛋白分子

設計雙重可變域(DVD)結合蛋白分子以使得來自兩個不同親本單株抗體之兩個不同輕鏈可變域(VL)藉由重組DNA技術直接或經由短連接子串聯連接，其後為輕鏈恆定域。類似地，重鏈包含串聯連接之兩個不同重鏈可變域(VH)，其後為恆定域CH1及Fc區(圖1A)。

可變域可使用重組DNA技術自藉由本文所述之方法中之任一者生成之親本抗體獲得。在一實施例中，可變域為鼠類重鏈或輕鏈可變域。在另一實施例中，可變域為CDR移植或人類化可變重鏈或輕鏈域。在一實施例中，可變域為人類重鏈或輕鏈可變域。

在一個實施例中，第一及第二可變域係使用重組DNA技術彼此直接連接。在另一實施例中，可變域係經由連接子序列連接。在一實施例中，連接兩個可變域。三個或三個以上可變域亦可直接或經由連接子序列連接。可變域可結合同一抗原或可結合不同抗原。在一些實施例中，DVD結合蛋白分子可包括一個免疫球蛋白可變域及一個非免疫球蛋白可變域，諸如受體之配體結合域、酶之活性域。DVD結合蛋白分子亦可包含兩個或兩個以上非Ig域。

連接子序列可為單一胺基酸或多肽序列。在一實施例

中，連接子序列為 AKTTPKLEEGEFSEAR (SEQ ID NO: 1)；AKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO: 2)；AKTTPKLGG (SEQ ID NO: 3)；SAKTTPKLGG (SEQ ID NO: 4)；SAKTTP (SEQ ID NO: 5)；RADAAP (SEQ ID NO: 6)；RADAAPTVS (SEQ ID NO: 7)；RADAAAAGGPGS (SEQ ID NO: 8)；RADAAAA(G₄S)₄ (SEQ ID NO: 9)；SAKTTPKLEEGEFSEARV (SEQ ID NO: 10)；ADAAP (SEQ ID NO: 11)；ADAAPTVSIFPP (SEQ ID NO: 12)；TVAAP (SEQ ID NO: 13)；TVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 14)；QPKAAP (SEQ ID NO: 15)；QPKAAPSVTLFPP (SEQ ID NO: 16)；AKTTPP (SEQ ID NO: 17)；AKTTPPSVTPLAP (SEQ ID NO: 18)；AKTTAP (SEQ ID NO: 19)；AKTTAPSVYPLAP (SEQ ID NO: 20)；ASTKGP (SEQ ID NO: 21)；ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 22)；GGGGSGGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 23)；GENKVEYAPALMALS (SEQ ID NO: 24)；GPAKELTPLKEAKVS (SEQ ID NO: 25)；GHEAAAVMQVQYPAS (SEQ ID NO: 26)；TVAAPSVFIFPPTVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 27)；及 ASTKGPSVFPLAPASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 28)。連接子序列之選擇係基於若干Fab分子之晶體結構分析。在Fab或抗體分子結構中之可變域與CH1/CL恆定域之間存在天然撓性連接。此天然連接包含約10-12個胺基酸殘基，其由來自V域之C端之4-6個殘基及來自CL/CH1域之N端之4-6個殘基提供。DVD結合蛋白Ig係使用CL或CH1之N端5-6個胺基酸殘基或11-12個胺基酸

殘基分別作為DVD結合蛋白之輕鏈及重鏈中之連接子來生成。CL或CH1域之N端殘基，尤其前5-6個胺基酸殘基採用不具有強二級結構之環構形，因此可充當兩個可變域之間的撓性連接子。因為CL或CH1域之N端殘基為Ig序列之一部分，所以CL或CH1域之N端殘基為可變域之天然延伸，因此在很大程度上使潛在地自連接子及接合出現之任何免疫原性最小化。

其他連接子序列可包括CL/CH1域之任何長度之任何序列，但不包括CL/CH1域之所有殘基；例如CL/CH1域之前5-12個胺基酸殘基；輕鏈連接子可來自C κ 或C λ ；且重鏈連接子可來源於任何同型之CH1，包括C γ 1、C γ 2、C γ 3、C γ 4、C α 1、C α 2、C δ 、C ϵ 及C μ 。連接子序列亦可來源於其他蛋白質，諸如Ig樣蛋白質(例如TCR、FcR、KIR)；基於G/S之序列(例如G4S重複序列；SEQ ID NO: 29)；鉸鏈域來源之序列；及來自其他蛋白質之其他天然序列。

在一實施例中，使用重組DNA技術將恆定域與兩個經連接之可變域連接。在一實施例中，包含經連接之重鏈可變域之序列與重鏈恆定域連接且包含經連接之輕鏈可變域之序列與輕鏈恆定域連接。在一實施例中，恆定域分別為人類重鏈恆定域及人類輕鏈恆定域。在一實施例中，DVD重鏈進一步與Fc區連接。Fc區可為原生序列Fc區或變異Fc區。在另一實施例中，Fc區為人類Fc區。在另一實施例中，Fc區包括來自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE或IgD之Fc區。

在另一實施例中，兩個重鏈DVD多肽與兩個輕鏈DVD多肽組合形成DVD結合蛋白分子。表1列出可用於治療疾病(例如用於治療癌症)之標靶之例示性抗體的VH及VL區的胺基酸序列。在一實施例中，提供包含表1中列出之至少兩個呈任何定位之VH及/或VL區的DVD。在一些實施例中，VD1及VD2係經獨立地選擇。因此，在一些實施例中，VD1與VD2包含相同SEQ ID NO，且在其他實施例中，VD1與VD2包含不同SEQ ID NO。下文提供之VH及VL域序列包含此項技術中已知或可容易地使用此項技術中已知之方法辨別之互補決定區(CDR)及構架序列。在一些實施例中，此等CDR及/或構架序列中之一或多者經來自此項技術中已知結合相同抗原之結合蛋白的其他CDR及/或構架序列置換，而無功能損失。

表1：用於生成DVD結合蛋白之抗體之VH及VL區的胺基酸序列清單

表1A.結合IL-17之某些VH及VL區

SEQ ID No.	ABT 獨特 ID	蛋白質區域	序列 1234567890123456789012345678901234567890
30	AB273VH	VH-IL17 (序列1)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYFNQKFDGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSFDGMDYWGQGTTVTVSS
31	AB273VL	VL-IL17 (序列1)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGIISYIDWFQQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGGTKLEIKR

SEQ ID No.	ABT 獨特 ID	蛋白質區域	序列 1234567890123456789012345678901234567890
32	AB274VH	VH-IL17 (序列2)	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGSFGGYGIGWVRQA PGQGLEWMGGITPFFGFADYAQKFQGRVTITADESTTTAY MELSGLTSDDTAVYYCARDPNEFWNGYYSTHDFDSWGQGT TVTVSS
33	AB274VL	VL-IL17 (序列2)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQDIGSELHWYQQKP DQPPKLLIKYASHSTSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEA EDAGTYCHQTDSPYTFGPGTKVDIKR
34	AB275VH	VH-IL17 (序列3)	EVQLVQSGAEVKKPGESVKISCKASGGSFRSYGISWVRQA PGQGLEWMGGITHFFGITDYAQKFQGRVTITADESTTTAY MELSGLTSDDTAVYYCAREPNDFWNGYYDTHDFDSWGQGT TVTVSS
35	AB275VL	VL-IL17 (序列3)	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQNIGSELHWYQQKP DQSPKLLIKYASHSISGVPSRFSGSGSGTDFTLTINGLEA EDAATYYCHQSDTLPHTFGQGTKVDIKR

上表中展示三種不同變異體(序列1、序列2及序列3)。

表1B. 個別抗TNF- α VH純系序列

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列 123456789012345678901234567890
AE11-1 VH		SEQ ID NO: 36	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFT SYDVNWVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGY AQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIFDSYMDVWGKGLTVTVSS
AE11-1 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 36之 殘基31-35	SYDVN
AE11-1 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 36之 殘基50-66	WMNPNSGNTGYAQKFQG
AE11-1 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 36之 殘基99-106	FDSDYMDV
AE11-5 VH		SEQ ID NO: 37	EVQLVQSGAEVKKPGSSAKVSKASGGTFS SYAISWVRQAPGQGLEWMGGIIPILGTANY AQKFLGRVTITADESTSTVYMELSSLRSED TAVYYCARGLYYDPTRADYWGQGLTVTVSS
AE11-5 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 37之 殘基31-35	SYAIS

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
AE11-5 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 37之 殘基50-66	GIIPILGTANYAQKFLG
AE11-5 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 37之 殘基99-109	GLYYDPTRADY
TNF-JK1 VH		SEQ ID NO: 38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGFTFN NYWMSWVRQAPGKGLEWVANINHDESEKYY VDSAKGRFTISRDNAEKSLFLQMNSLRAED TAVYYCARIIRGRVGFDDYNYAMDVWGQGT LTVSS
TNF-JK1 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 38之 殘基31-35	NYWMS
TNF-JK1 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 38之 殘基50-66	NINHDESEKYYVDSAKG
TNF-JK1 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 38之 殘基99-115	IIRGRVGFDDYNYAMDV
TNF-JK1 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 38之 殘基89-95	QESYSLI
TNF-Y7C VH		SEQ ID NO: 39	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGYTFS NYDINWVRQPTGQGLEWMGWMDPNNNGNTGY AQKFVGRVTMTRDTSKTTAYLELSGLKSED TAVYYCARSSGSGGTWYKEYFQSWGQGTMV TVSS
TNF-Y7C VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 39之 殘基31-35	NYDIN
TNF-Y7C VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 39之 殘基50-66	WMDPNNNGNTGYAQKFVG
TNF-Y7C VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 39之 殘基99-112	KSSGSGGTWYKEYFQS
AE11-7 VH		SEQ ID NO: 40	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKTSGYSLT QYPIHWVRQAPGQRPEWMGWISPGNGNTKL SPKFQGRVTLSDASAGTVFMDLSGLTSDD TAVYFCTSVDLGDHWGQGTTLTVSS
AE11-7 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 40之 殘基31-35	QYPIH
AE11-7 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 40之 殘基50-66	WISPGNGNTKLSPKFQG

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
AE11-7 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 40之 殘基99-104	VDLGDH
AE11-13 VH		SEQ ID NO: 41	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD DYPMHVVRQAPGEGLEWVSGISSNSASIGY ADSVKGRFTISRDNQNTLYLQMNSLGDED TAVYYCVSLTLGIGQGT LVTVSS
AE11-13 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 41之 殘基31-35	DYPMH
AE11-13 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 41之 殘基50-66	GISSNSASIGYADSVKG
AE11-13 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 41之 殘基99-102	LTLG

表 1C. 個別抗 TNF- α VL 純系序列

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
AE11-1 VL		SEQ ID NO: 42	SYELTQPPSVSLSPGQTARITCSGDALPKQ YAYWYQQKPGQAPVLVIYK DTERPSGIPER FSGSSSGTTVTLTISGAQAEDEADYYCQSA DSSGTSWVFGGGTKLTVL
AE11-1 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 42之 殘基23-33	SGDALPKQYAY
AE11-1 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 42之 殘基49-55	KDTERPS
AE11-1 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 42之 殘基89-98	SADSSGTSWV
AE11-5 VL		SEQ ID NO: 43	DIVMTQSPDFHSVTPKEKVTITCRASQSIG SSLHWYQQKPDQSPKLLIRHASQSISGVPS RFGSGSGTDFTLTISLEAEDAATYYCHQ SSSSPPPTFGQGTQVEIK
AE11-5 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 43之 殘基24-34	RASQSIGSSLH
AE11-5 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 43之 殘基50-56	HASQSIS
AE11-5 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 43之 殘基89-98	HQSSSSPPPT

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
TNF-JK1 VL		SEQ ID NO: 44	DIRLTQSPSPLSASVGDRVITITCRASQSIG NYLNWYQHKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGTGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQE SYSLIFAGGTKVEIK
TNF-JK1 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 44之 殘基24-34	RASQSIGNYLN
TNF-JK1 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 44之 殘基50-56	AASSLQS
TNF-JK1 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 44之 殘基89-95	QESYSLI
TNF-Y7C VL		SEQ ID NO: 45	DIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLL HSNGYNYLDWYLQKPGQFPQLLIYLGSYRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYCMQRIEFPPGTFGQGTKLGIK
TNF-Y7C VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 45之 殘基24-39	RSSQSLLHSNGYNYLD
TNF-Y7C VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 45之 殘基55-61	LGSYRAS
TNF-Y7C VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 45之 殘基94-103	MQRIEFPPGT
AE11-7 VL		SEQ ID NO: 46	DIVMTQSPEFQSVTPKEKVTITCRASQSIG SSLHWYQQKPDQSPKLLINYASQSFSGVPS RFSGGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQ SSNLPITFGQGTRLEIK
AE11-7 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 46之 殘基24-34	RASQSIGSSLH
AE11-7 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 46之 殘基50-56	YASQSFS
AE11-7 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 46之 殘基89-97	HQSSNLPIT
AE11-13 VL		SEQ ID NO: 47	DIRLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIG NYLHWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ SYSTLYSFGQGTKLEIK
AE11-13 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 47之 殘基24-34	RASQSIGNYLH

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
AE11-13 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 47之 殘基50-56	AASSLQS
AE11-13 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 47之 殘基89-97	QQSYSTLYS

以下各表提供經轉化成用於表徵之IgG蛋白之人類化
MAK-195抗體VH與VL序列的清單。

表1D. IgG轉化純系之抗TNF Ab VH序列

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
A8 VH		SEQ ID NO: 48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVNWVRQAPGKGLEWVSMIAADGFTDYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWHHGPVAYWGQGT LTVSS
A8 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 48之 殘基31-35	NYGVN
A8 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 48之 殘基50-65	MIAADGFTDYASSVKG
A8 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 48之 殘基98-106	EWHHGPVAY
B5 VH		SEQ ID NO: 49	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSLIRGDGSTDYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWHHGPVAYWGQGT LTVSS
B5 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 49之 殘基31-35	NYGVS
B5 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 49之 殘基50-65	LIRGDGSTDYASSLKG
B5 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 49之 殘基98-106	EWHHGPVAY
rHC44 VH		SEQ ID NO: 50	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTLKSRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
rHC44 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 50之 殘基31-35	NYGVS
rHC44 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 50之 殘基50-65	MIWADGSTHYADTLKS
rHC44 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 50之 殘基98-106	EWQHGPVAY
rHC22 VH		SEQ ID NO: 51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTDYA DTVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC22 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 51之 殘基31-35	NYGVT
rHC22 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 51之 殘基50-65	MIWADGSTDYADTVKG
rHC22 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 51之 殘基98-106	EWQHGPVAY
rHC81 VH		SEQ ID NO: 52	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DSVKSRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGLTVTVSS
rHC81 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 52之 殘基31-35	NYGVT
rHC81 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 52之 殘基50-65	MIWADGSTHYADSVKS
rHC81 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 52之 殘基98-106	EWQHGPLAY
rHC18 VH		SEQ ID NO: 53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWS DGSTDYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
rHC18 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 53之 殘基31-35	NYGVT
rHC18 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 53之 殘基50-65	MIWS DGSTDYASSVKG

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
rHC18 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 53之 殘基98-106	EWQHGPVAY
rHC14 VH		SEQ ID NO: 54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPAA YWGQGT LTVSS
rHC14 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 54之 殘基31-35	NYGVT
rHC14 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 54之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSLKG
rHC14 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 54之 殘基98-106	EWQHGPAA Y
rHC3 VH		SEQ ID NO: 55	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS
rHC3 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 55之 殘基31-35	NYGVS
rHC3 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 55之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSLKG
rHC3 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 55之 殘基98-106	EWQHGPVAY
rHC19 VH		SEQ ID NO: 56	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPAA YWGQGT LTVSS
rHC19 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 56之 殘基31-35	NYGVT
rHC19 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 56之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
rHC19 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 56之 殘基98-106	EWQHGPAA Y

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
rHC34 VH		SEQ ID NO: 57	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPSAYWGQGT LTVSS
rHC34 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 57之 殘基31-35	NYGVT
rHC34 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 57之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
rHC34 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 57之 殘基98-106	EWQHGPSAY
rHC83 VH		SEQ ID NO: 58	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS
rHC83 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 58之 殘基31-35	NYGVT
rHC83 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 58之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
rHC83 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 58之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-19 VH		SEQ ID NO: 59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS
S4-19 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 59之 殘基31-35	NYGVE
S4-19 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 59之 殘基50-65	GIWADGSTHYADTVKS
S4-19 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 59之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-50 VH		SEQ ID NO: 60	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKS RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGT LTVSS

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
S4-50 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 60之 殘基31-35	NYGVE
S4-50 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 60之 殘基50-65	GIWADGSTHYADTVKS
S4-50 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 60之 殘基98-106	EWQHGPVGY
S4-63 VH		SEQ ID NO: 61	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVEWVRQAPGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-63 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 61之 殘基31-35	NYGVE
S4-63 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 61之 殘基50-65	GIWADGSTHYADTVKS
S4-63 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 61之 殘基98-106	EWQHGPVGY
S4-55 VH		SEQ ID NO: 62	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTDYA STVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVGYWGQGLTVTVSS
S4-55 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 62之 殘基31-35	NYGVT
S4-55 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 62之 殘基50-65	MIWADGSTDYASTVKG
S4-55 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 62之 殘基98-106	EWQHGPVGY
S4-6 VH		SEQ ID NO: 63	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGLTVTVSS
S4-6 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 63之 殘基31-35	NYGVT
S4-6 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 63之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
S4-6 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 63之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-18 VH		SEQ ID NO: 64	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DSVKSRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGT LTVSS
S4-18 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 64之 殘基31-35	NYGVT
S4-18 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 64之 殘基50-65	MIWADGSTHYADSVKS
S4-18 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 64之 殘基98-106	EWQHGPLAY
S4-31 VH		SEQ ID NO: 65	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVQWVRQAPGKGLEWVSGIGADGSTAYA SSLKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHSGLAYWGQGT LTVSS
S4-31 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 65之 殘基31-35	NYGVQ
S4-31 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 65之 殘基50-65	GIGADGSTAYASSLKG
S4-31 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 65之 殘基98-106	EWQHSGLAY
S4-34 VH		SEQ ID NO: 66	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVSWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGT LTVSS
S4-34 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 66之 殘基31-35	NYGVS
S4-34 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 66之 殘基50-65	MIWADGSTHYADTVKG
S4-34 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 66之 殘基98-106	EWQHGPLAY

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
S4-74 VH		SEQ ID NO: 67	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA DTVKGRTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPLAYWGQGT LTVSS
S4-74 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 67之 殘基31-35	NYGVT
S4-74 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 67之 殘基50-65	MIWADGSTHYADTVKG
S4-74 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 67之 殘基98-106	EWQHGPLAY
S4-12 VH		SEQ ID NO: 68	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS
S4-12 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 68之 殘基31-35	NYGVT
S4-12 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 68之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
S4-12 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 68之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-54 VH		SEQ ID NO: 69	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS
S4-54 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 69之 殘基31-35	NYGVT
S4-54 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 69之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
S4-54 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 69之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-17 VH		SEQ ID NO: 70	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGT LTVSS

蛋白質區域			序列
			123456789012345678901234567890
S4-17 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 70之 殘基31-35	NYGVT
S4-17 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 70之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
S4-17 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 70之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-40 VH		SEQ ID NO: 71	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLVTVSS
S4-40 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 71之 殘基31-35	NYGVT
S4-40 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 71之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
S4-40 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 71之 殘基98-106	EWQHGPVAY
S4-24 VH		SEQ ID NO: 72	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS NYGVTWVRQAPGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAREWQHGPVAYWGQGTLVTVSS
S4-24 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 72之 殘基31-35	NYGVT
S4-24 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 72之 殘基50-65	MIWADGSTHYASSVKG
S4-24 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 72之 殘基98-106	EWQHGPVAY

表 1E. IgG轉化純系之抗 TNF Ab VL 序列

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
hMAK195 VL. 1 VL		SEQ ID NO: 73	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 73之 殘基24-34	KASQAVSSAVA
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 73之 殘基50-56	WASTRHT
hMAK195 VL. 1 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 73之 殘基89-97	QQHYSTPFT
S4-24 VL		SEQ ID NO: 74	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-24 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 74之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-24 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 74之 殘基50-56	WASTLHT
S4-24 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 74之 殘基89-97	QQHYRTPFT
S4-40 VL		SEQ ID NO: 75	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFSFGQGTKLEIKR
S4-40 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 75之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-40 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 75之 殘基50-56	WASTRHS
S4-40 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 75之 殘基89-97	QQHYRTPFS
S4-17 VL		SEQ ID NO: 76	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-17 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 76之 殘基24-34	RASQLVSSAVA

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
S4-17 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 76之 殘基50-56	WASTRHS
S4-17 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 76之 殘基89-97	QQHYRTPFT
S4-54 VL		SEQ ID NO: 77	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYKTPFSFGQGTKLEIKR
S4-54 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 77之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-54 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 77之 殘基50-56	WASARHT
S4-54 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 77之 殘基89-97	QQHYKTPFS
S4-12 VL		SEQ ID NO: 78	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYKTPFTFGQGTKLEIKR
S4-12 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 78之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-12 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 78之 殘基50-56	WASARHT
S4-12 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 78之 殘基89-97	QQHYKTPFT
S4-74 VL		SEQ ID NO: 79	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-74 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 79之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-74 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 79之 殘基50-56	WASARHT
S4-74 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 79之 殘基89-97	QQHYRTPFT

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
S4-34 VL		SEQ ID NO: 80	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-34 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 80之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-34 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 80之 殘基50-56	WASTRHT
S4-34 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 80之 殘基89-97	QQHYRTPFT
S4-31 VL		SEQ ID NO: 81	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGV SALAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSAPFTFGQGTKLEIKR
S4-31 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 81之 殘基24-34	RASQGVSSALA
S4-31 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 81之 殘基50-56	WASALHS
S4-31 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 81之 殘基89-97	QQHYSAPFT
S4-18 VL		SEQ ID NO: 82	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR
S4-18 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 82之 殘基24-34	RASQLVSSAVA
S4-18 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 82之 殘基50-56	WASTLHS
S4-18 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 82之 殘基89-97	QQHYSTPFT
S4-6 VL		SEQ ID NO: 83	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSTPFTFGQGTKLEIKR

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
S4-6 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 83之 殘基24-34	KASQLVSSAVA
S4-6 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 83之 殘基50-56	WASTRHT
S4-6 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 83之 殘基89-97	QQHYSTPFT
S4-55 VL		SEQ ID NO: 84	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-55 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 84之 殘基24-34	KASQLVSSAVA
S4-55 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 84之 殘基50-56	WASTLHT
S4-55 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 84之 殘基89-97	QQHYRTPFT
S4-63 VL		SEQ ID NO: 85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQKVS SALAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRPPFTFGQGTKLEIKR
S4-63 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 85之 殘基24-34	KASQKVSSALA
S4-63 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 85之 殘基50-56	WASALHS
S4-63 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 85之 殘基89-97	QQHYRPPFT
S4-50 VL		SEQ ID NO: 86	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASALHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYSSPYTFTFGQGTKLEIKR
S4-50 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 86之 殘基24-34	KASQLVSSAVA
S4-50 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 86之 殘基50-56	WASALHT

蛋白質區域		SEQ ID NO.	序列
			123456789012345678901234567890
S4-50 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 86之 殘基89-97	QQHYSSPYT
S4-19 VL		SEQ ID NO: 87	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQLVS SAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ HYRTPFTFGQGTKLEIKR
S4-19 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 87之 殘基24-34	KASQLVSSAVA
S4-19 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 87之 殘基50-56	WASTLHT
S4-19 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 87之 殘基89-97	QQHYRTPFT

以下各表提供經轉化成用於表徵之IgG蛋白之人類化
MAK-199抗體VH與VL序列的清單。

表 1F. IgG轉化純系之抗TNF Ab VH序列

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#10 VH		SEQ ID NO: 88	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFA NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3#10 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 88之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#10 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 88之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3#10 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 88之 殘基99-112	RASQDISQYLN
J662M2S3#13 VH		SEQ ID NO: 89	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#13 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 89之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#13 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 89之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKLQG
J662M2S3#13 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 89之 殘基99-112	KLFNTVDVTDNAMD
J662M2S3#15 VH		SEQ ID NO: 90	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGVP TYAQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLR SED TAVYYCARKLFNTVDVTDNAMDYWGQ GTTV TVSS
J662M2S3#15 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 90之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#15 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 90之 殘基50-66	WINTYTGVPPTYAQKFQG
J662M2S3#15 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 90之 殘基99-112	KLFNTVDVTDNAMD
J662M2S3#16 VH		SEQ ID NO: 91	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPT Y AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLR SED TAVYYCARKLFNTVAVTDNAMDYWGQ GTTV TVSS
J662M2S3#16 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 91之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#16 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 91之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3#16 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 91之 殘基99-112	KLFNTVAVTDNAMD
J662M2S3#21 VH		SEQ ID NO: 92	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFR NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPT Y AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLR SED TAVYFCARKLFTTVDVTDNAMDYWGQ GTTV TVSS
J662M2S3#21 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 92之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#21 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 92之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKFQG

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#21 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 92之 殘基99-112	KLFTTVDTVTDNAMD
J662M2S3#34 VH		SEQ ID NO: 93	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFN NYGINWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKFRNTVAVTDYAMDYWGQGT TVSS
J662M2S3#34 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 93之 殘基31-35	NYGIN
J662M2S3#34 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 93之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3#34 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 93之 殘基99-112	KFRNTVAVTDYAMD
J662M2S3#36 VH		SEQ ID NO: 94	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFR NYGITWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGT TVSS
J662M2S3#36 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 94之 殘基31-35	NYGIT
J662M2S3#36 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 94之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3#36 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 94之 殘基99-112	KLFTTMDVTDNAMD
J662M2S3#45 VH		SEQ ID NO: 95	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFA NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGT TVSS
J662M2S3#45 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 95之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#45 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 95之 殘基50-66	WINTYTGKPTYAQKFQG
J662M2S3#45 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 95之 殘基99-112	KLFTTMDVTDNAMD

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#58 VH		SEQ ID NO: 96	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFS NYGINWVRQAPGQGLEWMGWINTYTGQPSY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCARKLFLKTEAVTDYAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3#58 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 96之 殘基31-35	NYGIN
J662M2S3#58 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 96之 殘基50-66	WINTYTGQPSYAQKFQG
J662M2S3#58 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 96之 殘基99-112	KLFKTEAVTDYAMD
J662M2S3#72 VH		SEQ ID NO: 97	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFN NYGIIWVRQAPGQGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSED TAVYFCARKLFTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
J662M2S3#72 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 97之 殘基31-35	NYGII
J662M2S3#72 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 97之 殘基50-66	WINTYSGKPTYAQKFQG
J662M2S3#72 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 97之 殘基99-112	KLFTTMDVTDNAMD

表 1G. IgG轉化純系之抗 TNF Ab VL 序列

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#10 VL		SEQ ID NO: 98	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQDIS QYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#10 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 98之 殘基24-34	RASQDISQYLN
J662M2S3#10 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 98之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#10 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 98之 殘基89-97	QQGNTWPPT

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#13 VL		SEQ ID NO: 99	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNSWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#13 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 99之 殘基24-34	RASQDISNYLN
J662M2S3#13 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 99之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#13 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 99之 殘基89-97	QQGNSWPPT
J662M2S3#15 VL		SEQ ID NO: 100	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIY NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#15 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 100之 殘基24-34	RASQDIYNYLN
J662M2S3#15 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 100之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#15 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 100之 殘基89-97	QQGNTQPPT
J662M2S3#16 VL		SEQ ID NO: 101	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIE NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#16 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 101之 殘基24-34	RASQDIENYLN
J662M2S3#16 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 101之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#16 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 101之 殘基89-97	QQGNTQPPT
J662M2S3#21 VL		SEQ ID NO: 102	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NYLNWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#21 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 102之 殘基24-34	RASQDISNYLN

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#21 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 102之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#21 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 102之 殘基89-97	QQGNTWPPT
J662M2S3#34 VL		SEQ ID NO: 103	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIY DVLNWWYQQKPGKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ GITLPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#34 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 103之 殘基24-34	RASQDIYDVLN
J662M2S3#34 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 103之 殘基50-56	YASRLQS
J662M2S3#34 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 103之 殘基89-97	QQGITLPPT
J662M2S3#36 VL		SEQ ID NO: 104	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NYLNWWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#36 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 104之 殘基24-34	RASQDISNYLN
J662M2S3#36 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 104之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#36 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 104之 殘基89-97	QQGNTWPPT
J662M2S3#45 VL		SEQ ID NO: 105	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS QYLNWWYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQ GNTWPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#45 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 105之 殘基24-34	RASQDISQYLN
J662M2S3#45 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 105之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#45 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 105之 殘基89-97	QQGNTWPPT

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J662M2S3#58 VL		SEQ ID NO: 106	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQNIY NVLNWIYQQKPGKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTMPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#58 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 106之 殘基24-34	RASQNIYNVLN
J662M2S3#58 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 106之 殘基50-56	YASRLQS
J662M2S3#58 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 106之 殘基89-97	QQGNTMPPT
J662M2S3#72 VL		SEQ ID NO: 107	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIS NFLNWIYQQKPGKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYFCQQ GNTQPPTFGQGTKLEIK
J662M2S3#72 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 107之 殘基24-34	RASQDISNFLN
J662M2S3#72 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 107之 殘基50-56	YTSRLQS
J662M2S3#72 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 107之 殘基89-97	QQGNTQPPT

以下各表提供來自轉化純系之抗IL-17序列。

表 1H. 用於生成 DVD 結合蛋白之來自轉化純系之個別抗
IL-17 Ab VH 序列

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
h10f7VH. 1a. glm VH		SEQ ID NO: 108	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT DYEIHWRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYESFYGMDYWGQGTITVTS S
h10f7VH. 1a. glm VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 108之 殘基31-35	DYEIH

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
h10f7VH. 1a. g1m VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 108之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
h10f7VH. 1a. g1m VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 108之 殘基99-110	YYRYESFYGMDY
			123456789012345678901234567890
J439M1S3R5# 10 VH		SEQ ID NO: 109	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFD DYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWDSFYGMDYWGQGTTVTVS S
J439M1S3R5# 10 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 109之 殘基31-35	DYEIH
J439M1S3R5# 10 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 109之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S3R5# 10 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 109之 殘基99-110	YDKWDSFYGMDY
J439M1S3R5# 11 VH		SEQ ID NO: 110	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFT DYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYSKWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
J439M1S3R5# 11 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 110之 殘基31-35	DYEIH
J439M1S3R5# 11 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 110之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S3R5# 11 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 110之 殘基99-110	YSKWDSFDGMDY
J439M1S2 (H) 3 #A6 VH		SEQ ID NO: 111	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFT DYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLY NQKFDGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
439M1S2 (H) 3 #A6 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 111之 殘基31-35	DYEIH
439M1S2 (H) 3 #A6 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 111之 殘基50-66	VNDPDSGGTLYNQKFDG
439M1S2 (H) 3 #A6 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 111之 殘基99-110	YDKWYSFEGMDI
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH		SEQ ID NO: 112	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFT DYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKYWSFEGMDYWGQGTTVTVS S
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 112之 殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 112之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 112之 殘基99-110	YDKYWSFEGMDY

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S2 (H) 3 #A16 VH		SEQ ID NO: 113	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFS DYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
J439M1S2 (H) 3 #A16 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 113之 殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H) 3 #A16 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 113之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H) 3 #A16 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 113之 殘基99-110	DKWYSFEGMDI
J439M1S2 (H) 3 #B13 VH		SEQ ID NO: 114	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFS DYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKYWSFEGMDYWGQGTTVTVS S
J439M1S2 (H) 3 #B13 VH	CDR- H1	SEQ ID NO: 114之 殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H) 3 #B13 VH	CDR- H2	SEQ ID NO: 114之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H) 3 #B13 VH	CDR- H3	SEQ ID NO: 114之 殘基99-110	DKYWSFEGMDY
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH		SEQ ID NO: 115	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFT DYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 115之 殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 115之 殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 115之 殘基99-110	DKWYSFEGMDI

表 1I. 用於生成 DVD 結合蛋白之來自轉化純系之個別抗

IL-17 Ab VL 序列

蛋白質區域		SEQ ID No.	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S3R5# 10 VL		SEQ ID NO: 116	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSGSI SYIDWFQQKPGKAPKRLIYATFELASGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCHQ LGSYPDTFGQGTKLEIK
J439M1S3R5# 10 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 116之 殘基24-34	SASSGSISYID
J439M1S3R5# 10 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 116之 殘基50-56	ATFELAS
J439M1S3R5# 10 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 116之 殘基89-97	HQLGSYPDT
J439M1S3R5# 11 VL		SEQ ID NO: 117	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGII SYIDWFQQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCRQ VGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S3R5# 11 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 117之 殘基24-34	RASSGIISYID

蛋白質區域		SEQ ID No.	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S3R5# 11 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 117之 殘基50-56	ATFDLAS
J439M1S3R5# 11 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 117之 殘基89-97	RQVGSPET
J427 M2S3 #12 VL		SEQ ID NO: 118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGII SSIDWFQQKPGKAPKRLIYATFALQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCSQ MSSYPHTFGQGTKLEIK
J427 M2S3 #12 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 118之 殘基24-34	SASSGISSID
J427 M2S3 #12 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 118之 殘基50-56	ATFALQS
J427 M2S3 #12 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 118之 殘基89-97	SQMSSYPHT
J427 M2S3 #27 VL		SEQ ID NO: 119	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDIS SYLNWFQQKPGKSPKRLIYRTSELQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQ WSSYPWTFGQGTKLEIK
J427 M2S3 #27 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 119之 殘基24-34	SASSDISSYLN
J427 M2S3 #27 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 119之 殘基50-56	RTSELQS
J427 M2S3 #27 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 119之 殘基89-97	QQWSSYPWT
J439M1S2 (H) 3#A6 VL		SEQ ID NO: 120	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIR SYIDWFQQKPGKSPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCRQ VGNYPGTFGQGTKLEIK

蛋白質區域		SEQ ID No.	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S2 (H) 3#A6 VL	CDR- L1	SEQ ID NO: 120之 殘基24-34	SASQGIRSYID
J439M1S2 (H) 3#A6 VL	CDR- L2	SEQ ID NO: 120之 殘基50-56	ATFDLAS
J439M1S2 (H) 3#A6 VL	CDR- L3	SEQ ID NO: 120之 殘基89-97	RQVGNYPGT

在以下實例章節中提供能夠結合特定標靶之特異性DVD結合蛋白分子及其製備方法的詳細描述。

B) DVD結合蛋白的產生

本文提供之結合蛋白可藉由此項技術中已知之多種技術中之任一者產生。舉例而言，自宿主細胞表現，其中藉由標準技術將編碼DVD重鏈及DVD輕鏈之表現載體轉染至宿主細胞中。各種形式之術語「轉染」意欲涵蓋通常用於將外源DNA引入原核或真核宿主細胞中之多種技術，例如電穿孔、磷酸鈣沈澱、DEAE-聚葡萄糖轉染及其類似技術。儘管有可能在原核或真核宿主細胞中表現本文提供之DVD結合蛋白，但因為真核細胞(且詳言之哺乳動物細胞)與原核細胞相比更可能組裝且分泌經適當摺疊且具免疫活性之DVD蛋白，所以於該等真核細胞(例如哺乳動物宿主細胞)中表現該等DVD蛋白。

用於表現本文提供之重組抗體之例示性哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢細胞(CHO細胞)(包括 Urlaub 及 Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220 中所述之

dhfr-CHO細胞，其與DHFR可選擇標記物一起使用，如例如 Kaufman 及 Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621 中所述)、NS0骨髓瘤細胞、COS細胞、SP2及PER.C6細胞。當將編碼DVD蛋白之重組表現載體引入哺乳動物宿主細胞中時，藉由培養宿主細胞持續足以允許DVD蛋白在宿主細胞中表現或允許DVD蛋白分泌至宿主細胞藉以生長之培養基中之時段來產生DVD蛋白。可使用標準蛋白質純化方法自培養基中回收DVD蛋白。

