I731861

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本　**(11)證書號數：TW I731861 B**

(45)公告日： 中華民國 110 (2021) 年 07 月 01 日

(21)申請案號：105118965　(22)申請日： 中華民國 105 (2016) 年 06 月 16 日

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

(30)優先權：2015/06/16　美國　62/180,459

(71)申請人：美商建南德克公司 (美國) GENENTECH, INC.　(US)
美國

(72)發明人：赫尼爾　伊西得洛 HOTZEL, ISIDRO (US)；強提拉　提姆T JUNTTILA, TEEMU T. (FI)；李吉 LI JI (US)；舍爾　賈斯汀 SCHEER, JUSTIN (US)；迪卡拉　丹尼爾 DICARA, DANIELLE (GB)；埃勒曼　迪亞哥 ELLERMAN, DIEGO (US)；施皮斯　克里斯托夫 SPIESS, CHRISTOPH (DE)；卡特　保羅 CARTER, PAUL (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW　201508008A

審查人員：張維纓

申請專利範圍項數：121 項　圖式數：41　共 357 頁

(54)名稱

FcRH5 之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

(57)摘要

本發明係關於抗 FcRH5 抗體，包括包含 FcRH5 結合域及 CD3 結合域之抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)，及使用該抗體之方法。

The present invention relates to anti-FcRH5 antibodies, including anti-FcRH5 antibodies comprising an FcRH5 binding domain and a CD3 binding domain (e.g., FcRH5 T cell-dependent bispecific (TDB) antibodies), and methods of using the same.

指定代表圖：

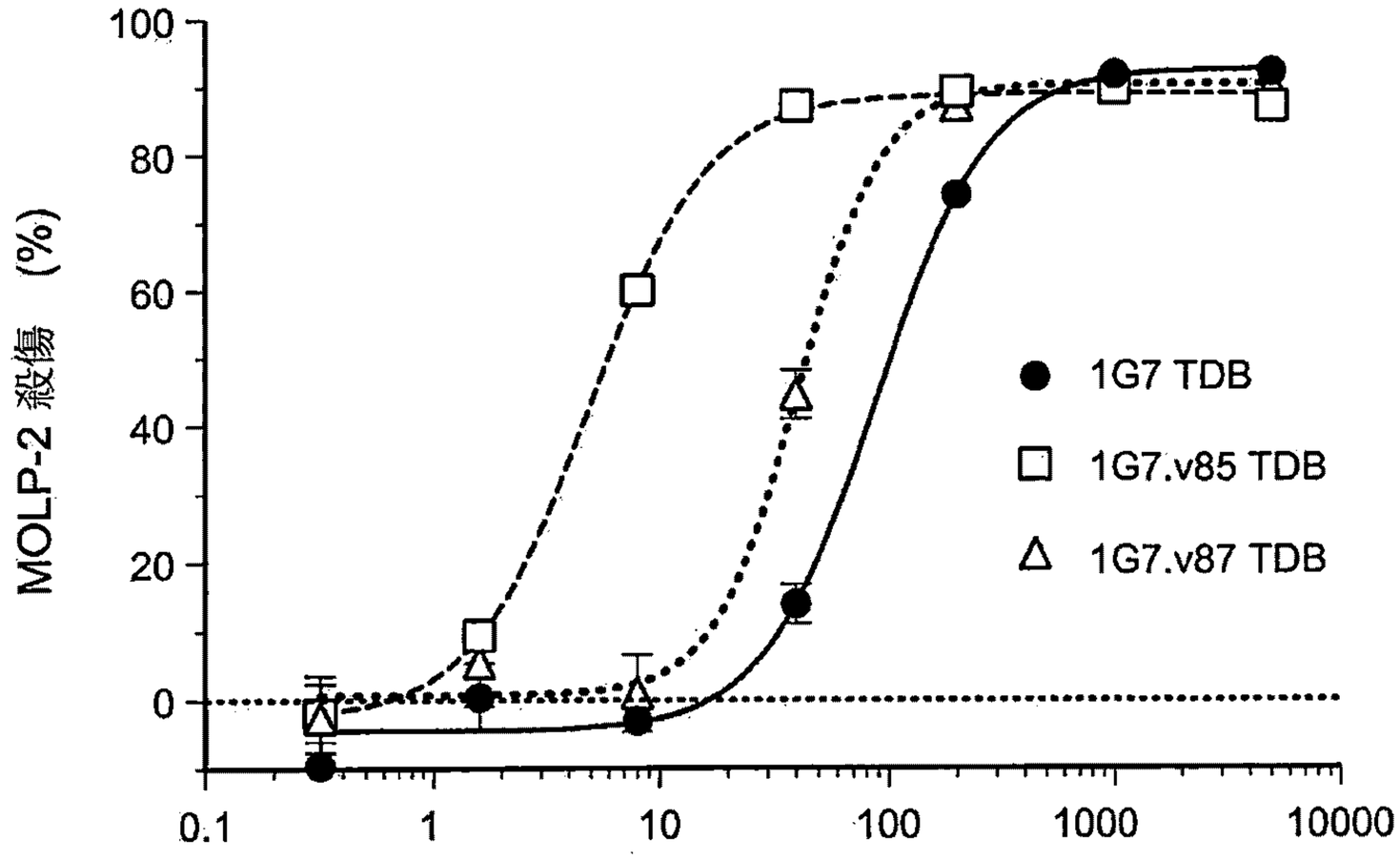

100
80
60
40
20
0
MOLP-2 殺傷 (%)
1G7 TDB
1G7.v85 TDB
1G7.v87 TDB
0.1
1
10
100
1000
10000
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 19B

公告本

發明摘要

I731861

※ 申請案號：105118965

※ 申請日： 105年6月16日 ※IPC 分類：***C07K 16/28*** (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

FcRH5 之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

HUMANIZED AND AFFINITY MATURED ANTIBODIES TO FcRH5 AND METHODS OF USE

【中文】

本發明係關於抗 FcRH5 抗體，包括包含 FcRH5 結合域及 CD3 結合域之抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)，及使用該抗體之方法。

【英文】

The present invention relates to anti-FcRH5 antibodies, including anti-FcRH5 antibodies comprising an FcRH5 binding domain and a CD3 binding domain (e.g., FcRH5 T cell-dependent bispecific (TDB) antibodies), and methods of using the same.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：圖 19B。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

（本說明書格式、順序，請勿任意更動）

【發明名稱】（中文/英文）

FcRH5 之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

HUMANIZED AND AFFINITY MATURED ANTIBODIES TO FcRH5 AND METHODS OF USE

【技術領域】

【0001】 本發明係關於抗 FcRH5 抗體及使用其之方法。

【先前技術】

【0002】 細胞增殖病症，諸如癌症之特徵為細胞亞群的不受控制之生長。它們是發達國家的死亡之主要原因，發展中國家的死亡之第二大原因，每年確診超過 1400 萬新增癌症病例，超過 800 萬人死於癌症。美國國家癌症研究所估計，超過 50 萬美國人將在 2016 年死於癌症，佔了全國死亡人數的將近四分之一。隨著老年人口之增長，癌症發病率同時上升，因為在七十歲後患癌症之概率增加兩倍。因此，癌症治療代表了顯著和不斷增加的社會負擔。

【0003】 Fc 受體樣 5(FcRH5，亦稱為 FcRL5 及 IRTA2)屬於免疫球蛋白超家族(IgSF)之 6 個新近識別基因之家族。此基因家族與具有保守基因組結構、細胞外 Ig 域組成及免疫受體酪胺酸基抑制(ITIM)及免疫受體酪胺酸基活化(ITAM)樣信號傳導基序之 Fc 受體密切相關(Davis 等人 *Eur. J. Immunol.* 35:674-80, 2005)。已描述 FcRH/IRTA 受體家族之六個成員：FcRH1/IRTA5、FcRH2/IRTA4、FcRH3/IRTA3、FcRH4/IRTA1、FcRH5/IRTA2 及 FcRH6 (Polson 等人 *Int. Immunol.* 18(9):1363-1373, 2006。FcRH cDNA 編碼具有多個含有一致免疫受體酪胺酸基活化及/或抑制性信號傳導基序之 Ig 樣細胞外域及細胞質域的 I 型跨膜醣蛋白。FcRH 基因在結構上相關，且其蛋白質產物彼此共有 28-60%細胞外一致性。其亦與其最密切 FcR 相關物共有 15-31%一致性。在不同 FcRH 之間存在高度同源性。

【0004】 FcRH5 之配位體未知，但 FcRH5 已牽涉於在抗原致敏之 B 細胞發育期間增強之增殖及下游同型表現中(Dement-Brown 等人 *J. Leukoc.*

Biol. 91:59-67, 2012)。FcRH5 基因座具有三種主要 mRNA 同功異型物(FcRH5a、FcRH5b 及 FcRH5c)。由此等轉錄物編碼之主要 FcRH5 蛋白同功異型物共有直至殘基 560 之共同胺基酸序列，該胺基酸序列之特徵在於具有共同信號肽及六個細胞外 Ig 樣域。FcRH5a 表示具有 759 個胺基酸之分泌醣蛋白，其具有八個 Ig 樣域，繼之以在其 C 端處之 13 個獨特、主要呈極性之胺基酸。FcRH5b 在胺基酸殘基 560 處不同於 FcRH5a 且延伸具有 32 個額外殘基之短鏈段，該鏈段之疏水性可與其經由 GPI 錨蛋白與質膜對接相容。FcRH5c 為最長同功異型物，其序列在胺基酸 746 處不同於 FcRH5a。FcRH5c 編碼具有 977 個胺基酸之 I 型跨膜醣蛋白，該醣蛋白具有容納八個潛在 N 連接糖基化位點之九個細胞外 Ig 型域、具有 23 個胺基酸之跨膜域，及具有具備 ITIM 一致序列之三個一致 SH2 結合基序的具有 104 個胺基酸之細胞質域。

【0005】 FcRH 基因在染色體 1 之 1q21-23 區域中之經典 FcR 基因(FcγRI、FcγRII、FcγRIII 及 FcεRI)中間叢集在一起。此區域含有 1 個與造血組織腫瘤中，尤其多發性骨髓瘤中之惡性表型相關之最常見次級染色體異常(Hatzivassiliou 等人 *Immunity.* 14:277-89, 2001)。FcRH5 僅在 B 細胞譜系中表現，早在前 B 細胞即開始，但直至成熟 B 細胞階段方才達成完全表現。不同於大多數已知其他 B 細胞特異性表面蛋白質(例如 CD20、CD19 及 CD22)，FcRH5 繼續在漿細胞中表現，而其他 B 細胞特異性標記物經下調(Polson 等人 *Int. Immunol.* 18:1363-73, 2006)。此外，FcRH5 mRNA 在具有 1q21 異常之多發性骨髓瘤細胞株中過度表現，如藉由寡核苷酸陣列所偵測(Inoue *Am. J. Pathol.* 165:71-81, 2004)。表現樣式指示 FcRH5 可為用於治療多發性骨髓瘤之抗體基療法的目標。多發性骨髓瘤是一種特徵為骨骼病變、腎衰竭、貧血及高鈣血症之漿細胞惡性腫瘤，並且它基本上不可藉由當前療法來治癒。用於多發性骨髓瘤之當前藥物治療劑包括蛋白體抑制劑硼替佐米(bortezomib)(VELCADE®)、免疫調節劑來那度胺(lenalidomide)(REVLIMID®)及類固醇地塞米松(dexamethasone)之組合。

【0006】 基於單株抗體(mAb)之療法已經成為癌症之重要治療形式。FcRH5c 特異性抗體基療法及偵測方法可特別有效，因為其並非識別 FcRH5

之可溶性同功異型物與 FcRH5 之膜同功異型物兩者的抗體，其特異性識別靶細胞之膜相關 FcRH5。然而，僅 FcRH5 之末個 Ig 樣域(Ig 樣域 9)為在 FcRH5 之三種主要同功異型物(例如 FcRH5a、FcRH5b 及 FcRH5c)之間有差異的獨特細胞外區域，且在 FcRH5 內之 Ig 樣域之間存在顯著同源性。此外，末個 Ig 樣域在 FcRH1、FcRH2、FcRH3 及 FcRH5 之間高度保守。特異性靶向 FcRH5 之任何抗體基療法皆將與其他 FcRH 具有最小交叉反應性以避免不利脫靶效應(off-target effect)(例如 FcRH3 係在正常 NK 細胞上表現)。

【0007】 鑒於上述，在領域存在對於用於治療細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤)之安全及有效藥劑的未滿足需求。

【發明內容】

【0008】 本發明提供抗 FcRH5 抗體(例如，雙特異性抗體，例如，FcRH5 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體)，組合物，及使用其來治療細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤)之方法。

【0009】 在第一態樣中，本發明提供一種抗 Fc 受體樣 5 (FcRH5)抗體，其包括包含以下六個高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 2 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 3 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 4 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 5 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 6 之 HVR-L3。

【0010】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的重鏈可變(VH)域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的輕鏈可變(VL)域，

或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區構架區(FR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域。

【0011】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 10 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 14 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 106 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 107 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 53 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 106。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 107。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 106 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ

ID NO: 107 之 VL 域。

【0012】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 82 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 83 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 82。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 56 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 83。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 82 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 83 之 VL 域。

【0013】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 21 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 84 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 85 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：

(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 84。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 85。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 84 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 85 之 VL 域。

【0014】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 17 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 22 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 86 具有至少 95% 序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 87 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 86。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 87。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 86 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 87 之 VL 域。

【0015】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 13 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 21 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 88 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 89 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 88。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 89。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 88 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 89 之 VL 域。

【0016】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 90 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 91 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO:

54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 90。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 91。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 90 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 91 之 VL 域。

【0017】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 22 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 92 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 93 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 92。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 56 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 93。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 92 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 93 之 VL 域。

【0018】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR

之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 19 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 24 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 94 具有至少 95% 序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 95 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 94。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 95。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 94 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 95 之 VL 域。

【0019】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 25 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 96 具有至少 95% 序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 97 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 53 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基

酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 96。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 97。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 96 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 97 之 VL 域。

【0020】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 25 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 98 具有至少 95% 序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 99 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 55 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 98。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 99。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 98 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 99 之 VL 域。

【0021】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序

列SEQ ID NO: 7之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 25 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 100 具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 101 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 100。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 101。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 100 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 101 之 VL 域。

【0022】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含包括以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 102 具有至少95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 103 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 52之FR-H1，(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 54 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列

SEQ ID NO: 102。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 56 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 103。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 102 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 103 之 VL 域。

【0023】 在另一態樣中，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其包括包含以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 32 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 33 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 34 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 35 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 36 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 37 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 110 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 111 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 66 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 67 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 68 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 69 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 110。在一些實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 70 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 71 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 72 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 73 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 111。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 110 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 111 之 VL 域。

【0024】 在另一態樣中，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其包括包含以下六個 HVR 之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 38 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 39 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID

NO: 40 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 41 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 42 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 43 之 HVR-L3。在其他實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 112 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 113 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在其他實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 74 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 75 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 76 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 77 之 FR-H4。在其他實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 112。在其他實施例中，抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 78 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 79 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 80 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 81 之 FR-L4。在其他實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 113。在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 112 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 113 之 VL 域。

【0025】 在另一態樣中，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其包括包含以下六個HVR之結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 26之HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 27 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 28 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 29 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 30之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 31 之 HVR-L3。在一些實施例中，結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 108 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 109 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，抗體進一步包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 58 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 59 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 60 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 61 之 FR-H4。在一些實施例中，VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 108。在一些實施例中，抗體進一

步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 62 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 63 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 64 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 65 之 FR-L4。在一些實施例中，VL 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 109。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 108 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 109 之 VL 域。

【0026】 在前述態樣中任一項之一些實施例中，抗 FcRH5 抗體結合至 FcRH5 之 Ig 樣域 9 中之抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基包含 SEQ ID NO: 114 之胺基酸 743-850 之一部分。在一些實施例中，結合域結合至人 FcRH5、食蟹猴(獼猴)FcRH5，或兩者。在一些實施例中，結合域不特異性結合至 FcRH1、FcRH2、FcRH3 及/或 FcRH4。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 100 nM 或更低之 K_D結合人 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 10 pM 與約 100 nM 之間之 K_D結合人 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 100 pM 與約 100 nM 之間之 K_D結合人 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 1 nM 與約 20 nM 之間之 K_D結合人 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 1 nM 與約 10 nM 之間之 K_D結合人 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 100 nM 或更低之 K_D結合獼猴 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 10 pM 與約 100 nM 之間之 K_D結合獼猴 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 100 pM 與約 100 nM 之間之 K_D結合獼猴 FcRH5。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 1 nM 與約 50 nM 之間之 K_D結合獼猴 FcRH5。

【0027】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含非糖基化位點突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變為取代突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變減少抗 FcRH5 抗體之效應功能。在一些實施例中，取代突變在胺基酸殘基 N297、L234、L235、D265 及/或 P329(EU 編號)處。在一些實施例中，取代突變選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A 及 P329G。在一些實施例中，取代突變為 N297G 突變。

【0028】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體為 IgG 抗體。

【0029】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體為結合 FcRH5 之抗體片段。

在一些實施例中，抗體片段選自由以下組成之群：雙-Fab、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv 及$(Fab')_2$片段。在一些實施例中，抗體片段為雙-Fab 片段。

【0030】 在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體為全長抗體。

【0031】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體為單特異性抗體。

【0032】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體為多特異性抗體。在一些實施例中，多特異性抗體為雙特異性抗體。在一些實施例中，雙特異性抗體包含結合分化抗原簇 3(CD3)之第二結合域。在一些實施例中，第二結合域結合至 CD3 上之抗原決定基，包含 CD3 之胺基酸殘基 Glu6。在一些實施例中，抗原決定基進一步包含一或多個選自由以下組成之群之額外胺基酸殘基：CD3 之 Gln1、Asp2 及 Met7。在一些實施例中，抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2 及 Glu6。在一些實施例中，抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2、Glu6 及 Met7。在一些實施例中，抗原決定基不包含 CD3 之胺基酸殘基 Glu5。在一些實施例中，抗原決定基不包含 CD3 之胺基酸殘基 Gly3 及 Glu5。在一些實施例中，抗原決定基由 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2、Glu6 及 Met7 組成。在一些實施例中，第二結合域能夠結合至人 CD3 多肽或獼猴 CD3 多肽。在一些實施例中，人 CD3 多肽或獼猴 CD3 多肽分別為人 CD3ε 多肽或獼猴 CD3ε 多肽。在一些實施例中，人 CD3 多肽或獼猴 CD3 多肽分別為人 CD3γ 多肽或獼猴 CD3γ 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約 100 nM 或更低之 K_D結合人 CD3ε 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約 10 pM 至約 100 nM 之間之 K_D結合人 CD3ε 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約 100 pM 至約 50 nM 之間之 K_D結合人 CD3ε 多肽。在一些實施例中，第二結合域以約 1 nM 至約 10 nM 之間之 K_D結合人 CD3ε 多肽。

【0033】 在一些實施例中，第二結合域包含以下六個 HVR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 117 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 120 之 HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含以下六個 HVR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:

115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 125 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 126 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 127 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 128 之 FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 129 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 130 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 131 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 132 之 FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域。

【0034】 在其他實施例中，第二結合域包含以下六個 HVR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 124 之 HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 125 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 126 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 127 之 FR-H3，及(d)包

含胺基酸序列 SEQ ID NO: 128 之 FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 之 VH 域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 129 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 130 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 131 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 132 之 FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 之 VL 域。

【0035】 在其他實施例中，第二結合域包含以下六個 HVR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 139 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 140 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 141 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 142 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 143 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 144 之 HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 145 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 146 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 147 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 148 之 FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 之 VH 域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 149 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 150 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 151 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 152 之 FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 之 VL 域。

【0036】 在其他實施例中，第二結合域包含以下六個 HVR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 155 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:

156 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 157 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 158 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 159 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 160 之 HVR-L3。

【0037】 在一些實施例中，第二結合域包含以下六個 HVR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 155 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 162 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 157 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 158 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 159 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 160 之 HVR-L3。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 164 之 FR-H1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 165 之 FR-H2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 166 之 FR-H3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 167 之 FR-H4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 之 VH 域。在一些實施例中，第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 168 之 FR-L1，(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 169 之 FR-L2，(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 170 之 FR-L3，及(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 171 之 FR-L4。在一些實施例中，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 之 VL 域。在一些實施例中，第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 之 VL 域。

【0038】 在其他實施例中，結合 FcRH5 之結合域包含包括電荷區(CR_1)之 VH 域(VH_1)及包含電荷區(CR_2)之 VL 域(VL_1)，其中 VH_1 中之 CR_1 與 VL_1 中之 CR_2 形成電荷對。在一些實施例中，CR_1 包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_2 包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR_1 包含 Q39K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_1 由 Q39K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_2 包含 Q38E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_2 由 Q38E 取代突變組成。在一些實施例中，結合 CD3 之第二結合域包含包括電荷區(CR_3)

之 VH 域(VH_2)及包括電荷區(CR_4)之 VL 域(VL_2)，其中 VL_2中之 CR_4與 VH_2中之 CR_3形成電荷對。在一些實施例中，CR_4包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_3包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR_4包含Q38K取代突變(EU編號)。在一些實施例中，CR_4由 Q38K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_3包含 Q39E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_3由 Q39E 取代突變組成。在一些實施例中，VL_1域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL_1)並且 VH_1連接至第一重鏈恆定(CH1)域($CH1_1$)，其中 CL_1包含電荷區(CR_5)並且 $CH1_1$包含電荷區(CR_6)，並且其中 CL_1中之 CR_5與 $CH1_1$中之 CR_6形成電荷對。在一些實施例中，CR_5包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_6包含酸性殘基。在一些實施例中，CR_5包含 V133K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_5由 V133K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_6包含 S183E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_6由 S183E 取代突變組成。

【0039】 在其他實施例中，VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中 CL_2包含電荷區(CR_7)並且 $CH1_2$包含電荷區(CR_8)，並且其中 $CH1_2$中之 CR_8與 CL_2中之 CR_7形成電荷對。在一些實施例中，CR_8包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_7包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR_8包含 S183K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_8由 S183K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_7包含 V133E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_7由 V133E 取代突變組成。

【0040】 在其他實施例中，VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中(a)CL_2包含胺基酸殘基 F116、L135、S174、S176 及/或 T178(EU 編號)處之一或多個突變並且(b)$CH1_2$包含胺基酸殘基 A141、F170、S181、S183 及/或 V185(EU 編號)處之一或多個突變。在一些實施例中，CL_2包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及/或 T178V。在一些實施例中，CL_2包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V。在一些實施例中，$CH1_2$包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及/或 V185A。在一些實施例中，$CH1_2$包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A。

【0041】 在其他實施例中，結合 FcRH5 之結合域包含包括電荷區

(CR_1)之 VH 域(VH_1)及包括電荷區(CR_2)之 VL 域(VL_1)，其中 VL_1中之 CR_2與 VH_1中之 CR_1形成電荷對。在一些實施例中，CR_2包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_1包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR_2包含 Q38K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_2由 Q38K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_1包含 Q39E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_1由 Q39E 取代突變組成。在一些實施例中，結合 CD3 之第二結合域包含包括電荷區(CR_3)之 VH 域(VH_2)及包括電荷區(CR_4)之 VL 域(VL_2)，其中 VH_2中之 CR_3與 VL_2中之 CR_4形成電荷對。在一些實施例中，CR_3包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_4包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR_3包含 Q39K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_3由 Q39K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_4包含 Q38E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_4由 Q38E 取代突變組成。在一些實施例中，VL_1域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL_1)並且 VH_1連接至第一重鏈恆定(CH1)域($CH1_1$)，其中 CL_1包含電荷區(CR_5)並且 $CH1_1$包含電荷區(CR_6)，及其中 $CH1_1$中之 CR_6與 CL_1中之 CR_5形成電荷對。在一些實施例中，CR_6包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_5包含酸性胺基酸殘基。在一些實施例中，CR_6包含 S183K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_6由 S183K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_5包含 V133E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_5由 V133E 取代突變組成。

【0042】 在其他實施例中，VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中 CL_2包含電荷區(CR_7)並且 $CH1_2$包含電荷區(CR_8)，並且其中 CL_2中之 CR_7與 $CH1_2$中之 CR_8形成電荷對。在一些實施例中，CR_7包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_8包含酸性殘基。在一些實施例中，CR_7包含 V133K 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_7由 V133K 取代突變組成。在一些實施例中，CR_8包含 S183E 取代突變(EU 編號)。在一些實施例中，CR_8由 S183E 取代突變組成。

【0043】 在其他實施例中，VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中(a)CL_2包含胺基酸殘基 F116、L135、S174、S176 及/或 T178(EU 編號)處之一或多個突變並且(b)$CH1_2$包含胺基酸殘基 A141、F170、S181、S183 及/或 V185(EU 編號)處之一或多個突變。在一些實施例

中，CL_2包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F及/或 T178V。在一些實施例中，CL_2包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V。在一些實施例中，$CH1_2$包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及/或 V185A。在一些實施例中，$CH1_2$包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含一或多個重鏈恆定域，其中一或多個重鏈恆定域選自第一 CH2 域($CH2_1$)、第一 CH3 域($CH3_1$)，第二 CH2 域($CH2_2$)及第二 CH3 域($CH3_2$)。在一些實施例中，一或多個重鏈恆定域中之至少一者與另一個重鏈恆定域配對。在一些實施例中，$CH3_1$及 $CH3_2$各自包含隆凸(P_1)或空腔(C_1)，並且其中 $CH3_1$中之 P_1或 C_1可定位於 $CH3_2$中之相應 C_1或 P_1中。在一些實施例中，$CH3_1$及 $CH3_2$在 P_1與 C_1之間界面處相接。在一些實施例中，$CH2_1$及 $CH2_2$各自包含(P_2)或空腔(C_2)，並且其中 $CH2_1$中之 P_2或 C_2可定位於 $CH2_2$中之相應 C_2或 P_2中。在一些實施例中，$CH2_1$及 $CH2_2$在 P_2與 C_2之間界面處相接。

【0044】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂及抗 CD3 臂各自包含 N297G 取代突變(EU 編號)，並且其中抗 FcRH5 臂包含 T366W 取代突變並且抗 CD3 臂包含 T366S、L368A 及 Y407V 取代突變。

【0045】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗

FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0046】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0047】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID

NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0048】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0049】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123

之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0050】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0051】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈

及包括 Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0052】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0053】 在本發明之態樣中任一項之一些實施例中，抗 FcRH5 抗體具有約 10 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日之間之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體在小鼠中具有約 10 ml/kg/日至約 20 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體在小鼠中具有約 12 ml/kg/日至約 16 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 20 ml/kg/日至約 40 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 25 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 30 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。

【0054】 在另一態樣中，本發明提供分離核酸，該核酸編碼前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體或其一部分，該部分包含其結合至 FcRH5 之結合域。

【0055】 在另一態樣中，本發明提供包含先前態樣之分離核酸之載體。

【0056】 在另一態樣中，本發明提供包含先前態樣之載體之宿主細胞。在某些實施例中，宿主細胞為哺乳動物細胞。在其他實施例中，哺乳動物細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一些實施例中，宿主細胞為原核細胞。

在一些實施例中，原核細胞為大腸桿菌細胞。

【0057】 在另一態樣中，本發明提供產生本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體的方法，該方法包含將先前態樣之宿主細胞在培養基中培養。在一些實施例中，該方法進一步包含將抗 FcRH5 抗體從宿主細胞或培養基回收。在一些實施例中，該方法進一步包含培養第二宿主細胞，該第二宿主細胞包含第二核酸，該第二核酸編碼包含結合 CD3 之結合域的抗 CD3 抗體。在一些實施例中，將宿主細胞共培養。在一些實施例中，該方法進一步包含將雙特異性抗 FcRH5 抗體從宿主細胞或培養基回收。

【0058】 在另一態樣中，本發明提供免疫結合物，其包含先前態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體及細胞毒性劑。

【0059】 在另一態樣中，本發明提供包含本發明之態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體的組合物。在一些實施例中，該組合物進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑或稀釋劑。在一些實施例中，醫藥學上可接受之賦形劑為緩衝液、載劑、穩定劑或防腐劑。在一些實施例中，組合物為醫藥組合物。在一些實施例中，組合物進一步包含 PD-1 軸結合拮抗劑或額外治療劑。

【0060】 在另一態樣中，本發明提供作為藥物使用的本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體。