在重組表現本文提供之DVD蛋白之例示性系統中，藉由磷酸鈣介導之轉染將編碼DVD重鏈與DVD輕鏈之重組表現載體引入dhfr-CHO細胞中。在重組表現載體內，使DVD重鏈及輕鏈基因各自可操作地連接至CMV強化子/AdMLP啟動子調控元件以驅動基因以高水準轉錄。重組表現載體亦帶有DHFR基因，其允許使用甲胺喋呤選擇/擴增來選擇已經載體轉染之CHO細胞。培養所選轉型體宿主細胞以允許表現DVD重鏈及輕鏈且自培養基中回收完整DVD蛋白。使用標準分子生物學技術製備重組表現載體，轉染宿主細胞，選擇轉型體，培養宿主細胞且自培養基中回收DVD蛋白。亦提供藉由在適合之培養基中培養本文提供之宿主細胞直至合成DVD蛋白來合成本文提供之DVD蛋白的方法。該方法可進一步包含自培養基中分離DVD蛋白。

DVD結合蛋白之重要特徵在於其可以與習知抗體類似之方式產生及純化。DVD結合蛋白之產生導致具有所需雙重特異性活性之均質、單一主要產物，而無恆定區之任何序

列修飾或任何種類之化學修飾。先前描述之生成「雙特異性」、「多特異性」及「多特異性多價」全長結合蛋白之其他方法不會產生單一初級產物，而實際上導致細胞內或分泌產生經組裝之非活性、單特異性、多特異性、多價、全長結合蛋白及具有不同結合位點之組合的多價全長結合蛋白之混合物。作為一實例，基於由Miller及Presta (PCT公開案第WO 2001/077342號)描述之設計，存在重鏈及輕鏈之16種可能組合。因此，僅6.25%之蛋白質可能呈所需活性形式，而非呈與其他15種可能組合相比之單一主要產物或單一初級產物形式。使用典型地用於大規模製造中之標準層析技術將所需的完全活性形式之蛋白質與非活性及部分活性形式之蛋白質分離尚有待證明。

令人驚訝的是，本文提供之「雙重特異性多價全長結合蛋白」之設計導致雙重可變域輕鏈及雙重可變域重鏈主要組裝為所需「雙重特異性多價全長結合蛋白」。

至少50%、至少75%且至少90%之經組裝且表現之雙重可變域免疫球蛋白分子為所需雙重特異性四價蛋白。此實施例尤其增強商業效用。因此，提供在單一細胞中表現雙重可變域輕鏈及雙重可變域重鏈，從而產生「雙重特異性四價全長結合蛋白」之單一初級產物的方法。

提供在單一細胞中表現雙重可變域輕鏈及雙重可變域重鏈，從而產生「雙重特異性四價全長結合蛋白」之「初級產物」的方法，其中該「初級產物」中50%以上(諸如75%以上及90%以上)為包含雙重可變域輕鏈及雙重可變域重鏈

之所有組裝蛋白質。

II) 衍生化DVD結合蛋白

一個實施例提供經標記之結合蛋白，其中該結合蛋白經衍生處理或連接於另一功能分子(例如另一肽或蛋白質)。舉例而言，經標記之結合蛋白可藉由使本文提供之結合蛋白(藉由化學偶合、遺傳融合、非共價締合或以其他方式)與一或多個其他分子實體功能性連接來進行衍生處理，該一或多個分子實體為諸如另一抗體(例如雙特異性抗體或雙功能抗體)、可偵測劑、細胞毒性劑、醫藥劑及/或可介導結合蛋白與另一分子(諸如抗生蛋白鏈菌素核心區或聚組胺酸標籤)締合之蛋白質或肽。此項技術中例示衍生處理蛋白之方法且其在一般技術者之技能範圍內。

III) DVD結合蛋白之用途

考慮到本文提供之結合蛋白結合兩種或兩種以上抗原之能力，其可用於使用習知免疫分析法(諸如酶聯免疫吸附分析法(ELISA)、放射免疫分析法(RIA)或組織免疫組織化學)來偵測抗原(例如在諸如血清或血漿之生物樣本中)。DVD結合蛋白直接或間接經可偵測物質標記以有助於偵測經結合或未經結合之抗體。適合之可偵測物質包括各種酶、輔基、螢光物質、發光物質及放射性物質。適合之酶的實例包括辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；適合之輔基複合物之實例包括抗生蛋白鏈菌素/生物素及抗生物素蛋白/生物素；適合之螢光物質之實例包括傘酮(umbelliferone)、螢光素、異硫氰酸螢光

素、若丹明、二氯三嗪基胺螢光素、丹磺醯氯或藻紅素；發光物質之實例包括魯米諾(luminol)；且適合之放射性物質之實例包括 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 或 ^{153}Sm 。

在一實施例中，本文提供之結合蛋白能夠在活體外及在活體內中和抗原活性。因此，該等DVD結合蛋白可用於例如在含有抗原之細胞培養物中、在人類個體中或在具有本文提供之結合蛋白與抗原交叉反應之其他哺乳動物個體中抑制抗原活性。在另一實施例中，提供一種在罹患抗原活性有害之疾病或病症之個體中降低抗原活性的方法。可向人類個體投與本文提供之結合蛋白以用於治療目的。

術語「抗原活性有害的病症」意欲包括罹患病症之個體中之抗原的存在已展示或疑似造成病症之病理生理異常或為促成病症惡化之因素的疾病及其他病症。因此，抗原活性有害的病症為其中降低抗原活性預期會減輕病症之症狀及/或進程的病症。該等病症可例如藉由罹患病症之個體之生物流體中的抗原濃度增加(例如個體之血清、血漿、滑液等中之抗原濃度增加)證實。可用本文提供之結合蛋白治療之病症的非限制性實例包括下文在關於包含結合蛋白之醫藥組合物之章節中所論述的彼等病症。

DVD結合蛋白可用作治療劑以同時阻斷兩種不同標靶以增強功效/安全性及/或增加患者適用範圍。該等標靶可包括可溶性標靶(TNF)及細胞表面受體標靶(VEGFR及EGFR)。其亦可用於誘導針對癌症療法之腫瘤細胞與T細

胞 (Her2及CD3)之間、或針對自體免疫疾病或移植之自體反應性細胞與效應細胞之間、或任何標靶細胞與效應細胞之間的再定向細胞毒性以消除任何既定疾病中之致病細胞。

另外，當DVD結合蛋白經設計以靶向同一受體上之兩種不同抗原決定基時，其可用於觸發受體叢集及活化。此可在製備促效性及拮抗性抗GPCR治療劑中具有益處。在此情況下，DVD結合蛋白可用於靶向一個細胞上之兩個不同抗原決定基(包括環區與細胞外域上之抗原決定基)以進行叢集/信號傳導(兩個細胞表面分子)或信號傳導(在一個分子上)。類似地，DVD結合蛋白分子可經設計以藉由靶向CTLA-4細胞外域之兩個不同抗原決定基(或同一抗原決定基之2個複本)而觸發CTLA-4連接及負信號，從而導致免疫反應下調。CTLA-4為用於多種免疫病症之治療性治療的經臨床上驗證之標靶。CTLA-4/B7相互作用藉由削弱細胞週期進程、IL-2產生及活化後之T細胞增殖而負性調控T細胞活化，且CTLA-4 (CD152)接合可下調T細胞活化且促進免疫耐受性之誘導。然而，藉由CTLA-4之促效性抗體接合而削弱T細胞活化之策略已由於CTLA-4活化需要連接而不成功。CTLA-4/B7之分子相互作用呈「歪斜拉鏈」陣列，如由晶體結構分析所證實(Stamper 2001 Nature 410:608)。然而，目前可用之CTLA-4結合試劑中無一者具有連接特性，包括抗CTLA-4 mAb。已數次試圖解決此問題。在一種情況下，生成細胞成員結合單鏈抗體，且顯著

抑制小鼠中之同種異體排斥反應 (Hwang 2002 JI 169:633)。在另一情況下，生成CTLA-4之人工APC表面連接之單鏈抗體且證實削弱T細胞反應 (Griffin 2000 JI 164:4433)。在兩種情況下，藉由緊密定位於人工系統中之成員結合抗體來達成CTLA-4連接。儘管此等實驗提供藉由觸發CTLA-4負性信號傳導來免疫下調之概念證據 (proof-of-concept)，但此等報導中所用之試劑不適於治療用途。為此，可藉由使用靶向CTLA-4細胞外域之兩個不同抗原決定基 (或同一抗原決定基之2個複本) 的DVD結合蛋白分子來達成CTLA-4連接。基本原理為橫跨IgG之兩個結合位點的距離 (約150-170 Å) 對於CTLA-4之活性連接 (30-50 Å，2個CTLA-4均二聚體之間) 而言過大。然而，DVD結合蛋白 (一個臂) 上之兩個結合位點之間的距離要短得多，亦在30-50 Å範圍內，從而允許CTLA-4之適當連接。

類似地，DVD結合蛋白可靶向細胞表面受體複合物之兩個不同成員 (例如IL-12R α 及 β)。此外，DVD結合蛋白可靶向CR1及可溶性蛋白/病原體以驅動標靶可溶性蛋白/病原體之快速清除。

另外，本文提供之DVD結合蛋白可用於組織特異性傳遞 (靶向組織標記物及疾病介體以便增強局部PK，因此達成較高功效及/或較低毒性)，包括細胞內傳遞 (靶向內在化受體及細胞內分子)，傳遞至大腦內部 (靶向轉鐵蛋白受體及CNS疾病介體以便穿過血腦障壁)。DVD結合蛋白亦可充

當經由結合抗原之非中和性抗原決定基而將該抗原傳遞至特定位置以及增加該抗原之半衰期的載體蛋白。此外，DVD結合蛋白可經設計以與植入患者中之醫學裝置物理連接或靶向此等醫學裝置(參見Burke等人，(2006) *Advanced Drug Deliv. Rev.* 58(3): 437-446；Hildebrand等人，(2006) *Surface and Coatings Technol.* 200(22-23): 6318-6324；Drug/device combinations for local drug therapies and infection prophylaxis, Wu (2006) *Biomaterials* 27(11):2450-2467；Mediation of the cytokine network in the implantation of orthopedic devices, Marques (2005) *Biodegradable Systems in Tissue Engineer. Regen. Med.* 377-397)。簡言之，將適當類型之細胞引導至醫學植入物之位點可促進正常組織功能治癒及恢復。或者，亦提供藉由與裝置偶合或靶向裝置之DVD來抑制在裝置植入後釋放之介體(包括(但不限於)細胞激素)。舉例而言，血管支架多年來已用於介入心臟病學中以清理阻塞之動脈及改良至心肌之血液流動。然而，已知常規裸金屬血管支架在一些患者中導致再狹窄(在經處理之區域中動脈再變窄)且可產生血塊。近來，已描述藉由捕捉在整個血液中循環之內皮祖細胞(EPC)來減少再狹窄且防止出現血塊的經抗CD34抗體塗佈之血管支架。內皮細胞為內襯於血管、允許血液平滑地流動之細胞。EPC黏著於血管支架之硬表面，形成平滑層，其不僅促進治癒而且防止再狹窄及血塊(先前與使用血管支架相關之併發症)(Aoji等人，(2005) *J. Am. Coll. Cardiol.* 45(10):1574-9)。

除改良需要血管支架之患者的結果之外，對於需要心血管繞道手術之患者亦具有意義。舉例而言，以抗EPC抗體塗佈之修復血管(人工動脈)消除使用來自患者腿或臂之動脈以進行繞道移植術的需要。此將減少手術及麻醉時間，其轉而將減少冠狀動脈手術死亡。DVD結合蛋白以使得其結合於細胞表面標記物(諸如CD34)以及已塗佈於植入裝置上之蛋白質(或任何種類之抗原決定基，包括(但不限於)蛋白質、脂質及多醣)的方式來設計以有助於細胞募集。該等方法一般亦可應用於其他醫學植入物。或者，可將DVD結合蛋白塗佈於醫學裝置上且在植入及自裝置釋放所有DVD後(或可能需要其他新鮮DVD結合蛋白之任何其他需要，包括已加載之DVD結合蛋白之老化及變性)，裝置可藉由將新鮮DVD結合蛋白全身性投與至患者而重新加載，其中DVD結合蛋白經設計以藉由一組結合位點結合於相關標靶(細胞激素、細胞表面標記物(諸如CD34)等)且藉由另一組結合位點結合於裝置上所塗佈之標靶(包括任何種類之蛋白質、抗原決定基，包括(但不限於)脂質、多醣及聚合物)。此技術具有擴大經塗佈植入物之適用性的優勢。

C) DVD結合蛋白在各種疾病中之用途

本文提供之DVD結合蛋白分子亦可用作治療各種疾病之治療性分子。該等DVD分子可結合一或多個與特定疾病有關之標靶。各種疾病中之該等標靶之實例描述如下。

1) 人類自體免疫及發炎反應

TNF在與多種涉及免疫及發炎要素之疾病相關之病理學

方面起關鍵作用，該等疾病為諸如自體免疫疾病，尤其彼等與發炎相關之自體免疫疾病，包括克羅恩氏病、牛皮癬(包括斑塊牛皮癬)、關節炎(包括類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、骨關節炎或青少年特發性關節炎)、多發性硬化症及僵直性脊椎炎。因此，本文之結合蛋白可用於治療此等病症。其亦涉及於各種器官之發炎性及/或自體免疫病狀中。已將IL-17與包括類風濕性關節炎、哮喘、狼瘡、同種異體移植排斥反應及抗腫瘤免疫性之許多免疫/自體免疫相關疾病相關聯。

2) 哮喘

過敏性哮喘之特徵在於存在嗜伊紅血球過多症、杯狀細胞化生、上皮細胞變化、氣管過度反應(AHR)，及Th2及Th1細胞激素表現，以及升高之血清IgE含量。現在廣泛接受氣管發炎為構成哮喘之發病機制基礎之關鍵因素，其涉及諸如T細胞、B細胞、嗜伊紅細胞、肥大細胞及巨噬細胞之發炎細胞與其分泌介體(包括細胞激素及趨化因子)之複雜相互作用。皮質類固醇為當今哮喘之最重要的消炎治療，然而其作用機制為非特異性的且存在安全顧慮，尤其在青少年患者群體中。因此，批准開發更具特異性且靶向之療法。

TNF- α 可增強哮喘中之發炎反應且可能與疾病嚴重程度相關(McDonnell等人，(2001) Progress Respir. Res. 31: 247-250)。

可評估發炎及AHR兩者之動物模型(諸如OVA誘導之哮

喘小鼠模型)在此項技術中為已知的且可用以測定各種DVD結合蛋白分子治療哮喘之能力。

3) 類風濕性關節炎

類風濕性關節炎(RA)為全身性疾病，其特徵在於關節滑膜中之慢性發炎反應且與軟骨退化及關節旁骨骼侵蝕相關。許多促炎性細胞激素(包括TNF、趨化因子及生長因子)表現於患病關節中。將抗TNF抗體或sTNFR融合蛋白全身性投與至RA小鼠模型展示具消炎性且具關節保護性。RA患者中之TNF活性藉由靜脈內投與之英利昔單抗(infliximab)(嵌合抗TNF mAb)而阻斷之臨床調查研究(Harriman G, Harper LK, Schaible TF. 1999 Summary of clinical trials in rheumatoid arthritis using infliximab, an anti-TNFalpha treatment. Ann Rheum Dis 58 增刊1: I61-4)為TNF調控IL-6、IL-8、MCP-1及VEGF產生、免疫及發炎細胞至關節中之募集、血管生成及基質金屬蛋白酶-1及基質金屬蛋白酶-3之血液含量的降低提供證據。對類風濕性關節炎中之發炎路徑之更好瞭解使得可鑑別與類風濕性關節炎有關之其他治療性標靶。諸如介白素-6拮抗劑(IL-6受體抗體MRA，由Chugai, Roche開發(參見Nishimoto, Norihiro等人，(2004) Arthritis Rheum. 50(6):1761-1769)、CTLA4Ig(阿巴西普(abatacept)，Genovese等人，(2005) N. Engl. J. Med. 353:1114-23)及抗B細胞療法(利妥昔單抗(rituximab)，Okamoto及Kamatani (2004) N. Engl. J. Med. 351:1909)之有希望之治療在去年已在隨機化對照試驗中經

測試。已鑑別其他細胞激素且其已在動物模型中顯示有益處，包括介白素-15(治療性抗體 HuMax-IL_15、AMG 714，參見 Baslund 等人，(2005) Arthritis Rheum. 52(9): 2686-2692)、介白素-17及介白素-18，且此等藥劑之臨床試驗目前正在進行中。組合抗TNF及另一介體之雙重特異性抗體療法具有增強臨床功效及/或患者適用範圍之巨大潛力。舉例而言，阻斷TNF及VEGF兩者可潛在地根除皆與RA之病理生理異常有關之發炎及血管生成。亦涵蓋用特異性DVD結合蛋白阻斷RA中所涉及之其他標靶對，包括(但不限於)TNF與IL-18；TNF與IL-12；TNF與IL-23；TNF與IL-1 β ；TNF與MIF；TNF與IL-17；及TNF與IL-15。除此等標靶對之常規安全性評估之外，可批准對於免疫抑制程度之特定測試且有助於選擇最佳標靶對(參見Luster等人，(1994) Toxicology 92(1-3):229-43)。可使用臨床前動物RA模型(諸如膠原蛋白誘導之關節炎小鼠模型)來評估DVD結合蛋白分子是否適用於治療類風濕性關節炎。其他適用模型亦為此項技術中所熟知(參見Brand (2005) Comp. Med. 55(2):114-22)。基於親本抗體對於人類及小鼠直系同源物(orthologue)之交叉反應性(例如對於人類及小鼠TNF、人類及小鼠IL-15等之反應性)，小鼠CIA模型中之驗證研究可以「匹配代用抗體」來源之DVD結合蛋白分子進行；簡言之，基於兩個(或兩個以上)小鼠標靶特異性抗體之DVD結合蛋白可在可能之程度上與用於人類DVD結合蛋白構築之親本人類或人類化抗體之特徵匹配(類似親和力、

類似中和效能、類似半衰期等)。

4) 系統性紅斑狼瘡(SLE)

SLE之免疫致病性特點為多株B細胞活化，其導致高球蛋白血症、自體抗體產生及免疫複合物形成。主要異常似乎為由於普遍化T細胞失調而使T細胞不能抑止所禁止之B細胞純系。另外，B細胞與T細胞相互作用藉由若干細胞激素(諸如IL-10)以及協同刺激分子(諸如CD40及CD40L、B7及CD28及CTLA-4)而促進，其引發第二信號。此等相互作用連同免疫複合物及細胞凋亡物質之吞噬細胞清除之削弱使免疫反應得以保持且導致組織損傷。SLE視為具有經證明血清IL-4、IL-6、IL-10升高之Th-2驅動之疾病。亦涵蓋能夠結合諸如IL-4、IL-6、IL-10、IFN- α 或TNF- α 之一或多種標靶的DVD結合蛋白。本文中論述之標靶之組合將增強SLE之治療功效，其可在許多狼瘡臨床前模型中測試(參見Peng (2004) *Methods Mol. Med.* 102:227-72)。基於親本抗體對於人類及小鼠直系同源物之交叉反應性(例如對於人類及小鼠CD20、人類及小鼠干擾素 α 等之反應性)，小鼠狼瘡模型中之驗證研究可以「匹配代用抗體」來源之DVD結合蛋白分子進行；簡言之，基於兩個(或兩個以上)小鼠標靶特異性抗體之DVD結合蛋白可在可能之程度上與用於人類DVD結合蛋白構築之親本人類或人類化抗體之特徵匹配(類似親和力、類似中和效能、類似半衰期等)。

5) 多發性硬化症

多發性硬化症(MS)為病因基本上未知之複雜人類自體免

疫型疾病。在整個神經系統內之髓磷脂鹼性蛋白(MBP)之免疫學破壞為多發性硬化症之主要病理。MS為具有複雜病理之疾病，其涉及CD4+及CD8+ T細胞之浸潤及中樞神經系統內之反應。已描述在MS中之細胞激素、反應性氮物質及協同刺激分子在CNS中之表現。主要考慮因素為造成自體免疫性發展之免疫學機制。詳言之，抗原表現、細胞激素與白血球相互作用及有助於平衡/調節其他T細胞(諸如Th1及Th2細胞)之調控性T細胞為治療性標靶鑑別之重要領域。

TWEAK為組成性表現於中樞神經系統(CNS)中之TNF家族之一成員，具有視細胞類型而定之促炎性、增殖或細胞凋亡作用。其受體Fn14藉由內皮細胞、反應性星形膠質細胞及神經元表現於CNS中。TWEAK及Fn14 mRNA表現在實驗性自體免疫腦脊髓炎(EAE)期間在脊髓中增加。當小鼠在激活期(priming phase)之後經治療時，在C57BL/6小鼠之髓磷脂寡樹突神經膠質細胞糖蛋白(MOG)誘導之EAE中進行抗TWEAK抗體治療導致疾病嚴重程度降低且白血球浸潤減少。

在一個實施例中，提供能夠結合一或多個(例如兩個)包括諸如以下之標靶的DVD Ig分子：IL-12、TWEAK、IL-23、CXCL13、CD40、CD40L、IL-18、VEGF、VLA-4、TNF、CD45RB、CD200、IFN γ 、GM-CSF、FGF、C5、CD52或CCR2。一實施例包括作為有利於治療MS之治療劑的雙重特異性抗IL-12/TWEAK DVD Ig。

評估 DVD 分子治療 MS 之適用性之若干動物模型在此項技術中為已知的。基於親本抗體對於人類及動物物種直系同源物之交叉反應性(例如對於人類及小鼠 IL-12、人類及小鼠 TWEAK 等之反應性)，小鼠 EAE 模型中之驗證研究可以「匹配代用抗體」來源之 DVD 結合蛋白分子進行；簡言之，基於兩個(或兩個以上)小鼠標靶特異性抗體之 DVD 結合蛋白可在可能之程度上與用於人類 DVD 結合蛋白構築之親本人類或人類化抗體之特徵匹配(類似親和力、類似中和效能、類似半衰期等)。相同概念應用於其他非齧齒動物物種之動物模型，其中針對預期藥理學及可能之安全性研究來選擇「匹配代用抗體」來源之 DVD 結合蛋白。除此等標靶對之常規安全性評估之外，可批准對於免疫抑止程度之特定測試且其有助於選擇最佳標靶對(參見 Luster 等人，(1994) *Toxicol.* 92(1-3))。

然而，MS 不僅為免疫疾病，而亦具有極重要的神經退化組分。MS 之疾病進程係歸因於累積性軸突喪失及破壞，且藉由此等神經退化性過程測定患者之最終疾病評分(Compston 及 Coles (2008) *Lancet* 372:1502-1517；Trapp 及 Nave (2008) *Annu. Rev. Neurosci.* 31: 247-269)。數種機制可解釋 MS 中之軸突破壞。具有相關鈣介導之神經毒性的神經傳遞素麩胺酸之過度釋放、氧化氮釋放及隨後軸突破壞、神經營養支持物之喪失、反義或軸突生長抑制分子(如 RGM A、NOMO A、臂板蛋白(Semaphorin)、蝶素(Ephrin))之大量積聚可造成軸突引導之神經退化及成功軸

突再生之喪失。在單一DVD結合蛋白分子中靶向針對如 RGM A、NOMO A、臂板蛋白、蝶素之組分之中和活性與針對如 IL-12、TWEAK、IL-23、CXCL13、CD40、CD40L、IL-18、VEGF、VLA-4、TNF、CD45RB、CD200、IFN γ 、GM-CSF、FGF、C5、CD52及CCR2之促炎性細胞激素之中和活性將使得能夠同時集中於發炎與神經退化，此為藉由當前治療MS原則中之任一者均尚未達成之目標。刺激神經退化可補償由MS中所觀察到之大量軸突神經退化所引起之功能損害，進而可使喪失的大腦功能恢復。

6) 敗血症

敗血症之病理生理異常係由革蘭氏陰性有機體(脂多醣[LPS]、脂質A、內毒素)及革蘭氏陽性有機體(脂磷壁酸、肽聚糖)兩者之外膜組分引起。此等外膜組分能夠結合於單核細胞表面上之CD14受體。藉助於近來描述之toll樣受體，隨後將信號傳輸至細胞，導致最終產生促炎性細胞激素腫瘤壞死因子- α (TNF- α)及介白素-1 (IL-1)。勢不可擋之發炎及免疫反應為敗血性休克之基本特徵且在敗血症誘導之組織損傷、多器官衰竭及死亡之發病機制中起重要作用。細胞激素、尤其腫瘤壞死因子(TNF)及介白素(IL-1)已展示為敗血性休克之介體。此等細胞激素對於組織具有直接毒性作用；其亦活化磷脂酶A2。此等及其他作用導致血小板活化因子之濃度增加、促進氧化氮合成酶活性、促進嗜中性白血球之組織浸潤及促進嗜中性白血球活性。

敗血症及敗血性休克之治療仍為臨床難題，且最近使用生物反應調節劑(亦即抗TNF、抗MIF)針對發炎反應之有希望的試驗僅展示有限臨床益處。近來，關注已移向針對逆轉伴隨之免疫抑止期之療法。在實驗動物中，細胞凋亡抑制劑之治療不僅可預防淋巴樣細胞凋亡；其亦可改善結果。雖然以抗細胞凋亡劑進行臨床試驗在較大程度上由於與其投與及組織靶向相關之技術難題而仍遙遠，但淋巴細胞凋亡之抑制代表敗血症患者之有吸引力的治療標靶。同樣地，靶向發炎介體及細胞凋亡介體兩者之雙重特異性劑可具有附加益處。一個實施例係關於能夠結合與敗血症有關之一或多個標靶(在一實施例中為兩個標靶，諸如TNF與IL-17)的DVD結合蛋白。該等DVD結合蛋白對於敗血症之功效可在此項技術中已知之臨床前動物模型中評估(參見Buras等人，(2005) Nat. Rev. Drug Discov. 4(10):854-65；及Calandra等人，(2000) Nat. Med. 6(2):164-70)。

7) 神經性病變

(a) 神經退化性疾病

神經退化性疾病為慢性(在該情況下，其通常具有年齡依賴性)或急性(例如，中風、創傷性腦損傷、脊髓損傷等)疾病。此等慢性神經退化性疾病代表多個細胞類型與介體之間的複雜相互作用。該等疾病之治療策略為有限的且主要構成以非特異性消炎劑(例如皮質類固醇、COX抑制劑)阻斷發炎過程或以藥劑預防神經元喪失及/或突觸功能。此等治療未能終止疾病進程。最近研究表明更具靶向性之

療法，諸如可溶性 A-b 肽(包括 A-b 寡聚物形式)之抗體可不僅有助於終止疾病進程而且亦有助於維持記憶力以及其他認知功能。此等初步觀測結果表明靶向一個以上疾病介體(例如 A-b 及促炎性細胞激素(諸如 TNF))之特異性療法對於慢性神經退化性疾病而言可提供甚至比關於靶向單一疾病機制(例如僅可溶性 A-b)所觀測到之治療功效更好的治療功效。

本文提供之 DVD 結合蛋白分子可結合與慢性神經退化性疾病(諸如阿茲海默氏病)有關之一或多個標靶。該等標靶包括(但不限於)與 AD 發病機制有關聯之任何介體(可溶性或細胞表面)，例如 AGE (S100 A，兩性黴素(amphotericin))、促炎性細胞激素(例如 IL-1)、趨化因子(例如 MCP 1)、抑制神經再生之分子(例如 Nogo、RGM A)、增強神經突生長之分子(神經營養因子)及可介導在血腦障壁處之轉運的分子(例如轉鐵蛋白受體、胰島素受體或 RAGE)。DVD 結合蛋白分子之功效可在臨床前動物模型中驗證，該等動物模型為諸如過度表現澱粉狀蛋白前體蛋白或 RAGE 且產生阿茲海默氏病(Alzheimer's disease)樣症狀之轉殖基因小鼠。另外，DVD 結合蛋白分子可經構築且在動物模型中測試功效且最佳治療性 DVD 結合蛋白可經選擇用於在人類患者中測試。DVD 結合蛋白分子亦可用於治療其他神經退化性疾病，諸如帕金森氏病(Parkinson's disease)。α-突觸核蛋白與帕金森氏病病理有關。能夠靶向 α-突觸核蛋白及發炎介體(諸如 TNF、IL-1、MCP-1)之 DVD 結合蛋白分子可證明

為帕金森氏病之有效療法且亦為實施例。

或者，能夠靶向 α -突觸核蛋白及RGM A之DVD結合蛋白不僅可停止帕金森氏病患者之黑質的病理性進程，而亦可引起所損壞神經突之再生，因為近期已展示RGM A在PD患者之此區域中強烈地上調(Bossers等人，(2009) Brain Pathol. 19: 91-107)。

(b) 神經元再生及脊髓損傷

儘管對病理性機制的認識增加，但脊髓損傷(SCI)仍為破壞性病狀且代表以高度醫學需求為特徵之醫學適應症。不存在令人滿意的治療且甲潑尼龍(methylprednisolone, MP)之高劑量快速注射為損傷後8小時之窄時窗內之唯一所用療法。然而，此治療僅意欲預防繼發損傷，而不會導致任何顯著功能恢復。其由於缺乏明確功效及嚴重不良作用(如免疫抑止，隨後感染，及嚴重組織病理學肌肉變化)而受到大量批評。刺激內源性再生潛力之其他藥物、生物製劑或小分子未獲批准，但近年來有希望之治療原理及候選藥物已在SCI之動物模型中展示功效且恰在最近已提供第一批有希望之臨床資料。在很大程度上，在人類SCI中缺乏功能恢復係由在病灶位點處、在疤痕組織中、在髓磷脂中以及在損傷相關之細胞上抑制神經突生長之因子所引起。該等因子為髓磷脂相關之蛋白質NogoA、OMgp及MAG、RGM A、疤痕相關之CSPG(硫酸軟骨素蛋白聚糖)及對於反應性星形膠質細胞之抑制因子(一些臂板蛋白及蝶素)。然而，在病灶位點處，不僅發現生長抑制分子，

而且發現神經突生長刺激因子，如神經營養因子、層黏連蛋白(laminin)、L1及其他。神經突生長抑制及生長促進分子之此集合體可解釋阻斷單一因子(如NogoA或RGM A)導致齧齒動物SCI模型中之顯著功能恢復，因為抑制影響降低可使平衡自生長抑制變為生長促進。然而，關於阻斷單一神經突外生長抑制分子所觀測到之恢復為不全面的。為達成更快及更顯著恢復，阻斷兩個神經突外生長抑制分子(例如Nogo及RGM A)或阻斷神經突外生長抑制分子且增強神經突外生長增強分子(例如Nogo及神經營養因子)之功能，或阻斷神經突外生長抑制分子(例如Nogo)及促炎性分子(例如TNF)可能為需要的(參見McGee等人，(2003) Trends Neurosci. 26:193)。

在一個態樣中，提供能夠結合諸如以下標靶對之DVD結合蛋白：NgR與RGM A；NogoA與RGM A；MAG與RGM A；OMgp與RGM A；RGM A與RGM B；RGM A與臂板蛋白3A；RGM A與臂板蛋白4；CSPGs與RGM A；聚集蛋白聚糖(aggreCAN)、中期因子、神經蛋白聚糖(neurocan)、多功能蛋白聚糖(versican)、磷酸蛋白聚糖(phosphacan)、Te38與TNF- α ；A β 球聚體特異性抗體與促進樹突&軸突分枝之抗體之組合。樹突病變及軸突損壞或神經炎營養失調為AD之極早期病徵且已知NOGO A限制樹突生長且與髓磷脂相關且以上所述之其它分子(例如RGM A、MAG、OMGp)損害軸突再生長。可將該類型之ab與SCI-候選(髓磷脂-蛋白質)Ab組合。其他DVD結合蛋白標靶可包括以下

各者之任何組合：NgR-p75、NgR-Troy、NgR-Nogo66 (Nogo)、NgR-Lingo、Lingo-Troy、Lingo-p75、MAG或Omgp。另外，標靶亦可包括與抑制神經突有關聯之任何介體(可溶性或細胞表面)，例如Nogo、Omgp、MAG、RGM A、臂板蛋白、蝶素、可溶性A-b、促炎性細胞激素(例如IL-1)、趨化因子(例如MCP 1a)、抑制神經再生之分子。抗nogo/抗RGM A或類似DVD結合蛋白分子之功效可在脊髓損傷之臨床前動物模型中驗證。另外，此等DVD結合蛋白分子可經構築且在動物模型中測試功效，且可選擇最佳治療性DVD結合蛋白用於在人類患者中測試。另外，可構築DVD結合蛋白分子，其靶向單一受體上之兩個不同配體結合位點，該受體為例如結合三個配體Nogo、OMGp及MAG之Nogo受體及結合A-b及S100 A之RAGE。此外，神經突外生長抑制劑(例如nogo及nogo受體)亦在預防免疫疾病(如多發性硬化症)中之神經再生中具有作用。已在多發性硬化症之動物模型中顯示，抑制nogo-nogo受體相互作用可促進恢復。因此，可阻斷一種免疫介體(例如細胞激素，如IL-12)及神經突外生長抑制劑分子(例如nogo或RGM)之功能的DVD結合蛋白分子可提供比單獨阻斷免疫或神經突外生長抑制劑分子更快且更大之功效。

一般而言，抗體並不以有效且相關方式跨過血腦障壁(BBB)。然而，在某些例如中風、創傷性腦損傷、多發性硬化症等之神經疾病之情況下，BBB可能受損且允許DVD結合蛋白及抗體增加滲透入大腦中。在未發生BBB洩漏之

其他神經學病狀中，可採用靶向內源性轉運系統，包括載體介導之轉運體，諸如葡萄糖及胺基酸載體，及受體介導之轉胞吞作用，在BBB之血管內皮處介導細胞結構/受體，因此可以進行DVD結合蛋白之跨BBB轉運。進行該轉運之BBB處的結構包括(但不限於)胰島素受體、轉鐵蛋白受體、LRP及RAGE。此外，該策略使得DVD結合蛋白亦能夠作為將潛在藥物轉運至CNS中的穿梭轉運體使用，該等潛在藥物包括低分子量藥物、奈米粒子及核酸(Coloma等人，(2000) Pharm Res. 17(3):266-74；Boado等人，(2007) Bioconjug. Chem. 18(2):447-55)。

8) 致癌病症

單株抗體療法已成為癌症之重要治療模態(von Mehren等人，(2003) Annu. Rev. Med. 54:343-69)。抗體可藉由誘導細胞凋亡、再定向之細胞毒性、干擾配體-受體相互作用或阻止對於贅生性表型為關鍵性的蛋白質之表現而發揮抗腫瘤作用。另外，抗體可靶向腫瘤微環境之組分，從而擾亂極為重要的結構，諸如腫瘤相關之維管結構之形成。抗體亦可靶向其配體為生長因子之受體，諸如表皮生長因子受體。因此，抗體可抑制刺激細胞生長之天然配體結合於所靶向之腫瘤細胞。或者，抗體可誘導抗個體基因型網路、補體介導之細胞毒性或抗體依賴性細胞毒性(ADCC)。與單特異性療法相比，使用靶向兩個獨立腫瘤介體之雙重特異性抗體可能會產生額外益處。

IV) 醫藥組合物

提供包含結合蛋白及醫藥學上可接受之載劑的醫藥組合物。包含本文提供之結合蛋白之醫藥組合物可用於(但不限於)診斷、偵測或監測病症，用於預防、治療、管理或改善病症或其一或多種症狀，及/或用於研究。在一特定實施例中，組合物包含一或多種本文提供之結合蛋白。在另一實施例中，醫藥組合物包含一或多種本文提供之結合蛋白及除本文提供之結合蛋白以外用於治療病症的一或多種預防劑或治療劑。在一實施例中，預防劑或治療劑已知適用於或已用於或當前正用於預防、治療、管理或改善病症或其一或多種症狀。根據此等實施例，組合物可進一步包含載劑、稀釋劑或賦形劑。

本文提供之結合蛋白可併入適於投與至個體之醫藥組合物中。典型地，醫藥組合物包含本文提供之結合蛋白及醫藥學上可接受之載劑。術語「醫藥學上可接受之載劑」包括生理學上相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑及其類似物。醫藥學上可接受之載劑的實例包括水、鹽水、磷酸鹽緩衝鹽水、右旋糖、甘油、乙醇及其類似物中之一或多者，以及其組合。在一些實施例中，組合物中包括等張劑，例如糖、多元醇(諸如甘露糖醇、山梨糖醇)或氯化鈉。醫藥學上可接受之載劑可進一步包含微量的增強抗體或抗體結合部分之存放期或有效性之輔助物質，諸如濕潤劑或乳化劑、防腐劑或緩衝劑。

各種傳遞系統為已知的且可用於投與一或多種本文提供

之抗體或一或多種本文提供之抗體與適用於預防、管理、治療或改善病症或其一或多種症狀之預防劑或治療劑的組合，例如囊封於脂質體、微粒、微膠囊中；能夠表現抗體或抗體片段之重組細胞；受體介導之內飲作用(參見例如 Wu及 Wu (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432)；作為反轉錄病毒或其他載體之一部分來構築核酸等。本文提供之投與預防劑或治療劑之方法包括(但不限於)非經腸投與(例如皮內、肌肉內、腹膜內、靜脈內及皮下)、硬膜外投與、瘤內投與及黏膜投與(例如鼻內及經口途徑)。另外，可採用肺部投藥，例如藉由使用吸入器或噴霧器，及用霧化劑調配。參見例如美國專利第6,019,968號。在一個實施例中，使用 Alkermes AIR®肺部藥物傳遞技術(Alkermes, Inc., Cambridge, Mass.)投與本文提供之結合蛋白、本文提供之組合療法或組合物。在一特定實施例中，經肌肉內、靜脈內、瘤內、經口、鼻內、肺部或皮下投與本文提供之預防劑或治療劑。預防劑或治療劑可由任何適宜途徑投與，例如藉由輸注或快速注射，藉由經上皮或黏膜皮膚襯層(例如口腔黏膜、直腸及腸黏膜等)吸收，且可與其他生物活性劑一起投與。投藥可為全身性或局部投藥。

在一實施例中，抗體偶合之碳奈米管(CNT)在活體外與腫瘤細胞特異性結合，接著其藉由近紅外(NIR)光之高度特異性切除可用於靶向腫瘤細胞。舉例而言，經生物素標記之極性脂質可用於製備穩定的生物相容性非細胞毒性CNT分散液，其隨後連接至一或兩個針對一或多種腫瘤抗

原(例如 CD22)之不同紐崔萊(neutralite)抗生物素蛋白來源之 DVD 結合蛋白 (Chakravarty 等人, (2008) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105:8697-8702)。

在一特定實施例中, 可能需要將本文提供之預防劑或治療劑局部投與至有治療需要之區域; 此可藉由例如(但不限於)局部輸注、注射或藉助於植入物來達成, 該植入物為多孔或無孔材料, 包括膜及基質, 諸如賽萊膜(sialastic membrane)、聚合物、纖維基質(例如 Tissuel®)或膠原蛋白基質。在一個實施例中, 將有效量之一或多種本文提供之抗體拮抗劑局部投與至個體之受侵襲區域以預防、治療、管理及/或改善病症或其症狀。在另一實施例中, 將有效量之一或多種本文提供之抗體以及有效量之除本文提供之結合蛋白以外之一或多種療法(例如一或多種預防劑或治療劑)局部投與至個體之受侵襲區域以預防、治療、管理及/或改善病症或其一或多種症狀。

在另一實施例中, 可用控制釋放或持續釋放系統來傳遞預防劑或治療劑。在一個實施例中, 可使用泵達成控制釋放或持續釋放(參見 Langer, 同上; Sefton (1987) CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20; Buchwald 等人, (1980) Surgery 88:507; Saudek 等人, (1989) N. Engl. J. Med. 321:574)。在另一實施例中, 可使用聚合材料達成療法之控制釋放或持續釋放。在一實施例中, 持續釋放調配物中所用之聚合物呈惰性、不含可浸出雜質、儲存時穩定、無菌且生物可降解。在另一實施例中, 控制釋放或持續釋放

系統可鄰近預防性或治療性標靶置放，由此僅需要全身劑量之一部分(參見例如 Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, 同上，第2卷，第115-138頁(1984))。

在 Langer (1990) *Science* 249:1527-1533 之評述中論述控制釋放系統。熟習此項技術者已知之任何技術可用於產生包含一或多種本文提供之治療劑之持續釋放調配物。

在一特定實施例中，其中組合物為編碼預防劑或治療劑之核酸，該核酸可藉由將其構築為適當核酸表現載體之一部分且投與其以使得其變成細胞內核酸而活體內投與以促進其所編碼之預防劑或治療劑的表現，此舉之實現係例如藉由使用反轉錄病毒載體(參見美國專利第4,980,286號)，或藉由直接注射，或藉由使用微粒轟擊(例如基因槍；Biolistic, Dupont)，或以脂質或細胞表面受體或轉染劑包覆，或藉由將其與已知進入細胞核之同源盒樣肽(homeobox-like peptide)連接而投與(參見例如 Joliot 等人，(1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:1864-1868)。或者，可將核酸以細胞內方式引入且併入宿主細胞DNA內以便藉由同源重組表現。

本文提供之醫藥組合物經調配以與其預定投藥途徑相容。必要時，組合物亦可包括增溶劑及局部麻醉劑(諸如利多卡因(lignocaine))以減輕注射部位之疼痛。

該方法可包含藉由注射(例如藉由快速注射或連續輸注)投與經調配用於非經腸投與之組合物。注射用調配物可呈添加有防腐劑之單位劑型(例如於安瓿中或多劑量容器

中)。組合物可採用諸如於油性或水性媒劑中之懸浮液、溶液或乳液之形式，且可含有調配劑，諸如懸浮劑、穩定劑及/或分散劑。或者，活性成分可呈使用前用適合之媒劑(例如無菌無熱原質水)復原之粉末形式。

本文提供之方法可另外包含投與調配成儲槽式製劑之組合物。該等長效調配物可藉由植入(例如皮下或肌肉內)或藉由肌肉內注射而投與。因此，舉例而言，可用適合之聚合材料或疏水性材料(例如以於可接受之油中之乳液形式)或離子交換樹脂、或以微溶性衍生物形式(例如以微溶性鹽形式)來調配組合物。

本文提供之方法涵蓋投與調配成中性或鹽形式之組合物。醫藥學上可接受之鹽包括與陰離子形成之鹽，諸如衍生自鹽酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等之鹽；及與陽離子形成之鹽，諸如衍生自鈉、鉀、銨、鈣、氫氧化鐵、異丙胺、三乙胺、2-乙胺基乙醇、組胺酸、普魯卡因等之鹽。

一般而言，組合物之成分各別或混合在一起以單位劑型(例如以乾燥凍乾粉末或無水濃縮物形式)於指示活性劑之量的密閉容器(諸如安瓿或藥囊)中提供。當投藥模式為輸注時，組合物可用含有無菌醫藥級水或鹽水之輸注瓶分配。當投藥模式為注射時，可提供注射用無菌水或鹽水之安瓿以便在投藥前混合各成分。

在一個實施例中，將一或多種本文提供之預防劑或治療劑或醫藥組合物封裝於指示藥劑之量的密閉容器(諸如安

甌或藥囊)中。在一個實施例中，一或多種本文提供之預防劑或治療劑或醫藥組合物係以乾燥滅菌凍乾粉末或無水濃縮物形式提供於密閉容器中且可復原(例如用水或鹽水)至適於投與至個體之濃度。在一實施例中，一或多種本文提供之預防劑或治療劑或醫藥組合物以至少 5 mg、至少 10 mg、至少 15 mg、至少 25 mg、至少 35 mg、至少 45 mg、至少 50 mg、至少 75 mg 或至少 100 mg 之單位劑量，以乾燥無菌凍乾粉末形式提供於密閉容器中。本文提供之凍乾預防劑或治療劑或醫藥組合物可在 2°C 與 8°C 之間儲存於其原始容器中，且本文提供之預防劑或治療劑或醫藥組合物可在復原後 1 週內、例如 5 天內、72 小時內、48 小時內、24 小時內、12 小時內、6 小時內、5 小時內、3 小時內或 1 小時內投與。在一替代實施例中，一或多種本文提供之預防劑或治療劑或醫藥組合物係以液體形式提供於指示藥劑之量及濃度的密閉容器中。在一實施例中，液體形式之所投與組合物係以至少 0.25 mg/ml、至少 0.5 mg/ml、至少 1 mg/ml、至少 2.5 mg/ml、至少 5 mg/ml、至少 8 mg/ml、至少 10 mg/ml、至少 15 mg/kg、至少 25 mg/ml、至少 50 mg/ml、至少 75 mg/ml 或至少 100 mg/ml 提供於密閉容器中。液體形式可在 2°C 與 8°C 之間儲存於其原始容器中。

本文提供之結合蛋白可併入適於非經腸投與之醫藥組合物中。在一實施例中，將抗體或抗體部分製成含有 0.1-250 mg/ml 結合蛋白之可注射溶液。該可注射溶液可由於硬質或琥珀小瓶、安甌或預填充注射器中之液體或凍乾劑型組

成。緩衝劑可為L-組胺酸(1-50 mM)，最佳5-10 mM，pH值為5.0至7.0（最佳pH值為6.0）。其他適合之緩衝劑包括（但不限於）丁二酸鈉、檸檬酸鈉、磷酸鈉或磷酸鉀。可使用濃度為0-300 mM（對於液體劑型，最佳為150 mM）之氯化鈉來改變溶液之毒性。對於凍乾劑型，可包括低溫保護劑，主要為0-10%蔗糖（最佳0.5-1.0%）。其他適合之低溫保護劑包括海藻糖及乳糖。對於凍乾劑型，可包括增積劑，主要為1-10%甘露糖醇（最佳2-4%）。液體劑型與凍乾劑型中均可使用穩定劑，主要為1-50 mM L-甲硫胺酸（最佳5-10 mM）。其他適合之增積劑包括甘胺酸、精胺酸，可以0-0.05%聚山梨醇酯-80（最佳0.005-0.01%）形式包括在內。其他界面活性劑包括（但不限於）聚山梨醇酯20及BRIJ界面活性劑。被製成用於非經腸投與之可注射溶液形式的包含本文提供之結合蛋白的醫藥組合物可進一步包含可用作佐劑之藥劑，諸如用於增加治療性蛋白質（例如抗體）之吸收或分散的藥劑。尤其適用之佐劑為玻尿酸酶，諸如Hyalenex®（重組人類玻尿酸酶）。在可注射溶液中添加玻尿酸酶改良非經腸投藥、尤其皮下投藥後的人類生物可用性。其亦允許在較少疼痛及不適情況下的較大注射部位體積（亦即大於1 ml），且使注射部位反應之發生率最小（參見WO 2004078140及US 2006104968）。

本文提供之組合物可呈多種形式。此等形式包括例如液體、半固體及固體劑型，諸如液體溶液（例如可注射溶液及可輸注溶液）、分散液或懸浮液、錠劑、丸劑、散劑、

脂質體及栓劑。所選形式取決於預定投藥模式及治療應用。典型的組合物呈可注射溶液或可輸注溶液形式，諸如類似於用於以其他抗體使人類被動免疫者之組合物。所選投藥模式為非經腸（例如靜脈內、皮下、腹膜內、肌肉內）。在一實施例中，藉由靜脈內輸注或注射投與抗體。在另一實施例中，藉由肌肉內或皮下注射投與抗體。

治療組合物典型地必須在製造及儲存條件下無菌且穩定。可將組合物調配成溶液、微乳液、分散液、脂質體或適於較高藥物濃度之其他有序結構。無菌可注射溶液可藉由將活性化合物（亦即抗體或抗體結合部分）以所需量與本文列舉之成分之一或其組合一起併入適當溶劑中，視需要繼之以過濾滅菌來製備。分散液一般係藉由將活性化合物併入含有基礎分散介質及本文所列舉之所需其他成分的無菌媒劑中來製備。在用於製備無菌可注射溶液之無菌凍乾粉末的情況下，製備方法為真空乾燥及噴霧乾燥，其得到活性成分加上來自先前經無菌過濾溶液之任何其他所要成分的粉末。可例如藉由使用包衣（諸如卵磷脂）、在分散液之情況下藉由維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持溶液之適當流動性。可藉由將延遲吸收劑（例如單硬脂酸鹽及明膠）包括於可注射組合物中來實現組合物之延長吸收。

本文提供之結合蛋白可藉由此項技術中已知之多種方法投與，但對於許多治療應用，在一實施例中，投藥途徑/模式為皮下注射、靜脈內注射或輸注。如熟習此項技術者

所瞭解，投藥途徑及/或模式視所要結果而變化。在某些實施例中，活性化合物可與保護化合物免於快速釋放之載劑一起製備，諸如控制釋放調配物，包括植入物、經皮貼片及微囊封傳遞系統。可使用生物可降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯-乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。許多製備該等調配物之方法已取得專利或一般為熟習此項技術者所知。參見例如 *Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems*, J.R. Robinson編，Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

補充活性化合物亦可併入組合物中。在某些實施例中，本文提供之結合蛋白係與一或多種適用於與本文提供之結合蛋白一起治療病症的其他治療劑共同調配及/或共同投與。舉例而言，本文提供之結合蛋白可與一或多種結合其他標靶之其他抗體(例如結合其他細胞激素或結合細胞表面分子之抗體)一起共同調配及/或共同投與。此外，一或多種本文提供之抗體可與兩種或兩種以上前述治療劑組合使用。該等組合療法宜利用較低劑量之所投與治療劑，由此避免與各種單一療法相關之可能毒性或併發症。

在某些實施例中，結合蛋白係與此項技術中已知之半衰期延長媒劑連接。該等媒劑包括(但不限於)Fc域、聚乙二醇及聚葡萄糖。該等媒劑描述於例如美國申請序列號 09/428,082及PCT公開案第 WO 99/25044號中。

在一特定實施例中，編碼本文提供之結合蛋白或本文提供之另一預防劑或治療劑的核酸序列經投與以藉由基因療

法治療、預防、管理或改善病症或其一或多種症狀。基因療法係指藉由向個體投與已表現或可表現之核酸而進行之療法。在此實施例中，核酸產生其所編碼之介導預防或治療作用的本文提供之抗體或預防劑或治療劑。

此項技術中可利用之任何基因療法方法可用於本文提供之方法中。關於基因療法方法的一般評述，參見Goldspiel等人，1993。此項技術中通常所知之可用重組DNA技術之方法描述於Ausubel等人(編)，Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；及Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)中。基因療法之各種方法的詳細描述揭示於美國專利公開案第US20050042664號中。

提供一種治療罹患一或多種能夠由本文揭示之結合蛋白結合之標靶有害之病症的人類個體的方法，其包含向該人類個體投與本文揭示之結合蛋白以使得該人類個體中該一或多種標靶之活性得以抑制且一或多種症狀減輕或達成治療。在一實施例中，可用該等組合物及方法治療或診斷的疾病包括(但不限於)免疫及發炎要素，諸如自體免疫疾病，尤其彼等與發炎相關之自體免疫疾病，包括克羅恩氏病、牛皮癬(包括斑塊牛皮癬)、關節炎(包括類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、骨關節炎或青少年特發性關節炎)、多發性硬化症、僵直性脊椎炎、全身性紅斑狼瘡、多發性硬化症、敗血症及神經退化性疾病、神經元再生、

脊髓損傷、及原發性及轉移性癌症。在另一實施例中，病症為呼吸道病症；哮喘；過敏性及非過敏性哮喘；由於感染所致之哮喘；由於感染呼吸道融合性病毒(RSV)所致之哮喘；慢性阻塞性肺病(COPD)；涉及氣管發炎之病狀；嗜伊紅血球增多症；纖維化及過量黏液產生；囊腫性纖維化；肺纖維化；異位性病症；異位性皮炎；蕁麻疹；濕疹；過敏性鼻炎；過敏性腸胃炎；發炎性及/或自體免疫皮膚病狀；發炎性及/或自體免疫胃腸器官病狀；發炎性腸病(IBD)；潰瘍性結腸炎；發炎性及/或自體免疫肝臟病狀；肝硬化；肝纖維化；由B型及/或C型肝炎病毒造成之肝纖維化；硬皮病；腫瘤或癌症；肝細胞癌；神經膠母細胞瘤；淋巴瘤；霍奇金氏淋巴瘤；病毒感染；細菌感染；寄生蟲感染；HTLV-1感染；1型保護性免疫反應之表現的抑止，及在疫苗接種期間1型保護性免疫反應之表現的抑止。

本文提供之結合蛋白亦可與一或多種適用於治療各種疾病之其他治療劑一起投與。

本文提供之結合蛋白可單獨或組合使用以治療該等疾病。應瞭解，結合蛋白可單獨或與其他藥劑(例如治療劑)組合使用，該其他藥劑由熟練技術人員出於其預定目的而選擇。舉例而言，其他藥劑可為技術上公認為適用於治療可由本文提供之抗體治療之疾病或病狀的治療劑。其他藥劑亦可為將有利屬性賦予治療組合物之藥劑，例如影響組合物黏度之藥劑。

應進一步瞭解，本文提供之組合為適用於其預定目的之彼等組合。以下陳述之藥劑係出於說明之目的，而非意欲限制。在一些實施例中，組合包含本文提供之抗體及至少一種選自以下清單之其他藥劑。組合亦可包括一種以上其他藥劑，例如兩種或三種其他藥劑，只要該組合使得所形成之組合物可執行其預定功能即可。

本文提供之醫藥組合物可包括「治療有效量」或「預防有效量」之本文提供之結合蛋白。「治療有效量」係指在必要劑量及時段下有效達成所需治療結果之量。結合蛋白之治療有效量可由熟習此項技術者確定且可根據諸如個體之疾病狀況、年齡、性別及體重以及結合蛋白在個體中引起所需反應之能力等因素而變化。治療有效量亦為抗體或抗體結合部分之治療有利作用超過任何毒性或有害作用之量。「預防有效量」係指在必要劑量及時段下有效達成所需預防結果之量。典型地，因為預防劑量係在疾病之前或在疾病早期用於個體中，所以預防有效量少於治療有效量。

可調整給藥方案以提供最佳所需反應(例如治療或預防反應)。舉例而言，可投與單次大丸劑，可隨時間投與若干分次劑量或可依治療情況之緊急性所指示，按比例減少或增加劑量。尤其宜將非經腸組合物調配成單位劑型以方便投藥及達到劑量均一性。術語「單位劑型」係指適合作為單一劑量用於待治療之哺乳動物個體的物理個別單元；各單元含有經計算以產生所需治療作用之預定量活性化合

物與所需醫藥載劑。本文提供之單位劑型的規格由以下因素規定且直接視其而定：(a)活性化合物之獨特特徵及待達成之特定治療或預防作用，及(b)相關技術中混配該活性化合物用於治療個體之敏感性的固有限制。

本文提供之結合蛋白之治療或預防有效量的例示性、非限制性範圍為0.1-20 mg/kg，例如1-10 mg/kg。應注意，劑量值可隨待減輕之病狀之類型及嚴重程度而變化。應進一步瞭解，對於任何特定個體，特定給藥方案可根據個體需要及投與組合物或監督組合物投與之人員的專業判斷而隨著時間調整，且本文中闡述之劑量範圍僅為例示性且無意限制所主張組合物之範疇或實務。

V) 診斷

本文之揭示內容亦提供診斷應用。此進一步闡明如下。

A. 分析方法

本發明亦提供使用如本文所述之至少一種DVD結合蛋白測定試樣中之分析物(或其片段)之存在、量或濃度的方法。如在此項技術中已知之任何適合分析法可用於該方法中。實例包括(但不限於)免疫分析法，諸如夾心免疫分析法(例如單株、多株及/或DVD結合蛋白夾心免疫分析法或其任何變化形式(例如單株/DVD結合蛋白、DVD結合蛋白/多株等)，包括放射性同位素偵測(放射免疫分析法(RIA))及酶偵測(酶免疫分析法(EIA)或酶聯免疫吸附分析法(ELISA))(例如 Quantikine ELISA 分析法，R&D Systems, Minneapolis, MN)))、競爭性抑制免疫分析法(例如正向及

反向)、螢光偏振免疫分析法(FPIA)、酶倍增免疫分析技術(EMIT)、生物發光共振能量轉移(BRET)及均質化學發光分析法等。在基於SELDI之免疫分析法中，將特異性結合相關分析物(或其片段)之捕捉試劑連接至質譜分析探針(諸如預活化蛋白晶片陣列)之表面。隨後將分析物(或其片段)特異性捕捉於生物晶片上，且所捕捉之分析物(或其片段)由質譜分析偵測。或者，可將分析物(或其片段)自捕捉試劑溶離且由常規MALDI(基質輔助雷射脫附/離子化)或由SELDI來偵測。化學發光微粒免疫分析法、詳言之採用ARCHITECT®自動分析器(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)之化學發光微粒免疫分析法為較佳免疫分析法之實例。

將此項技術中熟知之收集、操控及處理尿液、血液、血清及血漿以及其他體液之方法用於本發明之實務中，例如當將如本文所述之DVD結合蛋白用作免疫診斷試劑及/或用於分析物免疫分析套組中時。試樣可包含除相關分析物以外之其他部分，諸如抗體、抗原、半抗原、激素、藥物、酶、受體、蛋白質、肽、多肽、寡核苷酸及/或聚核苷酸。舉例而言，樣本可為自個體獲得之全血樣本。在如本文所述之免疫分析法之前例如以預處理試劑來處理試樣、尤其全血可能為必要的或需要的。甚至在預處理不必要的情況下(例如大多數尿樣)，可視情況進行預處理(例如作為商業平台上之方案之一部分)。

預處理試劑可為適用於本文提供之免疫分析法及套組之

任何試劑。預處理視情況包含：(a)一或多種溶劑(例如甲醇及乙二醇)及視情況選用之鹽，(b)一或多種溶劑及鹽及視情況選用之清潔劑，(c)清潔劑，或(d)清潔劑及鹽。預處理試劑在此項技術中為已知的，且可例如如 Abbott TDx, AxSYM® 及 ARCHITECT® 分析器 (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) 上之分析法所用、如文獻(參見例如 Yatscoff 等人，(1990) Clin. Chem. 36:1969-1973；及 Wallemacq 等人，(1999) Clin. Chem. 45: 432-435)中所述及/或如可購得，來使用該預處理。另外，可如美國專利第 5,135,875 號及第 6,660,843 號、歐洲專利公開案第 EU 0471293 號、美國專利申請公開案第 20080020401 號中所述進行預處理。預處理試劑可為非均質劑或均質劑。

藉由使用非均質預處理試劑，該預處理試劑使存在於樣本中之分析物結合蛋白(例如可結合於分析物或其片段之蛋白質)沈澱。該預處理步驟包含藉由使添加預處理劑至樣本而形成之混合物之上清液與沈澱之分析物結合蛋白分離而將任何分析物結合蛋白移出。在該分析法中，不存在任何結合蛋白之混合物之上清液用於該分析法中，直接進行至抗體捕捉步驟。

藉由使用均質預處理試劑，不存在該分離步驟。使試樣及預處理試劑之整個混合物與分析物(或其片段)之經標記特異性結合搭配物接觸，該搭配物諸如經標記之抗分析物抗體(或其抗原反應性片段)。在藉由第一特異性結合搭配物捕捉之前或期間，該分析法所採用之預處理試劑典型地

稀釋於預處理試樣混合物中。儘管進行該稀釋，但在捕捉期間一定量之預處理試劑仍存在(或保留)於試樣混合物中。在一個實施例中，經標記特異性結合搭配物可為DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體之片段)。

在非均質形式中，在自個體獲得試樣之後，製備第一混合物。該混合物含有對於分析物(或其片段)進行評估之試樣及第一特異性結合搭配物，其中第一特異性結合搭配物及含於試樣中之任何分析物形成第一特異性結合搭配物-分析物複合物。較佳地，第一特異性結合搭配物為抗分析物抗體或其片段。第一特異性結合搭配物可為如本文所述之DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體之片段)。添加試樣及第一特異性結合搭配物以形成混合物之順序並非關鍵性的。較佳地，將第一特異性結合搭配物固定於固相上。用於免疫分析法中(對於第一特異性結合搭配物及視情況選用之第二特異性結合搭配物)之固相可為在此項技術中已知之任何固相，諸如(但不限於)磁性粒子、珠粒、試管、微量滴定盤、比色管、膜、支架分子、薄膜、濾紙、盤片及晶片。

在形成含有第一特異性結合搭配物-分析物複合物之混合物之後，使用在此項技術中已知之任何技術自複合物移除任何未經結合之分析物。舉例而言，未經結合之分析物可藉由洗滌移除。然而，理想地，第一特異性結合搭配物以超過試樣中所存在之任何分析物之量存在，以使得存在於試樣中之所有分析物由第一特異性結合搭配物結合。

在移除任何未經結合之分析物之後，將第二特異性結合搭配物添加至混合物以形成第一特異性結合搭配物-分析物-第二特異性結合搭配物複合物。第二特異性結合搭配物較佳為抗分析物抗體，其結合於分析物上之抗原決定基，該抗原決定基不同於分析物上由第一特異性結合搭配物結合之抗原決定基。另外，亦較佳地，第二特異性結合搭配物經如上所述之可偵測標記來標記或含有該可偵測標記。第二特異性結合搭配物可為如本文所述之DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體之片段)。

可使用如在此項技術中已知之任何適合可偵測標記。舉例而言，可偵測標記可為放射性標記(諸如 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{32}P 及 ^{33}P)、酶標記(諸如辣根過氧化酶、鹼性過氧化酶、葡萄糖6-磷酸去氫酶及其類似物)、化學發光標記(諸如吖啶酯、硫酯或磺醯胺；魯米諾、異魯米諾(isoluminol)、啡啶酯(phenanthridinium ester)及其類似物)、螢光標記(諸如螢光素(例如5-螢光素、6-羧基螢光素、3'6-羧基螢光素、5(6)-羧基螢光素、6-六氯-螢光素、6-四氯螢光素、異硫氰酸螢光素及其類似物))、若丹明、藻膽蛋白(phycobiliprotein)、R-藻紅素、量子點(例如硫化鋅封蓋之硒化鎘)、測溫標記或免疫聚合酶鏈反應標記。標記、標記程序及標記偵測的緒論見於Polak及Van Noorden, Introduction to Immunocytochemistry, 第2版, Springer Verlag, N.Y. (1997); 及Haugland, Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (1996)(其為由Molecular

Probes, Inc., Eugene, Oregon出版之組合手冊及目錄)中。螢光標記可用於FPIA中(參見例如美國專利第5,593,896號)。吡啶化合物可在均質或非均質化學發光分析法中用作可偵測標記(參見例如Adamczyk等人, (2006) Bioorg. Med. Chem. Lett. 16: 1324-1328)。

較佳吡啶化合物為吡啶-9-甲醯胺。製備吡啶9-甲醯胺之方法描述於例如Mattingly (1991) J. Biolumin. Chemilumin. 6: 107-114中。另一較佳吡啶化合物為吡啶-9-甲酸酯芳酯。吡啶-9-甲酸酯芳酯之實例為10-甲基-9-(苯氧基羰基)吡啶氟磺酸酯(可購自Cayman Chemical, Ann Arbor, MI)。製備吡啶9-甲酸酯芳酯之方法描述於例如McCapra等人, (1965) Photochem. Photobiol. 4: 1111-21中。關於吡啶-9-甲酸酯芳酯及其使用之更多詳情闡述於美國專利公開案第20080248493號中。

化學發光分析法(例如使用如上所述之吡啶或其他化學發光劑)可根據Adamczyk等人, (2006) Anal. Chim. Acta 579(1): 61-67中描述之方法來執行。雖然可使用任何適合分析法形式, 但微板化學發光計(Mithras LB-940, Berthold Technologies U.S.A., LLC, Oak Ridge, TN)使得可快速分析多個小體積樣本。

添加試樣及特異性結合搭配物以形成化學發光分析法之混合物之順序並非關鍵性的。若第一特異性結合搭配物以化學發光劑(諸如吡啶化合物)可偵測地標記, 則形成經可偵測標記之第一特異性結合搭配物-分析物複合物。或

者，若使用第二特異性結合搭配物且第二特異性結合搭配物以化學發光劑(諸如吖錠化合物)可偵測地標記，則形成經可偵測標記之第一特異性結合搭配物-分析物-第二特異性結合搭配物複合物。任何未經結合之特異性結合搭配物(無論標記或未標記)均可使用在此項技術中已知之任何技術(諸如洗滌)自混合物移除。

在添加上述吖錠化合物之前、同時或之後，可現場在混合物中生成過氧化氫或可向混合物中提供或供應過氧化氫(例如，過氧化氫之來源為一或多種已知含有過氧化氫之緩衝液或其他溶液)。過氧化氫可以多種方式(諸如為熟習此項技術者所顯而易見之方式)現場生成。

在向樣本中添加至少一種鹼性溶液的同時或之後，生成指示分析物之存在的可偵測信號，亦即化學發光信號。鹼性溶液含有至少一種鹼且具有大於或等於10、較佳大於或等於12之pH值。鹼性溶液之實例包括(但不限於)氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化鈣、氫氧化銨、氫氧化鎂、碳酸鈉、碳酸氫鈉、氫氧化鈣、碳酸鈣及碳酸氫鈣。添加至樣本之鹼性溶液之量取決於鹼性溶液之濃度。基於所用鹼性溶液之濃度，熟習此項技術者可容易地測定添加至樣本之鹼性溶液之量。

生成之化學發光信號可使用熟習此項技術者已知之常規技術偵測。基於生成信號之強度，可定量樣本中之分析物之量。特定言之，樣本中之分析物之量與生成信號之強度成比例。存在之分析物之量可藉由將所生成光之量與分析

物之標準曲線比較或與參考標準相比來定量。可藉由質譜分析、重量分析方法及在此項技術中已知之其他技術使用分析物之連續稀釋液或已知濃度之溶液來生成標準曲線。雖然以上描述著重於使用吡啶化合物作為化學發光劑，但一般技術者可容易地改適此描述以便使用其他化學發光劑。

分析物免疫分析法一般可使用在此項技術中已知之任何形式(諸如(但不限於)夾心形式)來進行。特定言之，在一種免疫分析法形式中，使用至少兩種抗體以分離及定量樣本中之分析物，諸如人類分析物或其片段。更特定言之，至少兩種抗體結合於分析物(或其片段)上之不同抗原決定基，形成免疫複合物，其稱為「夾心」。一般而言，在免疫分析法中，一或多種抗體可用於捕捉試樣中之分析物(或其片段)(此等抗體時常稱為「捕捉」抗體)且一或多種抗體可用於使可偵測(亦即可定量)標記結合於夾心(此等抗體時常稱為「偵測抗體」或「結合物」)。因此，在夾心免疫分析法形式之情形中，如本文所述之結合蛋白或DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體之片段)可用作捕捉抗體、偵測抗體或兩者。舉例而言，一種具有可結合分析物(或其片段)上之第一抗原決定基之結構域的結合蛋白或DVD結合蛋白可用作捕捉劑及/或具有可結合分析物(或其片段)上之第二抗原決定基之結構域的另一結合蛋白或DVD結合蛋白可用作偵測劑。在此方面，具有可結合分析物(或其片段)上之第一抗原決定基之第一結構域及可結合

分析物(或其片段)上之第二抗原決定基之第二結構域的結合蛋白或DVD結合蛋白可用作捕捉劑及/或偵測劑。或者，一種具有可結合第一分析物(或其片段)上之抗原決定基之第一結構域及可結合第二分析物(或其片段)上之抗原決定基之第二結構域的結合蛋白或DVD結合蛋白可用作捕捉劑及/或偵測劑以偵測且視情況定量兩種或兩種以上分析物。若分析物可以一種以上形式(諸如單體形式及二聚體/多聚體形式(其可為均聚或異聚形式))存在於樣本中，則具有可結合僅暴露於單體形式上之抗原決定基之結構域的一種結合蛋白或DVD結合蛋白及具有可結合二聚體/多聚體形式之不同部分上之抗原決定基之結構域的另一結合蛋白或DVD結合蛋白可用作捕捉劑及/或偵測劑，由此使得能夠偵測且視情況定量不同形式之既定分析物。此外，採用在單一結合蛋白或DVD結合蛋白內及/或不同結合蛋白或DVD結合蛋白之間具有差異親和力的結合蛋白或DVD結合蛋白可提供親合力優勢。在如本文所述之免疫分析法之情形中，將一或多個連接子併入結合蛋白或DVD結合蛋白結構內一般可為有用的或需要的。當存在連接子時，最佳地，連接子應具有足夠長度及結構撓性以使得可藉由內部結構域結合抗原決定基以及藉由外部結構域結合另一抗原決定基。在此方面，當結合蛋白或DVD結合蛋白可結合兩種不同分析物且一種分析物大於另一種分析物時，希望較大分析物由外部結構域結合。

一般而言，可使測試(例如疑似含有)分析物(或其片段)

之樣本與至少一種捕捉劑(或試劑)及至少一種偵測劑(其可為第二偵測劑或第三偵測劑或甚至連續編號之試劑，例如如在捕捉及/或偵測劑包含多種試劑的情況下)同時或依序且以任何順序接觸。舉例而言，試樣可首先與至少一種捕捉劑接觸且隨後(依序)與至少一種偵測劑接觸。或者，試樣可首先與至少一種偵測劑接觸且隨後(依序)與至少一種捕捉劑接觸。在另一替代方案中，試樣可同時與捕捉劑及偵測劑接觸。

在夾心分析法形式中，在允許形成第一試劑/分析物複合物之條件下使疑似含有分析物(或其片段)之樣本首先與至少一種第一捕捉劑接觸。若使用一種以上捕捉劑，則形成包含兩種或兩種以上捕捉劑之第一捕捉劑/分析物複合物。在夾心分析法中，試劑(亦即較佳至少一種捕捉劑)以試樣中預期之分析物(或其片段)之最大量的莫耳過量量使用。舉例而言，可使用每mL緩衝液(例如微粒塗佈緩衝液)約5 μ g至約1 mg之試劑。

因為需要僅藉由一種抗體(亦即在本發明之情形下為結合蛋白及/或DVD結合蛋白)之結合，故通常用以量測小型分析物之競爭性抑制免疫分析法包含依序及典型形式。在依序競爭性抑制免疫分析法中，將相關分析物之捕捉劑塗佈於微量滴定盤之孔或其他固體支撐物上。當含有相關分析物之樣本添加至孔中時，相關分析物結合於捕捉劑。在洗滌後，將已知量的能夠結合捕捉抗體之經標記(例如生物素或辣根過氧化酶(HRP))分析物添加至孔中。酶標記之

受質係用於生成信號。HRP之適合受質之實例為3,3',5,5'-四甲基聯苯胺(TMB)。在洗滌後，量測由經標記之分析物所生成之信號且其與樣本中之分析物之量成反比。在典型競爭性抑制免疫分析法中，典型地將相關分析物之抗體(亦即在本發明之情形下為結合蛋白及/或DVD結合蛋白)塗佈於固體支撐物(例如微量滴定盤之孔)上。然而，不同於依序競爭性抑制免疫分析法，樣本及經標記之分析物係同時添加至孔中。樣本中之任何分析物與經標記之分析物競爭結合於捕捉劑。在洗滌後，量測由經標記之分析物生成之信號且其與樣本中分析物之量成反比。當然，存在此等形式之許多變化，例如當結合於固體支撐物時，無論形式為一個步驟、兩個步驟、延遲之兩個步驟及其類似形式，且此等形式將為一般技術者所公認。

視情況，在使試樣與至少一種捕捉劑(例如第一捕捉劑)接觸之前，該至少一種捕捉劑可結合於固體支撐物，其有助於第一試劑/分析物(或其片段)複合物自試樣中分離。捕捉劑所結合之受質可為有助於使捕捉劑-分析物複合物自樣本中分離的任何適合固體支撐物或固相。

實例包括盤(諸如微量滴定盤)之孔、試管、多孔凝膠(例如矽膠、瓊脂糖、聚葡萄糖或明膠)、聚合物薄膜(例如聚丙稀鹽胺)、珠粒(例如聚苯乙烯珠粒或磁性珠粒)、濾紙/膜(例如硝化纖維素或耐綸)之條帶、微粒(例如膠乳粒子、可磁化微粒(例如具有氧化鐵或氧化鉻核心及均聚或異聚塗層及約1-10微米之半徑的微粒))。受質可包含具有結合