【0061】 在另一態樣中，本發明提供本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體，其用於治療或延遲有需要之受試者之 FcRH5 陽性癌症之進程。

【0062】 在另一態樣中，本發明提供本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體，其用於增強患有 FcRH5 陽性癌症之受試者之免疫功能。在一些實施例中，FcRH5 陽性癌症為 B 細胞癌症。在另一態樣中，B 細胞癌症選自由以下組成之群：多發性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤(MCL)、彌散性大 B-細胞淋巴瘤(DLBCL)及濾泡性淋巴瘤(FL)。在另一實施例中，B 細胞癌症為 MM。

【0063】 在另一態樣中，本發明提供使用先前態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體或組合物來製造供治療或延遲受試者之 FcRH5 陽性癌症進程的藥物。在另一態樣中，本發明提供使用先前態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體

或組合物來製造供增強患有 FcRH5 陽性癌症之受試者之免疫功能之藥物。在一些實施例中，FcRH5 陽性癌症為 B 細胞癌症。在一些實施例中，B 細胞癌症選自由以下組成之群：MM、CLL、MCL、DLBCL 及 FL。在一些實施例中，B 細胞癌症為 MM。

【0064】 在另一態樣中，本發明提供治療或延遲有需要之受試者之 FcRH5 陽性癌症之進程的方法，該方法包含向受試者投與本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體。在另一態樣中，本發明提供增強患有 FcRH5 陽性癌症之受試者之免疫功能的方法，該方法包含向受試者投與有效量的本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體。在一些實施例中，FcRH5 陽性癌症為 B 細胞癌症。在一些實施例中，B 細胞癌症選自由以下組成之群：MM、CLL、MCL、DLBCL 及 FL。在一些實施例中，B 細胞癌症為 MM。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體結合至(a)定位於靶細胞上之 FcRH5 分子及(b)定位於免疫效應細胞上之 CD3 分子。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體在結合至 FcRH5 分子及 CD3 分子之後活化免疫效應細胞。在一些實施例中，活化免疫效應細胞能夠對於靶細胞施加細胞毒性作用及/或凋亡作用。在一些實施例中，靶細胞為漿細胞。在一些實施例中，漿細胞為短壽命漿細胞。在一些實施例中，漿細胞為長壽命漿細胞。在一些實施例中，漿細胞為骨髓瘤細胞。在一些實施例中，該方法包含以約 0.01 mg/kg/wk 至約 50 mg/kg/wk 之劑量向受試者投與抗 FcRH5 抗體。在一些實施例中，該方法包含以約0.1 mg/kg/wk至約10 mg/kg/wk之劑量向受試者投與抗FcRH5抗體。在一些實施例中，該方法包含以約 1 mg/kg/wk 之劑量向受試者投與抗 FcRH5 抗體。

【0065】 在其他實施例中，該方法進一步包含向受試者投與 PD-1 軸結合拮抗劑及/或額外治療劑。在一些實施例中，PD-1 軸結合拮抗劑或額外治療劑在投與抗 FcRH5 抗體之前或之後投與。在一些實施例中，PD-1 軸結合拮抗劑或額外治療劑與抗 FcRH5 抗體同時投與。在一些實施例中，PD-1 軸結合拮抗劑選自由以下組成之群：PD-L1 結合拮抗劑、PD-1 結合拮抗劑及 PD-L2 結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-1 軸結合拮抗劑為 PD-L1 結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-L1 結合拮抗劑選自由以下組成之群：

MPDL3280A(阿佐利珠單抗)、YW243.55.S70、MDX-1105、MEDI4736(德瓦魯單抗)及 MSB0010718C(納武單抗)。在一些實施例中，PD-L1 結合拮抗劑為 MPDL3280A(阿佐利珠單抗)。在一些實施例中，PD-1 軸結合拮抗劑為 PD-1 結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-1 結合拮抗劑選自由以下組成之群：MDX1106(奈武單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、CT-011(匹地利珠單抗)、MEDI-0680 (AMP-514)、PDR001、REGN2810 及 BGB-108。在一些實施例中，PD-1 軸結合拮抗劑為 PD-L2 結合拮抗劑。在一些實施例中，PD-L2 結合拮抗劑為抗體或免疫黏附素。在一些實施例中，受試者類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合。在一些實施例中，類固醇為糖皮質激素。在一些實施例中，糖皮質激素為地塞米松。在一些實施例中，IMiD 為來那度胺。在一些實施例中，PI 為硼替佐米。

【0066】 在其他實施例中，該方法包含靜脈內、皮下、肌肉內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、植入、吸入、鞘內、心室內或鼻內投與前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體、PD-1 軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI 或其組合。在一些實施例中，該方法包含靜脈內投與抗 FcRH5 抗體、PD-1 軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI 或其組合。在一些實施例中，該方法包含皮下投與抗 FcRH5 抗體、PD-1 軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI 或其組合。在前述態樣中任一項之一些實施例中，受試者為人。

【0067】 在另一態樣中，本發明提供偵測來自受試者之生物樣品中之 FcRH5 的方法，其中該方法包含：(a)使生物樣品與本發明之態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體在容許抗 FcRH5 抗體結合至生物樣品中之天然存在 FcRH5 的條件下接觸，並且(b)偵測是否在抗 FcRH5 抗體及生物樣品中之天然存在 FcRH5 之間形成複合物。在一些實施例中，生物樣品為血液樣品。在一些實施例中此態樣，受試者為人。

【0068】 在另一態樣中，本發明提供套組，其包含本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體及藥品說明書，包含使用抗 FcRH5 抗體來治療或延遲受試者之 FcRH5 陽性癌症之進程的說明。在另一態樣中，本發明提供套組，其包含本發明之前述態樣中任一項之抗 FcRH5 抗體及藥品說明書，包含使用抗 FcRH5 抗體來增強患有 FcRH5 陽性癌症之受試者之免疫功能之

說明。在此等態樣之一些實施例中，受試者為人。

【圖式簡單說明】

【0069】 該申請文件包含以彩色執行的至少一個附圖。具有彩色附圖之本專利或專利申請之副本將在請求並支付必要費用之後由專利局提供。

【0070】 圖 1A 為展示具有包括一或多個電荷區域之 VL、VH、CL 及 CH1 域之 FcRH5 TDB 之示例性合理設計組態(組態 1)的示意圖。對於組態 1，VH_1、CL_1、VL_2及 $CH1_2$域含有鹼性電荷區域，並且 VL_1、$CH1_1$、VH_2及 CL_2域含有酸性電荷區域。

【0071】 圖 1B 為展示具有包括一或多個電荷區域之 VL、VH、CL 及 CH1 域之 FcRH5 TDB 之示例性合理設計組態(組態 2)的示意圖。對於組態 2，VH_1、CL_1、VL_2及 $CH1_2$域含有酸性電荷區域，並且 VL_1、$CH1_1$、VH_2及 CL_2域含有鹼性電荷區域。

【0072】 圖 1C 為展示具有包括一或多個電荷區域之 VL、VH、CL 及 CH1 域之 FcRH5 TDB 之示例性羅塞塔設計組態(組態 1)的示意圖。對於組態 1，VH_1、CL_1及 VL_2域含有鹼性電荷區域，並且 VL_1、$CH1_1$及 VH_2域含有酸性電荷區域。另外，$CH1_2$域含有空腔，並且 CL_2域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為 $CH1_2/CL_2$界面處之黑色方框。

【0073】 圖 1D 為展示具有包括一或多個電荷區域之 VL、VH、CL 及 CH1 域之 FcRH5 TDB 之示例性羅塞塔設計組態(組態 2)的示意圖。對於組態 2，VH_1、CL_1及 VL_2域含有酸性電荷區域，並且 VL_1、$CH1_1$及 VH_2域含有鹼性電荷區域。另外，$CH1_2$域含有空腔，並且 CL_2域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為 $CH1_2/CL_2$界面處之黑色方框。

【0074】 圖 1E 為展示具有包括一或多個電荷區域之 VL、VH、CL 及 CH1 域之 FcRH5 TDB 之示例性替代羅塞塔設計組態(替代組態 1)的示意圖。對於替代組態 1，VL_1、VH_2及 CL_2域含有酸性電荷區域，並且 VH_1、$CH1_2$及 VL_2域含有鹼性電荷區域。另外，$CH1_1$域含有空腔，並且 CL_1域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為 $CH1_1/CL_1$界面處之黑色方框。

【0075】 圖 1F 為展示具有包括一或多個電荷區域之 VL、VH、CL 及 CH1 域之 FcRH5 TDB 之示例性替代羅塞塔設計組態(替代組態 2)的示意

圖。對於替代組態 2，VL_1、VH_2及 CL_2域含有鹼性電荷區域，並且 VH_1、$CH1_2$及 VL_2域含有酸性電荷區域。另外，$CH1_1$域含有空腔，並且 CL_1域含有隆凸。空腔及隆凸描繪為 $CH1_1/CL_1$界面處之黑色方框。

【0076】 圖 2 為選擇抗 FcRH5 抗體之輕鏈可變(VL)域序列之比對。與 1G7(參見美國公開案第 2015-0098900 號，全部以引用方式併入本文)之變化在深色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方及/或下方之線來指示。此等 VL 域序列亦揭示為 SEQ ID NO: 83、85、87、89、91、93、95、97、99 及 101。

【0077】 圖 3 為選擇抗 FcRH5 抗體之重鏈可變(VH)域序列之比對。與純系 1G7(參見美國公開案第 2015-0098900 號)之變化在深色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方及/或下方之線來指示。此等 VH 域序列亦揭示為 SEQ ID NO: 82、84、86、88、90、92、94、96、98 及 100。

【0078】 圖 4 為展示所指示抗 FcRH5 抗體之位置 52 之胺基酸取代對於結合親和力之影響的表。

【0079】 圖 5A 為 hu1G7.v85 及 hu1G7.v93 之重鏈可變(VH)域序列之比對。與人生殖系序列 hIGHV4-59*01 之變化在橙色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方之標記來指示。此等 VH 域序列亦揭示為 SEQ ID NO: 104(hu1G7.v85)及 106(hu1G7.v93)。

【0080】 圖 5B 為 hu1G7.v85 及 hu1G7.v93 之輕鏈可變(VL)域序列之比對。與人生殖系序列 hIGKV1-16*01 之變化在橙色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方之標記來指示。此等 VL 域序列亦揭示為 SEQ ID NO: 105(hu1G7.v85)及 107(hu1G7.v93)。

【0081】 圖 6A 為 hu1G7.v85、1G7 及一致 H4 之重鏈可變(VH)域序列之比對。與人源化、親和力成熟及精煉純系 1G7(參見美國公開案第 2015-0098900 號，全部以引用方式併入本文)之變化在橙色方框中示出。高變區(HVR)藉由比對上方之標記來指示。hu1G7.v85 之 VH 域序列揭示為 SEQ ID NO: 104。

【0082】 圖 6B 為 hu1G7.v85、1G7 及一致 KI 之輕鏈可變(VL)域序列之比對。與人源化、親和力成熟及精煉純系 1G7 之變化在橙色方框中示出。

hu1G7.v85 之 VL 域序列揭示為 SEQ ID NO: 105。

【0083】 圖 7A 示出抗 FcRH5 抗體 hu1G7.v93 之重鏈可變(VH)域序列(SEQ ID NO: 106)。

【0084】 圖 7B 示出抗 FcRH5 抗體 hu1G7.v93 之輕鏈可變(VL)域序列(SEQ ID NO: 107)。

【0085】 圖 8 為展示 1G7.v85 及 1G7.v87 抗體之抗體效價之圖表。

【0086】 圖 9A 為將具有不同抗 FcRH5 臂(即，m1G7(「1G7 TDB」)、1G7.v85(「1G7.v85 TDB」)及 1G7.v1.4(「1G7.v1.4 TDB」))之 FcRH5/38E4.v1 TDB 結合至 FcRH3 過度表現細胞進行比較的直方圖之覆蓋。

【0087】 圖 9B 為展示 1G7.v85 TDB 在≤20 μg/mL 之濃度下不消耗自然殺手(NK)細胞之圖表；1G7.v85 TDB 在漿細胞(PC)上具有 25 ng/mL 之中值 EC50。

【0088】 圖 10A 為將 FcRH5 TDB 1G7.v1.4/38E4.v1(「1G7.v1.4 TDB」)結合 FcRH3、人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之能力進行比較的一系列圖表。

【0089】 圖 10B 為將 1G7.v85 TDB 結合 FcRH3、人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之能力進行比較的一系列圖表。

【0090】 圖 10C 為將 FcRH5 TDB 1G7/38E4.v1(「1G7 TDB」)結合 FcRH3、人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之能力進行比較的一系列圖表。

【0091】 圖 10D 為將對照抗體結合 FcRH3、人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之能力進行比較的一系列圖表。

【0092】 圖 11A 示出人源化、兔衍生抗 FcRH5 抗體 hu7D8.L1H2 之重鏈可變(VH)域序列之序列。hu7D8.L1H2 之 VH 域序列揭示為 SEQ ID NO: 108。

【0093】 圖 11B 示出人源化、兔衍生抗 FcRH5 抗體 hu7D8.L1H2 之輕鏈可變(VL)域序列之序列。hu7D8.L1H2 之 VL 域序列揭示為 SEQ ID NO: 109。

【0094】 圖 12A 示出小鼠衍生抗 FcRH5 抗體 17B1 之重鏈可變(VH)域序列之序列。17B1 之 VH 域序列揭示為 SEQ ID NO: 110。

【0095】 圖 12B 示出小鼠衍生抗 FcRH5 抗體 17B1 之輕鏈可變(VL)

域序列之序列。17B1 之 VL 域序列揭示為 SEQ ID NO: 111。

【0096】 圖 13A 示出小鼠衍生抗 FcRH5 抗體 15G8 之重鏈可變(VH)域序列之序列。15G8 之 VH 域序列揭示為 SEQ ID NO: 112。

【0097】 圖 13B 示出小鼠衍生抗 FcRH5 抗體 15G8 之輕鏈可變(VL)域序列之序列。15G8 之 VL 域序列揭示為 SEQ ID NO: 113。

【0098】 圖 14 為展示兔衍生抗 FcRH5 抗體 7D8.Rb 及 h7D8.L1H2 之人源化變異體與人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之結合親和力的一系列圖表。

【0099】 圖 15 為展示 FcRH5 TDB 1G7.v85 TDB 及 hu1G7.v93/38E4.v1(「1G7.v93 TDB」)以可比較的親和力結合至人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 的一系列圖表。

【0100】 圖 16A-16B 為展示 1G7.v85 TDB 分別以 2.35 nM 及 6.76 nM 之解離常數(K_D)結合至人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之動力學分析的圖表，如藉由 BIACORE®以 hIgG 捕獲格式使用單價親和力之 1:1 結合模型來量測。

【0101】 圖 17A-17B 為展示使用 1G7 之人源化及親和力成熟變異體的 MOLP-2 細胞(即，內源性表達 FcRH5 之人多發性骨髓瘤細胞)之增加 FcRH5 誘導細胞毒性的圖表，該等變異體被設定形式為具有 38E4.v1 之 CD3-結合臂的 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體(參見 PCT 公開案第 WO 2015-095392 A1 號，全部以引用方式併入本文)。在圖 17A 中，評估 1G7 TDB、hu1G7.v1.1/38E4.v1 (「1G7.v1.1 TDB」)、hu1G7.v1.2/38E4.v1 (「1G7.v1.2 TDB」)、hu1G7.v1.3/38E4.v1 (「1G7.v1.3 TDB」)及 1G7.v1.4 TDB。在圖 17B 中，評估 1G7.v1.4 TDB、hu1G7.v1.5/38E4.v1 (「1G7.v1.5」 TDB)、hu1G7.v1.13/38E4.v1 (「1G7.v1.13 TDB」)、hu1G7.v1.7/38E4.v1 (「1G7.v1.7 TDB」)及 hu1G7.v1.13.1/38E4.v1 (「1G7.v1.13.1」)。1G7.v.1.4 TDB 改良靶細胞殺傷(EC50)超過鼠科 1G7 TDB(n=10)5 至 13 倍。

【0102】 圖 18A-18D 為 1G7.v1.4 TDB 及 1G7.v85 TDB 活化 T 細胞(圖 18A)、殺傷靶 MOLP-2 細胞(圖 18B)、殺傷靶獼猴漿細胞(圖 18C)及殺傷靶獼猴 B 細胞(圖 18D)之能力進行比較的圖表。

【0103】 圖 19A 為將 1G7.v85 TDB 及 hu1G7.v87/38E4.v1 TDB(「1G7.v87 TDB」)結合至並且與表達人 FcRH5(圖 1)、獼猴 FcRH5(圖 2)及人 FcRH3(圖 3)之小鼠 SVT2 細胞交叉反應之能力進行比較的一系列直方圖。

【0104】 圖 19B-19D 為將 1G7.v85 TDB 及 1G7.v87 TDB 殺傷靶 MOLP-2 細胞(圖 19B)、人 B 細胞(圖 19C)及獼猴 B 細胞(圖 19D)之能力進行比較的圖表。

【0105】 圖 20A-20D 為展示如與無應力的相應對照(圖 21A 及 21C)相比，在經歷 2,2'-偶氮雙(2-脒基丙烷)鹽酸鹽(AAPH)應力測試(圖 20B)或光應力測試(圖 20D)之後，1G7.v85 TDB 結合 FcRH5 之能力減小的圖表。

【0106】 圖 21A 為展示 1G7.v85 TDB 之粒徑分佈分析之圖表。在 pH 5.5 之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB 失去 0.1%的單體峰。

【0107】 圖 21B 為展示 1G7.v85 TDB 之電荷非均勻性的圖表。在 pH 5.5 之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB 失去 7.7%的單體峰

【0108】 圖 22A 為展示在 pH 5.5 之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB 在輕鏈質量之約化質量概況方面沒有可觀察到之變化的圖表。

【0109】 圖 22B 為展示在 pH 5.5 之組胺酸乙酸鹽溶液中兩週應力之後，1G7.v85 TDB 在重鏈質量之約化質量概況方面沒有可觀察到之變化的圖表。

【0110】 圖 23A 為用 1 μg/ml 之 1G7/UCHT1.v9 TDB、10A8/UCHT1.v9 TDB (「10A8 TDB」)及抗 gD/UCHT1.v9 TDB (「抗 gD TDB」)刺激之健康供體周邊 CD8 細胞，及表達具有 N 末端 gD 表現標籤之人 FcRH5 之細胞的磷酸-SLP76 蛋白質印跡。指示 TCR 信號傳導的總 SLP76 之印跡用於確定相等樣品負載。

【0111】 圖 23B 為展示用 1G7/UCHT1.v9 TDB 或抗 gD TDB 及 $CD8^+$ T 細胞之 FcRH5 靶細胞殺傷的圖表。

【0112】 圖 23C 為具有現在膜近側之 gD 抗原決定基之截斷 FcRH5 構建物的示意圖。

【0113】 圖 23D 為展示使用具有 1G7 TDB 或抗 gD TDB 之截斷 FcRH5 構建物之靶細胞殺傷的圖表。近端 1G7/UCHT1.v9 TDB 之活性增加 25 倍 (EC50=20 pM)，並且當由 ECD 造成之干擾得以移除時，抗 gD TDB 能夠有效地介導細胞之殺傷(EC50=0.19 nM)。截斷構建物在 293 細胞中表現。

【0114】 圖 23E 為展示識別膜近側抗原決定基之五種替代 FcRH5 TDB(虛線)之靶細胞殺傷與藉由 1G7/UCHT1.v9 TDB 介導之殺傷相等並且顯著好於 10A8 TDB 的圖表。

【0115】 圖 24A 為 SVT2-親本、gD-FcRH5 全長及 gD-FcRH5-域 9 細胞之流式細胞術分析的直方圖覆蓋。

【0116】 圖 24B 為展示藉由 1G7/UCHT1.v9 TDB、2H7/ UCHT1.v9 TDB (「2H7 TDB」)、3G7/ UCHT1.v9 TDB (「3G7 TDB」)、10A8 TDB 及抗 gD TDB 之靶細胞殺傷百分比的圖表。

【0117】 圖 25A 為六種細胞株(SVT2-載體，SVT2-FcRH1、SVT2-FCRH2、SVT2-FcRH3、SVT2-FcRH4 及 SVT2-FcRH5)之覆蓋直方圖，展示 1G7.v85 TDB 結合至 FcRH5，但是不結合至其他家族成員。

【0118】 圖 25B 為三種細胞株(293 親本、293-FcRH5 全長及 293-FcRH5-D9-缺失)之直方圖覆蓋，展示 1G7.v85 TDB 結合至 FcRH5 之膜近側域。

【0119】 圖 25C 為三種細胞株(SVT2-載體，SVT2-huFcRH5 及 SVT2-獼猴 FcRH5)之覆蓋直方圖，展示 1G7.v85 TDB 結合至獼猴 FcRH5 及人 FcRH5。

【0120】 圖 26A-26D 為三種細胞株(SVT2-載體，SVT2-huFcRH5 及 SVT2-獼猴 FcRH5)之覆蓋直方圖，展示 1G7/38E4.v1TDB(「1G7 TDB」)結合至多發性骨髓瘤(MM)細胞株及原代細胞。對於 MOLP-2 細胞(圖 26A)、人 CD20+B 細胞(圖 26B)、人 CD38+CD138+漿細胞(圖 26C)及來自 MM 骨髓吸出物之 CD38+CD138+MM 腫瘤細胞(圖 26D)，示出同型-PE 及 1G7 TDB 之覆蓋直方圖。

【0121】 圖 27A 為展示藉由流式細胞術分析偵測，在用靶細胞(MOLP-2)及 1G7 TDB 刺激後，CD8+細胞之劑量依賴性活化的圖表。

【0122】 圖 27B 為展示藉由 1G7 TDB 之靶細胞依賴性殺傷的圖表。插圖示出親本 Fox-NY 細胞株及轉染以表達較低或較高水準之人 FcRH5 的純系的流式細胞術覆蓋。誤差棒為重複三次之標準偏差。

【0123】 圖 27C-27E 為展示 1G7 TDB 誘導 CD8 增殖響應(5 天)之圖表，如藉由流式細胞術量測 CSFE 螢光強度稀釋來偵測。僅 CFSE 標記之人 CD8+細胞(圖 27C)，與 MOLP-2 一起共培養(圖 27D)，或與 MOLP-2 及 1000 ng/ml 之 1G7.v85 TDB 一起共培養(圖 27E)。

【0124】 圖 27F 為展示使用含有不同抗 CD3 臂(例如，UCHT1.v9、38E4.v1 及 40G5c)之 FcRH5 TDB 的靶依賴性細胞殺傷的圖表(參見 PCT 公開案第 WO 2015/095392A1 號，全部以引用方式併入本文)。抗 CD3 臂 38E4.v1(單價 K_D 0.5 nM，BIACORE®)，UCHT1.9(單價 K_D=2.5 nM，BIACORE®及 Scatchard)，及 40G5c(單價 K_D=51 nM，BIACORE®)各自與 m1G7 之抗 FcRH5 臂(K_D=11 nm，BIACORE®)配對並且測試結合至純化人 CD8+細胞。

【0125】 圖 27G 為展示使用 1G7 TDB 及 1G7/38E4.v1 雙-Fab(「1G7 雙-Fab」)之靶依賴性細胞殺傷的圖表。

【0126】 圖 28A 為展示原代多發性骨髓瘤腫瘤細胞、健康供體周邊 B 細胞及骨髓漿細胞中之 FcRH5 表現的圖表。FcRH5表現藉由流式細胞術分析並且相對於 MOLP-2 內部及分析對照中之表現來正規化。FcRH5 之相對水準計算如下：(「X」之 FcRH5 之幾何平均值/「X」之同型對照之幾何平均值)/(MOLP-2 之 FcRH5 之幾何平均值/MOLP-2 之同型對照之幾何平均值)。

【0127】 圖 28B 為展示 1G7.v85 TDB 對於人漿細胞之細胞毒性活性的圖表。人骨髓單核細胞 (BMMC)與 1G7.v85 TDB 一起培養並且活的 CD38+CD138+之細胞數目藉由流式細胞術分析。

【0128】 圖 28C 為展示 1G7.v85 TDB 對於不同患者衍生原代骨髓瘤細胞之細胞毒性活性的圖表。人骨髓瘤 BMMC 與從健康供體分離之 CD8+ T 細胞及 1G7.v85 TBD 共培養。

【0129】 圖 28D 為展示靶細胞中之非常低 FcRH5 表現足夠用於有效殺傷活性的圖表。每個細胞之 FcRH5 複本數目藉由 Scatchard 分析來判定。

【0130】 圖 28E(頂部)為展示具有 1q21增益之高風險骨髓瘤患者之骨髓生檢中之 FcRH5 mRNA 水準之 qRT-PCR 分析的圖表。mRNA 表現水準藉由 δCt (dCt)方法來計算。統計分析使用曼-惠特尼 U 測試來進行。(底部)為對於原代多發性骨髓瘤生檢之 FISH 分析之影像，展示 1q21 之正常二倍體(左側)及 1q21 之約三個至六個複本之混合物(右側)。當所計分腫瘤細胞之>20%具有 1q21.3 基因座之三個或更多個複本時，腫瘤樣品識別為 1q21 增益。

【0131】 圖 29A 為同型-PE 及抗 FcRH5 純系 1G7-PE 之直方圖覆蓋，描繪獼猴 CD20+ B 細胞上之 FcRH5 之表現。

【0132】 圖 29B 為同型-PE 及抗 FcRH5 純系 1G7-PE 之直方圖覆蓋，描繪獼猴 CD45-CD20-CD38+PC+漿細胞上之 FcRH5 之表現。

【0133】 圖 29C-29D 為展示在使用人 CD8+ T 細胞或獼猴 CD8+ T 細胞之 SVT2-獼猴-FcRH5(圖 29C)及 MOLP-2(圖 29D)之體外殺傷分析中，獼猴 CD8+ T 細胞與人 CD8+ T 細胞之間之可比較的劑量依賴性細胞毒性活性的圖表。

【0134】 圖 29E 為展示 1G7.v85 TDB 對於獼猴 CD20+ B 細胞(n=14)之體外殺傷活性的圖表。

【0135】 圖 29F 為展示 1G7.v85 TDB 對於八個不同供體(n=8)之獼猴骨髓之 CD45-CD20-CD38+PC+漿細胞之體外殺傷活性的圖表。

【0136】 圖 30A 為展示從人源化 NOD/SCIDγ 小鼠(NSG)之脾分離之脾臟人 T 細胞與來自健康供體之周邊人 T 細胞具有可比較活性的圖表。

【0137】 圖 30B 為展示 1G7 TDB 治療誘導人源化 NSG 小鼠中之皮下 MOLP-2 異種移植腫瘤之消退的圖表。小鼠用單一靜脈內劑量之媒劑或

0.5 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 來治療。指示平均腫瘤體積(黑色粗線)、個別腫瘤體積(灰色)及對照組之平均值(藍色虛線)。

【0138】 圖 31A 為展示在單一劑量投與 1 mg/kg、2 mg/kg 或 4 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 至三個動物/群組之後，在研究持續時間內繪製之 FcRH5 TDB 之血清濃度的圖表。展示藥效學參數之表如下示出。

【0139】 圖 31B 為展示在單一劑量投與 3 mg/kg 之抗 gD TDB 或 0.3 mg/kg 或 3 mg/kg 之 FcRH5 TDB 至三個動物/群組之後，在研究持續時間內繪製之 FcRH5 TDB(1G7.v85 TDB 及 1G7.v87/38E4.v1 TDB(「1G7.v87 TDB」))之血清濃度的圖表。展示藥效學參數之表如下示出。

【0140】 圖 31C-31D 為展示在單一劑量靜脈內投與媒劑或 1G7.v85 TDB(1 mg/kg、2 mg/kg 或 4 mg/kg)至三個動物/群組之後，獼猴周邊血中之 1G7.v85 TDB 誘導瞬態 T 細胞活化的圖表。

【0141】 圖 31E-31H 為展示在單一劑量靜脈內投與媒劑或 1G7.v85 TDB(1 mg/kg、2 mg/kg 或 4 mg/kg)至三個動物/群組之後，獼猴之周邊血(圖 31E)、脾(圖 31F)、下頜淋巴結(圖 31G)及骨髓(圖 31H)中之 CD20+ B 細胞之絕對計數的圖表。圖 31F-31H 以組平均值及平均標準誤差(SEM)來繪製。

【0142】 圖 31I 為展示 1G7.v85 TDB 耗盡獼猴中之骨髓漿細胞的圖表，其中繪製群組量測 SEM。

【0143】 圖 31J 為展示對於治療之獼猴 IgG 水準響應之變化的圖表，使用式{(給藥前 IgG 水準)-(結束研究 IgG 水準)}/(給藥前 IgG 水準)X100 來計算。給藥前與治療之後之間之差異藉由未配對 t-測試來分析。資料以組平均值及平均標準誤差(SEM)來繪製。

【0144】 圖 32A-32B 為展示在單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg 之 1G7.v85 TDB、2 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 或 4 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 之後，四組動物中之周邊血中之 CD4+ T 細胞(圖 32A)及 CD8+ T 細胞(圖 32B)之絕對計數的圖表。

【0145】 圖 32C 為展示 1G7.v85 TDB 治療之後腸系膜淋巴節中之 CD20+ B 細胞之絕對計數減少的圖表。繪圖以個別動物及平均組使用 SEM 來繪製。

【0146】 圖 32D 為展示單一劑量靜脈內投與 1 mg/kg、2 mg/kg 或 4 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 之後之 FcRH5 佔用的圖表。

【0147】 圖 33A-33F 為展示單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg 之 1G7.v85 TDB、2 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 及 4 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 之後，四組動物中之細胞因子 IL-6(圖 33A)、IL-2(圖 33B)、IFN-γ(圖 33C)、IL-1Rα(圖 33D)、IL-5(圖 33E)及 MCP-1(圖 33F)之濃度變化的圖表。

【0148】 圖 34 為展示 1G7.v85 TDB 治療誘導人 T 細胞中之 PD1 表現的一系列繪圖。CD8+ T 細胞用 1G7.v85 TDB 及 MOLP-2 靶細胞刺激 48 小時，然後藉由流式細胞術分析。

【0149】 圖 35A 為展示單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg、2 mg/kg 及 4 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 之後，獼猴中之 CD8+ T 細胞中之 PD1+百分比的圖表。1G7.v85 TDB 治療導致在體內誘導獼猴 T 細胞中之 PD1。

【0150】 圖 35B 為展示單一劑量靜脈內投與媒劑、1 mg/kg、2 mg/kg 及 4 mg/kg 之 1G7.v85 TDB 之後，獼猴中之 CD4+ T 細胞中之 PD1+百分比的圖表。

【0151】 圖 36A-36D 為展示來自血液之 CD4+ T 細胞(圖 19A)、來自脾之 CD8+ T 細胞(圖 36B)、來自淋巴結之 CD8+ T 細胞(圖 36C)，及來自骨髓之 CD8+ T 細胞(圖 36D)中之 PD-1 表現的繪圖，如給予 1G7.v85 TDB 或媒劑之後七天藉由 FACS 分析。

【0152】 圖 37A-37B 為展示在存在或不存在抗 PD-L1 或抗 PD-1 抗體的情況下，1G7.v85 TDB 重定向預刺激 CD8+ T 細胞之活性以殺傷表達 FcRH5 及 PD-1 之 HEK-293T 細胞(「293-FcRH5-PD-L1 細胞」)的能力的圖表。圖 37A 中之曲線以三次重複之平均值及標準誤差(SD)來繪製。

【0153】 圖 38A 為展示在存在及不存在地塞米松(Dex)的情況下，藉由 1G7.v85 TDB 之 SVT2-FcRH5 之靶細胞殺傷的圖表。

【0154】 圖 38B 為展示在存在及不存在 1 μM Dex 的情況下，用 1G7.v85 TDB 治療之後之細胞因子(即，IL-2、IL-6、TNF-α 及 IFN-γ)釋放的一系列圖表。

【0155】 圖 39 為展示從人 IgG1 產生雙-Fab 的示意圖。

【0156】 圖 40A 為展示如藉由 ELISA 分析判定，藉由雙-Fab A-D 及 $F(ab')_2A$ 來結合 FcRH5 的圖表。

【0157】 圖 40B 為展示如藉由 ELISA 分析判定，藉由雙-Fab A-D 及 $F(ab')_2A$ 來結合 CD3 的圖表。

【0158】 圖 41 為展示藉由雙-FabA-D 及 $F(ab')_2A$ 的靶介導 T 細胞活化之量的圖表。

【實施方式】

I. 定義

【0159】 如本文使用之術語「約」係指熟習此技術領域者容易知曉之相應值的通常誤差範圍。本文中對「約」某一個值或參數的提及包括(並且描述)針對該值或參數本身的實施例。

【0160】 出於本文之目的，「接受體人類構架」為以下構架，其包含源於如以下定義之人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之輕鏈可變域(VL)構架或重鏈可變域(VH)構架的胺基酸序列。「源於」人類免疫球蛋白構架或人類一致構架之接受體人類構架可包含與人類免疫球蛋白構架或人類一致構架相同之胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列變化。在一些實施例中，胺基酸變化數目為 10 或 10 以下、9 或 9 以下、8 或 8 以下、7 或 7 以下、6 或 6 以下、5 或 5 以下、4 或 4 以下、3 或 3 以下、或 2 或 2 以下。在一些實施例中，VL 接受體人類構架之序列與 VL 人類免疫球蛋白構架序列或人類一致構架序列一致。

【0161】 「親和力」係指分子(例如抗體)之單個結合位點與其結合搭配物(例如抗原)之間非共價相互作用的強度總和。除非另外指示，否則如本文所用之「結合親和力」係指反映結合對(例如抗體與抗原)成員之間 1:1 相互作用的固有結合親和力。分子 X 對其搭配物 Y 之親和力可通常由解離常

數(K_D)表示。親和力可藉由此項技術中已知之常用方法(包括本文所述者)加以量測。在下文中描述量測結合親和力之特定說明性及示範性實施例。

【0162】 「親和力成熟」抗體係指在一或多個高變區(HVR)中具有一或多處改變之抗體，與不具有該等改變之親本抗體相比，該等改變改良該抗體對抗原之親和力。

【0163】 術語「抗 FcRH5 抗體」及「結合 FcRH5 之抗體」係指能夠以足夠親和力結合 FcRH5 之抗體，從而該抗體適用作靶向 FcRH5 之診斷劑及/或治療劑。在一個實施例中，抗 FcRH5 抗體與無關非 FcRH5 蛋白之結合程度小於抗體與 FcRH5 之結合的約 10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合 FcRH5 之抗體之解離常數(K_D)≤1 μM、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM 或≤0.001 nM(例如 10^{-8} M 或以下，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體結合在來自不同物種之 FcRH5 間保守的 FcRH5 抗原決定基。

【0164】 術語「抗 CD3 抗體」及「結合 CD3 之抗體」係指能夠以足以使抗體在靶向 CD3 時適用作診斷劑及/或治療劑之親和力結合 CD3 之抗體。在一個實施例中，抗 CD3 抗體結合無關非 CD3 蛋白質之程度小於抗體與 CD3 之結合之約 10%，如例如藉由放射免疫分析(RIA)所量測。在某些實施例中，結合 CD3 之抗體之解離常數(K_D)為≤ 1 μM、≤ 100 nM、≤ 10 nM、≤ 1 nM、≤ 0.1 nM、≤ 0.01 nM 或≤ 0.001 nM(例如 10^{-8} M 或以下，例如 10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如 10^{-9} M 至 10^{-13} M)。在某些實施例中，抗 CD3 抗體結合 CD3 中在來自不同物種之 CD3 中保守的抗原決定基。

【0165】 術語「抗體」在本文中係以最廣泛意義使用且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體(例如雙特異性抗體)及抗體片段(例如雙-Fab)，只要其展現所需抗原結合活性即可。

【0166】 「抗體片段」係指除完整抗體以外之分子，其包含完整抗體之一部分且結合完整抗體所結合之抗原。抗體片段之實例包括但不限於雙-Fab；Fv；Fab；Fab、Fab'-SH；$F(ab')_2$；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子(例如 scFv)；及由抗體片段形成之多特異性抗體。

【0167】 「結合域」意指化合物或分子的特異性結合至靶抗原決定基、抗原、配位體或受體之部分。結合域包括但不限於抗體(例如，單株、多株、重組、人源化及嵌合抗體)、抗體片段或其一部分(例如，雙-Fab 片段、Fab 片段、$F(ab')_2$、scFv 抗體、SMIP、域抗體、雙功能抗體、小分子抗體、scFv-Fc、親和體、奈米抗體及 VH 及/或 VL 域抗體)、受體、配位體、適體及具有確定結合搭配物之其他分子。

【0168】 如本文使用，術語「電荷區」係指多肽(例如，抗體)的包括一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10)鹼性或酸性胺基酸之位置，該等鹼性或酸性胺基酸能夠與具有一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10)或鹼性或酸性胺基酸之同源電荷區形成電荷對，此時電荷區及其同源電荷區具有相反總相對電荷。

【0169】 如本文使用，術語「電荷對」係指在相反總電荷之兩個電荷區之間形成之鍵。

【0170】 「化學治療劑」為適用於治療癌症之化合物。化學治療劑之例子包括烷化劑諸如塞替派及環磷醯胺(CYTOXAN®)；磺酸烷基酯諸如白消安、英丙舒凡及哌泊舒凡；氮丙啶類諸如苯佐替派(benzodopa)、卡波醌、美妥替派(meturedopa)及烏瑞替派(uredopa)；乙烯亞胺及甲基密胺，包括六甲蜜胺、三亞乙基密胺、三亞乙基磷醯胺、三亞乙基硫代磷醯胺及三羥甲基密胺；番荔枝內酯(acetogenin)(尤其是布拉他辛(bullatacin)及布拉他辛酮(bullatacinone))；δ-9-四氫大麻酚(屈大麻酚，MARINOL®)；β-拉帕醌；拉帕醇；秋水仙鹼；樺木酸；喜樹鹼(包括合成類似物托泊替康(HYCAMTIN®)、CPT-11(伊立替康，CAMPTOSAR®)；乙醯基喜樹鹼、莨菪素及 9-胺基喜樹鹼)；苔蘚抑素；callystatin; CC-1065(包括其合成類似物阿多來新、卡澤來新及比澤來新)；鬼臼毒素；鬼臼酸；替尼泊苷；念珠藻環肽(尤其是念珠藻環肽 1 和念珠藻環肽 8)；多拉司他汀；多卡米星(包括合成類似物 KW-2189 和 CB1-TM1)；艾榴塞洛素；水鬼蕉鹼；sarcodictyin；海綿抑素；氮芥類諸如苯丁酸氮芥、萘氮芥、膽磷醯胺(chlorophosphamide)、雌莫司汀、異環磷醯胺、氮芥、鹽酸氧氮芥、美法侖、新氮芥、苯芥膽甾醇、潑尼莫司汀、曲磷胺、烏拉莫司汀；硝基脲類諸如卡莫司汀、氯脲菌素、福莫司汀、洛

莫司汀、尼莫司汀、雷莫司汀；抗生素類諸如烯二炔抗生素(例如刺孢黴素，尤其是刺孢黴素 γ1I 和刺孢黴素 ΩII(參見 例如 Nicolaou 等人 *Angew. Chem Intl. Ed. Engl.* 33: 183-186, 1994)；CDP323；經口 α-4 整聯蛋白抑制劑；達內黴素，包括達內黴素 A；埃斯培拉黴素；以及新制癌菌素生色團及有關色蛋白烯二炔抗生素生色團)、阿克拉黴素(aclacinomysin)、放線菌素、氨茴黴素(authramycin)、偶氮絲氨酸、博來黴素、放線菌素、carabicin、洋紅黴素(caminomycin)、嗜癌黴素、色黴素、更生黴素、柔紅黴素、地托比星、6-重氮基-5-氧代-L-正白胺酸、多柔比星(包括 ADRIAMYCIN®、嗎啉代-多柔比星、氰基嗎啉代-多柔比星、2-吡咯啉代-多柔比星、多柔比星 HCl 脂質體注射劑(DOXIL®)、脂質體多柔比星 TLC D-99(MYOCET®)、聚乙二醇脂質體多柔比星(CAELYX®)及脫氧多柔比星)、表柔比星、依索比星、伊達比星、麻西羅黴素、絲裂黴素類諸如絲裂黴素 C、麥考酚酸、諾拉黴素、橄欖黴素、培洛黴素、泊非黴素、嘌羅黴素、三鐵阿黴素、羅多比星、鏈黑黴素、鏈佐星、殺結核菌素、烏苯美司、淨司他丁、佐柔比星；抗代謝藥諸如甲氨蝶呤、吉西他賓(GEMZAR®)、喃氟啶(UFTORAL®)、卡培他濱(XELODA®)、埃博黴素及 5-氟尿嘧啶(5-FU)；考布他汀；葉酸類似物諸如二甲葉酸、甲胺蝶呤、蝶羅呤、三甲曲沙；嘌呤類似物諸如氟達拉濱、6-巰嘌呤、硫咪嘌呤、硫鳥嘌呤；嘧啶類似物諸如安西他濱、阿紮胞苷、6-氮雜尿苷、卡莫氟、阿糖胞苷、二脫氧尿苷、去氧氟尿苷、依諾他濱、氟尿苷；雄激素類諸如卡普睾酮、丙酸屈他雄酮、環硫雄醇、美雄烷、睾內酯；抗腎上腺類諸如氨魯米特、米托坦、曲洛司坦；葉酸補充劑諸如亞葉酸(frolinic acid)；醋葡醛內酯；醛磷醯胺糖苷；胺基酮戊酸；恩尿嘧啶；安吖啶；bestrabucil；比生群；依達曲沙(edatraxate)；地磷醯胺(defofamine)；秋水仙胺；地吖醌；elformithine；依利醋銨；埃博黴素；依託格魯；硝酸鎵；羥基脲；香菇多糖；氯尼達明；美登素類化合物諸如美坦辛及安絲菌素；米托胍腙；米托蒽醌；莫哌達醇；尼曲吖啶；噴司他丁 ；蛋氨氮芥；吡柔比星；洛索蒽醌；2-乙基醯肼；丙卡巴肼；PSK®多醣複合物(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.)；雷佐生；根黴素；西佐喃；鍺螺胺；替奴佐酸；三亞胺醌；2,2',2'-三氯三乙胺；單端孢黴烯類(尤其 T-2 毒素，疣孢菌素 A，

桿孢菌素 A 及蛇形菌素)；烏拉坦；長春地辛(ELDISINE®, FILDESIN®)；達卡巴嗪；甘露氮芥；二溴甘露醇；二溴衛矛醇；哌泊溴烷；gacytosine；阿糖胞苷(「Ara-C」)；塞替派；紫杉烷，例如，紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.)，紫杉醇之白蛋白工程化奈米顆粒調配物(ABRAXANE™)，及多西紫杉醇(TAXOTERE®, Rhome-Poulene Rorer, Antony, France)；苯丁酸氮芥；6-硫鳥嘌呤；巯基嘌呤；甲胺蝶呤；鉑劑諸如順鉑，奧克賽鉑(例如，ELOXATIN®)，及卡波鉑；長春花，其防止微管蛋白聚合形成微管，包括長春花鹼(VELBAN®)，長春新鹼(ONCOVIN®)，長春地辛(ELDISINE®, FILDESIN®)，及長春瑞賓(NAVELBINE®)；依託泊苷(VP-16)；異環磷醯胺；米托蒽醌；亞葉酸；諾肖林；依達曲沙；柔紅黴素；胺基蝶呤；伊班膦酸鹽；拓撲異構酶抑制劑 RFS 2000；二氟甲基鳥胺酸(DMFO)；類視色素諸如視黃酸，包括蓓薩羅丁(TARGRETIN®)；雙膦酸鹽類諸如氯膦酸鹽(例如，BONEFOS®或 OSTAC®)，依替膦酸鹽(DIDROCAL®)，NE-58095，唑來膦酸/唑來膦酸鹽(ZOMETA®)，阿侖膦酸鹽(FOSAMAX®)，帕米膦酸鹽(AREDIA®)，替魯膦酸鹽(SKELID®)，或利塞膦酸鹽(ACTONEL®)；曲沙他濱(1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物)；反義寡核苷酸，尤其抑制涉及異常細胞增殖之信號傳導途徑中之基因表達的反義寡核苷酸，例如像，PKC-α、Raf、H-Ras 及表皮生長因子受體(EGF-R)(例如，厄洛替尼(Tarceva™))；及減少細胞增殖之 VEGF-A；疫苗諸如 THERATOPE®疫苗及基因治療疫苗，例如，ALLOVECTIN®疫苗，LEUVECTIN®疫苗，及 VAXID®疫苗；拓撲異構酶 1 抑制劑(例如，LURTOTECAN®)；rmRH(例如，ABARELIX®)；BAY439006(索拉非尼；Bayer)；SU-11248(舒尼替尼，SUTENT®, Pfizer)；哌立福辛、COX-2 抑制劑(例如，塞來昔布或依託考昔)，蛋白體抑制劑(例如，PS341)；硼替佐米(VELCADE®)；CCI-779；替吡法尼(R11577)；orafenib，ABT510；Bcl-2 抑制劑諸如奧利默森納(GENASENSE®)；匹杉瓊；EGFR 抑制劑；酪胺酸激酶抑制劑；絲胺酸-蘇胺酸激酶抑制劑諸如納巴黴素(西羅莫司，RAPAMUNE®)；法呢醯轉移酶抑制劑諸如洛那法尼(SCH 6636, SARASAR™)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及

上述兩者或兩者以上之組合諸如 CHOP，環磷醯胺、多柔比星、長春新鹼與潑尼龍之混合療法之縮寫；及 FOLFOX，具有奧克賽鉑(ELOXATIN™)與 5-FU 及亞葉酸組合之治療方案之縮寫，及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合。

【0171】 如本文定義之化學治療劑包括「抗激素劑」或「內分泌治療劑」，其用於調節、減少、阻斷或抑制可促進癌症生長之激素的作用。其可為激素本身，包括但不限於：抗雌激素及選擇性雌激素受體調控劑(SERM)，包括，例如，它莫西芬(包括 NOLVADEX®它莫西芬)，雷洛昔芬，屈洛昔芬，4-羥基它莫西芬，曲沃昔芬，雷洛西芬，LY117018，奧那司酮，及 FARESTON.cndot.托瑞米芬；抑制芳香酶的芳香酶抑制劑，其調節腎上腺腺體中雌激素產生之，例如像 4(5)-咪唑，氨魯米特，MEGASE®甲地孕酮，AROMASIN®依西美坦，福美司坦，法倔唑，RIVISOR®伏氯唑，FEMARA®來曲唑，及 ARIMIDEX®阿那曲唑；及抗雄激素諸如氟他胺，尼魯米特，比卡魯胺，亮丙瑞林及戈舍瑞林；以及曲沙他濱(1,3-二氧戊環核苷胞嘧啶類似物)；反義寡核苷酸，尤其抑制涉及異常細胞增殖之信號傳導途徑中之基因表達的反義寡核苷酸，例如像 PKC-α、Raf 及 H-Ras；核酶諸如 VEGF 表現抑制劑(例如，ANGIOZYME®核酶)及 HER2 表現抑制劑；疫苗諸如基因治療疫苗，例如，ALLOVECTIN®疫苗，LEUVECTIN®疫苗，及 VAXID®疫苗；PROLEUKIN® rIL-2；LURTOTECAN®拓撲異構酶 1 抑制劑；ABARELIX®rmRH；長春瑞賓及埃斯培拉黴素(參見美國專利第 4,675,187 號)，及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物；以及上述兩者或兩者以上之組合。

【0172】 術語「免疫調節藥物」或「IMiD」係指以下類別藥物，其諸如藉由刺激抗體形成及/或抑制周邊血細胞活性來改變免疫系統響應或免疫系統之功能，並且包括但不限於沙立度胺(α-N-鄰苯二甲醯-戊二醯亞胺)及其類似物，REVLIMID®(來那度胺)，ACTI-MID™(泊馬度胺)，OTEZLA®(阿普斯特)，及其醫藥學上可接受之鹽或酸。

【0173】 術語「嵌合」抗體係指重鏈及/或輕鏈之一部分源於特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈之其餘部分源於不同來源或物種之抗體。

【0174】 如本文所用之術語「FcRH5」係指由細胞中之 FcRH5 蛋白所產生之任何天然 FcRH5。除非另外指示，否則該術語包括來自任何脊椎動物來源之 FcRH5，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類及食蟹猴(cynomolgus monkey))；及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)。該術語亦包括 FcRH5 之天然存在之變異體 ,例如拼接變異體或對偶基因變異體。示範性人類 FcRH5 蛋白質序列之胺基酸序列顯示於 SEQ ID NO:114 中。示範性食蟹猴 FcRH5 蛋白質之胺基酸序列顯示於 SEQ ID NO: 215 中。

【0175】 除非另外指示，否則如本文使用之術語「分化抗原簇 3」或「CD3」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然 CD3，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)，包括例如 CD3ε、CD3γ、CD3α 及 CD3β 鏈。該術語包括「全長」未加工 CD3(例如，未加工或未修飾之 CD3ε 或 CD3γ)，以及由細胞加工所產生之任何形式之 CD3。該術語亦包括 CD3 之天然存在變異體，包括例如拼接變異體或對偶基因變異體。CD3 包括例如人 CD3ε 蛋白質(NCBI RefSeq No. NP_000724)，其為 207 個胺基酸長度，及人 CD3γ 蛋白質(NCBI RefSeq No. NP_000064)，其為 182 個胺基酸長度。

【0176】 抗體之「類別」係指抗體重鏈所具有之恆定域或恆定區之類型。存在五個主要抗體類別：IgA、IgD、IgE、IgG 及 IgM，且此等類別中之若干類別可進一步分成子類(同型)，例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1 及 IgA_2。對應於不同免疫球蛋白類別之重鏈恆定域分別稱為α、δ、ε、γ及μ。

【0177】 應瞭解本文所述之本發明之態樣及實施例包括「由態樣及實施例組成」及/或「基本上由態樣及實施例組成」。

【0178】 如本文所用之術語「細胞毒性劑」係指抑制或阻止細胞功能及/或導致細胞死亡或破壞之物質。細胞毒性劑包括但不限於放射性同位素(例如 At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及 Lu 之放射性同位素)；化學治療劑或藥物(例如甲胺蝶呤(methotrexate)、阿德力黴素(adriamicin)、長春花生物鹼(長春新鹼(vincristine)、長春花鹼(vinblastine)、依託泊苷(etoposide))、小紅莓(doxorubicin)、美法侖(melphalan)、絲裂黴素

C(mitomycin C)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、道諾黴素(daunorubicin)或其他嵌入劑)；生長抑制劑；酶及其片段，諸如核分解酶；抗生素；細菌、真菌、植物或動物來源之毒素，諸如小分子毒素或酶活性毒素，包括其片段及/或變異體；及以下揭示之各種抗腫瘤劑或抗癌劑。

【0179】 「病症」為將受益於治療之任何病狀包括但不限於慢性及急性病症或疾病包括使哺乳動物易患所述病症之彼等病理狀況。

【0180】 術語「細胞增殖病症」及「增殖病症」係指與某種程度之異常細胞增殖相關之病症。在一實施例中，細胞增殖病症為癌症。在一實施例中，細胞增殖性疾病為腫瘤。

【0181】 術語「癌症」及「癌性」係指或描述哺乳動物之特徵通常在於細胞生長/增殖失調之生理學病狀。癌症之實例包括(但不限於)黑素瘤、癌瘤、淋巴瘤(例如霍奇金氏及非霍奇金氏淋巴瘤)、母細胞瘤、肉瘤及白血病。在一些實施例中，癌症為 FcRH5 陽性癌症。此等癌症之更特定實例包括多發性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤(MCL)、彌散性大 B-細胞淋巴瘤(DLBCL)、濾泡性淋巴瘤(FL)、急性骨髓性白血病(AML)、骨髓增殖異常症候群(MDS)、慢性髓性白血病(CML)、慢性髓單核細胞白血病、急性前髓細胞白血病(APL)、慢性骨髓增殖病症、血小板性白血病、前驅 B-細胞急性淋巴母細胞白血病(前-B-ALL)、前驅 T 細胞急性淋巴母細胞白血病(前-T-ALL)、肥大細胞疾病、肥大細胞白血病、肥大細胞肉瘤、骨髓性肉瘤、淋巴性白血病及未分化白血病。在一些實施例中，癌症為 B 細胞癌症。具體而言，癌症可包括涉及過量抗體產生之病狀，諸如單株丙種球蛋白病，輕鏈澱粉樣變性，未確定顯著性之單株丙種球蛋白病及孤立漿細胞瘤，分離漿細胞瘤及髓外漿細胞瘤。

【0182】 如本文使用，「腫瘤」係指所有贅生性細胞生長及增殖，不論惡性或良性，及所有前癌性及癌性細胞及組織。如本文提及之術語「癌症」、「癌性」、「細胞增殖病症」、「增殖病症」及「腫瘤」並非互斥的。

【0183】 「效應功能」係指可歸因於抗體之 Fc 區之彼等生物活性，其隨抗體同型而變化。抗體效應功能之實例包括：C1q 結合及補體依賴性

細胞毒性(CDC)；Fc 受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬作用；細胞表面受體(例如 B 細胞受體)之下調；及 B 細胞活化。

【0184】 「有效量」之化合物，例如，本發明之抗 FcRH5 抗體或其組合物(例如，醫藥組合物)至少為達成所需治療或預防結果所需要之最小量，諸如特定病症(例如，細胞增殖病症，例如，癌症)之可量測改善或預防。本文中之有效量可根據諸如患者之疾病狀態、年齡、性別及體重、及抗體於個體中引發所要反應之能力等因素變化。有效量亦為治療有利作用超過治療之任何毒性或有害作用的量。對於預防性使用，有利或所需結果包括諸如以下結果：消除或減少風險，減輕嚴重程度，或延遲疾病之發作，包括疾病之生化、組織學及/或行為症狀，其併發症，及在疾病之顯現期間呈現的中間病理表型。對於治療性使用，有利或所需結果包括諸如以下臨床結果：減少由疾病產生之一或多個症狀，增加患疾病者之生活品質，減少治療疾病所需要之其他藥物之劑量，諸如經由靶向輸送來增強另一種藥物之作用，延遲疾病之進程，及/或延長存活。在癌症或腫瘤之情形下，有效量之藥物可減少癌細胞之數目；降低腫瘤尺寸；抑制(亦即在某種程度上減慢且較佳地停止)癌細胞浸潤至外周器官中；抑制(亦即在某種程度上減慢且較佳地停止)腫瘤轉移；在某種程度上抑制腫瘤生長；及/或在某種程度上減輕與癌症相關之一或多種症狀。有效量可分一或多次投藥來投與。出於本發明之目的，藥物、化合物或醫藥組合物之有效量為足以直接或間接地實現預防性或治療性治療之量。如在臨床情形中瞭解，藥物、化合物或醫藥組合物之有效量可能結合另一種藥物、化合物或醫藥組合物來達成或可能不達成。因此，「有效量」可在投與一或多種治療劑之情形下考慮，並且若結合一或多種其他藥劑，可達成或達成理想結果，則單一藥劑可被認為以有效量給予。

【0185】 術語「Fc 區」在本文中用於定義免疫球蛋白重鏈之含有至少一部分恆定區之 C 端區域。該術語包括天然序列 Fc 區域及變異體 Fc 區域。在一實施例中，人 IgG 重鏈 Fc 區域從 Cys226，或 Pro230 延伸至重鏈之羧基末端。然而，Fc 區域之 C 末端離胺酸(Lys447)可存在或可不存在。除非本文另外規定，Fc 區域或恆定區中之胺基酸殘基之編號係根據 EU 編

號系統，亦稱為 EU 索引，如在 Kabat 等人 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中所描述。

【0186】 「構架」或「FR」係指除高變區(HVR)殘基以外之可變域殘基。可變域之 FR 通常由四個 FR 域組成：FR1、FR2、FR3 及 FR4。因此，HVR 及 FR 序列通常按以下順序出現在 VH(或 VL)中：FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

【0187】 術語「FcRH5 陽性細胞」係指在表面上表現 FcRH5 之細胞。在一些實施例中，FcRH5 為 FcRH5a、FcRH5b、FcRH5c、UniProt 識別符 Q96RD9-2 及/或 FcRH5d 之一或多者。在一些實施例中，FcRH5 為 FcRH5c。