抗原之適合表面親和力及允許偵測抗體到達之足夠孔隙率的適合多孔材料。雖然可使用水合狀態之凝膠材料，但微孔材料一般較佳。該等多孔受質較佳呈厚度為約0.01 mm至約0.5 mm、較佳約0.1 mm之薄片形式。雖然孔徑可有相當大的變化，但孔徑較佳為約0.025微米至約15微米，更佳為約0.15微米至約15微米。該等受質之表面可藉由引起抗體與受質共價鍵結之化學過程而被動塗佈或活化。一般由抗原或抗體與受質經由疏水性力產生吸附所引起的不可逆結合；或者，化學偶合劑或其他方式可用於使抗體與受質共價結合，其限制條件為該結合不會干擾抗體結合分析物之能力。或者，抗體(亦即在本發明之情形下為結合蛋白及/或DVD結合蛋白)可與微粒結合，該等微粒先前已用抗生素蛋白鏈菌素(例如 DYNAL® Magnetic Beads, Invitrogen, Carlsbad, CA)或生物素(例如使用 Power-Bind™-SA-MP 抗生素蛋白鏈菌素塗佈之微粒(Seradyn, Indianapolis, IN))或抗物種特異性單株抗體(亦即在本發明之情形下為結合蛋白及/或DVD結合蛋白)塗佈。必要時或需要時，可使受質(例如對於標記)衍生以允許與抗體(亦即在本發明之情形下為結合蛋白及/或DVD結合蛋白)上之各種官能基反應。該衍生作用需要使用某些偶合劑，其實例包括(但不限於)順丁烯二酸酐、N-羥基丁二醯亞胺及1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺。視需要可將各自對於分析物具有特異性的一或多種捕捉劑(諸如抗體(或其片段))(亦即在本發明之情形下為結合蛋白及/或DVD結合蛋

白))在不同物理或可定址位置連接至固相(例如以生物晶片組態(參見例如美國專利第6,225,047號；PCT公開案第WO 99/51773號；美國專利第6,329,209號；PCT公開案第WO 00/56934號；及美國專利第5,242,828號))。若捕捉劑連接至作為固體支撐物之質譜分析探針，則結合於探針之分析物之量可藉由雷射脫附離子化質譜分析來偵測。或者，單一管柱可以不同珠粒填充，該等珠粒係以該一或多種捕捉劑衍生，藉此將分析物捕捉於單一位置中(參見抗體衍生、基於珠粒之技術，例如Luminex (Austin, TX)之xMAP技術)。

在將待分析分析物(或其片段)之試樣與至少一種捕捉劑(例如第一捕捉劑)接觸之後，培育混合物以允許形成第一捕捉劑(或多種捕捉劑)-分析物(或其片段)複合物。培育可在約4.5至約10.0之pH值下、在約2°C至約45°C之溫度下，且持續至少約1分鐘至約18小時、較佳約1分鐘至約24分鐘、更佳約4分鐘至約18分鐘之時段而執行。本文所述之免疫分析法可以一個步驟(意謂試樣、至少一種捕捉劑及至少一種偵測劑全部依序或同時添加至反應容器中)或以一個以上步驟(諸如兩個步驟、三個步驟等)進行。

在形成(第一或多種)捕捉劑/分析物(或其片段)複合物之後，隨後使該複合物在允許形成(第一或多種)捕捉劑/分析物(或其片段)/第二偵測劑複合物之條件下與至少一種偵測劑接觸。雖然出於清晰目的而說明為「第二」試劑(例如第二偵測劑)，但實際上在多種試劑用於捕捉及/或偵測的

情況下，至少一種偵測劑可為用於免疫分析法中之第二試劑、第三試劑、第四試劑等。若捕捉劑/分析物(或其片段)複合物與一種以上偵測劑接觸，則形成(第一或多種)捕捉劑/分析物(或其片段)/(多種)偵測劑複合物。如同捕捉劑(例如第一捕捉劑)一樣，當至少一種(例如第二及任何隨後)偵測劑與捕捉劑/分析物(或其片段)複合物接觸時，需要在與上述條件相似之條件下培育一段時期以形成(第一或多種)捕捉劑/分析物(或其片段)/(第二或多種)偵測劑複合物。較佳地，至少一種偵測劑含有可偵測標記。可偵測標記可在形成(第一或多種)捕捉劑/分析物(或其片段)/(第二或多種)偵測劑複合物之前、同時或之後結合於至少一種偵測劑(例如第二偵測劑)。可使用在此項技術中已知之任何可偵測標記(參見上文論述，包括Polak及Van Noorden (1997)及Haugland (1996)參考文獻)。

可偵測標記可直接或經由偶合劑結合於抗體。可使用之偶合劑之實例為EDAC (1-乙基-3-(3-二甲基胺基丙基)碳化二亞胺鹽酸鹽)，其可購自Sigma-Aldrich, St. Louis, MO。可使用之其他偶合劑在此項技術中為已知的。使可偵測標記結合於抗體之方法在此項技術中為已知的。另外，可購得或合成已含有有助於可偵測標記與試劑偶合之端基的許多可偵測標記，諸如CPSP-吡啶酯(亦即9-[N-甲磺醯基-N-(3-羧基丙基)]-10-(3-磺丙基)吡啶甲醯胺)或SPSP-吡啶酯(亦即N10-(3-磺丙基)-N-(3-磺丙基)-吡啶-9-甲醯胺)。

(第一或多種)捕捉劑/分析物/(第二或多種)偵測劑複合物

可(但不必)在定量標記之前與試樣之其餘部分分離。舉例而言，若至少一種捕捉劑(例如第一捕捉劑，諸如根據本發明之結合蛋白及/或DVD結合蛋白)結合於固體支撐物(諸如孔或珠粒)，則可藉由移除(試樣之)流體以免與固體支撐物接觸來實現分離。或者，若至少第一捕捉劑結合於固體支撐物，則其可同時與含有分析物之樣本及至少一種第二偵測劑接觸以形成第一(多種)試劑/分析物/第二(多種)試劑複合物，接著移除流體(試樣)以免與固體支撐物接觸。若至少一種第一捕捉劑不結合於固體支撐物，則為定量標記之量，不必自試樣移除(第一或多種)捕捉劑/分析物/(第二或多種)偵測劑複合物。

在形成經標記之捕捉劑/分析物/偵測劑複合物(例如第一捕捉劑/分析物/第二偵測劑複合物)之後，使用在此項技術中已知之技術來定量複合物中標記之量。舉例而言，若使用酶標記，則使經標記之複合物與標記之受質反應，產生諸如顯色之可定量反應。若標記為放射性標記，則使用適當方式(諸如閃爍計數器)定量標記。若標記為螢光標記，則藉由以一種顏色之光(其稱為「激發波長」)刺激標記且偵測該標記回應於該刺激而發射之另一顏色(其稱為「發射波長」)來定量標記。若標記為化學發光標記，則藉由目視或藉由使用光度計、X射線膠片、高速照相膠片、CCD相機等偵測發射之光來定量標記。一旦已定量複合物中標記之量，則藉由適當方式測定試樣中之分析物或其片段之濃度，諸如藉由使用已知濃度之分析物或其片

段的連續稀釋液所生成的標準曲線。除使用分析物或其片段之連續稀釋液以外，可以重量分析方式、藉由質譜分析及藉由在此項技術中已知之其他技術來生成標準曲線。

在採用 ARCHITECT® 分析器之化學發光微粒分析法中，結合物稀釋劑 pH 值可為約 6.0 ± 0.2 ，微粒塗佈緩衝液可維持在大約室溫（亦即約 17°C 至約 27°C ），微粒塗佈緩衝液 pH 值可為約 6.5 ± 0.2 ，且微粒稀釋劑 pH 值可為約 7.8 ± 0.2 。固體較佳少於約 0.2%，諸如少於約 0.15%、少於約 0.14%、少於約 0.13%、少於約 0.12% 或少於約 0.11%，諸如約 0.10%。

FPIA 係基於競爭性結合免疫分析法原理。當藉由線性偏振光激發時，螢光標記化合物將發射具有與其旋轉速率成反比之偏振度的螢光。當螢光標記之示蹤劑-抗體複合物藉由線性偏振光激發時，因為螢光團在吸收光之時間與發射光之時間之間的旋轉受到限制，所以所發射之光仍高度偏振。當「游離」示蹤劑化合物（亦即不結合於抗體之化合物）藉由線性偏振光激發時，其旋轉比在競爭性結合免疫分析法中產生之相應示蹤劑-抗體結合物（或根據本發明之示蹤劑-結合蛋白及/或示蹤劑-DVD 結合蛋白）快得多。由於不存在需要特殊處理及處置之放射性物質，因此 FPIA 比 RIA 有利。另外，FPIA 為可容易且迅速執行之均質分析法。

鑒於上述，提供測定試樣中之分析物（或其片段）之存在、量或濃度的方法。該方法包含藉由以下分析法來分析

試樣之分析物(或其片段)：(i)採用(i')可結合於分析物之抗體、抗體片段、可結合於分析物之抗體變異體、可結合於分析物之抗體變異體片段、如本文揭示之結合蛋白及可結合於分析物之DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)中之至少一者及(ii')至少一種可偵測標記，及(ii)包含將作為試樣中之分析物(或其片段)之存在、量或濃度的直接或間接指示而由可偵測標記生成的信號與作為對照物或校準物中之分析物(或其片段)之存在、量或濃度的直接或間接指示所生成之信號進行比較。校準物視情況為一系列校準物之一部分，其中每一校準物根據分析物濃度而不同於其他校準物。

該方法可包含(i)使試樣與分析物(或其片段)之至少一種第一特異性結合搭配物接觸以便形成第一特異性結合搭配物/分析物(或其片段)複合物，該至少一種第一特異性結合搭配物包含可結合於分析物之抗體、抗體片段、可結合於分析物之抗體變異體、可結合於分析物之抗體變異體片段、如本文揭示之結合蛋白或可結合於分析物之DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)，(ii)使第一特異性結合搭配物/分析物(或其片段)複合物與分析物(或其片段)之至少一種第二特異性結合搭配物接觸以便形成第一特異性結合搭配物/分析物(或其片段)/第二特異性結合搭配物複合物，該至少一種第二特異性結合搭配物包含可結合於分析物之經可偵測標記之抗分析物抗體、經可偵測標記之抗分析物抗體片段、可結合於分析物之經可偵測標記之抗

分析物抗體變異體、可結合於分析物之經可偵測標記之抗分析物抗體變異體片段、可結合於分析物之經可偵測標記之如本文揭示之結合蛋白或經可偵測標記之DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)，及(iii)藉由偵測或量測藉由在(ii)中形成之第一特異性結合搭配物/分析物(或其片段)/第二特異性結合搭配物複合物中的可偵測標記生成之信號來測定試樣中分析物之存在、量或濃度。分析物(或其片段)之至少一種第一特異性結合搭配物及/或分析物(或其片段)之至少一種第二特異性結合搭配物為如本文揭示之結合蛋白或如本文所述之DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)之方法可為較佳的。

或者，該方法可包含：使試樣與分析物(或其片段)之至少一種第一特異性結合搭配物接觸，該至少一種第一特異性結合搭配物包含可結合於分析物之抗體、抗體片段、可結合於分析物之抗體變異體、可結合於分析物之抗體變異體片段、如本文揭示之結合蛋白、及DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)；及同時或依序、以任一順序使試樣與可與分析物(或其片段)競爭結合於至少一種第一特異性結合搭配物的至少一種第二特異性結合搭配物接觸，且該至少一種第二特異性結合搭配物包含可結合於第一特異性結合搭配物之經可偵測標記之分析物、經可偵測標記之分析物片段、可結合於第一特異性結合搭配物之經可偵測標記之分析物變異體，或可結合於第一特異性結合搭配物之經可偵測標記之分析物變異體片段。存在於試樣

中之任何分析物(或其片段)與至少一種第二特異性結合搭配物彼此競爭以分別形成第一特異性結合搭配物/分析物(或其片段)複合物及第一特異性結合搭配物/第二特異性結合搭配物複合物。該方法進一步包含藉由偵測或量測由在(ii)中形成之第一特異性結合搭配物/第二特異性結合搭配物複合物中之可偵測標記生成的信號來測定試樣中分析物之存在、量或濃度，其中由第一特異性結合搭配物/第二特異性結合搭配物複合物中之可偵測標記生成的信號與試樣中之分析物之量或濃度成反比。

上述方法可進一步包含診斷、預測或評估獲取試樣之患者的治療性/預防性治療之功效。若該方法進一步包含評估獲取試樣之患者的治療性/預防性治療之功效，則該方法視情況進一步包含視需要來改進患者之治療性/預防性治療以改良功效。該方法可適用於自動系統或半自動系統中。

關於分析方法(及其套組)，可採用可購得之抗分析物抗體或如文獻中所述之產生抗分析物之方法。各種抗體之供應商包括(但不限於)Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA)、GenWay Biotech, Inc. (San Diego, CA)及 R&D Systems (RDS; Minneapolis, MN)。

一般而言，預定含量可用作藉以評估在分析分析物或其片段之試樣後獲得之結果例如以便偵測疾病或疾病風險的基準。一般而言，在進行該比較時，藉由以足夠次數且在適當條件下進行特定分析法以使得可得到分析物存在、量

或濃度與疾病、病症或病狀之特定階段或終點或與特定臨床標誌之聯繫或關聯來獲得預定含量。典型地，藉由分析參照個體(或個體群體)來獲得預定含量。所量測分析物可包括其片段、其降解產物及/或其酶促裂解產物。

詳言之，相對於如用於監測疾病進程及/或治療之預定含量，分析物或其片段之量或濃度可為「無變化的」、「有利的」(或「有利地變化的」)，或「不利的」(或「不利地變化的」)。「升高」或「增加」係指試樣中之量或濃度高於典型或正常含量或範圍(例如預定含量)或高於另一參考含量或範圍(例如先前或基線樣本)。術語「降低」或「減少」係指試樣中之量或濃度低於典型或正常含量或範圍(例如預定含量)或低於另一參考含量或範圍(例如先前或基線樣本)。術語「改變」係指樣本中之量或濃度與典型或正常含量或範圍(例如預定含量)相比或與另一參考含量或範圍(例如先前或基線樣本)相比有所改變(增大或減小)。

分析物之典型或正常含量或範圍係根據標準實務界定。因為在一些情況中分析物之含量極低，所以當存在與典型或正常含量或範圍或參考含量或範圍相比之不能藉由實驗誤差或樣本偏差解釋的任何淨變化時，可視為已出現所謂的改變之含量或變動。因此，在特定樣本中量測到之含量將會與在來自所謂的正常個體之類似樣本中測定出之含量或含量範圍相比較。在此情形中，「正常個體」為例如不具有可偵測疾病之個體，且「正常」(有時稱為「對照」)患者或群體分別為例如不展現可偵測疾病之患者或群體。

此外，假定分析物常規地不以高含量出現於大多數人類群體中，則「正常個體」可視為不具有顯著可偵測增加或升高量或濃度之分析物的個體，且「正常」(有時稱為「對照」)患者或群體為不展現顯著可偵測增加或升高量或濃度之分析物的患者或群體。「表觀正常個體」為分析物尚未評估或當前正在評估之個體。當分析物正常地為不可偵測的(例如正常含量為零，或在正常群體之約25至約75百分位數之範圍內)，但在試樣中偵測到時，以及當分析物以高於正常含量存在於試樣中時，分析物之含量稱為「升高」。因此，本發明尤其提供一種篩選患有特定疾病、病症或病狀或處於患上特定疾病、病症或病狀之風險中的個體的方法。分析方法亦可涉及分析其他標記物及其類似物。

因此，本文所述之方法亦可用於判定個體是否患有指定疾病、病症或病狀或處於產生指定疾病、病症或病狀之風險中。特定言之，該方法可包含以下步驟：

(a)測定來自個體之試樣中之分析物(或其片段)的濃度或量(例如使用本文所述之方法或在此項技術中已知之方法)；及

(b)將步驟(a)中測定出之分析物(或其片段)之濃度或量與預定含量進行比較，其中若步驟(a)中測定出之分析物之濃度或量相對於預定含量為有利的，則判定個體未患有指定疾病、病症或病狀或未處於指定疾病、病症或病狀風險之中。然而，若步驟(a)中測定之分析物之濃度或量相對於預

定含量為不利的，則判定個體患有指定疾病、病症或病狀或處於指定疾病、病症或病狀風險之中。

另外，本文中提供監測個體之疾病進程之方法。最佳地，該方法包含以下步驟：

(a)測定來自個體之試樣中的分析物之濃度或量；

(b)測定來自個體之稍後試樣中之分析物之濃度或量；及

(c)將步驟(b)中測定出之分析物之濃度或量與步驟(a)中測定出之分析物之濃度或量進行比較，其中若步驟(b)中測定出之濃度或量當與步驟(a)中測定出之分析物之濃度或量相比時未變化或為不利的，則判定個體之疾病已持續、進展或惡化。比較而言，若如步驟(b)中測定出之分析物之濃度或量當與如步驟(a)中測定出之分析物之濃度或量相比時為有利的，則判定個體之疾病已終止、消退或改善。

視情況，該方法進一步包含將如步驟(b)中測定出之分析物分析物之濃度或量例如與預定含量進行比較。此外，若該比較展示如步驟(b)中測定出之分析物之濃度或量例如相對於預定含量不利地改變，則該方法視情況包含以一或多種醫藥組合物治療個體持續一段時間。

另外，該等方法可用於監測接受一或多種醫藥組合物治療之個體中之治療。特定言之，該等方法包括在已向個體投與一或多種醫藥組合物之前提供來自個體之第一試樣。接著，測定來自個體之第一試樣中之分析物之濃度或量(例如使用本文所述或如在此項技術中已知之方法)。在測定分析物之濃度或量之後，視情況隨後將分析物之濃度或

量與預定含量進行比較。若如在第一試樣中測定出之分析物之濃度或量低於預定含量，則不以一或多種醫藥組合物治療個體。然而，若如在第一試樣中測定出之分析物之濃度或量高於預定含量，則以一或多種醫藥組合物治療個體持續一段時間。以該一或多種醫藥組合物治療個體之時段可由熟習此項技術者確定(例如時段可為約7天至約兩年，較佳約14天至約1年)。

在以該一或多種醫藥組合物治療之過程期間，隨後自個體獲得第二試樣及後續試樣。試樣數目及自個體獲得該等試樣之時間不為關鍵性的。舉例而言，第二試樣可在首次向個體投與該一或多種醫藥組合物的7天後獲得，第三試樣可在首次向個體投與該一或多種醫藥組合物的2週後獲得，第四試樣可在首次向個體投與該一或多種醫藥組合物的3週後獲得，第五試樣可在首次向個體投與該一或多種醫藥組合物的4週後獲得等。

在自個體獲得各第二試樣或後續試樣之後，測定第二試樣或後續試樣中之分析物分析物之濃度或量(例如使用本文所述或如在此項技術中已知之方法)。如在第二試樣及後續試樣中之每一者中測定出的分析物之濃度或量隨後將與如第一試樣(例如最初視情況與預定含量相比之試樣)中測定出之分析物之濃度或量進行比較。若如步驟(c)中測定出之分析物之濃度或量當與如步驟(a)中測定出之分析物之濃度或量相比時為有利的，則判定個體之疾病已終止、消退或改善，且應繼續向個體投與步驟(b)之該一或多種醫藥

組合物。然而，若步驟(c)中測定出之濃度或量當與步驟(a)中測定出之分析物之濃度或量相比時未變化或為不利的，則判定個體之疾病已持續、進展或惡化，且應以較高濃度之在步驟(b)中投與至個體之該一或多種醫藥組合物治療個體或可以不同於步驟(b)中投與至個體之該一或多種醫藥組合物的一或多種醫藥組合物治療個體。特定言之，可以不同於個體先前接受之該一或多種醫藥組合物的一或多種醫藥組合物治療個體以減少或降低該個體之分析物含量。

一般而言，對於可能進行重複測試之分析法(例如監測疾病進程及/或治療反應)，在自個體獲得第一試樣之後的時段獲得第二試樣或後續試樣。特定言之，來自個體之第二試樣可在自個體獲得第一試樣之後的數分鐘、數小時、數天、數週或數年獲得。舉例而言，可在自個體獲得第一試樣之後約1分鐘、約5分鐘、約10分鐘、約15分鐘、約30分鐘、約45分鐘、約60分鐘、約2小時、約3小時、約4小時、約5小時、約6小時、約7小時、約8小時、約9小時、約10小時、約11小時、約12小時、約13小時、約14小時、約15小時、約16小時、約17小時、約18小時、約19小時、約20小時、約21小時、約22小時、約23小時、約24小時、約2天、約3天、約4天、約5天、約6天、約7天、約2週、約3週、約4週、約5週、約6週、約7週、約8週、約9週、約10週、約11週、約12週、約13週、約14週、約15週、約16週、約17週、約18週、約19週、約20週、約21週、約22

週、約 23 週、約 24 週、約 25 週、約 26 週、約 27 週、約 28 週、約 29 週、約 30 週、約 31 週、約 32 週、約 33 週、約 34 週、約 35 週、約 36 週、約 37 週、約 38 週、約 39 週、約 40 週、約 41 週、約 42 週、約 43 週、約 44 週、約 45 週、約 46 週、約 47 週、約 48 週、約 49 週、約 50 週、約 51 週、約 52 週、約 1.5 年、約 2 年、約 2.5 年、約 3.0 年、約 3.5 年、約 4.0 年、約 4.5 年、約 5.0 年、約 5.5 年、約 6.0 年、約 6.5 年、約 7.0 年、約 7.5 年、約 8.0 年、約 8.5 年、約 9.0 年、約 9.5 年或約 10.0 年之時段自個體獲得第二試樣。

當用以監測疾病進程時，上述分析法可用於監測罹患急性病狀之個體之疾病進程。急性病狀，亦稱為危急護理病狀，係指急性的危及生命的疾病或其他涉及例如心血管系統或排泄系統的危急醫學病狀。典型地，危急護理病狀係指在基於醫院之情境(包括(但不限於)急救室、重病監護室、外傷中心或其他緊急護理情境)中需要急性醫學介入或藉由護理人員或其他基於現場之醫務人員之照護的彼等病狀。對於危急護理病狀，通常在較短時段，亦即數分鐘、數小時或數天(例如約 1 分鐘、約 5 分鐘、約 10 分鐘、約 15 分鐘、約 30 分鐘、約 45 分鐘、約 60 分鐘、約 2 小時、約 3 小時、約 4 小時、約 5 小時、約 6 小時、約 7 小時、約 8 小時、約 9 小時、約 10 小時、約 11 小時、約 12 小時、約 13 小時、約 14 小時、約 15 小時、約 16 小時、約 17 小時、約 18 小時、約 19 小時、約 20 小時、約 21 小時、約 22 小時、約 23 小時、約 24 小時、約 2 天、約 3 天、約 4 天、約 5 天、約 6 天或

約7天)內進行重複監測，且初始分析法同樣地通常在疾病或病狀發作之較短時段(例如約數分鐘、數小時或數天)內進行。

該等分析法亦可用於監測罹患慢性或非急性病狀之個體之疾病進程。非危急護理或非急性病狀係指除急性、危及生命的疾病或涉及例如心血管系統及/或排泄系統之其他危急醫學病狀以外的病狀。典型地，非急性病狀包括較長期或長期持續時間之彼等病狀。對於非急性病狀，通常在較長時段，例如數小時、數天、數週、數月或數年(例如約1小時、約2小時、約3小時、約4小時、約5小時、約6小時、約7小時、約8小時、約9小時、約10小時、約11小時、約12小時、約13小時、約14小時、約15小時、約16小時、約17小時、約18小時、約19小時、約20小時、約21小時、約22小時、約23小時、約24小時、約2天、約3天、約4天、約5天、約6天、約7天、約2週、約3週、約4週、約5週、約6週、約7週、約8週、約9週、約10週、約11週、約12週、約13週、約14週、約15週、約16週、約17週、約18週、約19週、約20週、約21週、約22週、約23週、約24週、約25週、約26週、約27週、約28週、約29週、約30週、約31週、約32週、約33週、約34週、約35週、約36週、約37週、約38週、約39週、約40週、約41週、約42週、約43週、約44週、約45週、約46週、約47週、約48週、約49週、約50週、約51週、約52週、約1.5年、約2年、約2.5年、約3.0年、約3.5年、約4.0年、約4.5年、約

5.0年、約5.5年、約6.0年、約6.5年、約7.0年、約7.5年、約8.0年、約8.5年、約9.0年、約9.5年或約10.0年)內進行重複監測，且初始分析法同樣地通常在疾病或病狀發作之較長時段(例如約數小時、數天、數月或數年)內進行。

此外，上述分析法可使用自個體獲得之第一試樣執行，其中該第一試樣係自一種來源(諸如尿液、血清或血漿)獲得。視情況，可隨後使用自個體獲得之第二試樣重複上述分析法，其中該第二試樣係自另一來源獲得。舉例而言，若第一試樣自尿液獲得，則第二試樣可自血清或血漿獲得。可將使用第一試樣及第二試樣自分析法獲得之結果進行比較。該比較可用於評估個體之疾病或病狀之狀態。

另外，本發明亦關於判定易感染或正罹患指定疾病、病症或病狀之個體是否將受益於治療之方法。詳言之，本發明係關於分析物陪伴診斷方法及產物。因此，如本文所述之「監測個體之疾病治療」之方法進一步最佳地亦可涵蓋選擇或鑑別療法之候選者。

因此，在特定實施例中，本發明亦提供判定患有指定疾病、病症或病狀或處於指定疾病、病症或病狀之風險之中的個體是否為療法之候選者之方法。一般而言，個體為已經歷指定疾病、病症或病狀之一些症狀或實際上已經診斷為患有指定疾病、病症或病狀，或處於指定疾病、病症或病狀風險之中，及/或展示如本文所述之不利濃度或量之分析物或其片段的個體。

該方法視情況包含如本文所述之分析法，其中在以一或

多種醫藥組合物(例如尤其以與涉及分析物之作用機制有關之醫藥劑)、以免疫抑止療法或以免疫吸附療法治療個體之前及之後評估分析物，或其中在該治療之後評估分析物且分析物之濃度或量相對於預定含量進行比較。在治療後觀測到之分析物之不利濃度或量確認個體將不受益於接受進一步或持續治療，而在治療後觀測到之分析物之有利的濃度或量確認個體將受益於接受進一步或持續治療。此確認有助於臨床研究的管理，且提供改良之患者護理。

不言而喻，雖然本文中某些實施例當用於評估如本文中論述之指定疾病、病症或病狀時為有利的，但分析法及套組可用於評估其他疾病、病症及病狀中之分析物。分析方法亦可涉及分析其他標記物及其類似物。

分析方法亦可用於鑑別改善指定疾病、病症或病狀之化合物。舉例而言，表現分析物之細胞可與候選化合物接觸。與化合物接觸之細胞中之分析物的表現量可使用本文所述之分析方法與對照細胞中之彼表現量進行比較。

VI) 套組

亦提供用於針對試樣中之分析物(或其片段)之存在、量或濃度而分析試樣之套組。該套組包含至少一種用於分析試樣之分析物(或其片段)的組分及用於分析試樣之分析物(或其片段)的說明書。至少一種用於分析試樣之分析物(或其片段)的組分可包括包含視情況固定於固相上之如本文揭示之結合蛋白及/或抗分析物DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)的組合物。

套組可包含至少一種用於藉由免疫分析法(例如化學發光微粒免疫分析法)分析試樣之分析物的組分，及用於藉由免疫分析法(例如化學發光微粒免疫分析法)分析試樣之分析物的說明書。舉例而言，套組可包含分析物之至少一種特異性結合搭配物，諸如抗分析物單株/多株抗體(或其可結合於分析物之片段、其可結合於分析物之變異體、或可結合於分析物之變異體片段)、如本文揭示之結合蛋白、或抗分析物DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)，其中任一者可經可偵測標記。或者或另外，套組可包含經可偵測標記之分析物(或其可結合於抗分析物單株/多株抗體、如本文揭示之結合蛋白或抗分析物DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)之片段)，其可與試樣中之任何分析物競爭結合於抗分析物單株/多株抗體(或其可結合於分析物之片段、其可結合於分析物之變異體、或可結合於分析物之變異體片段)、如本文揭示之結合蛋白、或抗分析物DVD結合蛋白(或其片段、變異體或變異體片段)，其中任一者可固定於固體支撐物上。套組可包含校準物或對照物，例如經分離或純化之分析物。套組可包含用於進行分析法之至少一個容器(例如管、微量滴定盤或條帶，其可已以例如第一特異性結合搭配物塗佈)及/或緩衝液，諸如分析緩衝液或洗滌緩衝液，其中任一者可提供為可偵測標記(例如酶標記)之濃溶液、受質溶液，或停止溶液。較佳地，套組包含用於執行分析法之所有組分，亦即試劑、標準物、緩衝液、稀釋劑等。說明書

可呈紙質形式或電腦可讀形式，諸如磁盤、CD、DVD或其類似物。

更特定言之，提供一種用於分析試樣之抗原(或其片段)的套組。該套組包含至少一種用於分析試樣之抗原(或其片段)的組分及用於分析試樣之抗原(或其片段)的說明書，其中該至少一種組分包括至少一種包含結合蛋白(諸如本文揭示之DVD結合蛋白)之組合物。

任何抗體(諸如抗分析物抗體、如本文揭示之任何結合蛋白、任何抗分析物DVD結合蛋白或示蹤劑)均可併有如本文所述之可偵測標記，諸如螢光團、放射性部分、酶、生物素/抗生物素蛋白標記、發色團、化學發光標記或其類似物，或套組可包括用於進行可偵測標記之試劑。抗體、校準物及/或對照物可提供於獨立容器中或預分配至適當分析法形式中，例如至微量滴定盤中。

視情況，套組包括品質控制組分(例如靈敏度套件、校準物及陽性對照)。品質控制試劑之製備為此項技術中所熟知且描述於各種免疫診斷產品之插頁上。靈敏度套件成員視情況用以確立分析效能特徵，且進一步視情況為免疫分析法套組試劑之完整性及分析法之標準化的適用指標。

套組亦可視情況包括進行診斷分析法或有助於品質控制評估所需之其他試劑，諸如緩衝液、鹽、酶、酶輔因子、酶受質、偵測試劑及其類似物。用於分離及/或處理試樣之其他組分(諸如緩衝液及溶液)(例如預處理試劑)亦可包括於套組中。套組可另外包括一或多個其他對照物。套組

之組分中之一或多者可經凍乾，在該情況下套組可進一步包含適於復原凍乾組分之試劑。

套組之各種組分視情況根據需要提供於適合容器中，例如微量滴定盤。套組可進一步包括用於固持或儲存樣本之容器(例如尿樣之容器或濾筒)。適當時，套組視情況亦可含有反應容器、混合容器及有助於製備試劑或試樣之其他組件。套組亦可包括有助於獲得試樣之一或多種儀器，諸如注射器、移液管、鉗子、量測匙或其類似物。

若可偵測標記為至少一種吡啶化合物，則套組可包含至少一種吡啶-9-甲醯胺、至少一種吡啶-9-甲酸酯芳酯或其任何組合。若可偵測標記為至少一種吡啶化合物，則套組亦可包含過氧化氫來源，諸如緩衝液、溶液及/或至少一種鹼性溶液。視需要，套組可含有固相，諸如磁性粒子、珠粒、試管、微量滴定盤、比色管、膜、支架分子、薄膜、濾紙、盤片或晶片。

A. 套組與方法之適應性

藉由如本文所述之分析法(諸如免疫分析法)測定試樣中分析物之存在、量或濃度的套組(或其組分)以及方法可適用於例如美國專利第5,089,424號及第5,006,309號中所述且例如由 Abbott Laboratories (Abbott Park, IL) 以 ARCHITECT® 出售之多種自動及半自動系統(包括其中固相包含微粒之系統)中。

自動或半自動系統相較於非自動系統(例如 ELISA)的一些差異包括連接有第一特異性結合搭配物(例如，抗分析

物單株/多株抗體(或其片段、其變異體或其變異體片段)、如本文揭示之結合蛋白、或抗分析物DVD結合蛋白(或其片段、其變異體或其變異體片段))之受質(任一方式皆會影響夾心形成及分析物反應性),以及捕捉、偵測及/或任何視情況存在之洗滌步驟的時間長短及時序。自動或半自動形式(例如 ARCHITECT®, Abbott Laboratories)可具有相對較短之培育時間(例如對於 ARCHITECT®為約18分鐘),而非自動形式(諸如 ELISA)關於樣本與捕捉試劑可能需要相對較長之培育時間(例如約2小時)。同樣地,自動或半自動形式(例如 ARCHITECT®)可具有相對較短之培育時間(例如對於 ARCHITECT®為約4分鐘),而非自動形式(諸如 ELISA)培育偵測抗體(諸如結合物試劑)可能持續相對較長之培育時間(例如約2小時)。

可自 Abbott Laboratories獲得之其他平台包括(但不限於)AxSYM®、IMx®(參見例如美國專利第5,294,404號)、PRISM®、EIA(珠粒)及Quantum™ II以及其他平台。另外,分析法、套組及套組組分可以其他形式使用,例如在電化學或其他手持型或定點照護型分析系統上。本發明例如適用於執行夾心免疫分析法之市售Abbott定點照護型(i-STAT®, Abbott Laboratories)電化學免疫分析系統。免疫感測器以及其製造方法及在一次性測試裝置中之操作方法描述於例如美國專利第5,063,081號、第7,419,821號及第7,682,833號;美國公開案第20040018577號及第20060160164號中。

更不言而喻的是，如本文所述之方法及套組必然涵蓋其他用於進行免疫分析法之試劑及方法。舉例而言，涵蓋各種緩衝液，諸如此項技術中已知及/或可容易地製備或最佳化以例如用於洗滌、用作結合物稀釋劑、微粒稀釋劑及/或用作校準物稀釋劑之緩衝液。例示性結合物稀釋劑為某些套組(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)中所用且含有2-(N-嗎啉基)乙烷磺酸(MES)、鹽、蛋白質阻斷劑、抗微生物劑及清潔劑之ARCHITECT®結合物稀釋劑。例示性校準物稀釋劑為某些套組(Abbott Laboratories, Abbott Park, IL)中所用之ARCHITECT®人類校準物稀釋劑，其包含含有MES、其他鹽、蛋白質阻斷劑及抗微生物劑之緩衝液。另外，如2008年12月31日申請之美國專利申請案第61/142,048號中所述，例如在I-Stat筒形式中，可使用與信號抗體連接之核酸序列作為信號放大劑獲得改良之信號生成。

熟習此項技術者應易於瞭解，本文所述之方法的其他適合修改及調適為明顯的且可在不悖離本文揭示之實施例之範疇的情況下使用適合之等效形式來進行。現已詳細描述某些實施例，藉由參考以下實例將對其有更清楚的理解，該等實例僅出於說明之目的包括在內而不意欲具限制性。

實例

實例1：製備改良之TNF- α 親本結合蛋白

實例1.1：藉由活體外呈現系統鑑別TNF之完全人類結合蛋白

1.1.1：抗體選擇

藉由活體外呈現技術利用結合重組人類TNF蛋白之能力自人類抗體文庫分離完全人類抗人類TNF單株抗體。根據DNA定序測定可變重鏈(VH)及可變輕鏈(VL)之胺基酸序列且列於上文章節A)I)A)之表1B中。

1.1.2：完全人類人類TNF結合蛋白AE11-5之親和力成熟

藉由活體外呈現技術使人類TNF之AE11-5人類結合蛋白親和力成熟。一個輕鏈文庫經構築以在以下殘基28、31、32、51、55、91、92、93、95a及96 (Kabat編號)處含有受限突變誘發。此文庫亦含有構架生殖系回復突變D1E、M4L、H11Q、R49K、H76N及Q103K以及在位置50(R/K)及94(S/L)處之轉態殘基(toggled residue)以允許在文庫選擇期間進行構架生殖系化。製得兩個重鏈文庫以在CDRH1及CDRH2中之殘基30、31、33、50、52及55至58 (Kabat編號)處或在CDRH3中之殘基95至100b處含有受限突變誘發。含有CDRH1及CDRH2多樣性之文庫亦具有構架生殖系回復突變A18V及L64Q以及在54(L/F)及78(V/A)處之轉態殘基。CDRH3文庫具有在100c(A/F)處之另一轉態殘基。