【0188】 術語「FcRH5 陽性癌症」係指包含在表面上表現 FcRH5 之細胞之癌症。出於確定細胞是否在表面上表現 FcRH5 之目的，將 FcRH5 mRNA 表現視為與 FcRH5 在細胞表面上表現相關聯。在一些實施例中，FcRH5 mRNA 之表現係藉由選自原位雜交及 RT-PCR(包括定量 RT-PCR)之方法加以測定。或者，細胞表面上之 FcRH5 之表現可例如使用 FcRH5 之抗體在諸如免疫組織化學、FACS 等之方法中來判定。在一些實施例中，FcRH5 為 FcRH5a、FcRH5b、FcRH5c、UniProt 識別符 Q96RD9-2 及/或 FcRH5d 中之一或多者。在一些實施例中，FcRH5 為 FcRH5c。

【0189】 術語「全長抗體」、「完整抗體」及「完全抗體」在本文中可互換使用來表示具有與天然抗體結構實質上類似之結構或具有含有如本文定義之 Fc 區之重鏈的抗體。

【0190】 術語「FcRH5 之糖基化形式」係指藉由添加碳水化合物殘基而經轉譯後修飾的 FcRH5 之天然存在之形式。

【0191】 在本文使用時，「生長抑制劑」係指在體外或體內抑制細胞生長之化合物或組合物。在一實施例中，生長抑制劑為防止或減少表達與抗體結合之抗原的細胞之增殖的生長抑制抗體。在另一實施例中，生長抑制劑可為顯著減少 S 期中之細胞之百分比的抑制劑。生長抑制劑之實例包括阻斷細胞週期進程(在除了 S 期以外的位置處)的試劑，諸如誘導 G1 停止

及 M 期停止之試劑。經典 M 期阻滯劑包括長春花(長春新鹼及長春花鹼)、紫杉烷類，及拓撲異構酶 II 抑制劑諸如多柔比星、表柔比星、柔紅黴素、依託泊苷及博來黴素。停止 G1 之彼等試劑亦發展成 S 期停止，例如，DNA 烷化劑諸如它莫西芬、潑尼松、達卡巴嗪、二氯甲基二乙胺、順鉑、甲胺蝶呤、5-氟尿嘧啶及 ara-C。進一步資訊可發現於 Mendelsohn 及 Israel 編, The Molecular Basis of Cancer, Chapter 1, 標題為「Cell cycle regulation, oncogenes, and antineoplastic drugs」 Murakami 等人(W.B. Saunders, Philadelphia, 1995)，登錄第 13 頁中。紫杉烷類(紫杉醇及多西紫杉醇)為均來源於紫杉樹之抗癌藥物。來源於歐洲紫杉之多西紫杉醇(TAXOTERE®, Rhone-Poulenc Rorer)為紫杉醇(TAXOL®, Bristol-Myers Squibb)之半合成類似物。紫杉醇及多西紫杉醇促進從微管蛋白二聚體組裝微管及藉由防止解聚合來使微管穩定，從而導致抑制細胞中之有絲分裂。

【0192】 術語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及「宿主細胞培養物」可互換使用且係指已引入有外源性核酸之細胞，包括此等細胞之子代。宿主細胞包括「轉型體」及「轉型細胞」，其包括初級轉型細胞及源於其之子代而不考慮繼代數目。子代在核酸內含物方面可能與母細胞不完全相同，而可能含有突變。本文包括具有與在原始轉型細胞中所篩檢或選擇相同之功能或生物活性之突變型子代。

【0193】 「人類抗體」為具有對應於由人類或人類細胞所產生或源於利用人類抗體譜系或其他人類抗體編碼序列之非人類來源之抗體胺基酸序列之胺基酸序列的抗體。人類抗體之此定義明確排除包含非人類抗原結合殘基之人源化抗體。人類抗體可使用此項技術中已知之各種技術，包括噬菌體展示文庫來產生。Hoogenboom 及 Winter. *J. Mol. Biol.* 227:381,1991; Marks 等人 *J. Mol. Biol.* 222:581,1991。在 Cole 等人 *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner 等人 *J. Immunol.*, 147(1):86-95,1991 中描述之方法亦可用於製備人單株抗體。亦參見 van Dijk 及 van de Winkel. *Curr. Opin. Pharmacol.* 5:368-74, 2001。人抗體可藉由將抗原投與轉殖基因動物來製備，該動物已經改變以響應於抗原攻擊來產生此等抗體，但是其內源性基因座具有停用，例如，經免疫轉殖基因小鼠(關於

XENOMOUSE™技術，參見例如美國專利第 6,075,181 及 6,150,584 號)。關於經由人B-細胞融合瘤技術來產生之人抗體 亦參見例如Li等人*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 103:3557-3562, 2006。

【0194】 「人類一致構架」為代表在人類免疫球蛋白 VL 或 VH 構架序列之選擇中最常出現之胺基酸殘基的構架。一般而言，人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列係選自可變域序列之亞群。總體上，序列之亞群為如 Kabat 等人 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第 1-3 卷中之亞群。在一個實施例中，對於 VL，亞群為如 Kabat 等人(同上)中之亞群 κI。在一個實施例中，對於 VH，亞群為如 Kabat 等人(同上)中之亞群 III。

【0195】 「人源化」抗體係指包含來自非人類 HVR 之胺基酸殘基及來自人類 FR 之胺基酸殘基的嵌合抗體。在某些實施例中，人源化抗體將包含實質上全部至少一個且通常兩個可變域，其中全部或實質上全部 HVR(例如 CDR)對應於非人類抗體之 HVR，且全部或實質上全部 FR 對應於人類抗體之 FR。人源化抗體視情況可包含源於人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。例如非人類抗體之抗體之「人源化形式」係指已進行人源化之抗體。

【0196】 如本文所用之術語「高變區」或「HVR」係指抗體可變域中序列高變(「互補決定區」或「CDR」)及/或形成結構確定之環(「高變環」)及/或含有抗原接觸殘基(「抗原接觸」)之各區域。一般而言，抗體包含六個 HVR；三個在 VH 中(H1、H2、H3)，且三個在 VL 中(L1、L2、L3)。示例性 HVR 在本文中包括：

(a) 高變環，其存在於胺基酸殘基 26-32 (L1)、50-52 (L2)、91-96 (L3)、26-32 (H1)、53-55 (H2)及 96-101 (H3) (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917, 1987)；

(b) CDR，其存在於胺基酸殘基 24-34 (L1)、50-56 (L2)、89-97 (L3)、31-35b (H1)、50-65 (H2)及 95-102 (H3) (Kabat 等人 *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))；

(c) 抗原接觸，其存在於胺基酸殘基 27c-36 (L1)、46-55 (L2)、89-96 (L3)、

30-35b (H1)、47-58 (H2)及 93-101 (H3) (MacCallum 等人 *J. Mol. Biol.* 262: 732-745, 1996)；及

(d) (a)、(b)及/或(c)之組合，包括HVR胺基酸殘基 46-56 (L2)、47-56 (L2)、48-56 (L2)、49-56 (L2)、26-35 (H1)、26-35b (H1)、49-65 (H2)、93-102 (H3)及 94-102 (H3)。

【0197】 除非另外指示，否則 HVR 殘基及可變域中之其他殘基(例如 FR 殘基)在本文中係根據 Kabat 等人(同上)加以編號。

【0198】 「免疫結合物」為結合於一或多個異源分子(包括但不限於細胞毒性劑)之抗體。

【0199】 「受試者」或「個體」為哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴養動物(例如母牛、綿羊、貓、狗及馬)、靈長類動物(例如人類及非人類靈長類動物，諸如猴)、兔及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)。在某些實施例中，受試者或個體為人類。

【0200】 「經分離抗體」為已與天然環境之組分分離之抗體。在一些實施例中，將抗體純化至大於 95%或 99%純度，如藉由例如電泳(例如 SDS-PAGE、等電聚焦(IEF)、毛細管電泳)或層析(例如離子交換或逆相 HPLC)所測定。對於評估抗體純度之方法之評述，參見例如 Flatman 等人 *J. Chromatogr. B* 848:79-87, 2007。

【0201】 「經分離核酸」係指已與其自然環境之組分經分離核酸分子。經分離核酸包括通常含有核酸分子之細胞中含有之核酸分子，但該核酸分子係存在於染色體外或存在於不同於其天然染色體位置之染色體位置處。

【0202】 「編碼抗 FcRH5 抗體之經分離核酸」係指一或多個編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之核酸分子，包括在單個載體或各別載體中之此(此等)核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置處之此(此等)核酸分子。

【0203】 「編碼抗 CD3 抗體之經分離核酸」係指一或多個編碼抗體重鏈及輕鏈(或其片段)之核酸分子，包括在單一載體或各別載體中之此(等)核酸分子及存在於宿主細胞中之一或多個位置上之此(等)核酸分子。

【0204】 如本文所用之術語「單株抗體」係指自實質上均質之抗體群

體獲得之抗體，亦即除可能之變異抗體(例如含有天然存在之突變或在製備單株抗體製備物期間產生，此等變異體通常少量存在)之外，構成該群體之個別抗體相同及/或結合相同抗原決定基。與通常包括針對不同決定子(抗原決定基)之不同抗體之多株抗體製備物不同，單株抗體製備物之各單株抗體係針對抗原上之單個決定子。因此，修飾語「單株」指示如從抗體之實質上均質群體獲得之抗體的特性，並且不應理解為要求該等任何特定方法來產生抗體。舉例而言，根據本發明使用之單株抗體可藉由各種技術製成，包括但不限於融合瘤方法、重組 DNA 方法、噬菌體展示方法，及利用含有全部或一部分人免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物的方法，此等方法及製造單株抗體之其他示例性方法在本文中描述。

【0205】 「裸抗體」係指未結合於異源部分(例如細胞毒性部分)或放射性標記之抗體。裸抗體可存在於醫藥調配物中。

【0206】 「天然抗體」係指具有不同結構之天然存在之免疫球蛋白分子。舉例而言，天然 IgG 抗體為約 150,000 道爾頓(dalton)之雜四聚醣蛋白，由經二硫鍵鍵結之兩個相同輕鏈及兩個相同重鏈構成。自 N 端至 C 端，各重鏈具有可變區(VH)，亦稱為可變重域或重鏈可變域，隨後為三個恆定域(CH1、CH2 及 CH3)。類似地，自 N 端至 C 端，各輕鏈具有可變區(VL)，亦稱為可變輕域或輕鏈可變域，隨後為恆定輕(CL)域。抗體之輕鏈可基於其恆定域之胺基酸序列指定為稱為 κ 及 λ 之兩種類型中之一者。

【0207】 術語「藥品說明書」用於指慣常包括在治療性產品之商業包裝中之說明書，其含有關於與使用此等治療性產品相關之適應症、用法、劑量、投藥、組合療法、禁忌症及/或警告的資訊。

【0208】 術語「PD-1 軸結合拮抗劑」係指如下分子，該分子抑制 PD-1 軸結合搭配物與其結合搭配物中之一或多者之相互作用，以便消除由 PD-1 信號傳導軸上之信號傳導所導致的 T 細胞功能障礙，結果為恢復或增強 T 細胞功能(例如，增殖、細胞因子產生、靶細胞殺傷)。如本文使用，PD-1 軸結合拮抗劑包括 PD-1 結合拮抗劑、PD-L1 結合拮抗劑及 PD-L2 結合拮抗劑。

【0209】 術語「PD-1 結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或

干擾 PD-1 與其結合搭配物諸如 PD-L1、PD-L2 中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-1 結合拮抗劑為抑制 PD-1 結合至其結合搭配物中之一或多者的分子。在具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑抑制 PD-1 結合至 PD-L1 及/或 PD-L2。舉例而言，PD-1 結合拮抗劑包括抗 PD-1 抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾 PD-1 與 PD-L1 及/或 PD-L2 之相互作用所導致的信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-1 結合拮抗劑減少在經由 PD-1 之 T 淋巴細胞介導信號傳導時表現之細胞表面蛋白質所介導的負性共刺激信號，以使得功能失調 T 細胞之功能失調減少(例如，增強對於抗原識別之效應響應)。在一些實施例中，PD-1 結合拮抗劑為抗 PD-1 抗體。在具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 MDX-1106(奈武單抗)。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 MK-3475(帕姆利珠單抗)。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 CT-011(匹地利珠單抗)。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 AMP-224。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 MED1-0680。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 PDR001。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 REGN2810。在另一個具體實施例中，PD-1 結合拮抗劑為 BGB-108。

【0210】 術語「PD-L1 結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾 PD-L1 與其結合搭配物諸如 PD-1、B7-1 中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-L1 結合拮抗劑為抑制 PD-L1 結合至其結合搭配物的分子。在具體實施例中，PD-L1 結合拮抗劑抑制 PD-L1 結合至 PD-1 及/或 B7-1。在一些實施例中，PD-L1 結合拮抗劑包括抗 PD-L1 抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾 PD-L1 與其結合搭配物諸如 PD-1、B7-1 中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-L1 結合拮抗劑減少在經由 PD-L1 之 T 淋巴細胞介導信號傳導時表現之細胞表面蛋白質所介導的負性共刺激信號，以使得功能失調 T 細胞之功能失調減少(例如，增強對於抗原識別之效應響應)。在一些實施例中，PD-L1 結合拮抗劑為抗 PD-L1 抗體。在仍然另一個具體實施例中，抗 PD-L1 抗體為

MPDL3280A(阿佐利珠單抗，以 WHO 藥物資訊(藥用物質的國際非專利名稱)作為 TECENTRIQ™銷售，建議 INN：清單 74，第 29 卷，第 3 期，2015(參見第 387 頁))。在具體實施例中，抗 PD-L1 抗體為 YW243.55.S70。在另一個具體實施例中，抗 PD-L1 抗體為 MDX-1105。在另一個具體實施例中，抗 PD-L1 抗體為 MSB0015718C。在仍然另一個具體實施例中，抗 PD-L1 抗體為 MEDI4736。

【0211】 術語「PD-L2 結合拮抗劑」係指減少、阻斷、抑制、消除或干擾PD-L2 與其結合搭配物諸如 PD-1 中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的分子。在一些實施例中，PD-L2 結合拮抗劑為抑制 PD-L2 結合至其結合搭配物中之一或多者的分子。在具體實施例中，PD-L2 結合拮抗劑抑制 PD-L2 結合至 PD-1。在一些實施例中，PD-L2 拮抗劑包括抗 PD-L2 抗體、其抗原結合片段、免疫黏附素、融合蛋白質、寡肽及減少、阻斷、抑制、消除或干擾 PD-L2 與其結合搭配物諸如 PD-1 中之一或多者之相互作用所導致的信號轉導的其他分子。在一實施例中，PD-L2 結合拮抗劑減少在經由 PD-L2 之 T 淋巴細胞介導信號傳導時表現之細胞表面蛋白質所介導的負性共刺激信號，以使得功能失調 T 細胞之功能失調減少(例如，增強對於抗原識別之效應響應)。在一些實施例中，PD-L2 結合拮抗劑為免疫黏附素。

【0212】 除非另外指示，否則如本文所用之術語「蛋白質」係指來自任何脊椎動物來源之任何天然蛋白質，該脊椎動物來源包括哺乳動物，諸如靈長類動物(例如人類)及齧齒動物(例如小鼠及大鼠)。該術語涵蓋「全長」未加工蛋白質以及蛋白質之由在細胞中加工所產生之任何形式。該術語亦包括蛋白質之天然存在之變異體，例如拼接變異體或對偶基因變異體。

【0213】 相對於參照多肽序列之「胺基酸序列一致性百分比(%)」定義為在比對參照多肽序列與候選序列且必要時引入間隙以達成最大序列一致性百分比之後，且在不將任何保守性取代視為序列一致性之一部分的情況下，候選序列中與參照多肽序列中之胺基酸殘基一致的胺基酸殘基之百分比。可以此項技術中之技能範圍內之多種方式，例如使用可公開獲得之電腦軟體，諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign(DNASTAR)軟體

來比對以便測定胺基酸序列一致性百分比。熟習此項技術者可確定適用於比對序列之參數，包括在所比較之序列之全長上達成最大對準所需之任何算法。然而，出於本文目的，使用序列比較電腦程式 ALIGN-2 產生胺基酸序列一致性百分比值。ALIGN-2 序列比較電腦程式由 Genentech, Inc.創造，且原始程式碼已與使用說明書一起在美國版權局(U.S. Copyright Office, Washington D.C., 20559)存檔，其中其以美國版權登記號 TXU510087 登記。ALIGN-2 程式可公開自 Genentech, Inc., South San Francisco, California 獲得，或可自原始程式碼編譯。ALIGN-2 程式應編譯用於 UNIX 操作系統(包括數位 UNIX V4.0D)。所有序列比較參數皆由 ALIGN-2 程式設定且不改變。

【0214】 在採用 ALIGN-2 進行胺基酸序列比較之情形下，既定胺基酸序列 A 對於、與或相對於既定胺基酸序列 B 之胺基酸序列一致性百分比(或者可稱為既定胺基酸序列 A 對於、與或相對於既定胺基酸序列 B 具有或包含某一百分比之胺基酸序列一致性)係如下加以計算：

100×分數 X/Y

其中 X 為藉由序列比對程式 ALIGN-2 在彼程式進行 A 與 B 比對時計分為相同匹配之胺基酸殘基數，且其中 Y 為 B 中之胺基酸殘基總數。應瞭解當胺基酸序列 A 之長度不等於胺基酸序列 B 之長度時，A 對於 B 之胺基酸序列一致性百分比將不等於 B 對於 A 之胺基酸序列一致性百分比。除非另外明確陳述，否則本文使用之所有胺基酸序列一致性百分比值皆係使用 ALIGN-2 電腦程式如前一段中所述來獲得。

【0215】 術語「醫藥調配物」係指以下製劑，其呈允許當中所含之活性成分之生物活性有效之形式，且不含對調配物所將投與之受試者有不可接受毒性之其他組分。

【0216】 「醫藥學上可接受之載劑」係指醫藥調配物中除活性成分以外之對受試者無毒的成分。醫藥學上可接受之載劑包括但不限於緩衝劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0217】 如本文所用之「治療(treatment)」(及其語法變化形式，諸如「治療(treat)」或「治療(treating)」)係指試圖改變所治療個體之自然病程，且可為達成防治目的或在臨床病理過程中進行之臨床介入。合乎需要之治

療作用包括但不限於防止疾病發生或復發、減輕症狀、減弱疾病之任何直接或間接病理學結果、防止轉移、降低疾病進展速率、改善或緩解疾病病況及緩和或改善預後。在一些實施例中，本發明之抗體用於延遲疾病發展或減緩疾病進展。

【0218】 如本文使用，「延遲病症或疾病之進展」意指推遲、阻礙、減慢、阻止、穩定及/或延遲疾病或病症(例如，細胞增殖病症，例如，癌症)之發展。此延遲可為不同時間長度，取決於疾病歷史及/或所治療之個體。如熟習此項技術者顯而易知，足夠或顯著延遲可事實上包括預防，只要個體不患上疾病。舉例而言，可延遲晚期階段癌症，諸如轉移之發展。

【0219】 術語「抗原決定基」係指抗體所結合之在抗原分子上之特定位點。在一些實施例中，抗體所結合之在抗原分子上之特定位點藉由羥基足跡分析(例如，FcRH5 結合域)來判定。在一些實施例中，抗體所結合之在抗原分子上之特定位點藉由晶體學來判定。

【0220】 「減少」或「抑制」意指導致總體減少例如 20%或更大、50%或更大，或 75%、85%、90%、95%或更大之能力。在某些實施例中，減少或抑制可涉及由抗體 Fc 區域介導之抗體之效應功能，此等效應功能尤其包括補體依賴性細胞毒性(CDC)、抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及抗體依賴性細胞吞噬作用(ADCP)。

【0221】 術語「可變區」或「可變域」係指抗體重鏈或輕鏈中涉及抗體與抗原結合之結構域。天然抗體之重鏈可變域及輕鏈可變域(分別為 VH 及 VL)通常具有類似結構，其中各結構域包含四個保守構架區(FR)及三個高變區(HVR)。(參見例如 Kindt 等人 *Kuby Immunology*, 6th ed. W.H. Freeman and Co., page 91 (2007).)單一 VH 或 VL 域可足以賦予抗原結合特異性。此外，可分別使用來自結合特定抗原之抗體之 VH 或 VL 域篩檢互補 VL 或 VH 域之文庫來分離結合該特定抗原之抗體。參見例如 Portolano 等人 *J. Immunol.* 150:880-887, 1993; Clarkson 等人 *Nature* 352:624-628, 1991。

【0222】 「變異體 Fc 區域」包含由於至少一個胺基酸修飾，較佳一或多個胺基酸取代而不同於天然序列 Fc 區域的胺基酸序列。較佳地，與天然序列 Fc 區域或親本多肽之 Fc 區域相比，變異體 Fc 區域具有至少一個胺

基酸取代，例如，在天然序列 Fc 區域或親本多肽之 Fc 區域中約一個至約十個胺基酸取代，及較佳約一個至約五個胺基酸取代。本文中的變異體 Fc 區域較佳與天然序列Fc區域或親本多肽之Fc區域具有至少約80%同源性，並且最佳與其具有至少約 90%同源性，更佳與其具有至少約 95%同源性。

【0223】 如本文所用之術語「載體」係指核酸分子，其能夠使其所連接之另一核酸增殖。該術語包括呈自我複製核酸結構形式之載體以及併入當中已引入有其之宿主細胞之基因組中的載體。某些載體能夠導引與其可操作地連接之核酸表現。此等載體在本文中稱為「表現載體」。

【0224】 如本文使用，「投與」意指給予受試者一定劑量化合物(例如，本發明之抗 FcRH5 抗體或編碼本發明之抗 FcRH5 抗體之核酸)或組合物(例如，醫藥組合物，例如，包括本發明之抗 FcRH5 抗體之醫藥組合物)的方法。本文描述方法所使用之組合物可例如肌肉內、靜脈內、皮內、經皮、動脈內、腹膜內、病灶內、顱內、關節內、前列腺內、胸腔內、氣管內、鼻內、玻璃體內、陰道內、直腸內、局部、瘤內、腹腔、皮下、結膜下、囊內、黏膜、心包內、臍帶內、眼內、經口、表面、局部、藉由吸入、藉由注射、藉由輸注、藉由連續輸注、藉由直接局部灌注靶細胞、藉由導管、藉由灌洗、以奶油形式或以脂質組合物形式來投與。投與方法可取決於各種因素(例如，所投與化合物或組合物及所治療病狀、疾病或病症之嚴重程度)而變化。

II. 組合物及方法

【0225】 在一態樣中，本發明部分地基於抗 FcRH5 抗體。在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體為多特異性(例如，雙特異性)並且除了 FcRH5 或其片段以外，結合至第二生物分子(例如，細胞表面抗原，例如，T 細胞標記，例如，CD3(例如，CD3ε 及/或 CD3γ))。本發明抗體適用於例如診斷及/或治療或延遲受試者之細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤)之進展。

A. 示例性抗 FcRH5 抗體

【0226】 在一個態樣中，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ

ID NO: 2 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 3 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 4 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 5 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 6 之 HVR-L3。

【0227】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包括與 SEQ ID NO: 104 具有至少 80%(例如，80%例如，81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的重鏈可變(VH)域及/或包含與 SEQ ID NO: 105 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的輕鏈可變(VL)域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之重鏈可變(VH)域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v85，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域。

【0228】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：SEQ ID NO: 1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含

胺基酸序列 SEQ ID NO: 10 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 14 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包括與 SEQ ID NO: 106 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 107 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 53、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 106 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 107 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v93，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 106 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 107 之 VL 域。

【0229】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 82 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 83 具有至

少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 82 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 83 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 82 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 83 之 VL 域。

【0230】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 12之HVR-L1；(e)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 16之HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 21 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與SEQ ID NO: 84具有至少80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 85 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別為 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列SEQ ID NO: 84之VH域。在一些情況下，抗FcRH5抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區

FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 85 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 84 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 85 之 VL 域。

【0231】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體具有包含六個高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 17 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 22 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 86 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 87 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包含進一步包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 86 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 87 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.2，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 86 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 87 之 VL 域。

【0232】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體具有包含六個高變區(HVR)

之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 13 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 21 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 88 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 89 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 88 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 89 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.3，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供包含結合域之抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 88 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 89 之 VL 域。

【0233】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有結合域，該結合域包括與 SEQ ID NO: 90 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之

胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 91 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 90 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 91 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.4，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 90 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 91 之 VL 域。

【0234】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 22 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 92 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 93 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 92 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID

NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 93 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.5，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 92 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 93 之 VL 域。

【0235】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 19 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 24 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 94 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 95 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括分別包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 94 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 95 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.6，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域之抗 FcRH5 抗體，該結合域包括(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 94 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 95 之 VL 域。

【0236】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、

三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 25 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 96 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 97 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 53、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 96 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 97 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.7，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域之抗 FcRH5 抗體，該結合域包括(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 96 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 97 之 VL 域。

【0237】 在一些實施例中，本發明提供一種包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之 HVR 之抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:25 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 98 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、

97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 99 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 52、55、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 98 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 99 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.13，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，抗 FcRH5 抗體可包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 98 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 99 之 VL 域。

【0238】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 18 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 25 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括(a)包含與 SEQ ID NO: 100 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 101 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 100 之 VH 域。在一些情況下，如申請專利範圍第 79-82 項中任一項之抗 FcRH5

抗體，其中該抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、57、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 101 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1.13.1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，例如，本發明提供抗 FcRH5 抗體，該抗體包括(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 100 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 101 之 VL 域。

【0239】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括(a)包含與 SEQ ID NO: 102 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或(b)包含與 SEQ ID NO: 103 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包含分別包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 102 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 103 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v87，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，該抗體包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 102 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 103 之 VL 域。

【0240】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 32 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 33 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 34 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 35 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 36 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 37 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 110 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 111 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 66、67、68 及 69 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，如申請專利範圍第 95 項之抗 FcRH5 抗體，其中 VH 域包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 110。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 70、71、72 及 73 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 111 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 17B1，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，該抗體包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 110 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 111 之 VL 域。

【0241】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 38 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 39 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 40 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 41 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 42 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 43 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 112 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、

83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 113 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 74、75、76 及 77 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 112 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 78、79、80 及 81 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 113 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 15G8，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，該抗體包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 112 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 113 之 VL 域。

【0242】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 26 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 27 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 28 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 29 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 30 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 31 之 HVR-L3。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括包含與 SEQ ID NO: 108 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 109 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含分別包括序列 SEQ ID NO: 58、59、60 及 61 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者

(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 108 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 62、63、64 及 65 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 109 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 7D8，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，該抗體包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 108 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 109 之 VL 域。

【0243】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 185 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 186 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 179、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 185 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 186 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1A，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，

該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 185 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 186 之 VL 域。

【0244】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 187 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 188 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 180、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 187 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 188 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1B，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 187 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 188 之 VL 域。

【0245】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包

含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 189 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 190 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 181、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 189 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 190 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1C，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 189 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 190 之 VL 域。

【0246】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 191 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 192 具有至

少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 23、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 191 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 192 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1D，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 191 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 192 之 VL 域。

【0247】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 193 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 194 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、182、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 193 之 VH 域。在一些情況下，抗

FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 194 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1E，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 193 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 194 之 VL 域。

【0248】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 175 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 195 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 196 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 195 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 196 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1F，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 195 之 VH 域及(b)包含胺基酸

序列 SEQ ID NO: 196 之 VL 域。

【0249】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 176 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 197 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 198 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 197 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 198 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1G，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 197 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 198 之 VL 域。

【0250】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 177 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO:

15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 199 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 200 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 199 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 200 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1H，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 199 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 200 之 VL 域。

【0251】 在一些實施例中，本發明提供一種包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之 HVR 之抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 178 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 201 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 202 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、

93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 201 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 202 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1I，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 201 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 202 之 VL 域。

【0252】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 203 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 204 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、183 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 203 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架

區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 204 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1J，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 203 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 204 之 VL 域。

【0253】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 205 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 206 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、184 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 205 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 206 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1K，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 205 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 206 之 VL 域。

【0254】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 7 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 10 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 11 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 15 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 20 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 207 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 208 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 207 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 208 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v1L，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 207 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 208 之 VL 域。

【0255】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 14 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些情

況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 209 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 210 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 209 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 210 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v86，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 209 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 210 之 VL 域。

【0256】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 14 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 211 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 212 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列

一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 53、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 211 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 212 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v191，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 211 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 212 之 VL 域。