在降低濃度的經生物素標記之人類或食蟹獼猴TNF抗原之存在下針對結合人類或食蟹獼猴TNF之能力獨立地選擇所有三個文庫。將所有自文庫選擇回收之突變CDR序列重組成額外文庫且該等重組文庫經受更嚴格選擇條件，隨後鑑別個別抗體。

下表(表2)提供經受親和力成熟選擇方案之完全人類AE11-5結合蛋白的VH及VL之胺基酸序列清單。各VH及

VL序列之個別CDR之胺基酸殘基以粗體指示。

表 2.在親和力成熟 AE11-5抗體中觀測到之胺基酸殘基

AE11-5重鏈可變區(SEQ ID NO: 805)										
AE11-5VH	1234567890123456789012345678901234567890123456789012a345678901									
	EVQLVQSGAEVKKPGSSAKVSKASGGTFSS YAIS WVRQAPGQGLEWMGG IIPILGTANYAQ									
	V		NW TTT		WT		FRSPI			
			TY SV		M		TDAST			
			GI P		L		I NGS			
			AN G		V		P V			
			F		N		I H			
			R				V A			
			L				K R			
							F M			
						L				
234567890123456789012abc345678901234567890abc1234567890123										
KFLGRVTITADESTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARGLYYDPTRADYWGQGT LVTVSS										
Q		A		SVFFNTSWF						
				WIVVEFASM						
				TFP TRKP						
				ARH IGRA						
				Q ADI						
				Y						
				V						
				P						
				N						
				G						
AE11-5輕鏈可變區(SEQ ID NO: 806)										
AE11-5VL	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901									
	DIVMTQSPDFHSVTPKEKVTITCRASQSIGSS LHWYQQ KPDQSPKLLIRHASQ SISG VPSR									
	E L		Q		R RR		KYV		L	
					T TT		P		V	
					N GN		T		T	
					I NC		G		S	
					C KG		S		M	
					G CI		E		N	
					K HK		D		K	
					Y VM				F	
				W PL				R		
				LY						
				P						
				V						
2345678901234567890123456789012345a67890123456a										
FSGSGSGTDFTLT HSLEA EDAATYY CHQSSSSPPPT FGQGTQVEIK										
		N		RRRL LS		K				
				NGI AR						
				GIC SL						
				TCG RT						
				CNN TA						
				ITT QQ						
				MK HH						
				V						
				M						

實例 1.2：人類化人類TNF結合蛋白hMAK-195之親和力成熟

使小鼠抗人類TNF抗體MAK-195人類化且親和力成熟以

生成一組人類化MAK195變異體，其對食蟹獼猴TNF具有交叉反應性且針對人類TNF與食蟹獼猴TNF具有改良之親和力及結合動力學。

為改良hMAK195對TNF之親和力，自IgBLAST資料庫中之其他人類抗體序列鑑別亦與生殖系VH3-53及IGKV1-39共有高一致性的超突變CDR殘基。隨後藉由PCR利用在此等位置處具有低簡併性之引子使相應hMAK195 CDR殘基進行受限突變誘發以產生三種呈scFv形式之抗體文庫。第一文庫在VH CDR1及VH CDR2中之殘基31、32、33、35、50、52、53、54、56及58 (Kabat編號)處含有突變；第二文庫在VH CDR3中之殘基95至100、100a、101及102處含有突變；且第三文庫在三個VL CDR中之殘基28、30、31、32、50、53、92、93、94及95處含有突變。為進一步增加hMAK195與人類生殖系構架序列之一致性，將VH位置60 (D/A)、61 (S/D)、62 (T/S)、63 (L/V)及65 (S/G)處之二元簡併引入第一文庫中。此外，將VL位置24 (K/R)、33 (V/L)、54 (R/L)、55 (H/Q)、56 (T/S)、91 (H/S)及96 (F/Y)處之二元簡併引入第三文庫中。

針對低濃度的經生物素標記之TNF對此等hMAK195進行選擇以改良結合速率、脫離速率或兩者，且回收親和力經調節之hMAK195的抗體蛋白序列以再轉化成IgG以用於進一步表徵。在降低濃度的經生物素標記之人類或食蟹獼猴TNF抗原之存在下針對結合人類或食蟹獼猴TNF之能力獨立地選擇所有三個文庫。將所有自文庫選擇回收之突變

CDR序列重組成額外文庫且該等重組文庫經受更嚴格選擇條件，隨後鑑別個別抗體。

下表(表3)提供經受親和力成熟選擇方案之人類化MAK-195的VH及VL之胺基酸序列清單。各VH及VL序列之個別CDR之胺基酸殘基以粗體指示。

表3.在親和力成熟hMAK-195中觀測到之胺基酸殘基

hMAK195重鏈可變區(SEQ ID NO: 807)	
hMAK195VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS DIYGVN WVRQAPGKGLEWVS MIWGDGSTD
	NFS T I RAG T A
	HLN S V GSE F H
	YS H L SDA A V
	IR Q R AEV Y S
	Y K LVG W N
	S NY G
	YDSTLKSRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCAREWHHGPVAYWGQGLVTVSS
	ADSV G HSQRTLDS
	QLRPASGVF
	LCLLVQDGC
	YRYNWAETN
	DFPYEKW P
	NDARS R I
	TYVTP P H
	PPDDI A
	AICA I
	SG C
	R
hMAK195輕鏈可變區(SEQ ID NO: 808)	
hMAK195VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQAVSSAVAWYQQKPGKAPKLLIYWASTRHTG
	R S RRPL S SLQS
	V TNT R I T
	G IGG L L A
	D NCV C K E
	T CTS Q A F
	P KIR G R
	VPSRFSGSGSGTDFTLTIS SLQPEDFATYYC QQHYSTPFT FGQGTKLEIK
	SNRSTY
	FGPR
	DTML
	GIIQ
	HCAA
	S

上文章節I)A)中之表1D及表1E提供經轉化成IgG蛋白以用於表徵之人類化MAK-195抗體的清單。

表4中重鏈與輕鏈對製備如下：

表 4. hMAK195親和力成熟純系之重鏈與輕鏈對

純系名稱	HC	LC	蛋白質名稱
A8	hMAK195-A8	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM11
B5	hMAK195-B5	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM13
rHC3	hMAK195 rHC3	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM14
rHC18	hMAK195 rHC18	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM15
rHC19	hMAK195 rHC19	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM16
rHC22	hMAK195 rHC22	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM17
rHC34	hMAK195 rHC34	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM18
rHC60	hMAK195 rHC60	hMAK195 VL. 1	hMAK195-AM19
S4-6	hMAK195 S4-6	hMAK195 S4-6	hMAK195-AM20
S4-12	hMAK195 S4-12	hMAK195 S4-12	hMAK195-AM21
S4-17	hMAK195 S4-17	hMAK195 S4-17	hMAK195-AM22
S4-18	hMAK195 S4-18	hMAK195 S4-18	hMAK195-AM23
S4-19	hMAK195 S4-19	hMAK195 S4-19	hMAK195-AM24
S4-24	hMAK195 S4-24	hMAK195 S4-24	hMAK195-AM25
S4-34	hMAK195 S4-34	hMAK195 S4-34	hMAK195-AM26

實例 1.3：人類化人類 TNF 結合蛋白 hMAK-199 之親和力成熟

使小鼠抗人類 TNF 抗體 MAK-199 人類化且親和力成熟以生成一組人類化 MAK195 變異體，其對人類 TNF 與食蟹獼猴 TNF 具有改良之親和力及結合動力學。根據以下說明製備若干文庫：

在首先引入 V2I 回復突變之後製備三個 HC 文庫且證實其不影響 scFv 對 TNF 之親和力。

H1+H2 (DDK) 文庫：

- 在 7 個殘基處之受限突變誘發 (T30、N31、N35、T52a、T54、E56、T58)

- 生殖系雙態觸發：M34I及F63L

H1+H2 (QKQ)文庫：

- 在7個殘基處之受限突變誘發(T30、N31、N35、T52a、T54、E56、T58)

- 生殖系雙態觸發：M34I及F63L

- 生殖系回復突變：D61Q、D62K、K64Q、F67V、F69M、L71T

H3文庫：

- 在12個殘基95-100、100a-100f處之受限突變誘發

- 生殖系雙態觸發：F91Y

LC文庫：

- 在11個殘基28、30-32、50、53、91-94、96處之受限突變誘發

- 生殖系雙態觸發：T51A、Y71F、F87Y及T43A/V44P (此兩者共同發展)

重組文庫：

在經過至少3輪選擇後使文庫多樣性降低之後，將在存在及不存在VL文庫之情況下重組VH文庫。

在降低濃度的經生物素標記之人類或食蟹獼猴TNF抗原之存在下針對結合人類或食蟹獼猴TNF之能力獨立地選擇所有四個文庫。將所有自文庫選擇回收之突變CDR序列重組成額外文庫且該等重組文庫經受更嚴格選擇條件，隨後鑑別個別抗體。

下表(表5)提供經受親和力成熟選擇方案之hMAK-199抗

體的 VH 及 VL 之胺基酸序列清單。各 VH 及 VL 序列之個別 CDR 之胺基酸殘基以粗體指示。

表 5. 在親和力成熟 hMAK-199 結合蛋白中觀測到之胺基酸殘基

MAK199 重鏈可變區 (SEQ ID NO: 809)	
MAK199 VH.2a	1234567890123456789012345678901234567890123456789012a345678901 EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT NYGMN WVRQAPGQGLEWMGW WINTYTGEPTYAD VND II N K S Q AH T S V H ST Q Q N RS S R M DQ G L K KK A S A P V N R Q I Q M D D G A E
	234567890123456789012abc345678901234567890abcde fg 1234567890123 DFKGRFTFT LDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARK FLTTVVVTDYAMDYWGQGT TVTVSS GLT V M T Y RLFNPMDASENT K Q NYMKVEAEM SR IRSSAEMN CC VSRARSD H CWL IMG D QP QII I VF GPQ F ND D P V GM N L CA L A H
Mak199 輕鏈可變區 (SEQ ID NO: 810)	
Mak199 Vk.1a	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKTVKLLIYYTSRLQSGVPSR N YQV AP FA L E ESF V N K H AKT G G TT V WH R GD A NR F C
	234567890123456789012345678901234567890123456a FSGSGSGTDYTLTISSLPEDFATYFC QOGNTLPPT FGQGTKLEIK F Y ISW T MQ S IP A AM RR F G V Y A

製備來自轉化純系之個別 hMAK-199 VH及VL序列且展示於上文章節I)A)中之表1F及表1G中。

表 6.轉化成全長IgG之hMAK199親和力成熟scFv純系

ScFv 純系名稱	HC質體	LC質體	全長IgG (蛋白質)名稱
J662M2S3#10	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#10	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#10	hMAK199-AM1
J662M2S3#13	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#13	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#13	hMAK199-AM2
J662M2S3#15	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#15	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#15	hMAK199-AM3
J662M2S3#16	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#16	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#16	hMAK199-AM4
J662M2S3#21	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#21	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#21	hMAK199-AM5
J662M2S3#34	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#34	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#34	hMAK199-AM6
J662M2S3#36	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#36	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#36	hMAK199-AM7
J662M2S3#45	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#45	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#45	hMAK199-AM8
J662M2S3#58	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#58	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#58	hMAK199-AM9
J662M2S3#72	pHybE-hCg1, z, non-a V2 J662M2S3#72	pHybE-hCk V3 J662 M2S3#72	hMAK199-AM10

實例 1.4：使用 BIACORE 技術進行親和力測定

表 7：用於 Biacore 分析之試劑

抗原	供應商命名	供應商	目錄號
TNF α	重組人類TNF- α /TNFSF1A	R&D systems	210-TA

BIACORE 方法：

BIACORE 分析法 (Biacore, Inc. Piscataway, NJ) 藉由結合

速率常數及脫離速率常數之動力學量測來測定結合蛋白之親和力。在 25°C 下藉由利用 Biacore® 1000 或 3000 儀器 (Biacore® AB, Uppsala, Sweden) 使用操作性 (running) HBS-EP (10 mM HEPES [pH 7.4]、150 mM NaCl、3 mM EDTA 及 0.005% 界面活性劑 P20) 進行基於表面電漿子共振的量測來測定結合蛋白與標靶抗原 (例如經純化重組標靶抗原) 之結合。所有化學品均獲自 Biacore® AB (Uppsala, Sweden) 或如本文中所述之其他不同來源。舉例而言，使用標準胺偶合套組根據製造商之說明書及程序將用 10 mM 乙酸鈉 (pH 4.5) 稀釋的約 5000 RU 山羊抗小鼠 IgG (Fc γ) 片段特異性多株抗體 (Pierce Biotechnology Inc, Rockford, Ill., US) 以 25 μ g/ml 直接固定於 CM5 研究級生物感測器晶片上。用乙醇胺阻斷生物感測器表面上未反應之部分。流槽 2 及 4 中之經修飾的羧甲基聚葡萄糖表面用作反應表面。流槽 1 及 3 中不含山羊抗小鼠 IgG 的未經修飾的羧甲基聚葡萄糖用作參考表面。關於動力學分析，藉由使用 Biaevaluation 4.0.1 軟體將由 1:1 朗繆爾結合模型 (Langmuir binding model) 獲得之速率方程式與所有八次注射之締合及解離階段同時擬合 (使用整體擬合分析)。用 HEPES 緩衝鹽水稀釋經純化之抗體，以便於山羊抗小鼠 IgG 特異性反應表面上捕捉。將欲以配體形式捕捉之抗體 (25 μ g/ml) 以 5 μ l/min 之流動速率注射於反應基質上。在 25 μ l/min 之連續流動速率下測定締合速率常數 k_{on} ($M^{-1}s^{-1}$) 及解離速率常數 k_{off} (s^{-1})。藉由在範圍為 10-200 nM 之不同抗原濃度下進行動力學結

合性量測法來獲得速率常數。隨後藉由以下公式，從動力學速率常數來計算抗體與標靶抗原之間反應的平衡解離常數(M)： $K_D = k_{off}/k_{on}$ 。記錄結合性隨時間變化之函數，且計算動力學速率常數。在此分析法中，可量測到快達 $10^6 M^{-1}s^{-1}$ 之結合速率及慢達 $10^{-6} s^{-1}$ 之脫離速率。

就此而言，本文之結合蛋白預期具有有利特性，包括高親和力、緩慢脫離速率及高中和能力。

實例 1.5：人類 TNF- α 之中和作用

使 L929 細胞生長至半匯合密度且使用 0.25% 胰蛋白酶 (Gibco#25300) 收集。細胞以 PBS 洗滌，計數且依 $1E6$ 個細胞/毫升再懸浮於含有 $4 \mu g/mL$ 放線菌素 D 之分析培養基中。將細胞以 $100 \mu L$ 之體積及 $5E4$ 個細胞/孔接種於 96 孔盤 (Costar#3599) 中。用分析培養基將結合蛋白及對照 IgG 稀釋至 $4X$ 濃度且進行連續 1:4 稀釋。用分析培養基將人類 TNF- α 稀釋至 $400 pg/mL$ 。以 1:2 稀釋方案將結合蛋白樣本 ($200 \mu L$) 添加至人類 TNF- α ($200 \mu L$) 中且使其在室溫下培育 0.5 小時。

將結合蛋白/人類 TNF- α 溶液以 $100 \mu L$ 添加至經塗佈之細胞，以使得最終濃度為 $100 pg/mL$ 人類 TNF- α 及 $150 nM$ - $0.0001 nM$ 結合蛋白。盤在 $37^\circ C$ 、5% CO_2 下培育 20 小時。為定量存活率，自孔中移出 $100 \mu L$ 且添加 $10 \mu L$ WST-1 試劑 (Roche 目錄號 11644807001)。盤在分析條件下培育 3.5 小時。利用 Spectromax 190 ELISA 盤讀取器在 OD 420-600 nm 下讀取盤。

就此而言，本文之結合蛋白預期具有有利特性，包括高親和力、緩慢脫離速率及高中和能力。

實例2：人類化抗人類IL-17抗體h10F7之親和力成熟

先前揭示人類化抗人類IL-17抗體。此抗體隨後經親和力成熟，以改良其對人類、食蟹獼猴及小鼠IL-17之總體親和力。根據以下說明製備若干文庫：

H1+H2文庫：

- 在7個殘基30、31、33、35、53、56、57及58處之受限突變誘發。
- 人類生殖系與h10F7序列之間在位置27、48、51、52、54、67及69處之雙態觸發。

H3文庫：

- 在95-100c及102處之受限突變誘發。
- 人類生殖系與h10F7序列之間在93處之雙態觸發。

LC文庫1：

- 在30、31、32、34、50、53、89、91、92、93及96處之受限突變誘發。
- 人類生殖系與h10F7序列之間在位置4、24、27、29、33、36、43、47、52及55處之雙態觸發。

LC文庫2：在CDR1中位置G28處用另一殘基構築以增加與人類抗體之一致性。

- 在28、30、31、32、34、50、53、89、91、92、93及96處之受限突變誘發。
- 人類生殖系與h10F7序列之間在位置24、27、29、33、

37、44、48、52及55處之雙態觸發。

- 在FR1中之一個構架生殖系化突變(位置4)首先測試為scFv。若結合未受影響，則使用「M」優於使用「L」。

rHC文庫：重組H1+H2及H3文庫之輸出。

rHCLC文庫：重組H1+H2、H3及LC1或LC2文庫之輸出。

(若LC2輸出結合看來似乎至少與WT一樣，則使用LC2優於使用LC1，否則重組LC1輸出)。

在降低濃度的經生物素標記之抗原之存在下針對結合人類、食蟹獼猴及小鼠IL-17之能力獨立地選擇所有四個文庫。將所有自文庫選擇回收之突變CDR序列重組成額外文庫且該等重組文庫經受更嚴格選擇條件，隨後鑑別個別抗體。

表8提供經受親和力成熟選擇方案之h10F7抗體的VH胺基酸序列清單。各VH序列之個別CDR之胺基酸殘基以粗體指示。

表8.親和力成熟h10F7 VH變異體之胺基酸序列清單

純系	SEQ ID NO:	VH
J417M2S2-12VH	121	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTFYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-15VH	122	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J417M2S2-16VH	123	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-18VH	124	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-20VH	125	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTMYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-23VH	126	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-25VH	127	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-26VH	128	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-34VH	129	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-37VH	130	EVQLVQSGAEVRKPGSSVKVSCKASGYTFEDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-47VH	131	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J417M2S2-4VH	132	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVIDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-50VH	133	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVIDPESGGTLYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-51VH	134	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVIDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-55VH	135	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-56VH	136	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF HGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-57VH	137	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFADYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-64VH	138	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-65VH	139	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-69VH	140	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVIDPESGGTLYNQKFDGRATI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J417M2S2-72VH	141	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTKYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-73VH	142	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVIDPESGGTLYNQKFDGRATI TADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-75VH	143	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRATI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-76VH	144	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTEYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGSFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-7VH	145	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNTKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-84VH	146	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVIDPESGGSLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-85VH	147	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVIDPESGGTLYNQKFDGRATI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-86VH	148	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J417M2S2-89VH	149	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVIDPESGGSLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J417M2S2-91VH	150	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYIEH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-95VH	151	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYIEH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGILYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S2-96VH	152	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSDYIEH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-14VH	153	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYIEH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-35VH	154	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDEYIEH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-54VH	155	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYIEH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-63VH	156	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYIEH WVRQAPGQGLEWIGVIDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-81VH	157	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYIEH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRATI TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-83VH	158	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYIEH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGSFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J417M2S3-86VH	159	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRATI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J417M2S3-89VH	160	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TTDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-1VH	161	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-20VH	162	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKYWSF SGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-21VH	163	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYFGF SGMDFWGQGTTVTVSS
J420M2S2-22VH	164	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKFDSF QGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-28VH	165	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYEGF LGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-30VH	166	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-34VH	167	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKFESF NGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J420M2S2-39VH	168	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDKYESF SGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-40VH	169	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDKWEGF YGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-41VH	170	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDKWESF YGMDFWGQGTTVTVSS
J420M2S2-47VH	171	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDKWDGF NGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-50VH	172	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-51VH	173	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDKYESF YGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-53VH	174	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDRYWSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-56VH	175	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYKWDSE LGMDFWGQGTTVTVSS
J420M2S2-57VH	176	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDТАVYYCTRYDMWESF NGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J420M2S2-58VH	177	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYKWWGF MGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-60VH	178	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYWGF EGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-64VH	179	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKYWSF QGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-65VH	180	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKYESF EGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-67VH	181	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWMSF SGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-71VH	182	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKFYGF NGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-72VH	183	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYKWD SF YGMDAWGQGTTVTVSS
J420M2S2-79VH	184	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYSKWDSF SGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S2-80VH	185	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWESF YGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J420M2S2-87VH	186	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWWSF SGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S2-89VH	187	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWESF AGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S2-95VH	188	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYRWSF QGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S2-9VH	189	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKYESL NGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S3-12VH	190	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYWKWDSF FGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S3-21VH	191	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKWESF SGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S3-25VH	192	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKYVGF EGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S3-27VH	193	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYDKFWSF NGMDYWGQGTTTVTVSS
J420M2S3-29VH	194	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYSKWDSF QGMDYWGQGTTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J420M2S3-32VH	195	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYFKWDSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-39VH	196	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWNSF DGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-3VH	197	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-55VH	198	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-57VH	199	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYWKWDSF YGMDSWGQGTTVTVSS
J420M2S3-68VH	200	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKFDSF YGM DYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-70VH	201	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWEGF RGMDLWGQGTTVTVSS
J420M2S3-73VH	202	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYEKWDSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-76VH	203	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYKWKESF QGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J420M2S3-77VH	204	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKFYSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J420M2S3-94VH	205	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYNKKWDSF LGMDYWGQGTTVTVSS
J425M2S2-29VH	206	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J425M2S2-41VH	207	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGKGTTVTVSS
J427M2S3-88VH	208	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J427M2S3-91VH	209	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESF YGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-A12VH	210	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDRYWSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-A3VH	211	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYWKKWDSF FGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B18VH	212	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDI WGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) 3-B19VH	213	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFPDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B23VH	214	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTYYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYSKWDSF QGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B2VH	215	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYSKWDSF LGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B38VH	216	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKYWSF QGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B40VH	217	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B51VH	218	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B52VH	219	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKWESF NGMDEWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B5VH	220	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-B62VH	221	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFNDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTYYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSED AVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) 3-C13VH	222	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL SADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C15VH	223	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C17VH	224	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C19VH	225	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C20VH	226	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFADYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C21VH	227	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYEKWDSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C25VH	228	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRITL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C4VH	229	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSL NGMDEWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C5VH	230	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDRYWSF NGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) 3-C6VH	231	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-C9VH	232	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF NGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D11VH	233	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFPDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D12VH	234	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D15VH	235	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFEDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF LGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D18VH	236	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D24VH	237	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D25VH	238	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFADYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D29VH	239	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TTDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) 3-D2VH	240	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D30VH	241	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D36VH	242	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D38VH	243	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D3VH	244	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D6VH	245	EVQLVQSGAEVRKPGSSVKVSKASGYTFEDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D8VH	246	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWWSF SGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3-D9VH	247	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A10VH	248	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFADYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R4-A11VH	249	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFADYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A12VH	250	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDI WGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A1VH	251	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDCWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A4VH	252	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYWKWDSF YGMDSWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A5VH	253	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDI WGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A6VH	254	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-A9VH	255	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDGF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-B10VH	256	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF LGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-B2VH	257	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWEGF RGMDLWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R4-B5VH	258	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQRLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-B7VH	259	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVIDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDRYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-B9VH	260	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-C11VH	261	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-C12VH	262	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDEYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-C2VH	263	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRATI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYKWD SF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-C4VH	264	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-C5VH	265	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-C7VH	266	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTMYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDCWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R4-C8VH	267	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D10VH	268	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D11VH	269	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGILYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWESF AGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D2VH	270	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDRWDSF NGMDEWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D3VH	271	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D4VH	272	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYWKWDSF YGMDSWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D5VH	273	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D6VH	274	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWESF SGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R4-D8VH	275	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R4-D9VH	276	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTMYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDCWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E11VH	277	EVQLVQSWAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTEYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E1VH	278	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDCWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E2VH	279	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E3VH	280	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYFKWDSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E4VH	281	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYWKFD SF YGM DLWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E6VH	282	EVQLVQSGAEVKKPGSPVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPDSGGTLYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKFWSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E7VH	283	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-E9VH	284	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGM DYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R5-F11VH	285	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS SD YEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TAD EST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-F2VH	286	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYEKWDSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-F3VH	287	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TAD EST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF EGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-F4VH	288	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TAD EST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF QGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-F6VH	289	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TAD EST STAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF AGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-F8VH	290	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-F9VH	291	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G10VH	292	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYKYWSF LGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G12VH	293	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFEDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R5-G1VH	294	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G2VH	295	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSDEYIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF AGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G3VH	296	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFSDEYIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF QGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G4VH	297	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G7VH	298	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-G9VH	299	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDCWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H11VH	300	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDRWDSF NGMDEWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H12VH	301	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRVTI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H1VH	302	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDYWGQGTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2 (H) R5-H2VH	303	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFNDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTLYNQKFDGRATI TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWYSF EGMDIWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H3VH	304	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF LGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H4VH	305	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFADYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGMDCWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H8VH	306	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKYWSF YGM DYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2 (H) R5-H9VH	307	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKFWSF NGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2-11VH	308	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2-32VH	309	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFEDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGMDYWGQGTTTVTVSS
J439M1S2-34VH	310	EVQLVQSGAEVKKPRSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF NGMDYWGQGTTVTISS
J439M1S2-39VH	311	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF DGMDYWGQGTTTVTVSS

純系	SEQ ID NO:	VH
J439M1S2-7VH	312	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2-9VH	313	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFS DYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWESF SGMDHWGQGTTVTVSS
J439M1S3R4-38VH	314	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S3R4-46VH	315	EVQLVQSGAEETKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S3R4-4VH	316	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFTDYEIH WVRQAPGQGLEWMGVNDPESGGTFYNNQKFDGRVTL TADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYSKWDSF DGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S3R5-15VH	317	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDDYEIH WVRQAPGQGLEWIGVNDPESGGTFYNNQKFDGRATL TADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRYDKWDSF YGM DYWGQGTTVTVSS

表 9 提供來源於 h10F7 之親和力成熟完全人類 IL-17 抗體之 VL 區的胺基酸序列清單。各 VH 序列之個別 CDR 之胺基酸殘基以粗體指示。

表 9. 親和力成熟 h10F7 VL 變異體之胺基酸序列清單

純系	SEQ ID NO:	VL
J417M2S2-37Vk	318	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKLWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J417M2S2-46Vk	319	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J417M2S2-72Vk	320	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J417M2S2-96Vk	321	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J417M2S3-12Vk	322	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPFTFGQGTKLEIK
J417M2S3-3Vk	323	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSVRYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSDLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPFTFGQGTKLEIK
J417M2S3-83Vk	324	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J417M2S3-86Vk	325	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J420M2S2-32Vk	326	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J420M2S2-91Vk	327	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J420M2S3-32Vk	328	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGIKLEIK
J425M2S2-13Vk	329	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSVSYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-15Vk	330	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIINYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPPTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S2-17Vk	331	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIPIYWFQ QKPGKAPKRLIYTTSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-18Vk	332	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-19Vk	333	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIIISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYTTFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-1Vk	334	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRRIYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-20Vk	335	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIRYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-22Vk	336	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYLYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSNYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-23Vk	337	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-24Vk	338	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRWIYGTSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-27Vk	339	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-28Vk	340	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSLTYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-2Vk	341	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-31Vk	342	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIRYIYWFQ QKPGKAPKRLIYETSDLSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S2-32Vk	343	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYSTFELQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSFYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-33Vk	344	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSWYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-36Vk	345	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIRYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-37Vk	346	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIRYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQRTRYPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-38Vk	347	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYSTGLASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSYYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-39Vk	348	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSIISYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSTYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-3Vk	349	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSVSYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-40Vk	350	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-41Vk	351	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIMNYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCVQWSLYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-43Vk	352	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIGYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-44Vk	353	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSIISYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPCTFGQGTKLEIK
J425M2S2-45Vk	354	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQRSRYPTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S2-46Vk	355	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J425M2S2-47Vk	356	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIRYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-48Vk	357	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-4Vk	358	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSIYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-51Vk	359	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-52Vk	360	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-53Vk	361	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQIIGYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-55Vk	362	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSINYIDWFQ QKPGKAPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCLQRNNYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-56Vk	363	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYSTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSTYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-58Vk	364	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-59Vk	365	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSLYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-5Vk	366	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSVRYIYWFQ QKPGKAPKRWIYETSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S2-60Vk	367	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYTTFDLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J425M2S2-61Vk	368	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYIYWFQ QKPGKAPKRLIYSTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-62Vk	369	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-64Vk	370	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-65Vk	371	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQIMSYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-67Vk	372	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQIINDLFWFQ QKPGKAPKRLIYDTFDLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRTHYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-6Vk	373	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-71Vk	374	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYIYWFQ QKPGKAPKRLIYGTFDLASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-72Vk	375	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCAQRSGYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-73Vk	376	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-75Vk	377	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSLSYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRNFYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-76Vk	378	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQIISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYGTSQLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSRYPLTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S2-77Vk	379	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSDLQSGVPSRFSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-78Vk	380	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSLYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-82Vk	381	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSLYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSWYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-83Vk	382	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSINYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSNYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S2-84Vk	383	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSIINYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-85Vk	384	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSISYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-86Vk	385	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSISYLYWFQ QKPGKSPKRWIYATSLASGVPSRFSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLQRSRYPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-87Vk	386	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSIISYIDWYQ QKPGKAPKRWIYATFELASGVPSRFSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCLQRSIYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S2-89Vk	387	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S2-8Vk	388	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSLSYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSNYPITFGQGTKLEIK
J425M2S2-93Vk	389	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSILSYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPWTFGQGTKLEIK
J425M2S2-96Vk	390	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S2-9Vk	391	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-10Vk	392	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSNYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-11Vk	393	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQIISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSTYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-12Vk	394	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S3-13Vk	395	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSVSYIYWFQ QKPGKAPKRWIYDTSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCLQQSIYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-14Vk	396	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSFYPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-15Vk	397	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYISWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCLQTAIYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-16Vk	398	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-17Vk	399	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSVNYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSFYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-1Vk	400	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSSYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-21Vk	401	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSLNYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSRSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRMYYPQTFGQGTKLEIK
J425M2S3-23Vk	402	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYGTSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRNSYPLTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S3-24Vk	403	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-27Vk	404	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-29Vk	405	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-2Vk	406	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-30Vk	407	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-33Vk	408	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSTSYPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-34Vk	409	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIVSYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-37Vk	410	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYPTFDLQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSMYPITFGQGTKLEIK
J425M2S3-38Vk	411	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSRYPIITFGQGTKLEIK
J425M2S3-41Vk	412	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-44Vk	413	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIGYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGTKLEIK
J425M2S3-46Vk	414	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSNYPLTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S3-47Vk	415	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S3-48Vk	416	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-49Vk	417	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-4Vk	418	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIDYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSQLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSTYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-50Vk	419	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSVSYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-52Vk	420	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S3-53Vk	421	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIGYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S3-54Vk	422	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQIISYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCLQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J425M2S3-55Vk	423	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYETSELQSGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPFTFGQGTKLEIK
J425M2S3-57Vk	424	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSIGYIYWFQ QKPGKSPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J425M2S3-58Vk	425	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSIYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPPTFGQGTKLEIK
J425M2S3-59Vk	426	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSDLASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSNYPITFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J425M2S3-60Vk	427	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSIISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-62Vk	428	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-63Vk	429	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPYTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-65Vk	430	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYSTFELQSGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCNQRSSYPYTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-66Vk	431	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-6Vk	432	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCNQRSIYPYTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-70Vk	433	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSINYIYWFQ QKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCQQRSMYPFTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-7Vk	434	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDHTL TISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGGTKLEIK
J425M2S3-9Vk	435	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSINYLYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCHQRTNYPPTFGQGGTKLEIK
J427M2S2-10Vk	436	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSIPYIYWF QQKPGKAPKRLIYGTSGLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQRSTYPITFGQGGTKLEIK
J427M2S2-11Vk	437	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIRRFINWF QQKPGKAPKRLIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISLQPEDFATYYCQQWSSYPWTFGQGGTKLEIK
J427M2S2-12Vk	438	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGSISYIYWF QQKPGKSPKRLIYETFDLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISLQPEDFATYYCQQRAIYPITFGQGGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J427M2S2-14Vk	439	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDSINYIYWF QQKPGKAPKRLIYSTSDLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCLQLSRYPPTFGQGKLEIK
J427M2S2-15Vk	440	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGSISYIYWF QQKPGKSPKRLIYETFELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQKNIYPWTFGQGKLEIK
J427M2S2-18Vk	441	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGSINYIYWF QQKPGKAPKRWIYGTSYLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGKLEIK
J427M2S2-20Vk	442	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYCNQRSRYPPTFGQGKLEIK
J427M2S2-21Vk	443	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSIKSYLNWF QQKPGKAPKRLIYATFELQSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQWRNYPWTFGQGKLEIK
J427M2S2-23Vk	444	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSDSISYISWF QQKPGKAPKRWIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQPGIYPGTFGQGKLEIK
J427M2S2-24Vk	445	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIFSylFWY QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQGSRYPDFTFGQGKLEIK
J427M2S2-27Vk	446	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGINNYLNWF QQKPGKSPKRWIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQWGSYPWTFGQGKLEIK
J427M2S2-29Vk	447	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDIVSYIYWF QQKPGKSPKRLIYATSGLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGKLEIK
J427M2S2-30Vk	448	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSISYIYWFQ QKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYTL TISSLQPEDFATYYCHQRSYYPLTFGQGKLEIK
J427M2S2-31Vk	449	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSSGIGDLDF QQKPGKAPKRLIYSTFWLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSIYPPTFGQGKLEIK
J427M2S2-33Vk	450	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPLTFGQGKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J427M2S2-34Vk	451	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQLGSPDTFGQGTKLEIK
J427M2S2-35Vk	452	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGIISSIDWF QQKPGKAPKRLIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQWMSYPLTFGQGTKLEIK
J427M2S2-36Vk	453	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSINYIYWF QQKPGKSPKRLIYSTDLQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSIYPITFGQGTKLEIK
J427M2S2-37Vk	454	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDISSYLNWF QQKPGKSPKRLIYRTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQWSSYPWTFGQGTKLEIK
J427M2S2-39Vk	455	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIYWF QQKPGKAPKRLIYDTFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQKKLYPWTFGQGTKLEIK
J427M2S2-4Vk	456	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGTKLEIK
J427M2S2-6Vk	457	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDISSYLNWF QQKPGKSPKRLIYRTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQLGSPDTFGQGTKLEIK
J427M2S2-7Vk	458	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDSVSIYWF QQKPGKAPKRLIYATSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J427M2S2-8Vk	459	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGSVSNIDWF QQKPGKAPKRLIYATFHLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCLQRGSPGTFGQGTKLEIK
J427M2S2-9Vk	460	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGIISYIGWF QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQPGIYPGTFGQGTKLEIK
J427M2S3-17Vk	461	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIISYINWF QQKPGKAPKRLIYSTSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQQGSYPDTFGQGTKLEIK
J427M2S3-1Vk	462	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYLYWF QQKPGKAPKRLIYRTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQWSSYPWTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J427M2S3-20Vk	463	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDISSYLNWF QQKPGKAPKRLIYPTFELQSGVPSRFSSSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCLQFSIYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-25Vk	464	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQDSIRYIYWF QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQGTIYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-33Vk	465	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASSGINGYIYWF QQKPGKAPKRLFYSTFELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSFYPLTFGQGTKLEIK
J427M2S3-34Vk	466	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGIISSIDWF QQKPGKAPKRLIYDTFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCSQMSSYPHTFGQGTKLEIK
J427M2S3-37Vk	467	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J427M2S3-38Vk	468	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSSISYIYWF QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSRYPYTFGQGTKLEIK
J427M2S3-40Vk	469	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSIISNLYWF QQKPGKAPKRWIYQTFELASGVPSRFSGSESGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQGSTYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-46Vk	470	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIYWF QQKPGKSPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSIYPITFGQGTKLEIK
J427M2S3-48Vk	471	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDISSYLNWF QQKPGKSPKRLIYRTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQFSSYPQTFGQGTKLEIK
J427M2S3-49Vk	472	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J427M2S3-50Vk	473	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSSSINYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQRSIYPLTFGQGTKLEIK
J427M2S3-51Vk	474	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASSGIVSYLYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J427M2S3-56Vk	475	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDSISYIYWF QQKPGKAPKRLIYDTFELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSRYPITFGQGTKLEIK
J427M2S3-60Vk	476	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQTSLSAIYWF QQKPGKAPKRLIYMTSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCYQSSRYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-62Vk	477	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYLQWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCLQVSSYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-65Vk	478	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGIISSIDWF QQKPGKAPKRLIYATFALQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCSQMSSYPHTFGQGTKLEIK
J427M2S3-66Vk	479	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGSINYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J427M2S3-67Vk	480	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J427M2S3-68Vk	481	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSFYPLTFGQGTKLEIK
J427M2S3-69Vk	482	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIISYIYWF QQKPGKAPKRLIYDTSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQKSIYPWTFGQGTKLEIK
J427M2S3-6Vk	483	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSEIVSYIYWF QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-71Vk	484	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGSRLRYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPPLTFGQGTKLEIK
J427M2S3-73Vk	485	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGSIRDLYWF QQKPGKAPKRLIYDTFELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCYQKSTYPWTFGQGTKLEIK
J427M2S3-74Vk	486	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSINYLYWF QQKPGKAPKRLIYDTFYLASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQKSTYPWTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J427M2S3-75Vk	487	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQSSIRYLYWF QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQRDIYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-78Vk	488	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIGSYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J427M2S3-80Vk	489	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGSIRDLYWF QQKPGKAPKRWIYQTSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQVSSYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-81Vk	490	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQASISYIYWF QQKPGKAPKRLIYDTFELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J427M2S3-84Vk	491	DIQMTQSPSSLSASVGDTVITITCRASQVSISYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J427M2S3-85Vk	492	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSDISSYLNWF QQKPGKSPKRLIYRTSELQSGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSFYPLTFGQGTKLEIK
J427M2S3-87Vk	493	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSDIFSCIFWF QQKPGKAPKRLIYETFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCLQWSSYPPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-88Vk	494	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGIGSYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQRSSYPYTFGQGTKLEIK
J427M2S3-8Vk	495	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIKGYLNWF QQKPGKAPKRLIYATFELQSGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQWSKYPWTFGQGTKLEIK
J427M2S3-92Vk	496	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQFSSYPQTFGQGTKLEIK
J427M2S3-94Vk	497	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIGSYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCYQDSRYPTFGQGTKLEIK
J427M2S3-9Vk	498	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQDSIRYIYWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCNQRSNYPYTFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J439M1S2 (H) 3-A12Vk	499	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSGSLSYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCQQRSIYPYTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-B37Vk	500	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSGSISYIDWF QQKPGKSPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCHQIGSYPGTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-B5Vk	501	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGIISYVDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQIGIYPRTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-B7Vk	502	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASSGIIGYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-C20Vk	503	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGINRYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-C5Vk	504	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGIGSYIYWF QQKPGKAPKRWIYATSELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCQQRSSYPITFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-D10Vk	505	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGIRSYIDWF QQKPGKSPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGNYPGTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3-D40Vk	506	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSASVRYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R4-A3Vk	507	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGIRSYIDWF QQKPGKSPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGNYPGTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R4-A6Vk	508	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGSNCYLDWF QQKPGKAPKRLIYATSELASGVPSRFSSSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCHQLSSYPNTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R4-B11Vk	509	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSDINSYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCHQLGSYPRTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R4-D11Vk	510	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQGSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J439M1S2 (H) R5-E2Vk	511	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R5-E6Vk	512	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R5-E9Vk	513	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIFSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R5-F5Vk	514	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASSGSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCHQLGSGYPGTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R5-G10Vk	515	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R5-H2Vk	516	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIPSYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQLGSGYPRTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) R5-H4Vk	517	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGHGTKLEIK
J439M1S2-11Vk	518	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2-20Vk	519	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCSASQGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S2-7Vk	520	DIQMTQSPSSLSVSVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK
J439M1S3R4-22Vk	521	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGAKEIK
J439M1S3R4-9Vk	522	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGTKLEIK

純系	SEQ ID NO:	VL
J439M1S3R5-10Vk	523	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSGSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFELASGVPSRFSGSGSGTDFT LTISSLQPEDFATYYCHQLGSPDTFGQGGTKLEIK
J439M1S3R5-15Vk	524	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSGSISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGGTKLEIK
J439M1S3R5-37Vk	525	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPDTFGQGGTKLEIK
J439M1S3R5-5Vk	526	DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTITCRASSGIISYIDWF QQKPGKAPKRLIYATFDLASGVPSRFSGSGSGTDYT LTISSLQPEDFATYYCRQVGSYPETFGQGGTKLEIK

表 10.在親和力成熟抗 IL-17 抗體 h10F7 中觀測到之胺基酸殘基

h10f7重鏈可變區(SEQ ID NO: 811)	
h10f7VH. 1	1234567890123456789012345678901234567890123456789012a3456 78901 EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTDYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPESGG TFYNO SLDEMIID IYS MAENP
	234567890123456789012abc345678901234567890abcd12345678901 23 KFDGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCTRYRYYESFYGMDYWGQGTSTVTV SS V I I DKWDGLE I SMFW YN C W Y SD E F V L L E N S S N M Q F F A H R A F M K H
h10f7輕鏈可變區(SEQ ID NO: 812)	

H10f7 Vk.1a	12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901																
	01																
	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCS <u>SASS-</u>																
	<u>SISYIYW</u> FQQKPGKSPKRWIYAT <u>FELAS</u> GVPSR																
	M																
					R	Q	G	I	R	R	C	L	D	Y	A	L	R
					K	S	V	S	N	S	V	N					S
						D	L	V	G	D	F						D
						Q	N	T	N	S							S
						A	F	P	P	Q							G
					I	G	L	I	G							T	
					V	L	D	F								Q	
					T	P	C	A								P	
					E	K										M	
					M												
2345678901234567890123456789012345678901234567890123456a																	
FSGSGSGTDYTLTISSLOPEDFATYYCH <u>QRSSYPWT</u> FGQGTKLEIK																	
					R	V	G	N	E								
					Q	W	T	I	L								
					L	L	M	R	G								
					N	M	N	F	F								
					Y	K	R	T	Y								
					S	F	K	Y	P								
					V	P	A	L	I								
					A	G	D	M	D								
					S	W			R								
					Q	K			H								
					I	H			Q								
					T	G			N								
					D				C								

以下經轉化成IgG以用於進一步表徵。

表 11. 來自轉化純系之個別抗 IL-17 VH 序列

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
h10f7VH. 1a. glm VH		527	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGY TFTDYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPE SGGTFYNQKFDGRATLTADKSTSTAYM ELSSLRSEDTAVYYCTRYRYYESFYGM DYWGQGTTVTVSS
h10f7VH. 1a. glm VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 527 之殘基31-35	DYEIH
h10f7VH. 1a. glm VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 527 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
h10f7VH. 1a. glm VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 527 之殘基99-110	YYRYESFYGMDY
J439M1S3 R5#10 VH		528	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGY TFDDYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPE SGGTFYNQKFDGRATLTADKSTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYDKWDSFYGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S3 R5#10 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 528 之殘基31-35	DYEIH
J439M1S3 R5#10 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 528 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S3 R5#10 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 528 之殘基99-110	YDKWDSFYGMDY
J439M1S3 R5#11 VH		529	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGY TFTDYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPE SGGTFYNQKFDGRVTLTADESTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYSKWDSFDGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S3 R5#11 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 529 之殘基31-35	DYEIH
J439M1S3 R5#11 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 529 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S3 R5#11 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 529 之殘基99-110	YSKWDSFDGMDY

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S2 (H) 3 #A6 VH		530	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGY TFTDYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPD SGGTLYNQKFDGRVTLTADDESTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYDKWYSFEGM DIWGQGTTVTVSS
439M1S2(H) 3 #A6 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 530 之殘基31-35	DYEIH
439M1S2(H) 3 #A6 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 530 之殘基50-66	VNDPDSGGTLYNQKFDG
439M1S2(H) 3 #A6 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 530 之殘基99-110	YDKWYSFEGMDI
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH		531	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGY TFTDYEIHWVRQAPGQGLEWIGVNDPE SGGTFYNQKFDGRVTLSADESTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYDKYWSFEGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 531 之殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 531 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H) 3 #A11 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 531 之殘基99-110	YDKYWSFEGMDY

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S2 (H)3 #A16 VH		532	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGY TFSDYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPE SGGTFYNQKFDGRVTLTADESTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYDKWYSFEGM DIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H)3 #A16 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 532 之殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H)3 #A16 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 532 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H)3 #A16 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 532 之殘基99-110	DKWYSFEGMDI
J439M1S2 (H)3 #B13 VH		533	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGY TFSDYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPE SGGTFYNQKFDGRVTLTADESTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYDKYWSFEGM DYWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H)3 #B13 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 533 之殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H)3 #B13 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 533 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H)3 #B13 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 533 之殘基99-110	DKYWSFEGMDY

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH		534	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGY TFTDYEIHWVRQAPGQGLEWMGVNDPE SGGTFYNQKFDGRVTLTADESTSTAYM ELSSLRSED TAVYYCTRYDKWYSFEGM DIWGQGTTVTVSS
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH	CDR-H1	SEQ ID NO: 534 之殘基31-35	DYEIH
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH	CDR-H2	SEQ ID NO: 534 之殘基50-66	VNDPESGGTFYNQKFDG
J439M1S2 (H) 3 #B20 VH	CDR-H3	SEQ ID NO: 534 之殘基99-110	DKWYSFEGMDI

表 12. 個別純系抗 IL-17 VL 序列

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S3 R5#10 VL		535	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASS GSISYIDWFQQKPGKAPKRLIYATFEL ASGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCHQLGSPDPTFGQGTKLEIK
J439M1S3 R5#10 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 535 之殘基24-34	SASSGSISYID
J439M1S3 R5#10 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 535 之殘基50-56	ATFELAS
J439M1S3 R5#10 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 535 之殘基89-97	HQLGSPDPT

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J439M1S3 R5#11 VL		536	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASS GIISYIDWFQQKPGKAPKRLIYATFDL ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE DFATYYCRQVGSYPETFGQGKLEIK
J439M1S3 R5#11 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 536 之殘基24-34	RASSGIISYID
J439M1S3 R5#11 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 536 之殘基50-56	ATFDLAS
J439M1S3 R5#11 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 536 之殘基89-97	RQVGSYPET
J427 M2S3 #12 VL		537	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASS GISSIDWFQQKPGKAPKRLIYATFAL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCSQMSSYPHTFGQGKLEIK
J427 M2S3 #12 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 537 之殘基24-34	SASSGISSID
J427 M2S3 #12 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 537 之殘基50-56	ATFALQS
J427 M2S3 #12 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 537 之殘基89-97	SQMSSYPHT
J427 M2S3 #27 VL		538	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASS DISSYLNWFQQKPGKSPKRLIYRTSEL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE DFATYYCQQWSSYPWTFGQGKLEIK
J427 M2S3 #27 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 538 之殘基24-34	SASSDISSYLN
J427 M2S3 #27 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 538 之殘基50-56	RTSELQS

蛋白質區域		SEQ ID NO	序列
			123456789012345678901234567890
J427 M2S3 #27 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 538 之殘基89-97	QQWSSYPWT
J439M1S2 (H) 3#A6 VL		539	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQ GIRSYIDWFQQKPGKSPKRLIYATFDL ASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE DFATYYCRQVGNYPGTFGQGTKLEIK
J439M1S2 (H) 3#A6 VL	CDR-L1	SEQ ID NO: 539 之殘基24-34	SASQGIRSYID
J439M1S2 (H) 3#A6 VL	CDR-L2	SEQ ID NO: 539 之殘基50-56	ATFDLAS
J439M1S2 (H) 3#A6 VL	CDR-L3	SEQ ID NO: 539 之殘基89-97	RQVGNYPGT

表 13.轉化成全長IgG之h10F7親和力成熟scFv純系

ScFv 純系名稱	HC質體	LC質體	全長IgG (蛋白質) 名稱
J427 M2S3 #12	pHybE- h10F7VH. 1a. glm	pHybE-hCk V3 J427 M2S3 #12	h10F7-M12
J427 M2S3 #27	pHybE- h10F7VH. 1a. glm	pHybE-hCk V3 J427 M2S3 #27	h10F7-M27
J439M1S3R5#10	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S3R5#10	pHybE-hCk V3 J439M1S3R5#10	h10F7-M10
J439M1S3R5#11	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S3R5#11	pHybE-hCk V3 J439M1S3R5#11	h10F7-M11
J439M1S2 (H) 3 #A6	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S2 (H) 3 #A6	pHybE-hCk V3 J439M1S2 (H) 3#A6	h10F7-A6

ScFv 純系名稱	HC質體	LC質體	全長IgG (蛋白質) 名稱
J439M1S2 (H) 3 #A11	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S2 (H) 3 #A11	pHybE-hCk V3 J439M1S3R5#11	h10F7-A11
J439M1S2 (H) 3 #A16	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S2 (H) 3 #A16	pHybE-hCk V3 J439M1S2 (H) 3#A6	h10F7-A16
J439M1S2 (H) 3 #B13	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S2 (H) 3 #B13	pHybE-hCk V3 J439M1S3R5#11	h10F7-B13
J439M1S2 (H) 3 #B20	pHybE-hCg1, z, non- a, mut (234, 235) V2 J439M1S2 (H) 3 #B20	pHybE-hCk V3 J439M1S3R5#11	h10F7-B20

TNF/IL-17 DVD-Ig蛋白之功能表徵

IL-17酶聯免疫吸附分析法方案(ELISA)

使用以下方案藉由酶聯免疫吸附分析法(ELISA)來表徵IL-17抗體與人類IL-17之結合。將ELISA盤每孔塗以50 μ l的2 μ g/ml山羊抗小鼠IgG-Fc，在4 $^{\circ}$ C下隔夜。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將用PBS/0.1% BSA稀釋至1 μ g/ml之50 μ l Mab添加至適當孔中且在室溫(RT)下培育1小時。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將50 μ l經連續稀釋的生物素-人類IL-17添加至適當孔中且在室溫下培育1小時。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將用PBS/0.1% BSA以1:10,000稀釋的50 μ l抗生蛋白鏈菌素-HRP添加至適當孔中且在室溫下培育1小時。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將50 μ l TMB添加至適當孔中且使反應進行1分鐘。用每孔50 μ l 2 N H₂SO₄終止反應且讀取450 nm下之吸光度。

表 14.藉由 ELISA測定 IL-17抗體與人類 IL-17之結合親和力

蛋白質名稱	名稱#	EC50
IL17-h10F7M10 hIgG1/K突變體	PR-1262986	0.03 nM
IL17-h10F7M11 hIgG1/K突變體	PR-1263009	0.04 nM
IL17-h10F7M-A6 hIgG1/K突變體	PR-1267640	0.08 nM
IL17-h10F7M-A11 hIgG1/K突變體	PR-1267637	0.04 nM
IL17-h10F7M-A16 hIgG1/K突變體	PR-1267643	0.07 nM
IL17-h10F7M-B13 hIgG1/K突變體	PR-1267636	0.06 nM
IL17-h10F7M-B20 hIgG1/K突變體	PR-1267635	0.07 nM

藉由表面電漿子共振進行抗 TNF/IL-17 DVD-Ig之親和力量測

在 25℃ 下藉由利用 Biacore® T200 儀器 (GE Healthcare) 使用含有 0.1 mg/ml BSA 之操作性 HBS-EP (10 mM HEPES [pH 7.4]、150 mM NaCl、3 mM EDTA 及 0.005% 界面活性劑 P20) 進行基於表面電漿子共振的量測來測定抗體與經純化重組 IL-17 蛋白之結合。所有化學品均獲自 Biacore® AB (GE Healthcare) 或如本文中所述之其他來源。使用標準胺偶合套組根據製造商之說明書及程序將用 10 mM 乙酸鈉 (pH 4.5) 稀釋的約 5000 RU 山羊抗人類 IgG (Fcγ) 片段特異性多株抗體 (Pierce Biotechnology Inc, Rockford, IL) 以 25 μg/ml 直接固定於 CM5 研究級生物感測器晶片上。用乙醇胺阻斷生物感測器表面上未反應之部分。流槽 2、3 及 4 中之經修飾的羧甲基聚葡萄糖表面用作反應表面。流槽 1 中含山羊 IgG 的經修飾羧甲基聚葡萄糖用作參考表面。關於動力學分析，藉由使用 Biacore T200 評估軟體 1.0 版將由 1:1

朗繆爾結合模型獲得之速率方程式與所有六次注射之締合及解離階段同時擬合(使用關於Rmax具有局部浮動之整體擬合分析)。用HEPES緩衝鹽水稀釋經純化之抗體以便捕捉於山羊抗人類IgG特異性反應表面上。將欲以配體形式捕捉之抗體(1-5 $\mu\text{g/ml}$)以50 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率注射於反應基質上。對締合階段監測5分鐘，而對解離階段監測10-60分鐘以適應較緩慢之脫離速率。在50 $\mu\text{l/min}$ 之連續流動速率下測定締合速率常數 k_a (單位為 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)及解離速率常數 k_d (單位為 s^{-1})。視所測試IL-17之種類而定，藉由在範圍為0.78 nM至100 nM之六種不同抗原濃度下進行動力學結合量測來獲得速率常數。藉由使用相同Biacore T200評估軟體1.0版來計算締合速率 k_a 、解離速率 k_d 及平衡解離常數 K_D 。

表 15

抗體	名稱#	人類IL-17AA			食蟹獼猴IL-17AA		
		k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
IL17-h10F7M10 hIgG1/K突變體	PR- 1262986	4.45E+ 06	6.80E- 06	1.53E- 12	4.14E+ 06	4.40E- 06	1.06E- 12
IL17-h10F7M11 hIgG1/K突變體	PR- 1263009	4.53E+ 06	7.24E- 06	1.59E- 12	4.50E+ 06	3.88E- 06	8.60E- 13
IL17-h10F7M-A6 hIgG1/K突變體	PR- 1267640	2.99E+ 06	4.48E- 06	1.50E- 12			
IL17-h10F7M-A11 hIgG1/K突變體	PR- 1267637	3.64E+ 06	7.68E- 06	2.10E- 12			
IL17-h10F7M-A16 hIgG1/K突變體	PR- 1267643	2.99E+ 06	4.52E- 06	1.51E- 12			
IL17-h10F7M-B13 hIgG1/K突變體	PR- 1267636	2.68E+ 06	6.88E- 06	2.56E- 12			
IL17-h10F7M-B20 hIgG1/K突變體	PR- 1267635	2.92E+ 06	6.27E- 06	2.14E- 12			

對於原發性人類包皮纖維母細胞 HS27 中 IL-17A 及 IL-17A/F 誘導之 IL-6 分泌的分析法

人類 HS27 細胞株 (ATCC 寄存編號 CRL-1634) 回應於 IL-17 而分泌 IL-6。IL-17 誘導之 IL-6 分泌受到中和性抗 IL-17 抗體抑制 (參見例如 *J. Immunol.*, 155: 5483-5486 (1995); *Cytokine*, 9: 794-800 (1997))。

將 HS27 細胞保持在分析培養基 (DMEM 高葡萄糖培養基 (Gibco #11965), 含 10% 胎牛血清 (Gibco #26140)、4 mM L-麩醯胺酸、1 mM 丙酮酸鈉、青黴素 G (100 U/500 ml) 及鏈黴素 (100 µg/500 ml)) 中。在分析當天使細胞在 T150 燒瓶中生長直至其約 80-90% 匯合。人類 IL-17A (R&D Systems, #317-IL/CF) 或食蟹獼猴 (cyno) IL-17A (在 Abbott 生成) 以不含 Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 之無菌 PBS 復原, 冷凍儲存, 新鮮解凍以供使用且用分析培養基稀釋至 IL-17A/F 為 240 pM (4X) 或 4 nM (4X)。在另一盤中製備抗體之連續稀釋液 (4X 濃度), 與相等體積之 240 pM (4X) 人類 IL-17 或食蟹獼猴 IL-17A 或 4 nM (4X) 人類 IL-17A/F 混合且在 37°C 下培育 1 小時。將 HS27 細胞 (典型地約 20,000 個細胞, 於 50 µl 分析培養基中) 添加至 96 孔平底組織培養盤 (Costar #3599) 之各孔中, 接著添加 50 µl 的預培育抗體 + IL-17 混合物。人類及食蟹獼猴 IL-17A 之最終濃度為 60 pM。人類 IL-17A/F 之最終濃度為 1 nM。細胞在 37°C 下培育約 24 小時。隨後收集培養基上清液。藉由使用商業 Meso Scale Discovery 套組 (目錄號 L411AKB-1) 根據製造商之說明書測定上清液中的 IL-6 量來

量測IL-17中和程度。使用抗體相對於IL-6量可變斜率擬合之對數獲得IC50值。

對於來自鼠類胚胎纖維母細胞株(NIH3T3)之IL-17及TNF- α 誘導之IL-6分泌的分析法

鼠類NIH3T3細胞株(ATCC寄存編號CRL-1658)回應於鼠類、大鼠或兔IL-17A及鼠類TNF α (R&D Systems, 目錄號410-MT)而分泌IL-6。IL-17誘導之IL-6分泌受到中和性抗IL-17抗體抑制。

將NIH3T3細胞保持在分析培養基(DMEM (Invitrogen目錄號11965-092), 含10%胎牛血清(Gibco#26140-079)、1%非必需胺基酸、2 mM L-麩醯胺酸、1 mM丙酮酸鈉、青黴素G (100 U/500 ml)及鏈黴素(100 μ g/500 ml))中。在分析當天使細胞在T150燒瓶中生長直至其約80-90%匯合。將100 μ g/mL大鼠IL17A (Prospec bio, 目錄號CYT-542)以不含Ca²⁺及Mg²⁺且含有0.1% BSA之無菌PBS復原, 等分且冷凍儲存。將260 μ g/mL兔IL17A (Abbott, A-1239293.0)等分且冷凍儲存。將濃度為10 μ g/mL之鼠類TNF- α 以不含Ca²⁺及Mg²⁺之0.1% BSA/PBS復原, 等分且冷凍儲存。用分析培養基將新鮮解凍之IL-17抗體稀釋至200 μ g/ml (4X)。在另一盤中製備抗體之連續稀釋液(4X濃度), 與相等體積之40 ng/ml (4X)鼠類或大鼠IL-17A或100 ng/mL兔IL-17A混合且在37°C下培育1小時。

將NIH3T3細胞(典型地約400,000個細胞, 於50 μ l分析培養基中)添加至96孔平底組織培養盤(Costar #3599)之各孔

中，接著添加 50 μ l 的預培育抗體 + IL-17 混合物。將於 11 μ l 培養基中之 5.5 ng/mL (10x) 鼠類 TNF- α 添加至各孔。IL-17A 之最終濃度為 10 ng/ml (對於鼠類及大鼠) 及 25 ng/mL (對於兔)。鼠類 TNF α 之最終濃度為 0.55 ng/mL。細胞在 37°C 下培育約 24 小時。隨後收集培養基上清液。藉由使用商業 Meso Scale Discovery 套組 (目錄號 K112AKA-4) 根據製造商之說明書測定上清液中的 IL-6 量來量測 IL-17 中和程度。使用抗體相對於 IL-6 量可變斜率擬合之對數獲得 IC50 值。

表 16

抗體	名稱#	人類 60 pM	食蟹獼猴 60 pM	小鼠 3 nM	大鼠3 nM	兔75 nM
IL17-h10F7M11 hIgG1/K突變體	PR-1263009	40	16	8	83	73
IL17-h10F7M10 hIgG1/K突變體	PR-1262986	30	12	8	99	81
IL17-h10F7M-A6 hIgG1/K突變體	PR-1267640	80	29	130	75	121
IL17-h10F7M-A11 hIgG1/K突變體	PR-1267637	40	18	31	128	123
IL17-h10F7M-A16 hIgG1/K突變體	PR-1267643	70	11	23	102	117
IL17-h10F7M-B13 hIgG1/K突變體	PR-1267636	60	9	60	73	113
IL17-h10F7M-B20 hIgG1/K突變體	PR-1267635	70	27	39	93	124

實例 3：完全新穎的抗 TNF/IL-17 DVD-Ig 分子的生成

1.1：構築 TNF/IL-17 DVD-Ig DNA 構築體

藉由具有插入連接子 DNA 序列之重疊 PCR 擴增使抗 TNF 抗體可變域與多個 IL-17 抗體可變域組合。將經擴增之 PCR

產物次選殖至適於在HEK293細胞中短暫表現之表現載體中且在DVD-Ig表現之前藉由定序確認開放閱讀框架區。

TNF/IL17 DVD-Ig結合蛋白的表現及產生

在藉由定序進行DNA確認之後，將所有DVD-Ig DNA構築體於大腸桿菌中擴增且使用Qiagen Hispeed Maxi Prep (目錄號12662, QIAGEN)進行DNA純化。藉由將比率為2:1之PEI及DNA與0.2 µg/ml重鏈DNA及0.3 µg/ml輕鏈DNA混合來將DVD-Ig DNA轉染至對數期293E細胞(0.5×10^6 /ml, 存活率>95%)中。在TC櫥中在室溫下形成DNA:PEI複合物持續15分鐘，隨後添加至293E細胞中。24小時後，添加0.5% TN1至293E細胞。第5天，收集上清液以用於人類IgG1效價量測。第7天收集細胞上清液且經由0.2 µM PES過濾器過濾。藉由根據製造商之說明書使用蛋白質A瓊脂糖親和層析法(Protein A Sepharose Affinity Chromatography)來純化上清液。藉由0.1 M甘胺酸(pH 2.99)自管柱溶離出經純化DVD-Ig且立即透析至15 mM組胺酸緩衝液(pH 6.0)中。藉由A280定量結合蛋白且利用質譜及SEC進行分析。

TNF/IL-17 DVD-Ig構築體之序列

測定能夠結合人類TNF及hIL-17之DVD-Ig蛋白之重鏈及輕鏈的胺基酸序列。下表(表17)中展示TNF/IL-17 DVD-Ig結合蛋白之可變重鏈、可變輕鏈及恆定區的胺基酸序列。已測試在較低鉸鏈區位置234、235 (EU編號系統)處具有白胺酸/丙胺酸突變之野生型人類IgG1與突變型IgG1且展示其在結合TNF及IL-17方面之活性相當。

表 17. TNF/IL-17 DVD-Ig 結合蛋白之可變區及恆定區之序列

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-M11 DVD	SEQ ID NO: 540	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVLTAD ESTSTAYMELSSLRSED TAV YYCTRYSKWDSFDGMDYWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 541	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 542	GGGGSGGGGS
H10F7-M11Vh	SEQ ID NO: 543	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVLTAD ESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 544	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 hMAK195-21-GS10-M11 DVD	SEQ ID NO: 545	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYKTPFTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASSGIISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISLQPEDF ATYYCRQVGSYPETFGQGTK LEIKR
<u>hMAK195-21</u> VL	SEQ ID NO: 546	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYKTPFTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 547	GGSGGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 548	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 549	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-M11 DVD	SEQ ID NO: 550	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSKASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYFNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYSKWDSFDGMDYWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-24</u> Vh	SEQ ID NO: 551	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 552	GGGSGGGGS
H10F7-M11Vh	SEQ ID NO: 553	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDVAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVTS S
CH CG1 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 554	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTQCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 hMAK195-24-GS10-M11 DVD	SEQ ID NO: 555	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASSGIISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDF ATYYCRQVGSYPETFGQGTK LEIKR
<u>hMAK195-24VL</u>	SEQ ID NO: 556	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 557	GGSGGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 558	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CL	SEQ ID NO: 559	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-M10 DVD	SEQ ID NO: 560	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFDDYE IHWVRQAPGQGLEWIGVNDP ESGGTFYNQKFDGRATLTAD KSTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKWDSFYGMDYWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 561	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 562	GGGGSGGGGS
H10F7-M10Vh	SEQ ID NO: 563	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 564	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 hMAK195-21-GS10-M10 DVD	SEQ ID NO: 565	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYKTPFTFGQ GTKLEIKRGGSGGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC SASSGSISYIDWFQQKPKGA PKRLIYATFELASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCHQLGSPDTFGQGTK LEIKR
<u>hMAK195-21VL</u>	SEQ ID NO: 566	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYKTPFTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 567	GGSGGGGSG
H10F7-M10VL	SEQ ID NO: 568	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASSGSISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFELASGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 569	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-M10 DVD	SEQ ID NO: 570	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFDDYE IHWVRQAPGQGLEWIGVNDP ESGGTFYNQKFDGRATLTAD KSTSTAYMELSSLRSED TAV YYCTRYDKWDSFYGM DYWGQ GTTTVTVSS
<u>hMAK195-24Vh</u>	SEQ ID NO: 571	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 572	GGGGSGGGGS
H10F7-M10Vh	SEQ ID NO: 573	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYIEHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTITVTS S
CH, CG1234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 574	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHNKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 hMAK195-24-GS10-M10 DVD	SEQ ID NO: 575	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVITC SASSGSISYIDWFQQKPKA PKRLIYATFELASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCHQLGSPDFTFGQGTK LEIKR
<u>hMAK195-24VL</u>	SEQ ID NO: 576	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 577	GGSGGGGSG
H10F7-M10VL	SEQ ID NO: 578	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCSASSGSISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFELASGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCHQLGSPDFTFGQ GTKLEIKR

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CL	SEQ ID NO: 579	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFPYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-A6 DVD	SEQ ID NO: 580	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWIGVNDP DSGGTLYNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKWYSFEGMDIWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21</u> Vh	SEQ ID NO: 581	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 582	GGGGSGGGGS
H10F7-A6 Vh	SEQ ID NO: 583	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPDSGGTLY NQKFDGRVTLTADSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRYD KWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
CH CG1 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 584	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHPKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 hMAK195-21-GS10-A6 DVD	SEQ ID NO: 585	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQK GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYKTPFTGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC SASQGIRSYIDWFQQKPGKS PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISLQPEDF ATYYCRQVGNYPGTFGQGTK LEIKR
<u>hMAK195-21VL</u>	SEQ ID NO: 586	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQK GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYKTPFTGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 587	GGSGGGGSG
H10F7-A6 VL	SEQ ID NO: 588	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQGIRSYIDWFQQK GKSPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQP EDFATYYCRQVGNYPGTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 589	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFPYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-A6 DVD	SEQ ID NO: 590	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWIGVNDP DSGGTLYNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKWYSFEGMDIWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-24Vh</u>	SEQ ID NO: 591	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 592	GGGGSGGGGS
H10F7-A6Vh	SEQ ID NO: 593	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPDSGGTLY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
CH CG1 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 594	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 hMAK195-24-GS10-A6 DVD	SEQ ID NO: 595	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKRGGSGGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC SASQGIRSYIDWFQQKPGKS PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISLQPEDF ATYYCRQVGNYPGTFGQGTK LEIKR
<u>hMAK195-24VL</u>	SEQ ID NO: 596	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 597	GGSGGGGSG
H10F7-A6 VL	SEQ ID NO: 598	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASQGIRSYIDWFQQKP GKSPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISLQP EDFATYYCRQVGNYPGTFGQ GTKLEIKR

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CL	SEQ ID NO: 599	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-A16 DVD	SEQ ID NO: 600	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSKASGYTFSDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKWYSFEGMDIWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 601	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 602	GGGGSGGGGS
H10F7-A16Vh	SEQ ID NO: 603	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFSDYFIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRYD KWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 604	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-A16 DVD	SEQ ID NO: 605	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKV SCKASGYTFS DYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSED TAV YYCTRYDKWYSFEGMDIWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-24Vh</u>	SEQ ID NO: 606	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 607	GGGGSGGGGS
H10F7-A16Vh	SEQ ID NO: 608	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFS DYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTAD ESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRYD KWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 609	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTV PSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKV DKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVT CVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-A11 DVD	SEQ ID NO: 610	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSKASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWIGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVTLSD ESTSTAYMELSSLRSED TAV YYCTRYDKYWSFEGMDYWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 611	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 612	GGGGSGGGGS
H10F7-A11Vh	SEQ ID NO: 613	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLSESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRYD KYWSFEGMDYWGQGT TTVTS S
CH CG1234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 614	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTQVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-A11 DVD	SEQ ID NO: 615	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWIGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVTLSD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKYWSFEGMDYWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 616	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 617	GGGGSGGGGS
H10F7-A11Vh	SEQ ID NO: 618	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NPKFDGRVTLSDAESTSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRYD KYWSFEGMDYWGQGTITVTS S
CH CG1 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 619	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-B13 DVD	SEQ ID NO: 620	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKV SCKASGYTFS DYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFY NQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSED TAV YYCTRYDKYWSFEGMDYWGQ GTTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 621	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 622	GGGGSGGGGS
H10F7-B13Vh	SEQ ID NO: 623	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFS DYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTAD ESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRYD KYWSFEGMDYWGQGTTTVTS S
CH CG1,234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 624	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-B13 DVD	SEQ ID NO: 625	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFSDE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKYWSFEGMDYWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-24Vh</u>	SEQ ID NO: 626	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 627	GGGGSGGGGS
H10F7-B13 Vh	SEQ ID NO: 628	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFSDEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NKKFDGRVTLTADSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRYD KYWSFEGMDYWGQGTITVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 629	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVLTVQLHQLDNLGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-21-GS10-B20 DVD	SEQ ID NO: 630	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCKASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYVQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDYAV YYCTRYDKWYSFEGMDIWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-21Vh</u>	SEQ ID NO: 631	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 632	GGGGSGGGGS
H10F7-B20Vh	SEQ ID NO: 633	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRYD KWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
CH CG1234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 634	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHPKSTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVQLHQLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 hMAK195-24-GS10-B20 DVD	SEQ ID NO: 635	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSED TAV YYCTRYDKWYSFEGMDIWGQ GTTVTVSS
<u>hMAK195-24Vh</u>	SEQ ID NO: 636	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 637	GGGGSGGGGS
H10F7-B20Vh	SEQ ID NO: 638	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTAD ESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRYD KWYSFEGMDIWGQGTTVTVS S
CH CG1 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 639	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 H10F7-M10-GS10-HMAK195-21 DVD	SEQ ID NO: 640	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGGTTVTVS SGGGSGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTF SNYGVTVWRQAPKGLEWVS MIWADGSTHYASSVKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAREWQHGPVAYWGQ GTLTVSS
<u>H10F7-M10Vh</u>	SEQ ID NO: 641	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGGTTVTVS S
連接子	SEQ ID NO: 642	GGGGSGGGGS
HMAK195-21 Vh	SEQ ID NO: 643	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTVWRQA PGKLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGTLTVSS
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 644	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHNKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 h10F7-M10-GS10-hMAK195-21 DVD	SEQ ID NO: 645	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASSGSISYIDWFQKPK GKAPKRLIYATFELASGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQLVSSAVAWYQQKPKGA PKLLIYWASARHTGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQHYKTPFTFGQGTK LEIKR
H10F7-M10VL	SEQ ID NO: 646	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASSGSISYIDWFQKPK GKAPKRLIYATFELASGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 647	GGSGGGSGG
HMAK195-21VL	SEQ ID NO: 648	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQLVSSAVAWYQQKPK GKAPKLLIYWASARHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQHYKTPFTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 649	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 H10F7-M10-GS10-HMAK195-24 DVD	SEQ ID NO: 650	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTITVTS SGGGSGGGGSEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTF SNYGVQVWRQAPGKGLEWVS GIWADGSTHYADTVKSRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAREWQHGPVAYWGQ GTLTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
<u>H10F7-M10Vh</u>	SEQ ID NO: 651	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYIEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTTVTVS S
連接子	SEQ ID NO: 652	GGGSGGGGS
HMAK195-24 Vh	SEQ ID NO: 653	EVQLVESGGGLVQP GGSRLR SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
CH CG1. 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 654	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVN HKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 h10F7-M10-GS10-hMAK195-24 DVD	SEQ ID NO: 655	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASSGSISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFELASGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKRGGSGGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC KASQLVSSAVAWYQQKPGKA PKLLIYWASTLHTGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCQQHYRTPFTFGQGTK LEIKR
<u>H10F7-M10VL</u>	SEQ ID NO: 656	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASSGSISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFELASGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 657	GGSGGGGSG