【0257】 在一些情況下，本發明提供一種具有包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之結合域的抗 FcRH5 抗體：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 10 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 14 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3。在一些情況下，如申請專利範圍之抗 FcRH5 抗體可具有包含與 SEQ ID NO: 213 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 214 具有至少 80%(例如，80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含包括序列 SEQ ID NO: 52、54、46 及 47 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 213 之 VH 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 48、56、50 及 51 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在

一些情況下，抗 FcRH5 抗體可具有包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 214 之 VL 域。在特定實例中，抗 FcRH5 抗體可為 1G7.v92，或其衍生物或純系相關物。在一些情況下，舉例而言，本發明提供具有結合域的抗 FcRH5 抗體，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 213 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 214 之 VL 域。

【0258】 在某些實施例中，本文提供之抗體為單株、人、人源化或嵌合抗體。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體為 IgG 抗體。抗 FcRH5 可為全長抗體及/或單特異性抗體。在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體可結合至 FcRH5 之 Ig 樣域 9 中之抗原決定基。舉例而言，抗原決定基可包含 SEQ ID NO: 114 之胺基酸 743-850 之一部分。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體結合至人 FcRH5 或食蟹猴(獼猴)FcRH5，或兩者。在其他情況下，結合域不特異性結合至 FcRH1、FcRH2、FcRH3 及/或 FcRH4。

【0259】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體具有約 10 ml/kg/日至約 45 ml/kg/日之間(例如，約 1 ml/kg/日、5 ml/kg/日、10 ml/kg/日、11 ml/kg/日、12 ml/kg/日、13 ml/kg/日、14 ml/kg/日、15 ml/kg/日、16 ml/kg/日、17 ml/kg/日、18 ml/kg/日、19 ml/kg/日、20 ml/kg/日、21 ml/kg/日、22 ml/kg/日、23 ml/kg/日、24 ml/kg/日、25 ml/kg/日、26 ml/kg/日、27 ml/kg/日、28 ml/kg/日、29 ml/kg/日、30 ml/kg/日、31 ml/kg/日、32 ml/kg/日、33 ml/kg/日、34 ml/kg/日、35 ml/kg/日、36 ml/kg/日、37 ml/kg/日、38 ml/kg/日、39 ml/kg/日、40 ml/kg/日、41 ml/kg/日、42 ml/kg/日、43 ml/kg/日或 44 ml/kg/日)之靜脈內注射後清除率。

【0260】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體具有約 1 ml/kg/日至約 5 ml/kg/日、約 6 ml/kg/日至約 10 ml/kg/日、約 11 ml/kg/日至約 15 ml/kg/日、約 16 ml/kg/日至約 20 ml/kg/日、約 21 ml/kg/日至約 25 ml/kg/日、約 26 ml/kg/日至約 30 ml/kg/日、約 31 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日、約 36 ml/kg/日至約 40 ml/kg/日、約 41 ml/kg/日至約 45 ml/kg/日小鼠之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在小鼠中具有約 10 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在小鼠中具有約 10 ml/kg/日至約 20 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在小鼠中具有約 12 ml/kg/日至約 16 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。

【0261】 在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 1 ml/kg/日至約 5 ml/kg/日、約 6 ml/kg/日至約 10 ml/kg/日、約 11 ml/kg/日至約 15 ml/kg/日、約 16 ml/kg/日至約 20 ml/kg/日、約 21 ml/kg/日至約 25 ml/kg/日、約 26 ml/kg/日至約 30 ml/kg/日、約 31 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日、約 36 ml/kg/日至約 40 ml/kg/日、約 41 ml/kg/日至約 45 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 20 ml/kg/日至約 40 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 25 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體在獼猴中具有約 30 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日之靜脈內注射後清除率。

【0262】 在另一態樣中，根據任何以上實施例之抗 FcRH5 抗體可併有單獨或呈組合形式之如以下部分 1-7 中所述之任何特徵。

1. 抗體親和力

【0263】 在具體實例中，抗 FcRH5 抗體以≤1μM、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM 或≤0.001 nM(例如，10^{-8} M 或更小，例如，10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如，10^{-9} M 至 10^{-13} M，例如，10^{-10}至 10^{-13} M，例如，10^{-11}至 10^{-13} M，例如，10^{-12}至 10^{-13} M)之解離常數(K_D)結合至人及/或獼猴 FcRH5。舉例而言，在一些情況下抗 FcRH5 抗體以≤100 nM(例如，≤90 nM、≤80 nM、≤70 nM、≤60 nM、≤50 nM、≤40 nM、≤30 nM、≤20 nM、≤10 nM、≤5 nM、≤1 nM、≤750 pM、≤500 pM、≤250 pM、≤100 pM、≤50 pM、≤25 pM、≤10 pM、≤5 pM 或≤1 pM)或更低之 K_D結合至人 FcRH5。

【0264】 在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約500 nM(例如，約 1 pM 至 200 pM、100 pM 至 300 pM、200 pM 至 400 pM、300 pM 至 500 pM、400 pM 至 600 pM、500 pM 至 700 pM、600 pM 至 800 pM、700 pM 至 900 pM、800 pM 至 1 nM、900 pM 至 100 nM、1 nM 至 200 nM、100 nM 至 300 nM、200 nM 至 400 nM 或 300 nM 至 500 nM)之 K_D結合至人 FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約1 nM(例如，約1 pM至100 pM、50 pM至150 pM、100 pM至200 pM、150 pM至250 pM、200 pM至300 pM、250 pM 至 350 pM、300 pM 至 400 pM、350 pM 至 450 pM、400 pM 至 500

pM、450 pM 至 550 pM、500 pM 至 600 pM、550 pM 至 650 pM、600 pM 至 700 pM、650 pM 至 750 pM、700 pM 至 800 pM、750 pM 至 850 pM、800 pM至900 pM、850 pM至950 pM或900 pM至1 nM)之K_D結合至人FcRH5。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體以約 100 pM 至約 500 pM(例如，約 100 pM、125 pM、150 pM、175 pM、200 pM、225 pM、250 pM、275 pM、300 pM、325 pM、350 pM、375 pM、400 pM、425 pM、450 pM、475 pM 或 500 pM)之 K_D結合至人 FcRH5。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體以約 100 pM 至約 160 pM(例如，約 100 pM、105 pM、110 pM、115 pM、120 pM、125 pM、130 pM、135 pM、140 pM、145 pM、150 pM、155 pM 或 160 pM)之 K_D結合至人FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5 抗體以約 1 nM 至約 150 nM(例如，約 1 nM、2 nM、3 nM、4 nM、5 nM、6 nM、7 nM、8 nM、9 nM、10 nM、11 nM、12， nM、13 nM、14 nM、15 nM、16 nM、17 nM、18 nM、19 nM、20 nM、21 nM、22 nM、23 nM、24 nM、25 nM、26 nM、27 nM、28 nM、29 nM、30 nM、31 nM、32 nM、33 nM、34 nM、35 nM、36 nM、37 nM、38 nM、39 nM、40 nM、41 nM、42 nM、43 nM、44 nM、45 nM、46 nM、47 nM、48 nM、49 nM、50 nM、55 nM、60 nM、65 nM、70 nM、75 nM、80 nM、85 nM、90 nM、95 nM、100 nM、105 nM、110 nM、115 nM、120 nM、125 nM、130 nM、135 nM、140 nM、145 nM 或 150 nM)之 K_D結合至人 FcRH5。

【0265】 在一些情況下抗 FcRH5 抗體以≤100 nM(例如，≤90 nM、≤80 nM、≤70 nM、≤60 nM、≤50 nM、≤40 nM、≤30 nM、≤20 nM、≤10 nM、≤5 nM、≤1 nM、≤750 pM、≤500 pM、≤250 pM、≤100 pM、≤50 pM、≤25 pM、≤10 pM、≤5 pM、或≤1 pM、例如，10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如，10^{-9} M 至 10^{-13} M，例如，10^{-10}至 10^{-13} M，例如，10^{-11}至 10^{-13} M，例如，10^{-12}至 10^{-13} M)或更低之 K_D結合至獼猴 FcRH5。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體以約 1 pM 至約 500 nM(例如，約 1 pM 至 200 pM、100 pM 至 300 pM、200 pM 至 400 pM、300 pM 至 500 pM、400 pM 至 600 pM、500 pM 至 700 pM、600 pM 至 800 pM、700 pM 至 900 pM、800 pM 至 1 nM、900 pM 至 100 nM、1 nM 至 200 nM、100 nM 至 300 nM、200 nM 至 400 nM 或 300 nM 至 500 nM)之 K_D結

合至獼猴FcRH5。在一些情況下，抗FcRH5抗體以約1 pM至約1 nM(例如，約1 pM至100 pM、50 pM至150 pM、100 pM至200 pM、150 pM至250 pM、200 pM至300 pM、250 pM至350 pM、300 pM至400 pM、350 pM至450 pM、400 pM至500 pM、450 pM至550 pM、500 pM至600 pM、550 pM至650 pM、600 pM至700 pM、650 pM至750 pM、700 pM至800 pM、750 pM至850 pM、800 pM至900 pM、850 pM至950 pM或900 pM至1 nM)之 K_D結合至獼猴 FcRH5。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體以約 100 pM 至約 500 pM(例如，約 100 pM、125 pM、150 pM、175 pM、200 pM、225 pM、250 pM、275 pM、300 pM、325 pM、350 pM、375 pM、400 pM、425 pM、450 pM、475 pM 或 500 pM)之 K_D結合至獼猴 FcRH5。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體以約 100 pM 至約 160 pM(例如，約 100 pM、105 pM、110 pM、115 pM、120 pM、125 pM、130 pM、135 pM、140 pM、145 pM、150 pM、155 pM 或 160 pM)之 K_D結合至獼猴 FcRH5。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體以約 1 nM 至約 150 nM(例如，約 1 nM、2 nM、3 nM、4 nM、5 nM、6 nM、7 nM、8 nM、9 nM、10 nM、11 nM、12， nM、13 nM、14 nM、15 nM、16 nM、17 nM、18 nM、19 nM、20 nM、21 nM、22 nM、23 nM、24 nM、25 nM、26 nM、27 nM、28 nM、29 nM、30 nM、31 nM、32 nM、33 nM、34 nM、35 nM、36 nM、37 nM、38 nM、39 nM、40 nM、41 nM、42 nM、43 nM、44 nM、45 nM、46 nM、47 nM、48 nM、49 nM、50 nM、55 nM、60 nM、65 nM、70 nM、75 nM、80 nM、85 nM、90 nM、95 nM、100 nM、105 nM、110 nM、115 nM、120 nM、125 nM、130 nM、135 nM、140 nM、145 nM 或 150 nM)之 K_D結合至獼猴 FcRH5。

【0266】 在一實施例中，K_D藉由放射性抗原結合分析(RIA)來量測。在一實施例中，RIA 以 Fab 型式之相關抗體及其抗原來執行。舉例而言，Fab 對抗原之溶液結合親和力係藉由在一滴定系列之未標記抗原存在下，使 Fab 與最小濃度之(^{125}I)標記抗原平衡，接著用抗 Fab 抗體塗佈之盤捕捉所結合抗原來量測(參見例如 Chen 等人 *J. Mol. Biol.* 293:865-881, 1999)。為建立分析條件，將 MICROTITER®多孔盤(Thermo Scientific)用含 5 μg/ml 捕捉抗 Fab 抗體(Cappel Labs)之 50 mM 碳酸鈉(pH 9.6)塗佈隔夜，且隨後在室溫(約

23℃)下用含 2%(w/v)牛血清白蛋白之 PBS 阻斷 2-5 小時。在非吸附盤(Nunc #269620)中，將 100 pM 或 26 pM [^{125}I]-抗原與相關 Fab 之連續稀釋液混合(例如與 Presta 等人 *Cancer Res.* 57:4593-4599, 1997 中對抗 VEGF 抗體 Fab-12 之評估一致)。接著將相關 Fab 培育隔夜；然而，培育可持續較長時期(例如約 65 小時)以確保達到平衡。此後，將混合物轉移至捕捉盤中以在室溫下培育(例如 1 小時)。接著移除溶液且用含 0.1%聚山梨醇酯 20(TWEEN-20®)之 PBS 將盤洗滌八次。當盤已乾燥時，每孔添加 150 μl 閃爍體(MICROSCINT-20™; Packard)，且在 TOPCOUNT™ γ 計數器(Packard)上對盤持續 10 分鐘計數。選擇各 Fab 之達成小於或等於最大結合之 20%的濃度以用於競爭性結合分析中。

【0267】 根據另一個實施例，K_D使用 BIACORE®表面電漿子共振分析來量測。舉例而言，使用 BIACORE®-2000 或 BIACORE®-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)之分析在 25℃下使用~10 反應單位(RU)之固定抗原 CM5 晶片來執行。在一實施例中，根據供應商說明書用 N-乙基-N'-(3-二甲基胺基丙基)-碳化二亞胺鹽酸鹽(EDC)及 N-羥基丁二醯亞胺(NHS)活化羧甲基化葡聚糖生物感測器晶片 (CM5, BIACORE, Inc.)。用 10 mM 乙酸鈉(pH 4.8)將抗原稀釋至 5 μg/ml(約 0.2 μM)，隨後在流速 5 μl/min 下注射以達成約 10 反應單位(RU)之偶合蛋白質。在注射抗原之後，注射 1 M 乙醇胺以阻斷未反應基團。對於動力學量測，Fab(0.78 nM 至 500 nM)之兩倍連續稀釋液在 25℃下以約 25 μl/min 之流速注入 0.05%聚山梨醇酯 20(TWEEN-20™)界面活性劑(PBST)之 PBS 中。締合速率($k_{締合}$)及解離速率($k_{解離}$)使用簡單一一對應朗繆爾結合模型(BIACORE®評估軟體版本 3.2)藉由同時擬合締合及解離感測圖來計算。平衡解離常數(K_D)係計算為比率 $k_{解離}/k_{締合}$。參見例如 Chen 等人 *J. Mol. Biol.* 293:865-881, 1999。若由以上表面電漿子共振分析獲得之締合速率超過 $10^6\ M^{-1}s^{-1}$，則可藉由使用螢光淬滅技術來測定締合速率，該技術量測在如在分光計(諸如停流配備分光光度計(Aviv Instruments)或具有攪拌比色皿之 8000 系列 SLM-AMINCO™分光光度計(ThermoSpectronic))中量測之遞增濃度之抗原存在下，在 25℃下於 PBS(pH 7.2)中之 20 nM 抗抗原抗體(Fab 形式)之螢光發射強度(激發= 295 nm；發射= 340 nm，16 nm 帶

通)的增加或降低。

2. 抗體片段

【0268】 在某些實施例中，本文提供之抗體為抗體片段。抗體片段包括(但不限於)雙-Fab、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$、Fv 及 scFv 片段及下述其他片段。對於某些抗體片段之評述，參見 Hudson 等人 *Nat. Med.* 9:129-134, 2003。關於 scFv 片段之評述，參見，例如，Pluckthün, *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, 第 113 卷, Rosenburg 及 Moore 編, (Springer-Verlag, New York), 第 269-315 頁, 1994；亦參見 WO 93/16185；及美國專利第 5,571,894 及 5,587,458 號。對於包含結合抗原決定基殘基之補救受體且活體內半衰期增加之 Fab 及 $F(ab')_2$片段之論述，參見美國專利第 5,869,046 號。

【0269】 兩個 Fab 經由雙馬來醯亞胺連接之抗體片段在本文中稱為雙馬來醯亞胺-(硫基-Fab)$_2$或雙-Fab。

【0270】 雙功能抗體為可為二價或雙特異性之具有兩個抗原結合位點之抗體片段。參見例如 EP 404,097；WO 1993/01161；Hudson 等人 *Nat. Med.* 9:129-134, 2003；及 Hollinger 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448, 1993。三功能抗體及四功能抗體亦描述於 Hudson 等人 *Nat. Med.* 9:129-134, 2003 中。

【0271】 單域抗體為包含抗體之全部或一部分重鏈可變域或全部或一部分輕鏈可變域之抗體片段。在某些實施例中，單域抗體為人類單域抗體(Domantis, Inc., Waltham, MA；參見例如美國專利第 6,248,516 B1 號)。

【0272】 抗體片段可藉由各種技術製備，包括但不限於蛋白水解消化完整抗體以及如本文所述，藉由重組宿主細胞(例如大腸桿菌(*E. coli*)或噬菌體)產生。

3. 嵌合及人源化抗體

【0273】 在某些實施例中，本文提供之抗體為嵌合抗體。某些嵌合抗體例如描述於美國專利第 4,816,567 號；及 Morrison 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855, 1984 中。在一個實例中，嵌合抗體包含非人類可變區(例如源於小鼠、大鼠、倉鼠、兔或非人類靈長類動物(諸如猴)之可變區)及人類恆定區。在另一實例中，嵌合抗體為「類別轉換」抗體，其中類別或子

類已自親本抗體之類別或子類發生改變。嵌合抗體包括其抗原結合片段。

【0274】 在某些實施例中，嵌合抗體為人源化抗體。通常，非人類抗體經人源化以降低對人類之免疫原性，同時保留親本非人類抗體之特異性及親和力。一般而言，人源化抗體包含一或多個可變域，其中例如 CDR 之 HVR(或其部分)源於非人類抗體，且 FR(或其部分)源於人類抗體序列。人源化抗體視情況亦將包含至少一部分人類恆定區。在一些實施例中，人源化抗體中之一些 FR 殘基經來自非人類抗體(例如 HVR 殘基所來源之抗體)之相應殘基取代，例如以恢復或改良抗體特異性或親和力。

【0275】 人源化抗體及其製造方法評述於例如 Almagro 等人 *Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008 中，並且進一步描述於例如 Riechmann 等人 *Nature* 332:323-329, 1988; Queen 等人 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86:10029-10033, 1989; US 專利第 5, 821,337、7,527,791、6,982,321 及 7,087,409 號；Kashmiri 等人 *Methods* 36:25-34, 2005(描述特異性決定區(SDR)移植)；Padlan *Mol. Immunol.* 28:489-498, 1991(描述「表面再塑」)；Dall' Acqua 等人 *Methods* 36:43-60, 2005(描述「FR 改組」)；及 Osbourn 等人 *Methods* 36:61-68, 2005；及 Klimka 等人 *Br. J. Cancer*, 83:252-260, 2000(描述 FR 改組之「引導選擇」方法)。

【0276】 可用於人源化之人類構架區包括但不限於：使用「最佳擬合」方法選擇之構架區(參見例如 Sims 等人 *J. Immunol.* 151:2296, 1993)；源於輕鏈或重鏈可變區之特定子組之人類抗體的一致序列之構架區(參見例如 Carter 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:4285, 1992；及 Presta 等人 *J. Immunol.* 151:2623, 1993)；人類成熟(體細胞突變)構架區或人類生殖系構架區(參見例如 Almagro 等人 *Front. Biosci.* 13:1619-1633, 2008)；及由篩檢 FR 文庫獲得之構架區(參見例如 Baca 等人 *J. Biol. Chem.* 272:10678-10684, 1997 及 Rosok 等人 *J. Biol. Chem.* 271:22611-22618, 1996)。

4. 人類抗體

【0277】 在某些實施例中，本文提供之抗體為人類抗體。人抗體可使用在此項技術中已知的各種技術來產生。人類抗體一般性地描述於 van Dijk and van de Winkel, *Curr. Opin. Pharmacol.* 5: 368-74, 2001 and Lonberg, *Curr.*

Opin. Immunol. 20:450-459, 2008。

【0278】 人類抗體可藉由向已經修改以回應於抗原攻擊而產生完整人類抗體或具有人類可變區之完整抗體之轉殖基因動物投與免疫原來製備。此等動物通常含有全部或一部分人類免疫球蛋白基因座，其置換內源性免疫球蛋白基因座或存在於染色體外或隨機整合至動物之染色體中。在此等轉殖基因小鼠中，內源性免疫球蛋白基因座通常已不活化。對於自轉殖基因動物獲得人類抗體之方法之評述，參見 Lonberg, *Nat. Biotech.* 23:1117-1125, 2005。亦參見例如描述 XENOMOUSE™技術之美國專利第 6,075,181 號及第 6,150,584 號；描述 HUMAB®技術之美國專利第 5,770,429 號；描述 K-M MOUSE®技術之美國專利第 7,041,870 號及描述 VELOCIMOUSE®技術之美國專利申請公開案第 US 2007/0061900 號)。來自由此等動物產生之完整抗體之人類可變區可例如藉由與不同人類恆定區組合而進一步修飾。

【0279】 人類抗體亦可藉由基於融合瘤之方法製備。用於產生人類單株抗體之人類骨髓瘤及小鼠-人類異源骨髓瘤細胞株已有描述(參見例如 Kozbor *J. Immunol.*, 133: 3001, 1984; Brodeur 等人 *Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications*, 第 51-63 頁 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)；及 Boerner 等人 *J. Immunol.*, 147: 86, 1991)。經由人類 B 細胞融合瘤技術產生之人類抗體亦描述於 Li 等人 Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562, 2006 中。其他方法包括例如描述於美國專利第 7,189,826 號(描述自融合瘤細胞株產生單株人類 IgM 抗體)及 Ni, *Xiandai Mianyixue*, 26(4):265-268, 2006(描述人類-人類融合瘤)中之方法。人類融合瘤技術(三源融合瘤技術)亦描述於 Vollmers and Brandlein, *Histology and Histopathology*, 20(3):927-937, 2005 及 Vollmers and Brandlein, *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(3):185-91, 2005 中。

【0280】 人類抗體亦可藉由分離自人類來源噬菌體呈現文庫選擇之 Fv 純系可變域序列來產生。此等可變域序列可接著與所要人類恆定域組合。用於自抗體文庫選擇人類抗體之技術在以下描述。

5. 文庫來源之抗體

【0281】 本發明之抗體可藉由篩檢組合文庫中具有一或多種所要活性之抗體來分離。舉例而言，此項技術中已知多種用於產生噬菌體呈現文庫及篩檢此等文庫中具有所要結合特徵之抗體之方法。此等方法評述於例如 Hoogenboom 等人 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編, Human Press, Totowa, NJ, 2001)中並且進一步描述於例如 McCafferty 等人 *Nature* 348:552-554; Clackson 等人 *Nature* 352: 624-628, 1991; Marks 等人 *J. Mol. Biol.* 222: 581-597, 1992; Marks and Bradbury, in *Methods in Molecular Biology* 248:161-175 (Lo 編, Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu 等人 *J. Mol. Biol.* 338(2): 299-310, 2004; Lee 等人 *J. Mol. Biol.* 340(5):1073-1093, 2004; Fellouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(34): 12467-12472, 2004; 及 Lee 等人 *J. Immunol. Methods* 284(1-2):119-132, 2004 中。

【0282】 在某些噬菌體呈現方法中，藉由聚合酶鏈反應(PCR)分別選殖 VH 及 VL 基因之譜系且隨機重組於噬菌體文庫中，可接著篩檢該等文庫中之抗原結合噬菌體，如 Winter 等人 *Ann. Rev. Immunol.*, 12: 433-455, 1994 中所述。噬菌體通常呈現呈單鏈 Fv(scFv)片段形式或呈 Fab 片段形式之抗體片段。來自經免疫來源之文庫提供對免疫原具有高親和力之抗體而無需構築融合瘤。或者，可選殖(例如自人類選殖)天然譜系以提供單一來源之針對廣泛範圍之非自體抗原以及自體抗原的抗體而不進行任何免疫，如 Griffiths 等人 *EMBO J,* 12: 725-734, 1993 所述。最後，天然文庫亦可藉由以下方式合成製備：自幹細胞選殖未重排 V 基因區段，及使用含有隨機序列之 PCR 引子以編碼高度可變 CDR3 區及在活體外達成重排，如 Hoogenboom and Winter, *J. Mol. Biol.*, 227: 381-388, 1992 所述。描述人抗體噬菌體文庫之專利公開案包括例如：美國專利第 5,750,373 號，及美國專利公開案第 2005/0079574、2005/0119455、2005/0266000、2007/0117126、2007/0160598、2007/0237764、2007/0292936 及 2009/0002360 號。自人類抗體文庫分離之抗體或抗體片段在本文中被視為人類抗體或人類抗體片段。

6. 特異性抗體，包括 FcRH5 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體

【0283】 在以上態樣中之任一者中，本文提供之抗 FcRH5 抗體為多特異性抗體，例如，雙特異性抗體。多特異性抗體為對至少兩個不同位點

具有結合特異性之單株抗體。在某些實施例中，雙特異性抗體可結合 FcRH5 之兩個不同抗原決定基。

【0284】 在某些實施例中，一個結合特異性係針對 FcRH5 且另一個係針對 CD3(例如 CD3ε 或 CD3γ)。此等雙特異性抗 FcRH5 抗體亦被稱為 FcRH5 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體或 FcRH5 TDB。在一些情況下，第二結合域結合至 CD3 上之抗原決定基，包含 CD3 之胺基酸殘基 Glu6。在一些情況下，抗原決定基進一步包含一或多個選自由以下組成之群之額外胺基酸殘基：CD3 之 Gln1、Asp2 及 Met7。在一些情況下，抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2 及 Glu6。在一些情況下，抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2、Glu6 及 Met7。在一些情況下，抗原決定基不包含 CD3 之胺基酸殘基 Glu5。在一些情況下，抗原決定基不包含 CD3 之胺基酸殘基 Gly3 及 Glu5。在一些情況下，抗原決定基由 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2、Glu6 及 Met7 組成。

【0285】 在其他一些情況下，第二結合域能夠結合至人 CD3 多肽或獼猴 CD3 多肽。在一些情況下，人 CD3 多肽或獼猴 CD3 多肽分別為人 CD3ε 多肽或獼猴 CD3ε 多肽。在一些情況下，人 CD3 多肽或獼猴 CD3 多肽分別為人 CD3γ 多肽或獼猴 CD3γ 多肽。

【0286】 在具體實例中，第二結合域以≤1 μM、≤100 nM、≤10 nM、≤1 nM、≤0.1 nM、≤0.01 nM 或≤0.001 nM(例如，10^{-8} M 或更小，例如，10^{-8} M 至 10^{-13} M，例如，10^{-9} M 至 10^{-13} M)之解離常數(K_D)結合人 CD3ε 多肽。舉例而言，在一些情況下，第二結合域以≤100 nM(例如，≤90 nM、≤80 nM、≤70 nM、≤60 nM、≤50 nM、≤40 nM、≤30 nM、≤20 nM、≤10 nM、≤5 nM、≤1 nM、≤750 pM、≤500 pM、≤250 pM、≤100 pM、≤50 pM、≤25 pM、≤10 pM、≤5 pM 或≤1 pM)或更低之 K_D結合人 CD3ε 多肽。

【0287】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 117 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含

胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 120 之 HVR-L3。

【0288】 在一些情況下，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包括包含與 SEQ ID NO: 133 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 134 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列 SEQ ID NO: 125、126、127 及 128 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域。在一些情況下，第二結合域進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 129、130、131 及 132 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域。因此，在一些情況下，本發明之抗 FcRH5 抗體之半抗體變異體可與抗 CD3 抗體 38E4.v1 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/38E4.v1 TDB)。

【0289】 在一些情況下，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序

列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 122 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包括包含與 SEQ ID NO: 135 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 136 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列 SEQ ID NOs: 125、126、127 及 128 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 135 之 VH 域。在一些情況下，第二結合域進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 129、130、131 及 132 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 136 之 VL 域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 135 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 136 之 VL 域。因此，在一些情況下，本發明之抗 FcRH5 抗體之半抗體變異體可與抗 CD3 抗體 38E4.v1 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/38E4.v1 TDB)。

【0290】 在一些情況下，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 124 之 HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包括包含與 SEQ ID NO: 137 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、

85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 138 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列 SEQ ID NO: 125、126、127 及 128 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 之 VH 域。在一些情況下，第二結合域進一步包括分別包含序列 SEQ ID NO: 129、130、131 及 132 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 之 VL 域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 之 VL 域。因此，在一些情況下，本發明之抗 FcRH5 抗體之半抗體變異體可與抗 CD3 抗體 38E4.v11 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/38E4.v11 TDB)。

【0291】 在一些情況下，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 139 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 140 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 141 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 142 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 143 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 144 之 HVR-L3。在一些情況下，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包括包含與 SEQ ID NO: 153 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 154 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，

抗 FcRH5 抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列 SEQ ID NO: 145、146、147 及 148 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 之 VH 域。在一些情況下，第二結合域進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 149、150、151 及 152 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 之 VL 域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 之 VL 域。因此，在一些情況下，本發明之抗 FcRH5 抗體之半抗體變異體可與抗 CD3 抗體 hu40G5c 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/hu40G5c TDB)。