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK195-24VL	SEQ ID NO: 658	DIQMTQSPSSLSASVGRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQKP GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQGHYRTPFTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 659	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-1-GS10-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 660	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADESTSTAYMELSSL RSEDAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTITVTVSS
HMAK199-1Vh	SEQ ID NO: 661	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 662	GGGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 663	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NPKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVTV S

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CH CG1234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 664	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 HMAK199-1-GS10-H10F7-M11DVD	SEQ ID NO: 665	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDISQYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQGNTWPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASSGIISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISLQPEDF ATYYCRQVGSYPETFGQGTK LEIKR
HMAK199-1 VL	SEQ ID NO: 666	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDISQYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQGNTWPPTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 667	GGSGGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 668	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISLQ EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 669	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 HMAK199-1-GS10-H10F7-M10 DVD	SEQ ID NO: 670	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSKASG YTFDDYIEHWVRQAPGQGLE WIGVNDPESGGTFYNQKFDG RATLTADKSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYDKWDSFY GMDYWGQGTTVTVSS
HMAK199- <u>1</u> Vh	SEQ ID NO: 671	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 672	GGGGSGGGGS
H10F7-M10 Vh	SEQ ID NO: 673	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYIEHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 674	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSSFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 HMAK199-1-GS10-H10F7-M10DVD	SEQ ID NO: 675	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDISQYLNWYQQK GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYFCQQGNTWPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVITC SASSGSISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFELASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCHQLGSPDTFGQGTK LEIKR
HMAK199-1 VL	SEQ ID NO: 676	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDISQYLNWYQQK GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYFCQQGNTWPPTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 677	GGSGGGGSG
H10F7-M10VL	SEQ ID NO: 678	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCSASSGSISYIDWFQQK GKAPKRLIYATFELASGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 679	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPRKAVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-10-GS10-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 680	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGYGIWVRQA PGQGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYFCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTIV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADDESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTITVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-10Vh	SEQ ID NO: 681	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGIWVRQA PGQGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYFCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 682	GGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 683	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 684	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 HMAK199-10-GS10-H10F7- M11DVD	SEQ ID NO: 685	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDISNFLNWFYQQK GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASSGIISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDF ATYYCRQVGSYPETFGQGTK LEIKR
HMAK199-10 VL	SEQ ID NO: 686	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDISNFLNWFYQQK GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKR

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 687	GGSGGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 688	DIQMTQSPSSLSASVGDRT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 689	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFPYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-10-GS10-H10F7-M10 DVD	SEQ ID NO: 690	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGIHWVRQA PGQGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDAVYFCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGT TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSKASG YTFDDYEIHWVRQAPGQGLE WIGVNDPESGGTFYNQKFDG RATLTADKSTSTAYMELSSL RSEDAVYYCTRYDKWDSFY GMDYWGQGTITVTVSS
HMAK199-10Vh	SEQ ID NO: 691	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGIHWVRQA PGQGLEWMGWINTYSGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDAVYFCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGT TVSS
連接子	SEQ ID NO: 692	GGGGSGGGGS
H10F7-M10 Vh	SEQ ID NO: 693	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NPKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTITVTV S

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 694	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 HMAK199-10-GS10-H10F7- M10DVD	SEQ ID NO: 695	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDISNFLNWFQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC SASSGSISYIDWFQQKPKA PKRLIYATFELASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCHQLGSPDFTFGQGTK LEIKR
HMAK199-10 VL	SEQ ID NO: 696	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDISNFLNWFQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 697	GGSGGGGSG
H10F7-M10VL	SEQ ID NO: 698	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCSASSGSISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFELASGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCHQLGSPDFTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 699	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFPYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 HMAK199-6-GS10-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 700	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGINWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDNAVYFCARKF RNTVAVTDYAMDYWGQTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADDESTSTAYMELSSL RSEDNAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQTTVTVSS
HMAK199-6Vh	SEQ ID NO: 701	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGINWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDNAVYFCARKF RNTVAVTDYAMDYWGQTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 702	GGGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 703	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADDESTSTAY MELSSLRSEDNAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQTTVTVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 704	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHNKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LSDSGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 HMAK199-6-GS10-H10F7-M11DVD	SEQ ID NO: 705	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIYDVLNHWYQQKP GKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQGITLPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASSGIISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISSLQPEDF ATYYCRQVGSYPETFGQGTK LEIKR
HMAK199-6 VL	SEQ ID NO: 706	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIYDVLNHWYQQKP GKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCQQGITLPPTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 707	GGSGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 708	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 709	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-6-GS10-H10F7-M10 DVD	SEQ ID NO: 710	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGINWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDNAVYFCARKF RNTVAVTDYAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFDDYEIHWVRQAPGQGLE WIGVNDPESGGTFYNNQKFDG RATLTADKSTSTAYMELSSL RSEDNAVYYCTRYDKWDSFY GMDYWGQGTITVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-6Vh	SEQ ID NO: 711	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGINWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYFCARKF RNTVAVTDYAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 712	GGGSGGGGS
H10F7-M10 Vh	SEQ ID NO: 713	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYFIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NPKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 714	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 HMAK199-6-GS10-H10F7-M10 DVD	SEQ ID NO: 715	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDIYDVLNWFYQQK GKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQGITLPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVITC SASSGSISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFELASGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDF ATYYCHQLGSPDTFGQGTK LEIKR
HMAK199-6 VL	SEQ ID NO: 716	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDIYDVLNWFYQQK GKAPKLLIYYASRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYYCQQGITLPPTFGQ GTKLEIKR

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 717	GGSGGGGSG
H10F7-M10VL	SEQ ID NO: 718	DIQMTQSPSSLSASVGRVT ITCSASSGSISYIDWFQKQP GKAPKRLIYATFELASGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYYCHQLGSPDTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 719	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-4-GS10-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 720	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGIHWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGT TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADDESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTITVTVSS
HMAK199-4Vh	SEQ ID NO: 721	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGIHWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGT TVSS
連接子	SEQ ID NO: 722	GGGGSGGGGS
H10F7-M11Vh	SEQ ID NO: 723	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADDESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVTV S

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CH CG1, 234,235 MUT Z NONA	SEQ ID NO: 724	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSDGSGFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 HMAK199-4-GS10-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 725	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIENYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKRGGSGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASSGIISYIDWFQQKPGKA PKRLIYATFDLASGVPSRFS GSGSGTDYTLTISLQPEDF ATYYCRQVGSYPETFGQGTK LEIKR
HMAK199-4 VL	SEQ ID NO: 726	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIENYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 727	GGSGGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 728	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQ EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 729	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPRQAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 HMAK195-24-SS-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 730	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSAST KGPEVQLVQSGAEVKKPGSS VKVSCKASGYTFTDYEIHVV RQAPGQGLEWMGVNDPESGG TFYNQKFDGRVTLTADESTS TAYMELSSLRSED TAVYYCT RYSKWDSFDGMDYWGQGT TVSS
HMAK195-24 Vh	SEQ ID NO: 731	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDN SKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 732	ASTKGP
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 733	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHVVVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSED TAVYYCT RYS KWDSFDGMDYWGQGT TVVS S
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 734	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 HMAK195-24-SS-H10F7-M11DVD	SEQ ID NO: 735	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQK GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKRTVAAPDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASS GIISYIDWFQQKPGKAPKRL IYATFDLASGVPSRFGSGS GTDYTLTISLQPEDFATYY CRQVGSYPETFGQGTKLEIK R
HMAK195-24 VL	SEQ ID NO: 736	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCKASQLVSSAVAWYQQK GKAPKLLIYWASTLHTGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQP EDFATYYCQQHYRTPFTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 737	TVAAP
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 738	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQK GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 739	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVCLLNFPYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-4-SS-H10F7-M11 DVD	SEQ ID NO: 740	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGYIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQTTV TVSSASTKGPEVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFT DYEIHWVRQAPGQGLEWMGV NDPESGGTFYNQKFDGRVTL TADSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCTRYSKWDSFDGMDY WGQGTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-4 Vh	SEQ ID NO: 741	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGYIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDATVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 742	ASTKGP
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 743	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDATVYYCTSYS KWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 744	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCTPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTQVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 HMAK199-4-SS-H10F7-M11DVD	SEQ ID NO: 745	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDIENYLNWYQQK GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQGNTQPPTFG GQ GTKLEIKRTVAAPDIQMTQ SPSSLSASVGDRVITCRASS GIISYIDWFQQKPGKAPKRL IYATFDLASGVPSRFSGSGS GTDYTLTISLQPEDFATYY CRQVGSYPETFGQGTKLEIK R
HMAK199-4 VL	SEQ ID NO: 746	DIQMTQSPSSLSASVGDRV ITCRASQDIENYLNWYQQK GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISLQ EDFATYFCQQGNTQPPTFG GQ GTKLEIKR

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 747	GGSGGGGSG
H10F7-M11VL	SEQ ID NO: 748	DIQMTQSPSSLSASVGRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 749	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFPYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 H10F7-M11- HMAK199-4.4 DVD	SEQ ID NO: 750	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVVS SASTKGPEVLVQSGAEVKK PGASVKVSCKASGYTFNNGY IIWVRQAPGQGLEWMGWINT YTGKPTYAQKFQGRVTMTTD TSTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCARKLFNTVAVTDNAMDY WGQGTITVTVSS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 751	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVVS S
連接子	SEQ ID NO: 752	ASTKGP
HMAK199-4 Vh	SEQ ID NO: 753	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGYIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGTITV TVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 754	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMIS RTP EVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD輕鏈可變區 H10F7-M11- HMAK199-4.4 DVD	SEQ ID NO: 755	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKRTVAAPDIQMTQS PSSLSASVGDRVTITCRASQ DIENYLNWYQQKPGKAPKLL IYYTSRLQSGVPSRFGSGGS GTDFTLTISLQPEDFATYF CQQGNTQPPTFGQGTKLEIK R
H10F7-M11 VL	SEQ ID NO: 756	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIENYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 757	TVAAP
HMAK199-4 VL	SEQ ID NO: 758	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIENYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 759	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNFFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD重鏈可變區 H10F7-M11- HMAK199-4.8 DVD	SEQ ID NO: 760	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVTS SGGGSGGGGSEVQLVQSGA EVKKPGASVKVSKASGYTF NNYGIWVRQAPGQGLEWMG WINTYTGKPTYAQKFQGRVT MTTDTSTSTAYMELSSLRSE DTAVYYCARKLFNTVAVTDN AMDYWGQGTITVTVSS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 761	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVTS S
連接子	SEQ ID NO: 762	GGGGSGGGGS
HMAK199-4 Vh	SEQ ID NO: 763	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNYGIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGTITV TVSS
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 764	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVTS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFGLYSLKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
DVD輕鏈可變區 H10F7-M11- HMAK199-4.8 DVD	SEQ ID NO: 765	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKRGGSGGGGSGDIQ MTQSPSSLSASVGDRVTITC RASQDIENYLNWYQQKPKGA PKLLIYYTSRLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDF ATYFCQQGNTQPPTFGQGTK LEIKR
H10F7-M11 VL	SEQ ID NO: 766	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASSGIISYIDWFQQKP GKAPKRLIYATFDLASGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQP EDFATYYCRQVGSYPETFGQ GTKLEIKR
連接子	SEQ ID NO: 767	GGSGGGGSG
H HMAK199-4VL	SEQ ID NO: 768	DIQMTQSPSSLSASVGDRVT ITCRASQDIENYLNWYQQKP GKAPKLLIYYTSRLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQP EDFATYFCQQGNTQPPTFGQ GTKLEIKR
CL	SEQ ID NO: 769	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLLNNFYPREAKVQW KVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKS FNRGEC
DVD重鏈可變區 HMAK199-1-h10F7-M11.8 QL DVD	SEQ ID NO: 770	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNNQKFDG RVTLTADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 771	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 772	GGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 773	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTV S
CH CG1 (234,235)MUT, QL, Z NONA	SEQ ID NO: 774	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDQLMISRT EVTQVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFCFSLVHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD重鏈可變區 HMAK199-1-h10F7-M11.8 YTE DVD	SEQ ID NO: 775	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTDYEIHWRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 776	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 777	GGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 778	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1 (234,235)MUT, YTE,Z NONA	SEQ ID NO: 779	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLYITREP EVTCTVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVSVSLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD 重鏈可變區 HMAK199-1-h10F7-M10.8 QL DVD	SEQ ID NO: 780	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFDDYEIHWVRQAPGQGLE WIGVNDPESGGTFYNQKFDG RATLTADKSTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYDKWDSFY GMDYWGQGTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 781	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 782	GGGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 783	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFDDYEIHWVRQA PGQGLEWIGVNDPESGGTFY NQKFDGRATLTADKSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRYD KWDSFYGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1 (234,235)MUT, QL, Z NONA	SEQ ID NO: 784	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHNKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDQLMIS RTP EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDS DGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNV FSCSVLHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD重鏈可變區 HMAK199-1-h10F7-M11.8 HC DVD wt	SEQ ID NO: 785	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKV SCKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADESTSTAYMELSSL RSEDTAVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 786	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFANYGIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDТАVYYCARKL FTTMDVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 787	GGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 788	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDТАVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 789	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPCAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD重鏈可變區 HMAK199-4-h10F7-M11.8 HC DVD wt	SEQ ID NO: 790	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGYIIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDТАVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGTTV TVSSGGGGSGGGGSEVQLVQ SGAEVKKPGSSVKVSCKASG YTFTDYEIHWVRQAPGQGLE WMGVNDPESGGTFYNQKFDG RVTLTADESTSTAYMELSSL RSEDТАVYYCTRYSKWDSFD GMDYWGQGTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 791	EVQLVQSGAEVKKPGASVKV SCKASGYTFNNGYGIWVRQA PGQGLEWMGWINTYTGKPTY AQKFQGRVTMTTDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCARKL FNTVAVTDNAMDYWGQGTTV TVSS
連接子	SEQ ID NO: 792	GGGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 793	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NQKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTVS S
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 794	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCTPPCAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTPPV LDSGDSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD重鏈可變區 HMAK195-21-h10F7-M11.8 HC DVD wt	SEQ ID NO: 795	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGTTLTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNQKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDTAV YYCTRYSKWDSFDGMDYWGQ GTTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 796	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVTWVRQA PGKGLEWVSMIWADGSTHYA SSVKGRFTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS
連接子	SEQ ID NO: 797	GGGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 798	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWVRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NPKFDGRVTLTADSTSTAY MELSSLRSEDVAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTITVTS S
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 799	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTPSSSLGTQT YICNVNHNKPSNTKVDKKVEP KSCDKHTCPCPAPPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
DVD重鏈可變區 HMAK195-24-h10F7-M11.8 HC DVD wt	SEQ ID NO: 800	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSSGGG GSGGGGSEVQLVQSGAEVKK PGSSVKVSCASGYTFTDYE IHWVRQAPGQGLEWMGVNDP ESGGTFYNPKFDGRVTLTAD ESTSTAYMELSSLRSEDVAV YYCTRYSKWDSFDGMDYWGQ GTTTVTVSS
HMAK199-1 Vh	SEQ ID NO: 801	EVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFTFSNYGVEWVRQA PGKGLEWVSGIWADGSTHYA DTVKSRTISRDNKNTLYL QMNSLRAEDTAVYYCAREWQ HGPVAYWGQGLTVTVSS

蛋白質區域	序列標識符	12345678901234567890
連接子	SEQ ID NO: 802	GGGSGGGGS
H10F7-M11 Vh	SEQ ID NO: 803	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKV SCKASGYTFTDYEIHWRQA PGQGLEWMGVNDPESGGTFY NPKFDGRVTLTADESTSTAY MELSSLRSEDYAVYYCTRY KWDSFDGMDYWGQGTTVTS S
CH CG1 Z NONA	SEQ ID NO: 804	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHNKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRT EVTCTVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPV LDSGGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK

DVD-Ig重鏈及輕鏈組合

表18列出用於表現不同TNF/IL-17 DVD-Ig結合蛋白之重鏈及輕鏈序列。

表18. DVD-Ig重鏈及輕鏈組合

DVD-Ig名稱	重鏈構築體	輕鏈構築體
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-M11 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-M11 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-M10.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-M10 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-M10 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-M10.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-M10 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-M10 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-A6.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-A6 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-A6 LC DVD

DVD-Ig名稱	重鏈構築體	輕鏈構築體
hMAK195-24-h10F7-A6.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-A6 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-A6 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-A16.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-A16 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-A6 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-A16.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-A16 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-A6 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-A11.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-A11 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-A11.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-A11 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-B13.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-B13 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-B13.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-B13 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-B20.8 DVD-Ig	hMAK195-21-GS10- h10F7-B20 HC DVD	hMAK195-21-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-B20.8 DVD-Ig	hMAK195-24-GS10- h10F7-B20 HC DVD	hMAK195-24-GS10- h10F7-M11 LC DVD
h10F7-M10-hMAK195-21.8 DVD-Ig	h10F7-M10-GS10- MAK195-21HC DVD	h10F7-M10-GS10- MAK195-21 LC DVD
h10F7-M10-hMAK195-24.8 DVD-Ig	h10F7-M10-GS10- MAK195-24HC DVD	h10F7-M10-GS10- MAK195-24 LC DVD
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	hMAK199-1-GS10-h10F7- M11 HC DVD	hMAK199-1-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK199-1-h10F7-M10.8 DVD-Ig	hMAK199-1-GS10-h10F7- M10 HC DVD	hMAK199-1-GS10- h10F7-M10 LC DVD
hMAK199-10-h10F7-M11.8 DVD-Ig	hMAK199-10-GS10- h10F7-M11 HC DVD	hMAK199-10-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK199-10-h10F7-M10.8 DVD-Ig	hMAK199-10-GS10- h10F7-M10 HC DVD	hMAK199-10-GS10- h10F7-M10 LC DVD
hMAK199-6-h10F7-M11.8 DVD-Ig	hMAK199-8-GS10-h10F7- M11 HC DVD	hMAK199-6-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK199-6-h10F7-M10.8 DVD-Ig	hMAK199-6-GS10-h10F7- M10 HC DVD	hMAK199-6-GS10- h10F7-M10 LC DVD
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	hMAK199-4-GS10-h10F7- M11 HC DVD	hMAK199-4-GS10- h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	hMAK195-24-SS-h10F7- M11 HC DVD wt	hMAK195-24-SS- h10F7-M11 LC DVD
hMAK199-4-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	hMAK199-4-SS-h10F7- M11 HC DVD wt	hMAK199-4-SS-h10F7- M11 LC DVD

DVD-Ig名稱	重鏈構築體	輕鏈構築體
h10F7-M11-hMAK199-4.4 DVD-Ig wt	h10F7-M11-SS-MAK199-4HC DVD wt	h10F7-M11-SS-MAK199-4HC DVD
h10F7-M11-hMAK199-4.8 DVD-Ig wt	h10F7-M11-GS10-MAK199-4HC DVD wt	h10F7-M11-GS10-MAK199-4HC DVD
hMAK199-1-h10F7-M11.8 QL DVD-Ig	hMAK199-1-GS10-h10F7-M11 QL HC DVD	hMAK199-1-GS10-h10F7-M11 LC DVD
hMAK199-1-h10F7-M11.8 YTE DVD-Ig	hMAK199-1-GS10-h10F7-M11 YTE HC DVD	hMAK199-1-GS10-h10F7-M11 LC DVD
hMAK199-1-h10F7-M10.8 QL DVD-Ig	hMAK199-1-GS10-h10F7-M10 QL HC DVD	hMAK199-1-GS10-h10F7-M10 LC DVD
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	hMAK199-1-GS10-h10F7-M10 HC DVD wt	hMAK199-1-GS10-h10F7-M10 LC DVD
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	hMAK199-4-GS10-h10F7-M10 HC DVD wt	hMAK199-4-GS10-h10F7-M10 LC DVD
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	hMAK195-21-GS10-h10F7-M11 HC DVD wt	hMAK195-21-GS10-h10F7-M11 LC DVD
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	hMAK195-24-GS10-h10F7-M11 HC DVD wt	hMAK195-24-GS10-h10F7-M11 LC DVD

TNF/IL-17 DVD-Ig蛋白之功能表徵

IL-17酶聯免疫吸附分析法方案

使用以下方案藉由酶聯免疫吸附分析法(ELISA)來表徵TNF/IL-17 DVD-Ig蛋白與人類TNF及IL-17之結合。將ELISA盤每孔塗以50 μ l的2 μ g/ml山羊抗小鼠IgG-Fc，在4 $^{\circ}$ C下隔夜。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將用PBS/0.1% BSA稀釋至1 μ g/ml之50 μ l Mab添加至適當孔中且在室溫(RT)下培育1小時。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將50 μ l經連續稀釋的生物素-人類TNF或IL-17添加至適當孔中且在室溫下培育1小時。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將用PBS/0.1% BSA以1:10,000稀釋的50 μ l抗生蛋白鏈菌素-HRP添加至適當孔中且在室溫下培育1小時。用PBS/Tween將盤洗滌3次。將50 μ l TMB添加至適當孔中且使反應進行

1分鐘。用每孔50 μ l 2 N H_2SO_4 終止反應且讀取450 nm下之吸光度。結果展示於表19中。

表 19.藉由 ELISA 研究 TNF/IL-17 DVD-Ig 蛋白與人類 TNF 及 IL-17之結合

DVD-Ig名稱	於hIL17A ELISA 中之EC50 (pM)	於h TNF ELISA 中 之EC50 (pM)
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	95	110
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	84	200
hMAK195-21-h10F7-M10.8 DVD-Ig	100	90
hMAK195-24-h10F7-M10.8 DVD-Ig	100	200
hMAK195-21-h10F7-A6.8 DVD-Ig	130	13
hMAK195-24-h10F7-A6.8 DVD-Ig	188	12
hMAK195-21-h10F7-A16.8 DVD-Ig	230	34
hMAK195-24-h10F7-A16.8 DVD-Ig	93	66
hMAK195-21-h10F7-A11.8 DVD-Ig	300	300
hMAK195-24-h10F7-A11.8 DVD-Ig	295	295
hMAK195-21-h10F7-B13.8 DVD-Ig	200	373
hMAK195-21-h10F7-B20.8 DVD-Ig	242	300
hMAK199-1-h10F7-M10.8 DVD-Ig	81	220
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	78	220
hMAK199-10-h10F7-M10.8 DVD-Ig	79	220
hMAK199-10-h10F7-M11.8 DVD-Ig	133	205
hMAK199-6-h10F7-M10.8 DVD-Ig	163	168
hMAK199-6-h10F7-M11.8 DVD-Ig	104	139
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	130	30
hMAK195-24-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	>500	200
hMAK199-4-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	>500	200
h10F7-M11-hMAK199-4.4 DVD-Ig wt	40	>100
h10F7-M11-hMAK199-4.8 DVD-Ig wt	50	>100
hMAK199-1-h10F7-M11.8 QL DVD-Ig	142	119
hMAK199-1-h10F7-M11.8 YTE DVD-Ig	50	100
hMAK199-1-h10F7-M10.8 QL DVD-Ig	63	183

DVD-Ig名稱	於hIL17A ELISA 中之EC50 (pM)	於h TNF ELISA 中 之EC50 (pM)
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	88	95
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	100	61
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	110	95
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	120	141

藉由表面電漿子共振進行抗TNF/IL-17 DVD-Ig之親和力量測

在25℃下藉由利用Biacore® T200儀器(GE Healthcare)使用含有0.1 mg/ml BSA之操作性HBS-EP (10 mM HEPES [pH 7.4]、150 mM NaCl、3 mM EDTA及0.005%界面活性劑P20)進行基於表面電漿子共振的量測來測定抗體與經純化重組IL-17及TNF α 蛋白之結合。所有化學品均獲自Biacore® AB (GE Healthcare)或如本文中所述之其他不同來源。使用標準胺偶合套組根據製造商之說明書及程序將用10 mM乙酸鈉(pH 4.5)稀釋的約5000 RU山羊抗人類IgG (Fc γ)片段特異性多株抗體(Pierce Biotechnology Inc, Rockford, IL)以25 μ g/ml直接固定於CM5研究級生物感測器晶片上。用乙醇胺阻斷生物感測器表面上未反應之部分。流槽2、3及4中之經修飾的羧甲基聚葡萄糖表面用作反應表面。流槽1中含山羊IgG的經修飾羧甲基聚葡萄糖用作參考表面。關於動力學分析，藉由使用Biacore T200評估軟體1.0版將由1:1朗繆爾結合模型獲得之速率方程式與所有六次注射之締合及解離階段同時擬合(使用關於Rmax具有局部浮動之整體擬合分析)。用HEPES緩衝鹽水稀釋經純化之抗體以便捕捉於山羊抗人類IgG特異性反應表面

上。將欲以配體形式捕捉之抗體(1-5 $\mu\text{g/ml}$)以 50 $\mu\text{l/min}$ 之流動速率注射於反應基質上。對締合階段監測5分鐘，而對解離階段監測10-60分鐘以適應較緩慢之脫離速率。在 50 $\mu\text{l/min}$ 之連續流動速率下測定締合速率常數 k_a (單位為 $\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)及解離速率常數 k_d (單位為 s^{-1})。視所測試IL-17或TNF α 之種類而定，藉由在範圍為0.78 nM至100 nM之六種不同抗原濃度下進行動力學結合量測來獲得速率常數。藉由使用相同Biacore T200評估軟體1.0版來計算締合速率 k_a 、解離速率 k_d 及平衡解離常數 K_D 。

表 20. 藉由 Biacore測定的 TNF/IL-17 DVD-Ig 蛋白與 IL-17 之親和力

DVD-Ig名稱	人類IL17AA			食蟹獼猴IL17AA		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	2.42E+05	1.05E-05	4.34E-11	2.48E+05	6.28E-06	2.53E-11
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	2.51E+05	1.07E-05	4.27E-11	2.59E+05	6.25E-06	2.41E-11
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	3.29E+05	1.11E-05	3.37E-11	2.99E+05	2.15E-06	7.22E-12
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	3.23E+05	8.76E-06	2.71E-11	2.99E+05	2.57E-06	8.61E-12
hMAK199-1-h10F7-M11.8 QL DVD-Ig	2.21E+05	<1.00E-06	<4.52E-12			
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	3.07E+05	7.90E-06	2.57E-11	2.67E+05	1.18E-06	4.44E-12
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	3.11E+05	3.11E+05	2.59E-11	2.78E+05	3.15E-06	1.13E-11
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	2.39E+05	9.26E-06	3.86E-11	2.03E+05	2.21E-06	1.09E-11
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	2.33E+05	8.48E-06	3.63E-11	2.14E+05	4.29E-06	2.01E-11

表 21.藉由 Biacore測定的 TNF/IL-17 DVD-Ig 蛋白與 TNF 之親和力

DVD-Ig名稱	人類TNFa			恆河猴TNFa		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	6.29E+06	5.70E-05	9.06E-12	5.21E+06	1.32E-04	2.54E-11
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	5.62E+06	4.69E-05	8.36E-12	4.78E+06	3.43E-04	7.16E-11
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	4.31E+06	2.37E-05	5.50E-12	2.21E+06	2.39E-05	1.08E-11
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	5.61E+06	1.73E-05	3.08E-12	2.91E+06	2.25E-05	7.72E-12
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	4.28E+06	2.40E-05	5.61E-12	2.20E+06	3.03E-05	1.37E-11
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	5.80E+06	1.77E-05	3.06E-12	3.05E+06	2.48E-05	8.13E-12
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	5.83E+06	4.97E-05	8.52E-12	4.56E+06	1.41E-04	3.10E-11
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	5.62E+06	4.86E-05	8.65E-12	6.12E+06	4.60E-04	7.52E-11

TNF/IL-17 DVD-Ig 分子之 TNF 中和效能

用於量測 TNF 中和效能之 L929 生物分析法

人類 TNF 批號 1277249 (1.85 mg/mL) 係在 Abbott 生物研究中心 (Worcester, Massachusetts, US) 製備且自 Biologics Pharmacy 得到。放線菌素 D (目錄號 A1410) 係購自 Sigma Aldrich 且以 10 mg/mL 之儲備濃度再懸浮於 DMSO 中。

分析培養基：10% FBS (Hyclone#SH30070.03)，Gibco 試劑：RPMI 1640 (#21870)、2 mM L-麩醯胺酸(#25030)、50 單位/毫升青黴素/50 μ g/mL 鏈黴素(#15140)、0.1 mM MEM 非必需胺基酸(#11140)及 5.5×10^{-5} M 2-巰基乙醇(#21985-023)。

使L929細胞生長至半匯合密度且使用0.05%胰蛋白酶(Gibco#25300)收集。細胞以PBS洗滌，計數且以1E6個細胞/毫升再懸浮於含有4 µg/mL放線菌素D之分析培養基中。將細胞以50 µL之體積及5E4個細胞/孔接種於96孔盤(Costar#3599)中。各孔接收50 µL分析培養基，使體積達到100 µL。

如下製備試樣。用分析培養基將DVD-Ig™及對照IgG稀釋至4x濃度且進行連續1:3稀釋。用分析培養基將TNF稀釋至400 pg/mL人類TNF。以1:2稀釋方案將DVD-Ig樣本(200 µL)添加至TNF (200 µL)中且使其在室溫下培育0.5小時。

為量測此分析法中DVD-Ig之人類TNF中和效能，將DVD-Ig/TNF溶液以100 µL添加至經塗之細胞以使得DVD-Ig之最終濃度為375 nM-0.019 nM DVD-Ig。TNF之最終濃度為100 pg/mL。盤在37°C、5% CO₂下培育20小時。為定量存活率，自孔中移出100 µL且添加10 µL WST-1試劑(Roche目錄號11644807001)。盤在分析條件下培育3.5小時，以500×g離心，且將75 µL上清液轉移至ELISA盤(Costar目錄號3369)。利用Spectromax 190 ELISA盤讀取器在OD 420-600 nm下讀取盤。所選TNF/IL-17 DVD-Ig結合蛋白之中和效能展示於表22中。

表22.人類TNF之活體外效能

DVD-Ig	效能IC ₅₀ (nM)
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	0.013
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	0.019

DVD-Ig	效能IC50 (nM)
hMAK195-21-h10F7-A6.8 DVD-Ig	0.019
hMAK195-24-h10F7-A6.8 DVD-Ig	0.037
ShMAK195-21-h10F7-A16.8 DVD-Ig	0.034
hMAK195-24-h10F7-A16.8 DVD-Ig	0.044
hMAK199-1-h10F7-M10.8 DVD-Ig	0.037
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	.031
hMAK199-10-h10F7-M10.8 DVD-Ig	0.031
hMAK199-10-h10F7-M11.8 DVD-Ig	0.031
hMAK199-6-h10F7-M10.8 DVD-Ig	0.009
hMAK199-6-h10F7-M11.8 DVD-Ig	0.009
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	.023
hMAK195-24-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	0.021
hMAK199-4-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	0.01
h10F7-M11-hMAK199-4.4 DVD-Ig wt	4.195
h10F7-M11-hMAK199-4.8 DVD-Ig wt	> 100 nM
hMAK199-1-h10F7-M11.8 QL DVD-Ig	0.027
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.033
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.014
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.01
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.019
h10F7-M10-MAK195-24DVD	2.558

對於原發性人類包皮纖維母細胞 HS27 中 IL-17A 及 IL-17A/F 誘導之 IL-6 分泌的分析法

人類 HS27 細胞株 (ATCC 寄存編號 CRL-1634) 回應於 IL-17 而分泌 IL-6。IL-17 誘導之 IL-6 分泌受到中和性抗 IL-17 抗體抑制 (參見例如 *J. Immunol.*, 155: 5483-5486 (1995); *Cytokine*, 9: 794-800 (1997))。

將 HS27 細胞保持在分析培養基 (DMEM 高葡萄糖培養基 (Gibco #11965), 含 10% 胎牛血清 (Gibco #26140)、4 mM L-

麩醯胺酸、1 mM丙酮酸鈉、青黴素G (100 U/500 ml)及鏈黴素(100 µg/500 ml))中。在分析當天使細胞在T150燒瓶中生長直至其約80-90%匯合。人類IL-17A (R&D Systems, #317-IL/CF)或食蟹獼猴(cyno) IL-17A (在Abbott生成)以不含Ca²⁺及Mg²⁺之無菌PBS復原，冷凍儲存，新鮮解凍以供使用且用分析培養基稀釋至IL-17A/F為240 pM (4X)或4 nM (4X)。在另一盤中製備抗體之連續稀釋液(4X濃度)，與相等體積之240 pM (4X)人類IL-17或食蟹獼猴IL-17A或4 nM (4X)人類IL-17A/F混合且在37°C下培育1小時。將HS27細胞(典型地約20,000個細胞，於50 µl分析培養基中)添加至96孔平底組織培養盤(Costar #3599)之各孔中，接著添加50 µl的預培育抗體+ IL-17混合物。人類及食蟹獼猴IL-17A之最終濃度為60 pM。人類IL-17A/F之最終濃度為1 nM。細胞在37°C下培育約24小時。隨後收集培養基上清液。藉由使用商業Meso Scale Discovery套組(目錄號L411AKB-1)根據製造商之說明書測定上清液中的IL-6量來量測IL-17中和程度。使用抗體相對於IL-6量可變斜率擬合之對數獲得IC₅₀值。

對於來自鼠類胚胎纖維母細胞株(NIH3T3)之IL-17及TNF- α 誘導之IL-6分泌的分析法

鼠類NIH3T3細胞株(ATCC寄存編號CRL-1658)回應於鼠類、大鼠或兔IL-17A及鼠類TNF α (R&D Systems, 目錄號410-MT)而分泌IL-6。IL-17誘導之IL-6分泌受到中和性抗IL-17抗體抑制。

將NIH3T3細胞保持在分析培養基(DMEM (Invitrogen目錄號11965-092)，含10%胎牛血清(Gibco#26140-079)、1%非必需胺基酸、2 mM L-麩醯胺酸、1 mM丙酮酸鈉、青黴素G (100 U/500 ml)及鏈黴素(100 µg/500 ml))中。在分析當天使細胞在T150燒瓶中生長直至其約80-90%匯合。將100 µg/mL大鼠IL17A (Prospec bio，目錄號CYT-542)以不含Ca²⁺及Mg²⁺且含有0.1% BSA之無菌PBS復原，等分且冷凍儲存。將260 µg/mL兔IL17A (Abbott，A-1239293.0)等分且冷凍儲存。將濃度為10 µg/mL之鼠類TNF-α以不含Ca²⁺及Mg²⁺之0.1% BSA/PBS復原，等分且冷凍儲存。用分析培養基將新鮮解凍之IL-17抗體稀釋至200 µg/ml (4X)。在另一盤中製備抗體之連續稀釋液(4X濃度)，與相等體積之40 ng/ml (4X)鼠類或大鼠IL-17A或100 ng/mL兔IL-17A混合且在37°C下培育1小時。

將NIH3T3細胞(典型地約400,000個細胞，於50 µl分析培養基中)添加至96孔平底組織培養盤(Costar #3599)之各孔中，接著添加50 µl的預培育抗體+ IL-17混合物。將於11 µl培養基中之5.5 ng/mL (10x)鼠類TNF-α添加至各孔。IL-17A之最終濃度為10 ng/ml (對於鼠類及大鼠)及25 ng/mL (對於兔)。鼠類TNFα之最終濃度為0.55 ng/mL。細胞在37°C下培育約24小時。隨後收集培養基上清液。藉由使用商業Meso Scale Discovery套組(目錄號K112AKA-4)根據製造商之說明書測定上清液中的IL-6量來量測IL-17中和程度。使用抗體相對於IL-6量可變斜率擬合之對數獲得