【0292】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 155 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 156 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 157 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 158 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 159 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 160 之 HVR-L3。

【0293】 在一些情況下，本發明提供一種抗 FcRH5 抗體，其中第二結合域包含至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 155 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 162 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 157 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 158 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 159 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 160 之 HVR-L3。在一些情況下，舉例而言，第二結合域包括包含與 SEQ ID NO: 172 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及/或包含與 SEQ ID NO: 173 具有至少 80%(例如 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、

90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域。在一些情況下，舉例而言，抗 FcRH5 抗體包括第二結合域，該第二結合域包含分別包括序列 SEQ ID NO: 164、165、166 及 167 之重鏈構架區 FR-H1、FR-H2、FR-H3 及 FR-H4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 之 VH 域。在一些情況下，第二結合域進一步包括包含序列 SEQ ID NO: 168、169、170 及 171 之輕鏈構架區 FR-L1、FR-L2、FR-L3 及 FR-L4 中之至少一者(例如 1、2、3 或 4)。在一些情況下，第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 之 VL 域。在一些情況下，第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 之 VL 域。因此，在一些情況下，本發明之抗 FcRH5 抗體之半抗體變異體可與抗 CD3 抗體 huUCHT1.v9 之半抗體變異體配對以形成 FcRH5 TDB(即，抗 FcRH5/huUCHT1.v9 TDB)。

【0294】 在一些情況下，例如，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中結合 FcRH5 之結合域包含包括電荷區(CR_1)之 VH 域(VH_1)及包括電荷區(CR_2)之 VL 域(VL_1)，其中 VH_1中之 CR_1與 VL_1中之 CR_2形成電荷對。在一些情況下，CR_1包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_2包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR_1包含 Q39K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_1由 Q39K 取代突變組成。在一些情況下，CR_2包含 Q38E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_2由 Q38E 取代突變組成。在一些情況下，結合 CD3 之第二結合域包含包括電荷區(CR_3)之 VH 域(VH_2)及包括電荷區(CR_4)之 VL 域(VL_2)，其中 VL_2中之 CR_4與 VH_2中之 CR_3形成電荷對。在一些情況下，CR_4包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_3包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR_4包含 Q38K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_4由 Q38K 取代突變組成。在一些情況下，CR_3包含 Q39E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_3由 Q39E 取代突變組成。在一些情況下，VL_1域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL_1)並且 VH_1連接至第一重鏈恆定(CH1)域($CH1_1$)，其中 CL_1包含電荷區(CR_5)並且 $CH1_1$包含電荷區(CR_6)，並且其中 CL_1中之 CR_5與 $CH1_1$中之 CR_6形成電荷對。在一些情況下，CR_5包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_6包含酸性殘基。在一些情

況下，CR_5包含 V133K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_5由 V133K 取代突變組成。在一些情況下，CR_6包含 S183E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_6由 S183E 取代突變組成。

【0295】 在一些情況下，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中 VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中 CL_2包含電荷區(CR_7)並且 $CH1_2$包含電荷區(CR_8)，並且其中 $CH1_2$中之 CR_8與 CL_2中之 CR_7形成電荷對。在一些情況下，CR_8包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_7包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR_8包含 S183K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_8由 S183K 取代突變組成。在一些情況下，CR_7包含 V133E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_7由 V133E 取代突變組成。

【0296】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中 VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中 CL_2包含胺基酸殘基 F116、L135、S174、S176 及/或 T178(EU 編號)處之一或多個突變並且 $CH1_2$包含胺基酸殘基 A141、F170、S181、S183 及/或 V185(EU 編號)處之一或多個突變。在一些情況下，CL_2包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及/或 T178V。在一些情況下，CL_2包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V。在一些情況下，$CH1_2$包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及/或 V185A。在一些情況下，$CH1_2$包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A。

【0297】 在一些情況下，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中結合 FcRH5 之結合域包含包括電荷區(CR_1)之 VH 域(VH_1)及包括電荷區(CR_2)之 VL 域(VL_1)，其中 VL_1中之 CR_2與 VH_1中之 CR_1形成電荷對。在一些情況下，CR_2包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_1包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR_2包含 Q38K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_2由 Q38K 取代突變組成。在一些情況下，CR_1包含 Q39E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_1由 Q39E 取代突變組成。在一些情況下，結合 CD3 之第二結合域包含包括電荷區(CR_3)之 VH 域(VH_2)及包括電荷區(CR_4)之 VL 域(VL_2)，其中 VH_2中之 CR_3與 VL_2中之 CR_4形成電荷對。在一些情況下，CR_3包含鹼性胺

基酸殘基並且 CR_4包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR_3包含 Q39K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_3由 Q39K 取代突變組成。在一些情況下，CR_4包含 Q38E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_4由 Q38E 取代突變組成。在一些情況下，VL_1域連接至輕鏈恆定(CL)域(CL_1)並且 VH_1連接至第一重鏈恆定(CH1)域($CH1_1$)，其中 CL_1包含電荷區(CR_5)並且 $CH1_1$包含電荷區(CR_6)，及其中 $CH1_1$中之 CR_6與 CL_1中之 CR_5形成電荷對。在一些情況下，CR_6包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_5包含酸性胺基酸殘基。在一些情況下，CR_6包含 S183K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_6由 S183K 取代突變組成。在一些情況下，CR_5包含 V133E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_5由 V133E 取代突變組成。

【0298】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中 VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中 CL_2包含電荷區(CR_7)並且 $CH1_2$包含電荷區(CR_8)，並且其中 CL_2中之 CR_7與 $CH1_2$中之 CR_8形成電荷對。在一些情況下，CR_7包含鹼性胺基酸殘基並且 CR_8包含酸性殘基。在一些情況下，CR_7包含 V133K 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_7由 V133K 取代突變組成。在一些情況下，CR_8包含 S183E 取代突變(EU 編號)。在一些情況下，CR_8由 S183E 取代突變組成。

【0299】 在一些情況下，舉例而言，本發明提供抗 FcRH5 抗體，其中 VL_2域連接至 CL 域(CL_2)並且 VH_2連接至 CH1 域($CH1_2$)，其中 CL_2包含胺基酸殘基 F116、L135、S174、S176 及/或 T178(EU 編號)處之一或多個突變並且 $CH1_2$包含胺基酸殘基 A141、F170、S181、S183 及/或 V185(EU 編號)處之一或多個突變。在一些情況下，CL_2包含一個或多個以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及/或 T178V。在一些情況下，CL_2包含以下取代突變：F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V。在一些情況下，$CH1_2$包含一個或多個以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及/或 V185A。在一些情況下，$CH1_2$包含以下取代突變：A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含一或多個重鏈恆定域，其中一或多個重鏈恆定域選自第一 CH2 域($CH2_1$)、第一 CH3 域($CH3_1$)，第二 CH2 域($CH2_2$)及第二 CH3 域($CH3_2$)。在一些情況下，一或多個重鏈恆定

域中之至少一者與另一個重鏈恆定域配對。在一些情況下，$CH3_1$及 $CH3_2$各自包含隆凸(P_1)或空腔(C_1)，並且 $CH3_1$中之 P_1或 C_1可定位於 $CH3_2$中之相應 C_1或 P_1中。在一些情況下，$CH3_1$與 $CH3_2$在 P_1與 C_1之間界面處相接。在一些情況下，$CH2_1$及 $CH2_2$各自包含(P_2)或空腔(C_2)，並且 P_2或 C_2 $CH2_1$可定位於 $CH2_2$之相應 C_2或 P_2中。在一些情況下，$CH2_1$與 $CH2_2$在 P_2與 C_2之間界面處相接。

【0300】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂及抗 CD3 臂各自包含 N297G 取代突變(EU 編號)；並且其中抗 FcRH5 臂包含 T366W 取代突變並且抗 CD3 臂包含 T366S、L368A 及 Y407V 取代突變。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121

之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之HVR-L3，並且其中抗FcRH5臂及抗CD3臂各自包含N297G取代突變(EU編號)；並且其中抗FcRH5臂包含T366W取代突變並且抗CD3臂包含T366S、L368A 及 Y407V 取代突變。

【0301】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 8之HVR-H2；(c)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 9之HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列SEQ ID NO: 115之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗CD3臂包含包括Q38K及V133E取代突變之輕鏈及包括Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含

胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0302】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與 SEQ ID NO: 104 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及包含與 SEQ ID NO: 105 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含與 SEQ ID NO: 133 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及包含與 SEQ ID NO: 134 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0303】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)

之重鏈。

【0304】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與 SEQ ID NO: 104 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及包含與 SEQ ID NO: 105 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0305】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗

CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0306】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與 SEQ ID NO: 104 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及包含與 SEQ ID NO: 105 具有至少

90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的VL域，其中抗CD3臂包含包括Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38K、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0307】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括至少一個、兩個、三個、四個、五個或六個選自以下之高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V

取代突變之輕鏈及包括 Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第一結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23 之 HVR-L3；及抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個高變區(HVR)之第二結合域：(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115 之 HVR-H1；(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116 之 HVR-H2；(c)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121 之 HVR-H3；(d)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118 之 HVR-L1；(e)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119 之 HVR-L2；及(f)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123 之 HVR-L3，並且其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，並且其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

【0308】 在另一態樣中，本發明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含與 SEQ ID NO: 104 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VH 域及包含與 SEQ ID NO: 105 具有至少 90%(例如 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或 99%)序列一致性或該序列之胺基酸序列的 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。在一些情況下，本發

明提供結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中抗 FcRH5 抗體包含：(a)抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含第一結合域，該第一結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域，其中抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變之重鏈，及(b)抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含第二結合域，該第二結合域包括包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域，其中抗 CD3 臂包含包括 Q38E、F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 取代突變之輕鏈及包括 Q39K、A141I、F170S、S181M、S183A、V185A 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

7. 抗體變異體

【0309】 在某些實施例中，設想本發明抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明 FcRH5 TDB 抗體或其變異體)之胺基酸序列變異體。舉例而言，可能需要改良抗體之結合親和力及/或其他生物性質。抗體之胺基酸序列變異體可藉由將適當修飾引入編碼抗體之核苷酸序列中或藉由肽合成來製備。此等修飾包括例如抗體之胺基酸序列內之殘基的缺失及/或插入及/或取代。可對缺失、插入及取代進行任何組合以獲得最終構築體，其限制條件為最終構築體具有所要特徵，例如抗原結合性。

a. 取代、插入及缺失變異體

【0310】 在某些實施例中，提供具有一或多個胺基酸取代之抗體變異體。用於取代性突變誘發之相關位點包括 HVR 及 FR。保守性取代展示於表 1 中之標題「較佳取代」下。更實質性變化提供於表 1 中之標題「示範性取代」下，且如以下關於胺基酸側鏈類別進一步所述。胺基酸取代可引入相關抗體中且篩檢具有所要活性(例如維持/改良之抗原結合性、降低之免疫原性或改良之 ADCC 或 CDC)之產物。

表 1. 示例性及較佳胺基酸取代

原始殘基	示例性取代	較佳取代
Ala (A)	Val；Leu；Ile	Val

原始 殘基	示例性 取代	較佳 取代
Arg (R)	Lys；Gln；Asn	Lys
Asn (N)	Gln；His；Asp；Lys；Arg	Gln
Asp (D)	Glu；Asn	Glu
Cys (C)	Ser；Ala	Ser
Gln (Q)	Asn；Glu	Asn
Glu (E)	Asp；Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn；Gln；Lys；Arg	Arg
Ile (I)	Leu；Val；Met；Ala；Phe；正白胺酸	Leu
Leu (L)	正白胺酸；Ile；Val；Met；Ala；Phe	Ile
Lys (K)	Arg；Gln；Asn	Arg
Met (M)	Leu；Phe；Ile	Leu
Phe (F)	Trp；Leu；Val；Ile；Ala；Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val；Ser	Ser
Trp (W)	Tyr；Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp；Phe；Thr；Ser	Phe
Val (V)	Ile；Leu；Met；Phe；Ala；正白胺酸	Leu

【0311】 可根據共同側鏈性質對胺基酸分組：

(1) 疏水性：正白胺酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile；

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；

(3) 酸性：Asp、Glu；

(4) 鹼性：His、Lys、Arg；

(5) 影響鏈定向之殘基：Gly、Pro；

(6) 芳族：Trp、Tyr、Phe。

【0312】 非保守性取代將需要將此等類別之一之成員更換成另一類別。

【0313】 一種類型之取代變異體涉及取代親本抗體(例如人源化或人類抗體)之一或多個高變區殘基。一般而言，選用於進一步研究之所得變異

體相對於親本抗體將在某些生物性質方面具有改變(例如改良)(例如親和力增加、免疫原性降低)及/或將實質上保留親本抗體之某些生物性質。一示範性取代變異體為親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體呈現之親和力成熟技術(諸如本文所述者)便利地產生。簡言之，使一或多個 HVR 殘基突變且使變異型抗體呈現在噬菌體上並針對特定生物活性(例如結合親和力)加以篩檢。

【0314】 可在 HVR 中進行改變(例如取代)例如以改良抗體親和力。可在 HVR「熱點」(亦即由在體細胞成熟過程期間以高頻率經受突變之密碼子編碼之殘基)(參見例如 Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196, 2008)及/或接觸抗原之殘基中進行此等改變，且測試所得變異型 VH 或 VL 之結合親和力。已經描述藉由從二級文庫構建並重選來進行親和力成熟，例如，在 Hoogenboom 等人 *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien 等人編, Human Press, Totowa, NJ, (2001).)中。在親和力成熟之一些實施例中，藉由多種方法(例如易出錯 PCR、鏈改組或寡核苷酸定向突變誘發)中之任一者將多樣性引入選用於成熟之可變基因中。接著產生二級文庫。接著篩檢文庫以識別具有所要親和力之任何抗體變異體。引入多樣性之另一方法涉及 HVR 定向方法，其中使若干 HVR 殘基(例如一次 4-6 個殘基)隨機化。可例如使用丙胺酸掃描突變誘發或模型化來特異性識別抗原結合中涉及之 HVR 殘基。特定言之，通常以 CDR-H3 及 CDR-L3 為標靶。

【0315】 在某些實施例中，取代、插入或缺失可發生在一或多個 HVR 內，只要此等改變不實質上降低抗體結合抗原之能力即可。舉例而言，可在 HVR 中進行不實質上降低結合親和力之保守性改變(例如如本文提供之保守性取代)。此等改變可例如在 HVR 中之抗原接觸殘基外部。在以上提供之變異型 VH 及 VL 序列之某些實施例中，各 HVR 未改變或含有不超過一個、兩個或三個胺基酸取代。

【0316】 一種適用於識別抗體之可作為突變誘發標靶之殘基或區域的方法稱為「丙胺酸掃描突變誘發」，如 Cunningham 及 Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085 所述。在此方法中，識別某一殘基或一組靶殘基(例如帶電荷殘基，諸如 arg、asp、his、lys 及 glu)且置換為中性或帶負電荷胺基酸(例如

丙胺酸或聚丙胺酸)以確定抗體與抗原之相互作用是否受到影響。可在對初始取代顯示功能敏感性之胺基酸位置上引入進一步取代。或者或另外，使用抗原-抗體複合物之晶體結構來識別抗體與抗原之間的接觸點。此等接觸殘基及相鄰殘基可作為取代候選物而靶向或消除。可篩檢變異體以確定其是否含有所要性質。

【0317】 胺基酸序列插入包括長度在一個殘基至含有一百個或一百個以上殘基之多肽之範圍內的胺基末端及/或羧基末端融合、以及具有單一或多個胺基酸殘基之序列內插入。末端插入之實例包括具有 N 端甲硫胺醯基殘基之抗體。抗體分子之其他插入變異體包括抗體之 N 端或 C 端與增加抗體之血清半衰期之酶(例如用於 ADEPT)或多肽的融合。

b. 糖基化變異體

【0318】 在某些實施例中，本發明抗 FcRH5 抗體可改變以增加或減小抗體糖基化之程度。對本發明之抗 FcRH5 抗體添加糖基化位點或使抗體缺失糖基化位點可藉由改變胺基酸序列以使得產生或移除一或多個糖基化位點來便利地達成。添加或移除糖基化位點可改變抗體諸如抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之效應功能。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)可含有非糖基化位點突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變為取代突變。在一些實施例中，非糖基化位點突變減少抗 FcRH5 抗體之效應功能至少 1%或更多(例如，2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或 90%或更多)。在一些實施例中，取代突變在胺基酸殘基 N297、L234、L235、D265 及/或 P329(EU 編號)處。在一些實施例中，取代突變選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A 及 P329G。在一些實施例中，取代突變為 N297G 突變。

【0319】 當抗體包含 Fc 區時，可改變與其連接之碳水化合物。由哺乳動物細胞產生之天然抗體通常包含通常藉由 N-鍵聯連接於 Fc 區之 CH2 域之 Asn297 的分支雙觸角寡醣。參見例如 Wright 等人 *TIBTECH* 15:26-32, 1997。寡醣可包括各種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡糖胺(GlcNAc)、半乳糖及唾液酸、以及連接於雙觸角寡醣結構之「主幹」中之 GlcNAc 的海

藻糖。在一些實施例中，可對本發明之抗體中之寡醣進行修飾以產生具有某些改良性質之抗體變異體。

【0320】 在一個實施例中，提供具有缺乏(直接或間接)連接於 Fc 區之海藻糖之碳水化合物結構的抗 FcRH5 抗體變異體。舉例而言，海藻糖在此抗體中之量可為 1%至 80%、1%至 65%、5%至 65%或 20%至 40%。如藉由 MALDI-TOF 質譜法所量測，藉由相對於連接於 Asn297 之所有糖結構(例如複合、雜合及高甘露糖結構)之總和計算 Asn297 上之糖鏈內海藻糖的平均量來測定海藻糖之量，如例如 WO 2008/077546 中所述。Asn297 係指位於Fc區中約位置297(Fc區殘基之EU編號)上之天冬醯胺殘基；然而，Asn297亦可由於抗體中之微小序列變化而位於位置 297 之上游或下游約±3 個胺基酸處，亦即在位置 294 與 300 之間。此等海藻糖基化變異體可具有改良之 ADCC 功能。參見例如美國專利公開案第 US 2003/0157108 號(Presta, L.)、第 US 2004/0093621 號(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)。與「去海藻糖基化」或「海藻糖缺乏」抗體變異體相關之公開案之實例包括：US 2003/0157108；WO 2000/61739；WO 2001/29246；US 2003/0115614；US 2002/0164328；US 2004/0093621；US 2004/0132140；US 2004/0110704；US 2004/0110282；US 2004/0109865；WO 2003/085119；WO 2003/084570；WO 2005/035586；WO 2005/035778；WO2005/053742；WO2002/031140；Okazaki 等人 *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249, 2004；Yamane-Ohnuki 等人 *Biotech. Bioeng.* 87: 614, 2004。能夠產生去海藻糖基化抗體之細胞株之實例包括蛋白質海藻糖基化不足的 Lec13 CHO 細胞(Ripka 等人 *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545, 1986；美國專利申請第 US 2003/0157108 A1 號, Presta, L；WO 2004/056312 A1, Adams 等人尤其實例 11)，及敲除細胞株，諸如 α-1,6-海藻糖基轉移酶基因 FUT8 敲除 CHO 細胞(參見，例如，Yamane-Ohnuki 等人 *Biotech. Bioeng.* 87:614, 2004; Kanda, Y. 等人 *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688, 2006；及WO2003/085107)。

【0321】 進一步提供具有二等分寡醣之抗 FcRH5 抗體變異體，例如其中連接於抗體之 Fc 區之雙觸角寡醣係由 GlcNAc 二等分。此等抗體變異體可具有降低之海藻糖基化及/或改良之 ADCC 功能。此等抗體變異體之實

例例如描述於 WO 2003/011878(Jean-Mairet 等人)；美國專利第 6,602,684 號(Umana 等人)；及 US 2005/0123546(Umana 等人)中。亦提供在連接於 Fc 區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之抗體變異體。此等抗體變異體可具有改良之CDC功能。此等抗體變異體例如描述於WO 1997/30087(Patel等人)；WO 1998/58964(Raju, S..)；及 WO 1999/22764(Raju, S.)中。

c. VH、VL、CH1 及 CL 域變異體

【0322】 在某些實施例中，一或多個胺基酸修飾可引入本發明抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子之本發明雙特異性抗 FcRH5抗體，例如，本發明之FcRH5 TDB抗體或其變異體)之重鏈可變(VH，例如，VH_1及/或 VH_2)域，輕鏈可變(VL，例如，VL_1及/或 VL_2)域，重鏈恆定(CH1，例如，$CH1_1$及/或 $CH1_2$)域，及/或輕鏈恆定(CL，例如，CL_1及/或 CL_2)域。VH、VL、CH1 及/或 CL 域可在一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10)胺基酸位置處具有胺基酸修飾(例如，取代)。在具體實施方案中，胺基酸取代包含酸性及/或鹼性胺基酸殘基。胺基酸修飾可在 VH、VL、CH1 及/或 CL 域中形成電荷區域(例如，包含酸性及/或鹼性胺基酸殘基之區域)。VH、VL、CH1 及/或 CL 域中之電荷區域可與相反總電荷之第二電荷區域相互作用以形成電荷對。舉例而言，胺基酸修飾可介導存在於TDB之FcRH5臂之VL_1與VH_1域中之電荷區域之間之電荷對之形成。在一些情況下，胺基酸修飾可介導存在於 TDB 之 FcRH5 臂之CL_1與$CH1_1$域中之電荷區域之間之電荷對之形成。在一些情況下，胺基酸修飾可介導存在於 TDB 之第二臂(例如，TDB 之 CD3 臂)之 VL_2及 VH_2域中之電荷區域之間之電荷對之形成。在一些情況下，胺基酸修飾可介導存在於 TDB 之第二臂(例如，TDB 之 CD3 臂)之 CL_2及 $CH1_2$域中之電荷區域之間之電荷對之形成。含有 VH、VL、CH1 及/或 CL 域變異體之 FcRH5 TDB 之示例性組態提供於圖 1A-1D 中。

【0323】 在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明之 FcRH5 TDB 抗體)包含 VH、VL、CH1 及/或 CL 區域中之一或多個不對稱修飾以促進正確重鏈/輕鏈配對。在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體進一步包

含 Fc 區域中之一或多個修飾以促進抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之兩個臂(例如，抗 FcRH5 臂及抗 CD3 臂)之異源二聚化。

【0324】 在一些實施例中，$CH1_1$域包含 S183(EU 編號)處之胺基酸取代並且 CL_1域包含 V133(EU 編號)處之胺基酸取代。在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體之第一臂(例如，FcRH5 結合臂)之輕鏈為 κ 鏈。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體之第二臂(例如，抗 CD3 結合臂)之輕鏈為 κ 鏈。在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體之兩個臂(例如，FcRH5 結合臂及 CD3 結合臂)之輕鏈為 κ 鏈。

【0325】 在一些實施例中，$CH1_1$域包含 S183E 突變並且 CL_1域包含 V133K 突變。在其他實施例中，$CH1_1$域包含 S183K 突變並且 CL_1域包含 V133E 突變。

【0326】 在一些實施例中，$CH1_1$域包含 S183K 突變，CL_1域包含 V133E 突變，$CH1_2$域包含 S183E 突變，並且 CL_2域包含 V133K 突變。

【0327】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體進一步包含 VH_1域中之 Q39E 突變，VL_1域中之 Q38K 突變，VH_2域中之 Q39K 突變，及 VL_2域中之 Q38E 突變。

【0328】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體進一步包含 $CH3_1$域中之結(例如，隆凸)突變及 $CH3_2$域中之孔(例如，空腔)突變。在某些實施例中，結突變包含 T366W 突變(EU 編號)。在某些實施例中，孔突變包含 T366S、L368A 及 Y407V 突變(EU 編號)中之至少一者、至少兩者或所有三者。在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體進一步包含第一重鏈中之 T366W 突變及第二重鏈中之 T366S、L368A 及 Y407V 突變。

【0329】 在一些實施例中，$CH1_1$域包含 A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A 突變並且 CL_1域包含 F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 突變。在某些其他實施例中，$CH1_1$域包含 A141I、F170S、S181M、S183A 及 V185A 突變；CL_1域包含 F116A、L135V、S174A、S176F 及 T178V 突變；$CH1_2$域包含 S183E 突變；並且 CL_2域包含 V133K 突變。

d. Fc 區變異體

【0330】 在某些實施例中，一或多個胺基酸修飾可引入 Fc 區域本發

明之抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明 TDB 抗體或其變異體)，從而產生 Fc 區域變異體(參見例如，美國公開案第 2012/0251531 號，其全部以引用方式併入本文)。在某些其他實施例中，抗 FcRH5 抗體包含 Fc 區域中之一或多個修飾以促進抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之兩個臂(例如，抗 FcRH5 臂及抗 CD3 臂)之異源二聚化。在某些實施例中，具有一或多個 Fc 修飾之抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)亦可具有 VH、VL、CH1 及/或 CL 域中之一或多個修飾，如上所述。在一些實施例中，含有 Fc、VH、VL、CH1 及/或 CL 修飾之 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)可藉由如本文描述之單細胞抗體產生方法來產生。Fc 區變異體可包含在一或多個胺基酸位置上包含胺基酸修飾(例如取代)之人類 Fc 區序列(例如人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 Fc 區)。

【0331】 在某些實施例中，本發明涵蓋具有一些而非所有效應功能之抗 FcRH5 抗體變異體，該等效應功能使該抗體變異體成為抗體之活體內半衰期較為重要但某些效應功能(諸如補體及 ADCC)不必要或有害之應用所需要的候選物。可進行活體外及/或活體內細胞毒性分析以確認 CDC 及/或 ADCC 活性之降低/去除。舉例而言，可進行 Fc 受體(FcR)結合分析以確保抗體缺乏 FcγR 結合性(因此可能缺乏 ADCC 活性)，但保留 FcRn 結合能力。用於介導 ADCC 之初級細胞 NK 細胞僅表現 Fc(RIII，而單核細胞表現 Fc(RI、Fc(RII 及 Fc(RIII。FcR 在造血細胞上之表現概述於 Ravetch 等人 *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-492, 1991 第 464 頁上之表 3 中。評估相關分子之 ADCC 活性之活體外分析的非限制性實例描述於美國專利第 5,500,362 號(參見例如 Hellstrom 等人 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 83:7059-7063, 1986)及 Hellstrom 等人 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 82:1499-1502, 1985; 5,821,337 (參見 Bruggemann 等人 *J. Exp. Med.* 166:1351-1361, 1987))中。或者，可採用非放射性分析方法，(參見例如用於流動式細胞測量術之 ACTI™非放射性細胞毒性分析(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA)；及 CYTOTOX 96®非放射性細胞毒性分析(Promega, Madison, WI)。適用於此等分析之效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。或者或另外，相關分子

之 ADCC 活性可例如在動物模型，諸如 Clynes 等人 *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95:652-656, 1998 中揭露之動物模型中進行活體內評估。亦可進行 C1q 結合分析以確認抗體不能結合 C1q 且因此缺乏 CDC 活性。參見例如 WO 2006/029879 及 WO 2005/100402 中之 C1q 及 C3c 結合 ELISA。為評估補體活化，可進行 CDC 分析(參見例如 Gazzano-Santoro 等人 *J. Immunol. Methods* 202:163, 1996; Cragg, M.S. 等人 *Blood.* 101:1045-1052, 2003; 及 Cragg, M.S. and M.J. Glennie *Blood.* 103:2738-2743, 2004)。亦可使用此項技術中已知之方法對 FcRn 結合及活體內清除率/半衰期進行測定(參見例如 Petkova, S.B. 等人 *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769, 2006)。

【0332】 效應功能降低之抗體包括 Fc 區殘基 238、265、269、270、297、327 及 329 中之一或多者經取代之抗體(美國專利第 6,737,056 及 8,219,149 號)。此等 Fc 突變體包括在胺基酸位置 265、269、270、297 及 327 中之兩者或兩者以上處具有取代之 Fc 突變體，包括殘基 265 及 297 取代成丙胺酸之所謂「DANA」Fc 突變體(美國專利第 7,332,581 及 8,219,149 號)。

【0333】 在某些實施例中，抗體中之野生型人 Fc 區域之位置 329 處之脯胺酸替換成甘胺酸或精胺酸或胺基酸殘基，該胺基酸殘基足夠大以破壞在 Fc 之脯胺酸 329 與 FcgRIII 之色胺酸殘基 Trp87 及 Trp110 之間形成的 Fc/Fc.γ 受體界面內的脯胺酸夾層(Sondermann 等人 *Nature.* 406:267-273, 2000)。在某些實施例中，抗體包含至少另一胺基酸取代。在一實施例中，另一胺基酸取代為 S228P、E233P、L234A、L235A、L235E、N297A、N297D 或 P331S，並且仍然在另一實施例中至少另一胺基酸取代為人 IgG1 Fc 區域之 L234A 及 L235A 或人 IgG4 Fc 區域之 S228P 及 L235E(參見例如美國 2012/0251531)，並且仍然在另一實施例中至少另一胺基酸取代為人 IgG1 Fc 區域之 L234A 及 L235A 及 P329G。

【0334】 具有 FcR 之改良或削弱結合之某些抗體變異體已描述(參見，例如，美國專利第 6,737,056 號；WO 2004/056312，及 Shields 等人 *J. Biol. Chem.* 9(2):6591-6604, 2001)。

【0335】 在某些實施例中，抗體變異體包含具有一或多個改良 ADCC 之胺基酸取代(例如在 Fc 區之位置 298、333 及/或 334(EU 殘基編號)處之取

代)之 Fc 區。

【0336】 在一些實施例中，在 Fc 區中進行導致 C1q 結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)改變(亦即改良或削弱)之改變，例如如美國專利第 6,194,551 號、WO 99/51642 及 Idusogie 等人 *J. Immunol.* 164: 4178-4184, 2000 中所述。

【0337】 半衰期增加且與負責將母體 IgG 轉移至胎兒之新生兒 Fc 受體(FcRn)(Guyer 等人 *J. Immunol.* 117:587, 1976; Kim 等人 *J. Immunol.* 24:249, 1994)之結合改良的抗體描述於 US2005/0014934A1(Hinton 等人)中。彼等抗體包含其中具有改良 Fc 區域與 FcRn 之結合的一或多個取代的 Fc 區域。此等 Fc 變異體包括在以下一或多個 Fc 區殘基處具有取代之變異體：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424 或 434，例如 Fc 區殘基 434 之取代(美國專利第 7,371,826 號)。

【0338】 關於 Fc 區域變異體之其他實例，亦參見 Duncan 等人 *Nature* 322:738-40, 1988；美國專利第 5,648,260 號；美國專利第 5,624,821 號；及 WO 94/29351。

【0339】 在某些實施例中，抗 FcRH5 抗體包含非糖基化位點突變。非糖基化位點突變可為取代突變。如與未突變型式相比，非糖基化位點突變可減少抗 FcRH5 抗體之效應功能至少 1%(例如，2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%或 90%)或更多。在一些情況下，取代突變在胺基酸殘基 N297、L234、L235、D265 及/或 P329(EU 編號)處。另外，取代突變可選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A 及 P329G。在具體實例中，取代突變為 N297G 突變。

e. 結及孔變異體

【0340】 亦可產生結及孔變異體抗體，其中一或多個(例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10)胺基酸殘基之胺基酸修飾(例如，取代)產生隆凸(結)或空腔(孔)。在一些情況下，位於抗體之一個多肽上之隆凸可定位於位於抗體之第二多肽上之空腔內以使得抗體之兩個組成多肽可在隆凸與空腔之間

之界面處相接。結可一或多個胺基酸殘基替換成較大尺寸之一或多個胺基酸殘基來形成。空腔可一或多個胺基酸殘基替換成較小尺寸之一或多個胺基酸殘基來形成。隆凸或空腔可引入抗 FcRH5 抗體之臂中(例如，FcRH5 TDB(例如，抗 FcRH5 臂或抗 CD3 臂))。結及孔修飾(例如，Fc 域之修飾)尤其適用於增加雙特異性抗體(例如，TDB)之總產率、均勻性及穩定性。在一些情況下(例如，在隆凸-空腔對定位於 LC/HC 界面(例如，VH 及 VL 或 CL 及 CH1)上時)，引入結及孔修飾之胺基酸修飾可減少輕鏈交換。在一些實施例中，隆凸藉由將 T366W 突變引入抗 FcRH5 抗體之一個臂(例如，抗 FcRH5 臂或抗 CD3 臂)來形成。在一些實施例中，T366W 突變在抗 FcRH5 臂中。在一些實施例中，T366W 突變在抗 CD3 臂中。在一些實施例中，空腔藉由將 T366W、L368A 及/或 Y407V 突變引入抗 FcRH5 抗體之一個臂(例如，抗 FcRH5 臂或抗 CD3 臂)中來形成。在一些實施例中，T366W、L368A 及/或 Y407V 突變在抗 FcRH5 臂中。在一些實施例中，T366W、L368A 及/或 Y407V 突變在抗 CD3 臂中。

【0341】 製備多特異性抗體之技術包括(但不限於)重組共表現具有不同特異性之兩對免疫球蛋白重鏈-輕鏈(參見 Milstein 及 Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)), WO 93/08829 及 Traunecker 等人 *EMBO J.* 10: 3655 (1991))及「孔中結(knob-in-hole)」工程改造(參見例如美國專利第 5,731,168 號)。多特異性抗體之「孔中結」工程改造可用於產生含有結之第一臂及含有第一臂之結可結合至其中之孔的第二臂。舉例而言，本發明 TDB 抗體可含有定位於其抗 CD3 臂中之結及定位於其腫瘤靶向臂中之孔。或者，本發明 TDB 抗體可含有定位於其腫瘤靶向臂中之結及定位於其抗 CD3 臂中之孔。特異性抗體亦可使用免疫球蛋白調換(也稱為 Fab 域交換或 CrossMab 格式)技術來工程改造(參見例如 WO2009/080253; Schaefer 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108:11187-11192 (2011))。特異性抗體亦可藉由以下方法來製成：將用於製造抗體 Fc-異源二聚體分子之靜電轉向作用加以工程改造(WO 2009/089004A1)；將兩個或兩個以上抗體或片段交聯(參見，例如，美國專利第 4,676,980 號，及 Brennan 等人 *Science*, 229: 81 (1985))；使用白胺酸拉鍊來產生雙特異性抗體(參見，例如，Kostelny 等人 *J. Immunol.*,

148(5):1547-1553 (1992))；使用製造雙特異性抗體片段之「雙功能抗體」技術(參見，例如，Hollinger 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993))；及使用單鏈 Fv(sFv)二聚體(參見,例如 Gruber 等人 *J. Immunol.*, 152:5368 (1994))；及製備三特異性抗體如例如 Tutt 等人 *J. Immunol.* 147: 60 (1991)中所描述。

f. 半胱胺酸工程改造抗體變異體

【0342】 在某些實施例中，可能需要產生半胱胺酸工程改造抗體，例如「硫基單抗(thioMAb)」，其中抗體之一或多個殘基經半胱胺酸殘基取代。在特定實施例中，經取代殘基存在於抗體之可及位點處。藉由用半胱胺酸取代彼等殘基，反應性硫醇基藉此定位在抗體之可及位點處且可用於使抗體結合於其他部分(諸如藥物部分或連接子-藥物部分)以產生免疫結合物，如本文進一步所述。在某些實施例中，任一或多個以下殘基可經半胱胺酸取代：輕鏈之 V205(Kabat 編號)；重鏈之 A118(EU 編號)；及重鏈 Fc 區之 S400(EU 編號)。半胱胺酸工程改造抗體可如例如美國專利第 7,521,541 號所描述來產生，其全部以引用方式併入本文。

g. 其他抗體衍生物

【0343】 在某些實施例中，本文提供之本發明之抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明 TDB 抗體或其變異體)可進一步修飾以含有本領域中已知並且易於得到之額外非蛋白質部分。適於使抗體衍生化之部分包括但不限於水溶性聚合物。水溶性聚合物之非限制性實例包括但不限於聚乙二醇(PEG)、乙二醇/丙二醇之共聚物、羧甲基纖維素、葡聚糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯啶酮、聚-1,3-二氧雜環戊烷、聚-1,3,6-三噁烷、乙烯/順丁烯二酸酐共聚物、聚胺基酸(均聚物或無規共聚物)、及葡聚糖或聚(n-乙烯基吡咯啶酮)聚乙二醇、聚丙二醇均聚物、聚環氧丙烷/環氧乙烷共聚物、聚氧乙基化多元醇(例如甘油)、聚乙烯醇及其混合物。聚乙二醇丙醛由於其在水中之穩定性而可具有製造優勢。聚合物可具有任何分子量，且可分支或未分支。連接於抗體之聚合物之數目可變化，且若連接一個以上聚合物，則其可為相同或不同分子。一般而言，用於衍生化之聚合物之數目及/或類型可基於包括但不

限於欲改良之抗體之特定性質或功能、抗體衍生物是否將在確定條件下用於療法中等考慮因素加以確定。

【0344】 在另一實施例中，提供抗體與可藉由曝露於輻射而選擇性加熱之非蛋白質部分的結合物。在一個實施例中，非蛋白質部分為碳奈米管(Kam 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:11600-11605, 2005)。輻射可具有任何波長，且包括但不限於不損害普通細胞但會將非蛋白質部分加熱至鄰近於抗體-非蛋白質部分之細胞被殺死之溫度的波長。

B. 重組方法及組合物

【0345】 本發明抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明 TDB 抗體或其變異體)可使用重組方法及組合物來產生，例如，如美國專利第 4,816,567 號所描述。在一個實施例中，提供編碼本文所述之抗 FcRH5 抗體之經分離核酸。在一實施例中，宿主細胞為真核細胞，例如，中國倉鼠卵巢(CHO)細胞。在一實施例中，宿主細胞為原核細胞，例如，大腸桿菌細胞。在一個實施例中，提供一種製備抗 FcRH5 抗體之方法，其中該方法包含在適於表現該抗體之條件下培養如以上提供之包含編碼該抗體之核酸的宿主細胞，及視情況自該宿主細胞(或宿主細胞培養基)回收該抗體。在另一實施例中，該方法進一步包含培養第二宿主細胞，該第二宿主細胞包含第二核酸，該第二核酸編碼包含結合 CD3 之結合域的抗 CD3 抗體。在一些實施例中，將宿主細胞共培養。進一步實施例包含將雙特異性抗 FcRH5 抗體從宿主細胞或培養基回收。在一些實施例中，抗 FcRH5 及抗 CD3 抗體在同一宿主細胞中產生(例如，單細胞方法)。在一些實施例中，抗 FcRH5 及抗 CD3 抗體在分離宿主細胞中產生(例如，雙細胞方法)。

【0346】 在單細胞及雙細胞方法中，將編碼 FcRH5 TDB(例如，FcRH5 半抗體及 CD3 半抗體)之一或多個質體引入用於培養並表現 TDB 之一或多個宿主細胞中。在一個實例中，單一質體可編碼 FcRH5 半抗體及 CD3 半抗體。或者，半抗體可藉由分離質體來編碼。在另一個實例中，每個半抗體之重鏈在第一質體中編碼，而每個半抗體之輕鏈在第二質體中編碼。在單細胞方法中，FcRH5 TDB 在單一宿主中產生。在雙細胞方法中，FcRH5 TDB

藉由將半抗體在分離宿主(例如，相同宿主細胞之分離培養物，或不同宿主細胞之分離培養物)中表現來產生。在雙細胞方法中，兩個宿主可在同一容器或不同容器中培養。兩個宿主培養物可在溶解並純化 FcRH5 TDB 之前組合或兩個半抗體可個別地純化。

【0347】 在一些實施例中，已經修飾以包括不對稱修飾(例如，如上所述之 VH、VL、CH1、CL 及/或 Fc 域之突變)的本發明之抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明之 FcRH5 TDB 抗體)使用單細胞方法來產生，從而導致如與未加以修飾以包括不對稱修飾之抗 FcRH5 抗體相比，正確重鏈/輕鏈配對得以改良及/或抗 FcRH5 抗體之產率得以改良。

【0348】 適於選殖或表現抗體編碼性載體之宿主細胞包括本文所述之原核或真核細胞。舉例而言，抗體可在細菌中產生，特定言之當不需要糖基化及 Fc 效應功能時。對於抗體片段及多肽在細菌中之表現，參見例如美國專利第 5,648,237 號、第 5,789,199 號及第 5,840,523 號(參見例如 Charlton, *Methods in Molecular Biology, 第 248 卷* (B.K.C. Lo 等人 Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 第 245-254 頁，其描述抗體片段在大腸桿菌中之表現)。在表現之後，抗體可自細菌細胞糊狀物分離於可溶性部分中且可進一步純化。

【0349】 除原核生物之外，諸如絲狀真菌或酵母之真核微生物亦為適於抗體編碼性載體之選殖或表現宿主，包括糖基化路徑已經「人源化」，從而產生具有部分或完全人類糖基化型態之抗體之真菌及酵母菌株。參見 Gerngross, *Nat. Biotech.* 22:1409-1414, 2004，及 Li 等人 *Nat. Biotech.* 24:210-215, 2006。

【0350】 適於表現糖基化抗體之宿主細胞亦源於多細胞生物體(無脊椎動物及脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物及昆蟲細胞。已識別眾多可連同昆蟲細胞一起使用之桿狀病毒株，尤其用於轉染草地黏蟲(*Spodoptera frugiperda*)細胞。

【0351】 植物細胞培養物亦可用作宿主。參見，例如，美國專利第 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978 及 6,417,429 號(描述用於在轉

殖基因植物中產生抗體之 PLANTIBODIES™技術)。

【0352】 脊椎動物細胞亦可用作宿主。舉例而言，適合於懸浮生長之哺乳動物細胞株可為適用的。適用哺乳動物宿主細胞株之其他實例為藉由SV40(COS-7)轉型之猴腎 CV1 細胞株；人胚胎腎細胞株(293 或 293 細胞，如例如Graham等人*J. Gen Virol.* 36:59, 1977所描述)；幼倉鼠腎細胞(BHK)；小鼠塞爾托利細胞(TM4 細胞，如例如 Mather *Biol. Reprod.* 23:243-251, 1980所描述)；猴腎細胞(CV1)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76)；人宮頸癌細胞(HELA)；犬腎細胞(MDCK；布法羅大鼠肝臟細胞(BRL3A)；人肺細胞(W138)；人肝細胞(HepG2)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562)；TRI 細胞，如例如 Mather等人 *Annals N.Y. Acad. Sci.* 383:44-68, 1982 所描述；MRC-5 細胞；及 FS4 細胞。其他適用哺乳動物宿主細胞株包括中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，包括DHFR-CHO 細胞(Urlaub 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216, 1980)；及骨髓瘤細胞株，諸如 Y0、NS0 及 Sp2/0。關於適合於抗體產生之某些哺乳動物宿主細胞株之評述，參見，例如，Yazaki 等人 *Methods in Molecular Biology,* 248:255-268, 2003。

C. 分析

【0353】 本文提供之本發明抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，諸如本發明 TDB抗體或其變異體)可藉由在此項技術中已知之各種分析針對其物理/化學性質及/或生物活性來識別、篩檢或表徵。

1. 結合分析及其他分析

【0354】 在一態樣中，本發明之抗 FcRH5 抗體例如藉由已知方法諸如 ELISA、蛋白質印跡等針對其抗原結合活性來測試。

【0355】 在另一態樣中，競爭分析可用於識別與本發明之抗 FcRH5 抗體競爭結合 FcRH5 之抗體。

【0356】 在一示範性競爭分析中，在包含結合 FcRH5 之第一經標記抗體及測試其與該第一抗體競爭結合 FcRH5 之能力之第二未標記抗體的溶液中培育經固定 FcRH5。第二抗體可存在於融合瘤上清液中。作為對照，在包含第一經標記抗體而無第二未標記抗體之溶液中培育經固定 FcRH5。

在容許第一抗體結合 FcRH5 之條件下培育之後，移除過量未結合抗體，且量測與經固定 FcRH5 締合之標記之量。若相對於對照樣品，與經固定 FcRH5 締合之標記之量在測試樣品中實質上降低，則指示第二抗體與第一抗體競爭結合 FcRH5。參見例如 Harlow and Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*. Ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)。

2. *活性分析*

【0357】 在一態樣中，提供用於識別其具有生物活性之抗 FcRH5 抗體的分析。生物活性可包括例如在體內、體外或離體結合至 FcRH5 或肽其片段。在本發明之多特異性(例如，雙特異性)抗 FcRH5 抗體(例如，具有一個抗 FcRH5 臂及識別第二生物分子例如 CD3 之一個臂的 TDB 抗體)，生物活性亦可包括例如效應細胞活化(例如，T 細胞(例如，CD8+及/或 CD4+ T 細胞)活化)，效應細胞群體擴增(即，T 細胞計數增加)，靶細胞群體減少(即，在其細胞表面上表現第二生物分子之細胞群體)減少，及/或靶細胞殺傷。提供在體內及/或體外具有此生物活性之抗體。在某些實施例中，本發明抗體針對此生物活性來測試，如本文以下實例中詳細描述。

【0358】 在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)活性包含支援 B 細胞殺傷及/或活化細胞毒性 T 細胞之能力。在某些實施例中，本發明之 FcRH5 TDB 抗體藉由在本文中，尤其實例中描述的任何方法針對此 B 細胞殺傷及/或活化 T 細胞生物活性之細胞毒性作用來加以測試。在任何此等活性分析之一些實施例中，PBMC 可藉由 Ficoll 分離從健康供體之全血中分離。具體而言，人血液可收集於肝素注射器中，並且 PBMC 使用 Leucosep 及 Ficoll Paque Plus 來分離。若需要，CD4+T 及 CD8+T 細胞可使用 Miltenyi 套組根據製造商之說明書來分離。

【0359】 此外，細胞可在補充有 GlutaMax、青黴素及鏈黴素的含有 10%FBS 之 RPMI 培養基中洗滌並且將~0.2 百萬懸浮細胞添加至 96 孔 U 底板。細胞可在 37℃下在補充有 10% FBS 之 RPMI1640 中在加濕標準細胞培養恆溫箱中培養。對於 BJAB 細胞殺傷分析，在不同濃度之 TDB 抗體存在下，20,000 個 BJAB 細胞可與作為 huPBMC 或純化 T 細胞之效應細胞一起在每個分析之指示比率下培育 24 小時。對於內源性 B 細胞殺傷分析，

200,000 個 huPBMC 可與不同濃度之 TDB 抗體一起培育 24 小時。

【0360】 在培養之後，細胞可用 FACS 緩衝液(PBS 中之 0.5%BSA、0.05%疊氮化鈉)洗滌。然後，細胞可在 FACS 緩衝液中染色，用 FACS 緩衝液洗滌並且懸浮於含有 1μg/ml 碘化丙啶之 100μl 之 FACS 緩衝液中。資料可收集於 FACSCalibur 流式細胞儀上並且使用 FlowJo 來分析。活 B 細胞可藉由 FACS 作為 PI 陰性 CD19+或 PI 陰性 CD20+ B 細胞來閘控，並且絕對細胞計數可使用作為內部計數對照添加至反應混合物之FITC珠粒來獲得。細胞殺傷百分比(%)可基於非 TDB 治療對照來計算。活化 T 細胞可藉由使用抗 CD69-FITC 及抗 CD25-PE 之 CD69 及 CD25 表面表現來偵測。

D. 免疫結合物

【0361】 本發明亦提供包含結合於一或多種細胞毒性劑之抗 FcRH5 抗體，例如抗 FcRH5 多特異性抗體，例如本文所述 FcRH5 TDB 之免疫結合物，該等細胞毒性劑為諸如化學治療劑或藥物、生長抑制劑、毒素(例如蛋白質毒素；細菌、真菌、植物或動物來源之酶活性毒素；或其片段)或放射性同位素。

【0362】 在一實施例中，免疫結合物為抗體-藥物結合物(ADC)，其中抗體結合至一或多種藥物，包括但不限於美登醇(參見美國專利第 5,208,020 號、第 5,416,064 號及歐洲專利 EP 0 425 235 B1)；奧里斯他汀諸如單甲基奧里斯他汀藥物部分 DE 及 DF(MMAE 及 MMAF)(參見美國專利第 5,635,483 號及第 5,780,588 號，及第 7,498,298 號)；多拉司他汀；卡奇黴素或其衍生物(參見美國專利第 5,712,374、5,714,586、5,739,116、5,767,285、5,770,701、5,770,710、5,773,001 及 5,877,296 號；Hinman 等人 *Cancer Res.* 53:3336-3342, 1993；及 Lode 等人 *Cancer Res.* 58:2925-2928, 1998)；蒽環黴素諸如柔紅黴素或多柔比星(參見 Kratz 等人 *Current Med. Chem.* 13:477-523, 2006; Jeffrey 等人 *Bioorganic & Med. Chem. Letters* 16:358-362, 2006; Torgov 等人 *Bioconj. Chem.* 16:717-721, 2005; Nagy 等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834, 2000; Dubowchik 等人 *Bioorg. & Med. Chem. Letters* 12:1529-1532, 2002; King 等人 *J. Med. Chem.* 45:4336-4343, 2002；及美國專利第 6,630,579 號)；甲胺蝶呤；長春地辛；紫杉烷諸如多西紫杉醇，紫杉醇，

拉洛他賽，替司他賽，及歐塔紫杉醇；單端孢黴烯；及 CC1065。

【0363】 在另一實施例中，免疫結合物包含結合於酶活性毒素或其片段的本文所述抗 FcRH5 抗體(例如，抗 FcRH5 多特異性抗體，例如 FcRH5 TDB)，該毒素或其片段包括但不限於白喉 A 鏈，白喉毒素之非結合活性片段，外毒素 A 鏈(來自綠膿假單胞菌)，蓖麻毒素 A 鏈，相思豆毒素 A 鏈，蘋蓮根毒素 A 鏈，α-帚麴菌素，油桐蛋白質，石竹素蛋白質，美洲商陸蛋白質(PAPI、PAPII 及 PAP-S)，苦瓜抑制劑，麻風樹毒蛋白，巴豆毒素，肥皂草抑制劑，白樹毒素，絲林黴素，局限麴菌素，酚黴素，依諾黴素，及單端孢黴烯族化合物。

【0364】 在另一實施例中，免疫結合物包含結合於放射性原子以形成放射性結合物的本文所述抗 FcRH5 抗體(例如，抗 FcRH5 多特異性抗體，例如 FcRH5 TDB)。多種放射性同位素可用於產生放射性結合物。實例包括 At^{211}、I^{131}、I^{125}、Y^{90}、Re^{186}、Re^{188}、Sm^{153}、Bi^{212}、P^{32}、Pb^{212}及 Lu 之放射性同位素。當免疫結合物用於偵測時，其可包含用於閃爍攝影研究之放射性原子，例如 tc99m 或 I123；或用於核磁共振(NMR)成像(亦稱為磁共振成像 mri)之自旋標記，諸如碘-123、碘-131、銦-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釓、錳或鐵。

【0365】 抗體與細胞毒性劑之免疫結合物可使用多種雙功能蛋白偶聯劑，諸如 N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫醇)丙酸酯（SPDP）、琥珀醯亞胺基-4-(N-馬來醯亞胺甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、亞胺基硫烷（IT）、亞胺酸酯之雙功能衍生物（諸如二亞胺代己二酸二甲酯 HCl）、活性酯（諸如辛二酸二琥珀醯亞胺基酯）、醛（諸如戊二醛）、雙-疊氮基化合物（諸如雙(對疊氮基苯甲醯基)己二胺）、雙-重氮衍生物（諸如雙-(對重氮苯甲醯基)-乙二胺）、二異氰酸酯（諸如甲苯 2,6-二異氰酸酯）及雙-活性氟化合物（諸如 1,5-二氟-2,4-二硝基苯）來製備。舉例而言，蓖麻毒素免疫毒素可如 Vitetta 等人 *Science* 238:1098, 1987 所描述來製備。碳-14-標記之 1-異硫氰酸酯基苯甲基-3-甲基二伸乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)為一種用於使放射性核苷酸結合於抗體之示範性螯合劑。參見 WO94/11026。連接子可為促進細胞毒素藥物在細胞中之釋放的「可裂解連接子」。舉例而言，可使用酸不穩定的連接

子、肽酶敏感性連接子、對光不穩定連接子、二甲基連接子或含有二硫化物之連接子(Chari 等人 *Cancer Res.* 52:127-131, 1992；美國專利第 5,208,020 號)。

【0366】 本文中之免疫結合物或 ADC 明確包括但是不限於與交聯試劑一起製備的此等結合物，該等交聯試劑包括但不限於可購得之 BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、sulfo-EMCS、sulfo-GMBS、sulfo-KMUS、sulfo-MBS、sulfo-SIAB、sulfo-SMCC 及 sulfo-SMPB 及 SVSB(琥珀醯亞胺基-(4-乙烯碸)苯甲酸酯)(例如，來自 Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A)。

E. 醫藥調配物

【0367】 本發明之抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，例如，FcRH5 TDB)的醫藥調配物藉由將具有所需純度之此抗體與一或多種任擇醫藥學上可接受之載劑、緩衝劑、穩定劑及/或防腐劑(*Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))混合成凍乾調配物或水溶液形式來製備。醫藥學上可接受之載劑通常在所用劑量及濃度下對接受者無毒，且包括但不限於：緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸及甲硫胺酸；防腐劑(諸如氯化十八烷基二甲基苯甲基銨；氯化六羥季銨；氯化苯甲烴銨；苄索氯銨；苯酚、丁醇或苯甲醇；對羥基苯甲酸烴酯，諸如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；兒茶酚(catechol)；間苯二酚；環己醇；3-戊醇；及間甲酚)；低分子量(少於約 10 個殘基)多肽；蛋白質，諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，諸如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，諸如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、二醣及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑，諸如 EDTA；糖，諸如蔗糖、甘露糖醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，諸如鈉；金屬錯合物(例如 Zn-蛋白質錯合物)；及/或非離子界面活性劑，諸如聚乙二醇(PEG)。本文之示範性醫藥學上可接受之載劑進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性玻尿酸酶醣蛋白(sHASEGP)，例如人類可溶性 PH-20 玻尿酸酶醣蛋白，諸如 rHuPH20(HYLENEX®, Baxter International,

Inc.)。某些示例性 sHASEGP 及使用包括 rHuPH20 之方法描述於美國專利公開案第 2005/0260186 及 2006/0104968 號中。在一個態樣中，sHASEGP 與一或多種其他葡糖胺聚糖酶，諸如軟骨素酶(chondroitinase)組合。

【0368】 示範性凍乾抗體調配物描述於美國專利第 6,267,958 號中。水性抗體調配物包括美國專利第 6,171,586 號及 WO2006/044908 中所述者，後述調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝劑。

【0369】 本文之調配物亦可含有一種以上如為所治療之特定適應症所必需之活性成分，較佳為具有不會對彼此產生不利影響之補充活性的活性成分。舉例而言，可能需要進一步提供額外治療劑(例如，化學治療劑、細胞毒性劑、生長抑制劑，及/或抗激素劑，諸如本文在以上列舉之彼等)。此等活性成分適當地以對預期之目的有效之量組合存在。

【0370】 可例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合將活性成分截留於所製備之微膠囊中，例如分別於膠狀藥物傳遞系統(例如脂質體、白蛋白微球體、微乳液、奈米粒子及奈米膠囊)中或於巨乳液中之羥甲基纖維素或明膠-微膠囊及聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊。此等技術揭示於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)中。

【0371】 在一些情況下，組合物可包括 PD-1 軸結合拮抗劑及/或額外治療劑。舉例而言，PD-1 軸結合拮抗劑可選自由以下組成之群：MPDL3280A(阿特立單抗)、YW243.55.S70、MDX-1105、MEDI473(德瓦魯單抗)、及 MSB0010718C(納武單抗)、MDX1106(妮威祿單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、CT-011(皮地利珠單抗)、MEDI-0680 (AMP-514)、PDR001、REGN2810 及 BGB-108。另外，包含本發明之抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之組合物可包括類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合。

【0372】 可製備持續釋放製劑。持續釋放製劑之適合實例包括含有抗體之固體疏水性聚合物之半透性基質，該等基質呈成形物件例如膜或微膠囊之形式。

【0373】 欲用於活體內投藥之調配物通常無菌。可易於例如藉由經無菌過濾膜過濾來達成無菌。

F. 治療方法及組合物

【0374】 本發明之任何抗 FcRH5 抗體(例如，結合至 FcRH5 及第二生物分子例如 CD3 之本發明雙特異性抗 FcRH5 抗體，例如，FcRH5 TDB)可在治療方法中使用。