IC50 值。

表 23. 回應於鼠類、大鼠及兔 IL-17A 而來自鼠類胚胎纖維母細胞株 (NIH3T3) 的 IL-6 分泌

DVD-Ig 名稱	人類 60 pM	食蟹獼猴 60 pM	小鼠 3 nM	大鼠 3 nM	兔 75 nM
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	207	30	47	490	219
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	200	36	33	251	206
hMAK195-21-h10F7-M10.8 DVD-Ig	200	49			
hMAK195-24-h10F7-M10.8 DVD-Ig	200	61			
hMAK195-21-h10F7-A6.8 DVD-Ig	200	76			
hMAK195-24-h10F7-A6.8 DVD-Ig	200	62			
hMAK195-21-h10F7-A16.8 DVD-Ig	200	78			
hMAK195-24-h10F7-A16.8 DVD-Ig	200	81			
hMAK195-21-h10F7-A11.8 DVD-Ig	200	76			
hMAK195-24-h10F7-A11.8 DVD-Ig	200	81			
hMAK195-21-h10F7-B13.8 DVD-Ig	200	58			
hMAK195-21-h10F7-B20.8 DVD-Ig	200	44			
hMAK199-1-h10F7-M10.8 DVD-Ig	145	33			
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	200	29	33	248	211
hMAK199-10-h10F7-M10.8 DVD-Ig	200	26			
hMAK199-10-h10F7-M11.8 DVD-Ig	200	33			
hMAK199-6-h10F7-M10.8 DVD-Ig	200	31			
hMAK199-6-h10F7-M11.8 DVD-Ig	200	32			
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	100	21	26	217	223
hMAK195-24-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	200	170			
hMAK199-4-h10F7-M11.4 DVD-Ig wt	200	30			
h10F7-M11-hMAK199-4.4 DVD-Ig wt	40	57			
h10F7-M11-hMAK199-4.8 DVD-Ig wt	50	14			
hMAK199-1-h10F7-M11.8 QL DVD-Ig	100	24			
hMAK199-1-h10F7-M11.8 YTE DVD-Ig	100				
hMAK199-1-h10F7-M10.8 QL DVD-Ig	NA				
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	95	25	54	750	311
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	46	24	27	364	159
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	100	39	48	422	180
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	77	33	44	367	209

IL-17抗體之治療功效

急性IL-17誘發性KC模型中IL-17抗體之中和效能

在急性活體內rhIL17誘發性KC模型中評估若干TNF/IL-17 DVD-Ig蛋白。雌性BALB/cJ小鼠經腹膜內(i.p.)預先給與抗體，且18小時後其經腹膜內注射於500 μ L體積中之3 μ g rhIL17。1小時後，將小鼠處死，且藉由MesoScale評估KC之程度。測定關於KC抑制%之ED50值。如表24中所示，三種DVD-Ig蛋白在活體內完全中和IL-17及TNF。

表24.小鼠細胞激素攻擊模型中之ED50

DVD-Ig名稱	IL-17誘發性KC
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	65
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	24
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	27

rhTNF/D-半乳糖胺誘發之致死性小鼠模型中TNF/IL-17 DVD-Ig之中和效能

亦在rhTNF/D-半乳糖胺誘發之致死性模型中評估TNF/IL17 DVD-Ig分子之TNF組。雌性C57BL6/N小鼠經預先給與結合蛋白(i.p.)且18小時後以於500 μ L 0.9%氯化鈉中之0.1 μ g rh TNF及20 mg D-半乳糖胺攻擊(i.p.)且監測48小時內之存活。計算關於存活百分比之ED50值。如表25中所示，在此等模型中測試三種相異抗IL-17/TNF DVD-Ig構築體且所有三種構築體完全中和人類IL-17及人類TNF誘導之生物活性。

表25.小鼠細胞激素攻擊模型中之ED50

DVD-Ig名稱	LPS/D-半乳糖胺 誘發之致死性
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.02
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.014
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	0.016

關於大鼠中 TNF/IL17 DVD-Ig PK研究之PK生物分析方案

經由頸靜脈插管向體重約280 g之經頸靜脈插管之雄性史泊格-多利大鼠(Sprague-Dawley rat)投與4 mg/kg單次劑量之DVD-Ig或親本抗體。經28天之時期自尾靜脈採集血液樣本(50-100 μ l)於血清分離管中，使其在室溫下凝結至少1小時，且在4°C下離心10分鐘。血清樣本冷凍在-80°C下直至分析。

血清樣本在室溫下解凍，在4°C下離心10分鐘且使用Meso Scale Discovery (MSD)系統藉由配體結合測定DVD-Ig濃度。簡言之，向抗生蛋白鏈菌素盤塗以經生物素標記之人類抗原且培育隔夜。將盤阻斷，且用分析緩衝液稀釋含DVD-Ig之血清樣本(最終血清濃度1%)，於盤上培育一小時且使用經磺基標籤標記之山羊抗人類IgG偵測。藉助於標準曲線使用四參數邏輯擬合來計算濃度。

利用WinNonlin軟體5.2.1版藉由使用線性梯形擬合之非室體模型分析來計算各動物之藥物動力學參數。

表 26. TNF/IL-17 DVD-Ig分子之PK特性

DVD-Ig名稱	T _{1/2} (天)	C _{max} (μ g/mL)	V _{ss} (mL/kg)	CL (mg/h/kg)
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig	10.4	153.5	55.5	0.17
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig	12.0	159.4	64.3	0.17
hMAK195-21-h10F7-M10.8 DVD-Ig	7.2	149.6	57.9	0.25

DVD-Ig名稱	T _{1/2} (天)	C _{max} (μg/mL)	V _{ss} (mL/kg)	CL (mg/h/kg)
hMAK199-1-h10F7-M10.8 DVD-Ig	9.2	132.4	61.2	0.20
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig	7.8	110.0	64.5	0.24
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	11.3	135.8	56.3	0.14
hMAK199-4-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	7.7	125.9	58.9	0.22
hMAK195-21-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	9.3	91.3	87.6	0.28
hMAK195-24-h10F7-M11.8 DVD-Ig wt	11.4	86.4	93.6	0.25

活體外 DVD-Ig 血清穩定性之測定

活體外血清穩定性分析法方案

抗體及 DVD-Ig 之接收濃度為 5 mg/mL，經 Alexa Fluor 488 標記且使用旋轉管柱純化。Alexa Fluor 488 染料具有與蛋白質之一級胺有效反應以形成穩定染料-蛋白質結合物之四氟苯基 (TFP) 酯部分。經標記之蛋白質分別具有約 494 nm 之吸收最大值及約 519 nm 之螢光發射最大值。使用含有 1 mM 疊氮化鈉之大鼠血清將經標記之蛋白質稀釋至 0.5 mg/mL 且在 37°C 下培育長達 7 天。亦以 PBS 稀釋各樣本作為陰性對照。在第 0 天、第 1 天、第 4 天及第 7 天使用 Superose 6 管柱藉由尺寸排阻層析法分析樣本。蛋白質聚集體及片段之形成用於監測分子之血清內穩定性。藉由繪製高分子量聚集體之面積百分比相對於時間之曲線來計算斜率。

表 27. 作為穩定性之量度的 DVD-Ig 蛋白聚集體的形成

DVD-Ig名稱	斜率
hMAK199-1-h10F7-M10.8 DVD-Ig	0.16, 0.21
hMAK199-1-h10F7-M11.8 DVD-Ig	0.41
hMAK199-10-h10F7-M10.8 DVD-Ig	0.30
hMAK199-10-h10F7-M11.8 DVD-Ig	0.12

實例4：其他DVD結合蛋白之生成

使用如本文所述進行選擇之兩種親本單株抗體(一者針對人類抗原A，而另一者針對人類抗原B)來構築能夠結合兩種抗原之DVD結合蛋白分子。

具有兩個連接子長度之DVD結合蛋白的生成

使用含有在234及235處具有突變之 $\mu 1$ Fc的恆定區來消除ADCC/CDC效應功能。生成4種不同的抗A/B DVD結合蛋白構築體：2種具有短連接子且2種具有長連接子，各自呈兩種不同的域定向： V_A-V_B-C 及 V_B-V_A-C 。來源於人類C1/Ck或CH1域之N端序列的連接子序列如下：

對於DVDAB構築體：

輕鏈(若抗A具有 λ)：短連接子：QPKAAP (SEQ ID NO: 15)；長連接子：QPKAAPSVTLFPP (SEQ ID NO: 16)

輕鏈(若抗A具有 κ)：短連接子：TVAAP (SEQ ID NO: 13)；長連接子：TVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 14)

重鏈($\gamma 1$)：短連接子：ASTKGP (SEQ ID NO: 21)；長連接子：ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 22)

對於DVDBA構築體：

輕鏈(若抗B具有 λ)：短連接子：QPKAAP (SEQ ID NO: 15)；長連接子：QPKAAPSVTLFPP (SEQ ID NO: 16)

輕鏈(若抗B具有 κ)：短連接子：TVAAP (SEQ ID NO: 13)；長連接子：TVAAPSVFIFPP (SEQ ID NO: 14)

重鏈($\gamma 1$)：短連接子：ASTKGP (SEQ ID NO: 21)；長連接子：ASTKGPSVFPLAP (SEQ ID NO: 22)

將重鏈及輕鏈構築體次選殖至pBOS表現載體中，且於COS細胞中表現，接著藉由蛋白質A (Protein A)層析法純化。經純化之物質經受SDS-PAGE及SEC分析。

表28描述用於表現各抗A/B DVD結合蛋白之重鏈及輕鏈構築體。

表 28：抗 A/B DVD 結合蛋白構築體

DVD蛋白	重鏈構築體	輕鏈構築體
DVDABSL	DVDABHC-SL	DVDABLC-SL
DVDABLL	DVDABHC-LL	DVDABLC-LL
DVDBASL	DVDBAHC-SL	DVDBALC-SL
DVDBALL	DVDBAHC-LL	DVDBALC-LL

以引用的方式併入

本發明中以全文引用的形式併有在分子生物學及藥物傳遞領域中熟知的技術。此等技術包括(但不限於)在以下出版物中所述的技術：

Ausubel et al. (eds.), CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, NY (1993);

Ausubel, F.M. et al. eds., SHORT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (4th Ed. 1999) John Wiley & Sons, NY. (ISBN 0-471-32938-X);

CONTROLLED DRUG BIOAVAILABILITY, DRUG PRODUCT DESIGN AND PERFORMANCE, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984);

Giege, R. and Ducruix, A. Barrett, CRYSTALLIZATION OF NUCLEIC ACIDS AND PROTEINS, a Practical Approach, 2nd ea.,

pp. 20 1-16, Oxford University Press, New York, New York, (1999);

Goodson, in MEDICAL APPLICATIONS OF CONTROLLED RELEASE, vol. 2, pp. 115-138 (1984);

Hammerling, et al., in: MONOCLONAL ANTIBODIES AND T-CELL HYBRIDOMAS 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981;

Harlow et al., ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988);

Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987) and (1991);

Kabat, E.A., *et al.* (1991) SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242;

Kontermann and Dubel eds., ANTIBODY ENGINEERING (2001) Springer-Verlag. New York. 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5);

Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990);

Lu and Weiner eds., CLONING AND EXPRESSION VECTORS FOR GENE FUNCTION ANALYSIS (2001) BioTechniques Press. Westborough, MA. 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X);

MEDICAL APPLICATIONS OF CONTROLLED RELEASE, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla. (1974);

Old, R.W. & S.B. Primrose, PRINCIPLES OF GENE

MANIPULATION: AN INTRODUCTION TO GENETIC ENGINEERING (3d Ed. 1985) Blackwell Scientific Publications, Boston. Studies in Microbiology; V.2:409 pp. (ISBN 0-632-01318-4);

Sambrook, J. et al. eds., MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL (2d Ed. 1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY. Vols. 1-3. (ISBN 0-87969-309-6);

SUSTAINED AND CONTROLLED RELEASE DRUG DELIVERY SYSTEMS, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978;

Winnacker, E.L. FROM GENES TO CLONES: INTRODUCTION TO GENE TECHNOLOGY (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgaufts). 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

在本申請案中可能引用之所有引用參考資料(包括參考文獻、專利、專利申請案及網站)的內容據此出於任何目的以全文引用的方式明確地併入，其中引用之參考資料亦如此。除非另外指出，否則本發明將採用此項技術中所熟知的免疫學、分子生物學及細胞生物學之習知技術。

等效物

在不悖離本發明之精神或基本特徵的情況下可以其他特定形式來實施本發明。因此，就各方面而言上述實施例應視作說明性而非限制本發明。因此，本發明之範疇係由隨附申請專利範圍而非由上述描述所指示，且因此屬於申請專利範圍之等效性含義及範圍內的所有變化均意欲包涵於

本文中。

【圖式簡單說明】

圖 1A 為 雙重可變域 (DVD) 構築體之示意性圖示且展示自兩種親本抗體生成 DVD 結合蛋白之策略。

圖 1B 為 構築體 DVD1-Ig、DVD2-Ig 及兩種嵌合單特异性抗體純系之示意性圖示。

七、申請專利範圍：

1. 一種結合蛋白，其包含一條多肽鏈，其中該多肽鏈包含
VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中：

VD1為第一重鏈可變域；

VD2為第二重鏈可變域；

C為重鏈恆定域；

X1為連接子，限制條件為X1不為CH1；

X2為Fc區；

(X1)_n，其中n為0或1；

(X2)_n，其中n為0或1；且

其中

(a) VD1或VD2包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO:
541、551、561、571、581、591、601、606、611、
616、621、626、631、636、643、653、661、671、
681、691、701、711、721、731、741、753、763、
771、776、781、786、791、796、801、805、807、
809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該結合蛋
白能夠結合TNF；

(b) VD1及VD2獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ
ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、
611、616、621、626、631、636、643、653、661、
671、681、691、701、711、721、731、741、753、
763、771、776、781、786、791、796、801、805、807
或809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該結合

蛋白能夠結合TNF；

(c) VD1包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807或809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且VD2包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；或

(d) VD2包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807或809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且VD1包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811。

2. 如請求項1之結合蛋白，其中

(a) VD1或VD2包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、

786、791、796、801、805、807或809，或36-41、88-97或48-72中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b) VD1及VD2獨立地包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807或809，或36-41、88-97或48-72中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c) VD1包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807或809，或36-41、88-97或48-72中之任一者，且VD2包含SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；或

(d) VD2包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807或809，或36-41、88-97或48-72中之任一者，且VD1包含SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、

527-534、773、778、783、788、793、798、803或811。

3. 一種結合蛋白，其包含一條多肽鏈，其中該多肽鏈包含
VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中：

VD1為第一輕鏈可變域；

VD2為第二輕鏈可變域；

C為輕鏈恆定域；

X1為連接子，限制條件為X1不為CL；

X2不包含Fc區；

(X1)_n，其中n為0或1；

(X2)_n，其中n為0或1；且

其中

(a) VD1或VD2包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b) VD1及VD2獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO:546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c) VD1包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或

42-47、73-87或98-107中之任一者，且VD2包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；

(d) VD2包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且VD1包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

4. 如請求項3之結合蛋白，其中

(a) VD1或VD2包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b) VD1及VD2獨立地包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c) VD1包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、

596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且VD2包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；或

(d) VD2包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且VD1包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

5. 如請求項1或3之結合蛋白，其中 $(X1)_n$ 為0及/或 $(X2)_n$ 為0。

6. 一種結合蛋白，其包含第一多肽鏈及第二多肽鏈，其中該第一多肽鏈包含第一VD1- $(X1)_n$ -VD2-C- $(X2)_n$ ，其中

VD1為第一重鏈可變域；

VD2為第二重鏈可變域；

C為重鏈恆定域；

X1為第一連接子；

X2為Fc區；

$(X1)_n$ ，其中n為0或1；

$(X2)_n$ ，其中n為0或1；且

其中該第二多肽鏈包含第二VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中

VD1為第一輕鏈可變域；

VD2為第二輕鏈可變域；

C為輕鏈恆定域；

X1為第二連接子；

X2不包含Fc區；

(X1)_n，其中n為0或1；

(X2)_n，其中n為0或1；且

其中該第一X1連接子與該第二X1連接子相同或不同；

其中該第一X1連接子不為CH1及/或該第二X1連接子不為CL，且

其中

(a)該VD1重鏈可變域或該VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域或該VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合

TNF；

(b)該VD1重鏈可變域及該VD2重鏈可變域獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域及該VD2輕鏈可變域獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c)該VD1重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD1輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、

648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；或

(d)該VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD1重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD1輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、

748、756或766。

7. 如請求項6之結合蛋白，其中

(a)該VD1重鏈可變域或該VD2重鏈可變域包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域或該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b)該VD1重鏈可變域及該VD2重鏈可變域獨立地包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域及該VD2輕鏈可變域獨立地包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c) 該 VD1 重鏈可變域包含 SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或 36-41、48-72 或 88-97 中之任一者，且該 VD2 重鏈可變域包含 SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803 或 811；該 VD1 輕鏈可變域包含 SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或 42-47、73-87 或 98-107 中之任一者，且該 VD2 輕鏈可變域包含 SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756 或 766；或

(d) 該 VD2 重鏈可變域包含 SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或 36-41、48-72 或 88-97 中之任一者，且該 VD1 重鏈可變域包含 SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、

793、798、803或811；該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD1輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

8. 如請求項1、3或6之結合蛋白，其中X1及/或X2為SEQ ID NO 1-29中之任一者。
9. 如請求項6之結合蛋白，其中該結合蛋白包含兩條第一多肽鏈及兩條第二多肽鏈。
10. 如請求項1、3或6之結合蛋白，其中該Fc區為變異序列Fc區。
11. 如請求項1、3或6之結合蛋白，其中該Fc區為來自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE或IgD之Fc區。
12. 如請求項6之結合蛋白，其中該第一多肽鏈之該VD1及該第二多肽鏈之該VD1係分別自相同的第一親本抗體及第二親本抗體或其抗原結合部分獲得。
13. 如請求項6之結合蛋白，其中該第一多肽鏈之該VD1及該第二多肽鏈之該VD1係分別自不同的第一親本抗體及第二親本抗體或其抗原結合部分獲得。
14. 如請求項6之結合蛋白，其中該第一多肽鏈之該VD2及該

第二多肽鏈之該VD2係分別自相同的第一親本抗體及第二親本抗體或其抗原結合部分獲得。

15. 如請求項6之結合蛋白，其中該第一多肽鏈之該VD2及該第二多肽鏈之該VD2係分別自不同的第一親本抗體及第二親本抗體或其抗原結合部分獲得。

16. 如請求項13或15之結合蛋白，其中該第一親本抗體及該第二親本抗體結合抗原上之不同抗原決定基。

17. 如請求項12至16中任一項之結合蛋白，其中該第一親本抗體或其抗原結合部分結合第一抗原之效能不同於該第二親本抗體或其抗原結合部分結合第二抗原之效能。

18. 如請求項12至16中任一項之結合蛋白，其中該第一親本抗體或其抗原結合部分結合第一抗原之親和力不同於該第二親本抗體或其抗原結合部分結合第二抗原之親和力。

19. 一種能夠結合兩種抗原之結合蛋白，該結合蛋白包含四條多肽鏈，其中兩條多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中

VD1為第一重鏈可變域；

VD2為第二重鏈可變域；

C為重鏈恆定域；

X1為第一連接子；

X2為Fc區；且

其中兩條多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中

VD1為第一輕鏈可變域；

VD2為第二輕鏈可變域；

C為輕鏈恆定域；

X1為第二連接子；

X2不包含Fc區；

(X1)_n，其中n為0或1；及

(X2)_n，其中n為0或1；

其中該第一X1連接子與該第二X1連接子相同或不同；

其中該第一X1連接子不為CH1及/或該第二X1連接子不為CL；

其中

(a)該VD1重鏈可變域或該VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域或該VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b)該VD1重鏈可變域及該VD2重鏈可變域獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、

571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域及該VD2輕鏈可變域獨立地包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c)該VD1重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD1輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：

SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；或

(d)該VD2重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD1重鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD2輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD1輕鏈可變域包含三個來自以下之CDR：SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

20. 一種能夠結合兩種抗原之結合蛋白，該結合蛋白包含四條多肽鏈，其中兩條多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-

(X2)_n，其中

VD1為第一重鏈可變域；

VD2為第二重鏈可變域；

C為重鏈恆定域；

X1為第一連接子；

X2為Fc區；

(X1)_n，其中n為0或1；

(X2)_n，其中n為0或1；且

其中兩條多肽鏈包含VD1-(X1)_n-VD2-C-(X2)_n，其中

VD1為第一輕鏈可變域；

VD2為第二輕鏈可變域；

C為輕鏈恆定域；

X1為第二連接子；

X2不包含Fc區；

(X1)_n，其中n為0或1；

(X2)_n，其中n為0或1；且

其中該第一X1連接子與第二X1連接子相同或不同；

其中該第一X1連接子不為CH1及/或該第二X1連接子
不為CL

其中

(a)該VD1重鏈可變域或該VD2重鏈可變域包含SEQ ID
NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、
611、616、621、626、631、636、643、653、661、
671、681、691、701、711、721、731、741、753、

763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域或該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b)該VD1重鏈可變域及該VD2重鏈可變域獨立地包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域及該VD2輕鏈可變域獨立地包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c)該VD1重鏈可變域包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD2重鏈可變域包含SEQ

ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD1輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；或

(d)該VD2重鏈可變域包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD1重鏈可變域包含SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD1輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、

578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

21. 如請求項1、3、6、19或20之結合蛋白，其中該結合蛋白與一或多種標靶之結合速率常數(K_{on})為至少約 $10^2 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少約 $10^3 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少約 $10^4 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、至少約 $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、或至少約 $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ，如藉由表面電漿子共振所量測。
22. 如請求項1、3、6、19或20之結合蛋白，其中該結合蛋白與一或多種標靶之脫離速率常數(K_{off})為至多約 10^{-3} s^{-1} 、至多約 10^{-4} s^{-1} 、至多約 10^{-5} s^{-1} 、或至多約 10^{-6} s^{-1} ，如藉由表面電漿子共振所量測。
23. 如請求項1、3、6、19或20之結合蛋白，其中該結合蛋白與一或多種標靶之解離常數(K_D)為至多約 10^{-7} M 、至多約 10^{-8} M 、至多約 10^{-9} M 、至多約 10^{-10} M 、至多約 10^{-11} M 、至多約 10^{-12} M 、或至多 10^{-13} M 。
24. 一種結合蛋白結合物，其包含如請求項1、3、6、19或20之結合蛋白，該結合蛋白結合物進一步包含一種藥劑，其中該藥劑為免疫黏著分子、顯影劑、治療劑或細胞毒性劑。
25. 如請求項24之結合蛋白結合物，其中該顯影劑為放射性標記、酶、螢光標記、發光標記、生物發光標記、磁性標記或生物素。
26. 如請求項1、3、6、19或20之結合蛋白，其中該結合蛋白為結晶之結合蛋白。

27. 一種經分離核酸，其編碼如請求項1、3、6、19或20之結合蛋白胺基酸序列。
28. 一種載體，其包含如請求項27之經分離核酸。
29. 如請求項28之載體，其中該載體為 pcDNA、pTT、pTT3、pEFBOS、pBV、pJV、pcDNA3.1 TOPO、pEF6 TOPO、pHybE、pBOS-hCγ1 或 pBJ。
30. 一種宿主細胞，其包含如請求項28之載體。
31. 如請求項30之宿主細胞，其中該宿主細胞為原核細胞。
32. 如請求項30之宿主細胞，其中該宿主細胞為真核細胞。
33. 如請求項32之宿主細胞，其中該真核細胞為原生生物細胞、動物細胞、植物細胞、酵母細胞、哺乳動物細胞、禽類細胞、昆蟲細胞或真菌細胞。
34. 一種產生結合蛋白之方法，其包含在足以產生該結合蛋白之條件下在培養基中培養如請求項30至33中任一項說明之宿主細胞。
35. 一種蛋白質，其係由如請求項34之方法產生。
36. 一種醫藥組合物，其包含如請求項1、3、6、19、20或35之結合蛋白及醫藥學上可接受之載劑。
37. 如請求項36之醫藥組合物，其進一步包含至少一種其他治療劑。
38. 如請求項37之醫藥組合物，其中該其他治療劑為顯影劑、細胞毒性劑、血管生成抑制劑、激酶抑制劑、協同刺激分子阻斷劑、黏著分子阻斷劑、抗細胞激素抗體或其功能片段、甲胺喋呤 (methotrexate)、環孢靈

(cyclosporin)、雷帕黴素(rapamycin)、FK506、可偵測標記或報導體、TNF拮抗劑、抗風濕藥、肌肉鬆弛劑、麻醉藥(narcotic)、非類固醇消炎藥(NSAID)、止痛劑、麻醉劑(anesthetic)、鎮靜劑、局部麻醉劑、神經肌肉阻斷劑、抗微生物劑、抗牛皮癬藥、皮質類固醇、同化類固醇(anabolic steroid)、紅血球生成素(erythropoietin)、免疫法、免疫球蛋白、免疫抑止劑、生長激素、激素替代藥物、放射性醫藥劑、抗抑鬱劑、抗精神病藥、興奮劑、哮喘藥物、 β 促效劑、吸入型類固醇、腎上腺素或類似物、細胞激素、或細胞激素拮抗劑。

39. 如請求項1、3、6、19、20或35之結合蛋白，其係用於藉由向個體投與該結合蛋白以便達成治療來治療該個體之疾病或病症。
40. 如請求項39之結合蛋白，其中該病症為自體免疫及發炎病症、哮喘、類風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡、多發性硬化症、敗血症、神經退化性疾病、神經元再生、脊髓損傷及腫瘤病症。
41. 如請求項40之結合蛋白，其中向該個體之該投藥為非經腸、經皮下、肌肉內、靜脈內、關節內、支氣管內、腹內、囊內、軟骨內、腔內、體腔內(intracelial)、小腦內、腦室內、結腸內、子宮頸內、胃內、肝內、心肌內、骨內、骨盆內、心包內、腹膜內、胸膜內、前列腺內、肺內、直腸內、腎內、視網膜內、脊椎內、滑膜內、胸腔內、子宮內、膀胱內、快速注射、經陰道、經

直腸、經頰、舌下、鼻內或經皮投藥。

42. 一種生成能夠結合兩種抗原之結合蛋白的方法，該方法包含以下步驟：

a)獲得能夠結合第一抗原之第一親本抗體或其抗原結合部分；

b)獲得能夠結合第二抗原之第二親本抗體或其抗原結合部分；

c)構築如請求項1、3、6、19或20中任一項之多肽；

d)表現該或該等多肽鏈；

以便生成能夠結合該第一抗原及該第二抗原之結合蛋白。

43. 如請求項42之方法，其中

(a)該VD1重鏈可變域或該VD2重鏈可變域包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域或該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(b)該VD1重鏈可變域及該VD2重鏈可變域獨立地包含

SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，該VD1輕鏈可變域及該VD2輕鏈可變域獨立地包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該結合蛋白能夠結合TNF；

(c)該VD1重鏈可變域包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD2重鏈可變域包含SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD1輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、

578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766；

(d)該VD2重鏈可變域包含SEQ ID NO: 541、551、561、571、581、591、601、606、611、616、621、626、631、636、643、653、661、671、681、691、701、711、721、731、741、753、763、771、776、781、786、791、796、801、805、807、809，或36-41、48-72或88-97中之任一者，且該VD1重鏈可變域包含SEQ ID NO: 30、32、34、108、109、110、111、112、113、114、115、121-317、527-534、773、778、783、788、793、798、803或811；該VD2輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 546、556、566、576、586、596、648、658、666、676、686、696、706、716、726、736、746、758、768，或42-47、73-87或98-107中之任一者，且該VD1輕鏈可變域包含SEQ ID NO: 31、33、35、116、117、118、120、318-526、535-539、548、558、568、578、588、598、646、656、668、678、688、698、708、718、728、738、748、756或766。

44. 如請求項42之方法，其中該Fc區為變異序列Fc區。

45. 如請求項42之方法，其中該Fc區為來自IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgM、IgE或IgD之Fc區。

46. 如請求項42之方法，其中可能存在之該第一親本抗體或其抗原結合部分結合該第一抗原之親和力及/或效能不同於可能存在之該第二親本抗體或其抗原結合部分結合該

第二抗原之親和力及/或效能。

47. 一種藉由免疫分析法測定試樣中至少一種抗原或其片段之存在的方法，

其中該免疫分析法包含使該試樣與至少一種結合蛋白及至少一種可偵測標記接觸，其中該至少一種結合蛋白包含如請求項1、3、9、19、20或35之結合蛋白。

48. 如請求項48之方法，其進一步包含：

(i)使該試樣與該至少一種結合蛋白接觸，其中該結合蛋白結合於該抗原或其片段上之抗原決定基，以形成第一複合物；

(ii)使該複合物與該至少一種可偵測標記接觸，其中該可偵測標記結合於該結合蛋白或該抗原或其片段上未與該結合蛋白結合之抗原決定基，以形成第二複合物；及

(iii)基於該第二複合物中由該可偵測標記生成之信號來偵測該試樣中該抗原或其片段之存在，其中該抗原或其片段之存在與由該可偵測標記生成之該信號直接相關。

49. 如請求項49之方法，其進一步包含：

(i)使該試樣與該至少一種結合蛋白接觸，其中該結合蛋白結合於該抗原或其片段上之抗原決定基，以形成第一複合物；

(ii)使該複合物與該至少一種可偵測標記接觸，其中該可偵測標記與該抗原或其片段競爭結合於該結合蛋白，以形成第二複合物；及

(iii)基於該第二複合物中由該可偵測標記生成之信號來偵測該試樣中該抗原或其片段之存在，其中該抗原或其片段之存在與由該可偵測標記生成之該信號間接相關。

50. 如請求項48至50中任一項之方法，其中該試樣係來自患者且該方法進一步包含診斷、預測或評估該患者之治療性/預防性治療的功效，且

其中若該方法進一步包含評估該患者之治療性/預防性治療的功效，則該方法視情況進一步包含按照需要修改該患者之該治療性/預防性治療，以改良功效。

51. 如請求項48至51中任一項之方法，其中該方法係配合用於自動系統或半自動系統中。

52. 如請求項48至52中任一項之方法，其中該方法測定該樣本中一種以上抗原之存在。

53. 一種藉由免疫分析法測定試樣中抗原或其片段之量或濃度的方法，

其中該免疫分析法(a)使用至少一種結合蛋白及至少一種可偵測標記及(b)包括由該可偵測標記生成之信號與包含該抗原或其片段之對照物或校準物進行比較，

其中該校準物視情況為一系列校準物之一部分，其中每一校準物根據該抗原或其片段之濃度而不同於該等系列中之其他校準物，

其中該至少一種結合蛋白包含如請求項1、3、9、19、20或35之結合蛋白。

54. 如請求項54之方法，其進一步包含：

(i)使該試樣與該至少一種結合蛋白接觸，其中該結合蛋白結合於該抗原或其片段上之抗原決定基，以形成第一複合物；

(ii)使該複合物與該至少一種可偵測標記接觸，其中該可偵測標記結合於該抗原或其片段上未與該結合蛋白結合之抗原決定基，以形成第二複合物；及

(iii)基於該第二複合物中由該可偵測標記生成之信號來測定該試樣中該抗原或其片段之量或濃度，其中該抗原或其片段之量或濃度與由該可偵測標記生成之該信號成正比。

55. 如請求項55之方法，其進一步包含：

(i)使該試樣與該至少一種結合蛋白接觸，其中該結合蛋白結合於該抗原或其片段上之抗原決定基，以形成第一複合物；

(ii)使該複合物與該至少一種可偵測標記接觸，其中該可偵測標記與該抗原或其片段競爭結合於該結合蛋白，以形成第二複合物；及

(iii)基於該第二複合物中由該可偵測標記生成之信號來測定該試樣中該抗原或其片段之量或濃度，其中該抗原或其片段之存在與由該可偵測標記生成之該信號成反比。

56. 如請求項54至56中任一項之方法，其中該試樣係來自患者且該方法進一步包含診斷、預測或評估該患者之治療

性/預防性治療的功效，且

其中若該方法進一步包含評估該患者之治療性/預防性治療的功效，則該方法視情況進一步包含按照需要修改該患者之該治療性/預防性治療，以改良功效。

57. 如請求項54至57中任一項之方法，其中該方法係配合用於自動系統或半自動系統中。

58. 如請求項54至58中任一項之方法，其中該方法測定該樣本中一種以上抗原之量或濃度。

59. 一種用於分析試樣中抗原或其片段之存在、量或濃度的套組，該套組包含

(a)用於分析該試樣中該抗原或其片段之說明書，及

(b)至少一種結合蛋白，其包含如請求項1、3、9、19、20或35之結合蛋白。

八、圖式：

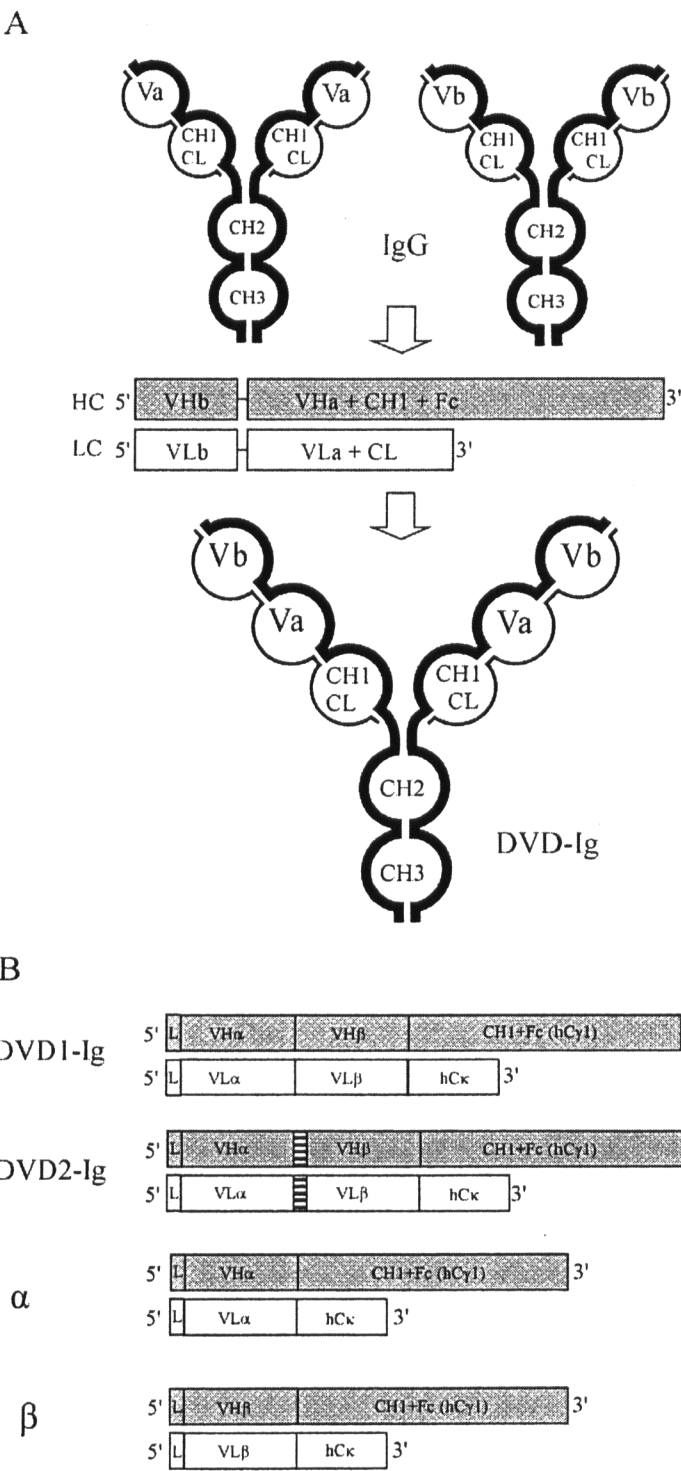


圖 1