【0375】 在一態樣中，提供用作藥物之抗 FcRH5 抗體。在其他態樣中，提供用於治療或延遲個體之細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤(MM))之進程及/或增強免疫功能之抗 FcRH5 抗體。在某些實施例中，提供一種用於在治療方法中使用之抗 FcRH5 抗體。在某些實施例中，本發明提供在治療患有細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，MM))之個體之方法中使用的抗 FcRH5 抗體，該方法包含向個體投與有效量之抗 FcRH5 抗體。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下所述之其他治療劑。

【0376】 在其他實施例中，本發明提供用於在患有細胞增殖病症，諸如 FcRH5 陽性癌症(例如，MM)之個體中增強免疫功能的抗 FcRH5 抗體。在某些實施例中，本發明提供在增強患有細胞增殖病症之個體之免疫功能之方法中使用的抗 FcRH5 抗體，該方法包含向個體投與有效抗 FcRH5 抗體以活化效應細胞(例如，T 細胞，例如，CD8+及/或 CD4+T 細胞)，該等效應細胞能夠對於個體之靶細胞(例如，表現由本發明之抗 FcRH5 抗體，諸如本發明之 FcRH5 TDB 抗體識別之第二生物分子的細胞)施加細胞毒性及/或凋亡作用。抗 FcRH5 抗體可結合至定位於靶細胞上之 FcRH5 分子及定位於免疫效應細胞上之 CD3 分子。靶細胞可為漿細胞，諸如長或短壽命漿細胞。另外，靶細胞可為骨髓瘤細胞。根據任何以上實施例之「個體」可為人類。

【0377】 在另一態樣中，本發明提供抗 FcRH5 抗體用於製造或製備藥物之用途。在一實施例中，藥物用於治療細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，MM))。在另一實施例中，藥物用於在治療細胞增殖病症之方法中使用，該方法包含向患有細胞增殖病症之個體投與有效量之藥物。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下所述之其他治療劑。

【0378】 在另一實施例中，藥物用於活化效應細胞(例如，T 細胞，

例如，CD8+及/或 CD4+T 細胞)，該等效應細胞能夠對於個體之靶細胞(例如，表現由本發明之抗 FcRH5 抗體，諸如本發明之 FcRH5 TDB 抗體識別之第二生物分子的細胞)施加細胞毒性及/或凋亡作用。在另一實施例中，藥物用於在增強患有細胞增殖病症之個體之免疫功能之方法中使用，該方法包含向個體投與有效量之藥物以活化效應細胞(例如，T 細胞，例如，CD8+及/或 CD4+T 細胞)，擴增(增加)效應細胞群體，減少靶細胞(例如，表現由本發明之抗 FcRH5 抗體，諸如本發明之 FcRH5 TDB 抗體識別之第二生物分子的細胞)群體，且/或殺傷靶細胞(例如，靶腫瘤細胞)。根據任何以上實施例之「個體」可為人類。

【0379】 在另一態樣中，本發明提供治療細胞增殖病症(例如，癌症)之方法。FcRH5 陽性癌症可為 B 細胞癌症。在一些情況下，B-細胞 癌症可為多發性骨髓瘤 (MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤 (MCL)、彌散性大 B-細胞淋巴瘤 (DLBCL)/或濾泡性淋巴瘤(FL)。在具體實例中，B 細胞癌症為 MM。在其他情況下，FcRH5 陽性癌症為 B 細胞癌症。在一實施例中，該方法包含向患有此細胞增殖病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤(MM))之個體投與有效量之抗 FcRH5 抗體。在一個此實施例中，該方法進一步包括向該個體投與有效量之至少一種如下所述之其他治療劑。根據任何以上實施例之「個體」可為人類。

【0380】 本發明之抗體可單獨或與其他藥劑組合用於療法中。舉例而言，本發明之抗體可與至少一種其他治療劑共投與。在某些實施例中，額外治療劑為 PD-1 軸結合拮抗劑諸如 MPDL3280A(阿特立單抗)、YW243.55.S70、MDX-1105、MEDI473(德瓦魯單抗)及 MSB0010718C(納武單抗)、MDX1106(妮威祿單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、CT-011(皮地利珠單抗)、MEDI-0680(AMP-514)、PDR001、REGN2810 及/或 BGB-108。另外，類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合亦可投與受試者。在一實施例中，糖皮質激素為地塞米松。在一些實施例中，IMiD 為來那度胺。在一些實施例中，PI 為硼替佐米。

【0381】 以上指示之此等組合療法涵蓋組合投藥(其中兩種或兩種以上治療劑包括在同一或各別調配物中)、及分開投藥，在該情況下，投與本

發明之抗體可在投與一或多種其他治療劑之前、同時及/或之後進行。在一實施例中，抗 FcRH5 抗體之投藥及額外治療劑之投藥發生在彼此之約一個月內、或約一週、兩週或三週內、或約一天、兩天、三天、四天、五天或六天內。

【0382】 本發明抗體(及/或任何額外治療劑)可藉由任何合適手段，包括靜脈內、皮下、肌肉內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、植入、吸入、鞘內、心室內或鼻內投與。給藥可藉由任何適合途徑進行，例如藉由注射，諸如靜脈內或皮下注射，部分地視投藥為暫時的抑或長期的而定。本文涵蓋各種給藥時程，包括但不限於單次投藥或歷經各個時間點多次投藥、快速注射投藥及脈衝輸注。

【0383】 本發明之抗體將以符合優良醫學規範之方式調配、給藥及投與。在此情形下考慮之因素包括所治療之特定病症、所治療之特定哺乳動物、個別患者之臨床病狀、病症之病因、藥劑傳遞部位、投藥方法、投藥時程及醫學從業者已知之其他因素。抗體無需但視情況與一或多種當前用於預防或治療所述病症之藥劑一起調配。此等其他藥劑之有效量取決於調配物中存在之抗體之量、病症或治療之類型、及以上論述之其他因素。此等藥劑係通常以與本文所述相同之劑量及用如本文所述之投藥途徑，或以本文所述劑量之約 1%至 99%，或以憑經驗/臨床上確定為適當之任何劑量且藉由憑經驗/臨床上確定為適當之任何途徑加以使用。

【0384】 對於預防或治療疾病(例如增殖細胞病症，例如癌症，例如 FcRH5 陽性癌症，例如 MM)，本發明之抗體(當單獨或與一或多種其他額外治療劑組合使用時)之適當劑量將取決於欲治療疾病之類型、抗體之類型、疾病之嚴重性及病程、投與抗體係出於預防目的抑或治療目的、先前療法、患者之臨床病史及對抗體之反應、及主治醫師之判斷。抗體適合一次性或歷經一系列治療投與患者。

【0385】 作為一般建議，投與人之抗 FcRH5 抗體之治療有效量在約 0.01 至約 100 mg/kg 患者體重範圍內，不論投與一次或多次。在一些實施例中，所使用抗體為例如每日投與約 0.01 至約 0.01 至約 55 mg/kg、50 mg/kg、0.01 約 45 mg/kg、約 0.01 約 40 mg/kg、約 0.01 約 35 mg/kg、約 0.01 約 30 mg/kg、

約 0.01 約 25 mg/kg、約 0.01 約 20 mg/kg、約 0.01 約 15 mg/kg、約 0.01 約 10 mg/kg、約 0.01 約 5 mg/kg、或約 0.01 約 1 mg/kg。在一實施例中，本文所述抗FcRH5抗體在21天週期之第1天以約100 mg、約200 mg、約300 mg、約 400 mg、約 500 mg、約 600 mg、約 700 mg、約 800 mg、約 900 mg、約 1000 mg、約 1100 mg、約 1200 mg、約 1300 mg 或約 1400 mg 之劑量投與人。劑量可作為單次劑量或作為多次劑量(例如，2 或 3 次劑量)，諸如輸注投與。對於歷經數天或更長時間之重複投藥，視病狀而定，治療將通常持續直至對疾病症狀產生所需抑制作用為止。抗體之一個示例性劑量將在約 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg 範圍內。因此，約 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg 或 10 mg/kg(或其任何組合)一或多個劑量可投與患者。在一些實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 0.01 mg/kg/wk 至約 10 mg/kg/wk 之劑量投與。在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體以 0.1 mg/kg/wk 至約 10 mg/kg/wk 之劑量投與。在其他實施例中，抗 FcRH5 抗體以約 1 mg/kg/wk 之劑量投與。

【0386】　此等劑量可間歇投與，例如每週或每三週(例如以使患者接受約兩劑至約二十劑，或例如約六劑抗 FcRH5 抗體)。最初可投與較高之起始劑量，接著可投與一或多種較低劑量。此療法之進展易於藉由習知技術及分析加以監測。

【0387】　在一些實施例中，該等方法可進一步包含額外療法。額外療法可為輻射療法、手術、化療、基因療法、DNA 療法、病毒療法、RNA 療法、免疫療法、骨髓移植術、奈米療法、單株抗體療法或前述之組合。額外療法可呈輔助或新輔助療法形式。在一些實施例中，額外療法為投與小分子酶抑制劑或抗轉移藥劑。在一些實施例中，額外療法為投與副作用限制劑(例如，旨在減輕治療副作用之發生及/或嚴重性之藥劑，諸如抗噁心劑等)。在一些實施例中，額外療法為輻射療法。在一些實施例中，額外療法為手術。在一些實施例中，額外療法為輻射療法與手術之組合。在一些實施例中，額外療法為伽馬輻照。在一些實施例中，額外療法可為分離投與如上所述治療劑中之一或多者。

G. 用於診斷及偵測之方法及組合物

【0388】　在某些實施例中，本發明之任何抗 FcRH5 抗體皆適用於偵

測生物樣品中 FcRH5 之存在。如本文所用之術語「偵測」涵蓋定量或定性偵測。在某些實施例中，生物樣品包含細胞或組織。

【0389】 在一個實施例中，提供一種用於診斷或偵測方法中之抗 FcRH5 抗體。在另一態樣中，提供一種偵測天然發生之 FcRH5 在生物樣品中之存在之方法。在某些實施例中，方法包含使生物樣品與如本文所述之抗 FcRH5 抗體在容許該抗 FcRH5 抗體結合天然存在之 FcRH5 之條件下接觸，及偵測在該抗 FcRH5 抗體與天然存在之 FcRH5 之間是否形成複合物。此方法可為活體外或活體內方法。在一些實施例中，生物樣品為血液樣品。在一些實施例中，受試者為人類。

【0390】 在某些實施例中，提供經標記抗 FcRH5 抗體。標記包括但不限於可直接偵測之標記或部分(諸如螢光標記、發色標記、電子密集標記、化學發光標記及放射性標記)以及例如經由酶促反應或分子相互作用間接偵測之部分，諸如酶或配位體。示範性標記包括(但不限於)放射性同位素 ^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}H 及 ^{131}I、螢光團(諸如稀土螯合物或螢光素及其衍生物)、若丹明(rhodamine)及其衍生物、丹醯基、傘形酮(umbelliferone)、螢光素酶(例如螢火蟲螢光素酶及細菌螢光素酶(美國專利第 4,737,456 號))、螢光素(luciferin)、2,3-二氫呔嗪二酮、辣根過氧化酶(HRP)、鹼性磷酸酶、β-半乳糖苷酶、葡糖澱粉酶、溶菌酶、醣氧化酶(例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶及葡萄糖-6-磷酸去氫酶)、與採用過氧化氫以氧化染料前驅體之酶(諸如 HRP、乳過氧化酶(lactoperoxidase)或微過氧化酶(microperoxidase))偶合之雜環氧化酶(諸如尿酸酶(uricase)及黃嘌呤氧化酶)、生物素/抗生蛋白、自旋標記、噬菌體標記、穩定自由基及其類似標記。

H. 製品

【0391】 在另一態樣中，本發明提供含有適用於治療、預防及/或診斷受試者(例如，人)之增殖細胞病症(例如，癌症，例如，FcRH5 陽性癌症，例如，多發性骨髓瘤(MM))之物質的製品。該製品包含容器及在該容器上或與該容器相伴之標籤或藥品說明書。合適容器包括例如瓶、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。容器可由各種材料諸如玻璃或塑膠形成。容器容納單獨或與有效治療、預防及/或診斷病症之另一組合物組合之組合物且可具有無菌存

取口(例如容器可為具有可由皮下注射針刺穿之塞的靜脈內溶液袋或小瓶)。組合物中之至少一種活性劑為本發明之抗體。標籤或藥品說明書指示組合物用於治療所選病狀。此外，製品可包含(a)其中含有組合物之第一容器，其中該組合物包含本發明之抗體；及(b)其中含有組合物之第二容器，其中該組合物包含另一細胞毒性劑或另外的治療劑。本發明之此實施例中之製品可進一步包含指示組合物可用於治療特定病狀之包裝插頁。或者或另外，製品可進一步包含第二(或第三)容器，其包含醫藥學上可接受之緩衝液，諸如注射用抑菌水(BWFI)、磷酸鹽緩衝生理食鹽水、林格氏溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。其可進一步包括自商業及使用者觀點看來合乎需要之其他物質，包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針及注射器。在一些情況下，套組包括藥品說明書，該藥品說明書包含使用抗體來治療或延遲受試者之 FcRH5 陽性癌症(例如，MM)進程之指示。在其他情況下，套組包括藥品說明書，包含使用抗體來增強患有 FcRH5 陽性癌症(例如，MM)之受試者之免疫功能的指示。

III. 實例

【0392】 以下為本發明之方法及組合物之實例。應瞭解鑒於以上提供之一般性描述，可實施各種其他實施例。

實例 1. 產生抗 FcRH5 抗體

預防接種及篩檢

【0393】 BALB/c 小鼠(Charles River, Hollister, CA)以每只小鼠 2 μg、10 μg 或 100 μg/注射劑來免疫接種。抗原懸浮於單磷醯脂質 A(MPL)/海藻糖二黴菌酸酯(TDM)(Ribi)佐劑或弗氏佐劑中並且注入每個免疫接種動物之足墊、腹膜或尾部基底。小鼠接受總共 9 至 18 個劑量並且在融合之前 2 至 4 天經由足墊、腹腔內(IP)及/或跗關節途徑接受單獨 PBS 中之 1 至 2 次融合前補強。美國公開案第 2015/0098900 號所描述之免疫接種計畫 A 產生親本抗 FcRH5 抗體 1G7，其在本文中經優化並進一步表徵。

A. 免疫接種計畫 B

【0394】 為了產生 FcRH5 之膜近側 Ig 域之同功異型物特異性抗體，小鼠用在CHO細胞中表現的具有N末端His表現標籤之E11蛋白質(SEQ ID

NO: 114 之胺基酸 745-850)來免疫接種。五隻小鼠用 Ribi 佐劑中之 10 μg 之 His 標記 E11 蛋白質經由 IP 途徑來免疫接種。小鼠接受 18 個劑量，隨後在融合之前七及四天經由 IP 途徑接受單獨 PBS 中之兩次融合前補強。在重組 E11 蛋白質之 18 個劑量之後，針對 FcRH5 結合抗體使用 FACS 並且藉由 ELISA 中之滴定使用 E11 作為抗原來分析血清。偵測到與表現人類全長 FcRH5、食蟹獼猴全長 FcRH5 或 E11 蛋白質之 SVT2 細胞而非載體轉染之 SVT2 細胞的顯著反應性，指示 FcRH5 結合抗體存在於所有 5 只經免疫小鼠之血清中。在 20 劑之後，使來自經免疫小鼠之淋巴細胞與 P3X63Ag8U.1.22 小鼠骨髓瘤細胞電融合。

【0395】 針對與重組人及獼猴 E11 蛋白質之結合藉由 ELISA 來測試純系。在 ELISA 中可與人及獼猴 FcRH5 交叉反應之八個純系針對與表現全長人 FcRH5、全長獼猴 FcRH5 或 E11 蛋白質之 SVT2 細胞之結合藉由 FACS 來進行測試。所有八個純系結合表現人 E11 域、跨膜域及細胞質域之 SVT2 細胞。

【0396】 為了測試與內源性表達 FcRH5 或用 FcRH5 轉染之癌細胞之結合，細胞使用 EDTA/PBS 來提升，並且將 $1x10^5$細胞懸浮於 100 μl 中並且與初級抗體(1 體積之非 IgG 定量亞純系上清液、4 μg/ml IgG 定量亞純系上清液或 2 μg/ul 純化單株抗體)一起培育。細胞用 FACS 緩衝液(PBS, 1%BSA, 2 mM EDTA)洗滌兩次且與 1:1000 稀釋之用 PE 標記之山羊抗小鼠二級抗體或 1:100 稀釋之山羊抗小鼠 APC 一起培育。細胞用 FACS 緩衝液洗滌兩次且在 FACSCalibur 上進行流動式細胞測量分析。當指示時，根據製造商方案(Invitrogen)對抗體進行直接氙標記。然而，僅三個純系結合至表現全長人 FcRH5 之細胞並且沒有一個結合至表現全長獼猴 FcRH5 之細胞(表 2)。

表2. 在FACS中，來自免疫接種計畫B之mAb結合至過度表現人FcRH1、2、3、4及5、人E11域及食蟹猴FcRH5之細胞

	在FACS中結合至表現以下之SVT2細胞：						
mAb	人 FcRH1	人 FcRH2	人 FcRH3	人 FcRH4	人 FcRH5	人E11-TM-ICD*	食蟹猴 FcRH5
1E6	-	-	-	-	+	+	-
3D8	-	-	-	-	-	+	-
8G8	-	-	-	-	-	+	-
11A11	-	-	-	-	-	+	-
10D9	-	-	-	-	+	+	-
11H6	-	-	-	-	-	+	-
13D2	-	-	-	-	+	+	-
14E9	-	-	-	-	-	+	-

*人FcRH5之E11域、跨膜域及細胞質域

B. 免疫接種及mAb描述計畫C

【0397】 對於免疫接種計畫 C，在 CHO 細胞中產生 N 末端 His 標記 E11 蛋白質。小鼠藉由最初在尾部基底處注射完全弗氏佐劑中之 100 μg 之 E11 蛋白質來免疫接種。小鼠接受總共 17 個劑量，隨後在融合之前兩天經由 IP 及跗關節途徑接受單獨 PBS 中之一次融合前補強(表 3)。

表3. 免疫接種計畫C之免疫接種排程

注射編號	佐劑	途徑	每個位點之體積	每只動物之體積	蛋白質之量	抗原
1	CFA	尾部基底	100 μl	100 μl	100 μg	人 E11
2	IFA	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	跗關節	50 μl	100 μl	50 μg	人 E11
3	IFA	尾部基底	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	皮下	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
4	IFA	跗關節	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
5	IFA	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	皮下	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	尾部基底	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
6	IFA	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	跗關節	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
7	IFA	尾部基底	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	皮下	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
	IFA	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
8	無菌 PBS	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
9	無菌 PBS	腹腔內	100 μl	100 μl	50 μg	人 E11
10	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	10 μg	人 E11
11	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	10 μg	人 E11
12	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	10 μg	食蟹猴 E11 及人

注射編號	佐劑	途徑	每個位點之體積	每只動物之體積	蛋白質之量	抗原
						E11
13	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	10 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
14	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	Ribi	跗關節	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
15	Ribi	尾部基底	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	Ribi	皮下	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
16	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	Ribi	跗關節	100 μl	200 μl	6.6 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
17	Ribi	尾部基底	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	Ribi	皮下	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	Ribi	腹腔內	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
融合前補強	無菌 PBS	腹腔內	100 μl	100 μl	3.3 μg	食蟹猴 E11 及人 E11
	無菌 PBS	跗關節	100 μl	200 μl	6.6 μg	食蟹猴 E11 及人 E11

【0398】 在重組 E11 蛋白質之 15 個劑量，隨後共注射重組人及獼猴 E11 蛋白質之後，針對 FcRH5 結合抗體使用 FACS 並且藉由 ELISA 中之滴定使用 E11 蛋白質作為抗原來分析血清。偵測到與表現人類全長 FcRH5、食蟹獼猴全長 FcRH5 或人類 E11 域、跨膜域及細胞質域之 SVT2 細胞而非載體轉染之 SVT2 細胞的顯著反應性，指示 FcRH5 結合抗體存在於所有 5 只經免疫小鼠之血清中。在 PBS 中之最終補強之後，來自免疫接種小鼠之淋巴細胞與 P3X63Ag8U.1.22 小鼠骨髓瘤細胞進行電融合。

【0399】 藉由FACS針對與重組人及獼猴E11蛋白質的結合以及與表現全長人 FcRH5；全長獼猴 FcRH5；全長人 FcRH1，FcRH2，FcRH3，或 FcRH4；或 FcRH5 之人 E11 域、跨膜域及細胞質域的 SVT2 細胞的結合來

測試純系。在 ELISA 中，存在 44 個人 E11 蛋白質陽性純系及 32 個獼猴 E11 蛋白質陽性純系。其中，識別結合至表現人 FcRH5 之細胞及表現獼猴 FcRH5 之細胞，但是不結合至表現 FcRH1、FcRH2、FcRH3 或 FcRH4 之細胞的總共 16 個純系，指示特異性 FcRH5 跨物種反應性(表 4)。

表4. 從免疫接種計畫C獲得之單株抗體之結合性質

	在FACS中結合至表現以下之SVT2細胞：									
mAb	人 FcRH1	人 FcRH2	人 FcRH3	人 FcRH4	人 FcRH5	人E11-TM-ICD*	食蟹猴 FcRH5	MOLP-2 FACS 結合	KD人E11域§	KD食蟹猴E11域§
15G8	-	-	-	-	+	+	+/-	+/-	0.5 nM	9.1 nM
24H5	-	-	-	-	+	+	+	+	3.2 nM	255 nM
16H10	-	-	-	-	+	+	+	+	4.6 nM	338 nM
10A7	-	-	-	-	+	+	+	+	4.9 nM	229 nM
3C5	-	-	-	-	+	+	+	+	45 nM	81 nM
17B1	-	-	-	-	+	+	+	+	68 nM	27 nM
23E2	-	-	-	-	+	+	+	+	未進行¶	未進行¶
9B3	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
23B8	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
23G8	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
24F5	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
24G6	-	-	-	-	+	+	+	-	未進行	未進行
24C4	-	-	-	-	+/-	+	+/-	-	未進行	未進行
3C2	-	-	-	-	+	+	+/-	-	未進行	未進行
6H3	-	-	-	-	+/-	+	+/-	-	未進行	未進行
1D10	-	-	+	-	+	+	+	未進行	未進行	未進行
12B6	+	+	+	-	+	+	+	未進行	未進行	未進行
16A6	+	+	+	-	+	+	+	未進行	未進行	未進行
11C9	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
11H10	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
12E10	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
16B5	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
16H1	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
17A6	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
2A10	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
2F9	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
3E3	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
5G9	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
6G4	-	-	-	-	+	-	-	未進行	未進行	未進行
7E2	-	-	-	-	+/-	+	-	未進行	未進行	未進行
8E2	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
9A6	-	-	-	-	+	+	-	未進行	未進行	未進行
13C8	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
16E5	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
22C9	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
23B9	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
4H3	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
5B1	-	-	-	-	-	+	-	未進行	未進行	未進行
1B9	-	-	-	-	-	+/-	-	未進行	未進行	未進行
2C3	-	-	-	-	-	+/-	-	未進行	未進行	未進行
3G2	-	-	-	-	-	+/-	-	未進行	未進行	未進行
2G4	-	-	-	-	-	-	-	未進行	未進行	未進行

*人FcRH5之E11域、跨膜域及細胞質域。
§表面電漿子共振BIACORE * KD，單價親和力。人E11域實驗進行1至3次並且平均化。食蟹猴E11域實驗對於每個抗體進行一次。
¶未獲得抗體23E2之重組純系。

【0400】 來自 16 個選定單株抗體(mAb)純系之純化 IgG 針對與內源性表現人 FcRH5 之細胞(MOLP-2 細胞)的結合來進一步表徵。證明總共八個 mAb 純系結合 MOLP-2 骨髓瘤細胞。基於序列分析，發現此等八個 mAb 純系中之兩個為冗餘的並且一個純系未分子選殖。六個分子選殖 MOLP-2 陽性 mAb 純系重組表現為鼠科 IgG2a 並且藉由表面電漿子共振在 BIACORE®T200 設備中以 IgG 捕獲格式來測試親和力。

【0401】 簡言之，測試抗體捕獲於蛋白質 A Series S CM5 晶片(GE Life Sciences, Piscataway, NJ)上之流槽 2、3 或 4 中，其中流槽 1 作為參考。FcRH5 蛋白質片段用作分析物，流速為 30μl/分鐘。在注射之間，捕獲表面藉由在 10 μl/分鐘之流速下 30 秒注射 10 mM 甘胺酸，pH 1.5 來再生。在 25℃下在 10mM HEPES pH 7.4，150mM NaCl，0.05%吐溫 20(HBSP)中評估相互作用。在動力學分析之前，減去來自參考流槽以及來自注射單獨緩衝液之參考資料。動力學資訊藉由將資料擬合至 1:1 結合模型來計算。參考值減去及資料擬合使用 BIAevaluation 軟體(GE Life Sciences, Piscataway, NJ)來執行。

【0402】 此等抗體對於人 E11 域之單價親和力在 0.5 nM 至 68 nM 範圍內，而對於食蟹猴 E11 域之親和力在 9.1 nM 至 338 nM 範圍內(表 4)。僅一個純系具有針對人 E11 域的高於抗體 1G7，mAb 15G8 的親和力。然而，人與食蟹猴 E11 域之間之 K_D差異為約 20 倍，使得此純系不適合於進一步臨床研發。另外，儘管此抗體純系對於分離人域 E11 之親和力較高，此抗體純系與 MOLP-2 細胞之結合很微弱；其弱於具有針對分離人 E11 域之較低親和力的純系，指示此純系不能與天然人 FcRH5 蛋白質較好地結合。

實例2. 產生並表徵來自免疫接種計畫A及C之抗FcRH5抗體變異體

A. 免疫接種計畫 A 之抗 FcRH5 單株抗體之人源化

【0403】 美國公開案第 2015/0098900 號所描述的來自免疫接種計畫 A 之抗 FcRH5 抗體 1G7 藉由如前所述之 HVR 移植方法(Presta 等人 *Cancer Res.* 57:4593-4599,1997)來人源化，除了一致 VH4 及 Vκ1 構架(Dennis, *Current Trends in Monoclonal Ant. Develop. and Manufac.* 9-28, 2010)用作接受體構架以外。為了正確的 HVR 呈現及 VH/VL 域接觸，重鏈移植物亦在構架 Kabat 位置 37、48、67、71、73、78、93 及 94 處包括鼠科殘基，並且輕鏈移植物亦在構架位置 36 及 43 處包括鼠科殘基。殘基編號根據 Kabat 等人(Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991)。本文被稱為 hu1G7.v1 或 1G7.v1 之人源化 1G7 之序列在圖 2 及 3 中示出。

B. hu1G7.v1 變異體之親和力成熟及表徵

【0404】 為了增強效力，人源化抗體 hu1G7.v1 使用噬菌體展示來親和力成熟。簡言之，將 M13 噬菌體表面上之 Fab 抗體片段之隨機化文庫展示並且與生物素化 FcRH5 蛋白質片段之結合者來進行淘選。有利突變藉由個別純系之 DNA 測序來識別。假設此等有利突變可產生具有改良親和力之變異體(Li 等人 *MAbs*. 6:437-445, 2014)。具有選定突變之抗體純系藉由表面電漿子共振來測試親和力(表 5A 及 5B)。

【0405】 簡言之，人 IgG 捕獲表面使用胺偶合及人 IgG 捕獲套組(GE Life Sciences, Piscataway, NJ)在 Series S CM5 晶片上產生。然後，測試抗體捕獲於流槽 2、3 或 4 上，其中流槽 1 用作參考。FcRH5 蛋白質片段用作分析物，流速為>30μl/分鐘。在注射之間，捕獲表面藉由 30 秒注射 3M 氯化鎂或 10 mM 甘胺酸，pH 1.5 來再生。在 25℃下在 10mM HEPES pH 7.4，150mM NaCl，0.05%吐溫 20(HBSP)中評估相互作用。在動力學分析之前，減去來自參考流槽以及來自注射單獨緩衝液之參考資料。動力學資訊藉由將資料擬合至 1:1 結合模型來計算。參考值減去及資料擬合使用 BIAevaluation 軟體(GE Life Sciences, Piscataway, NJ)來執行。

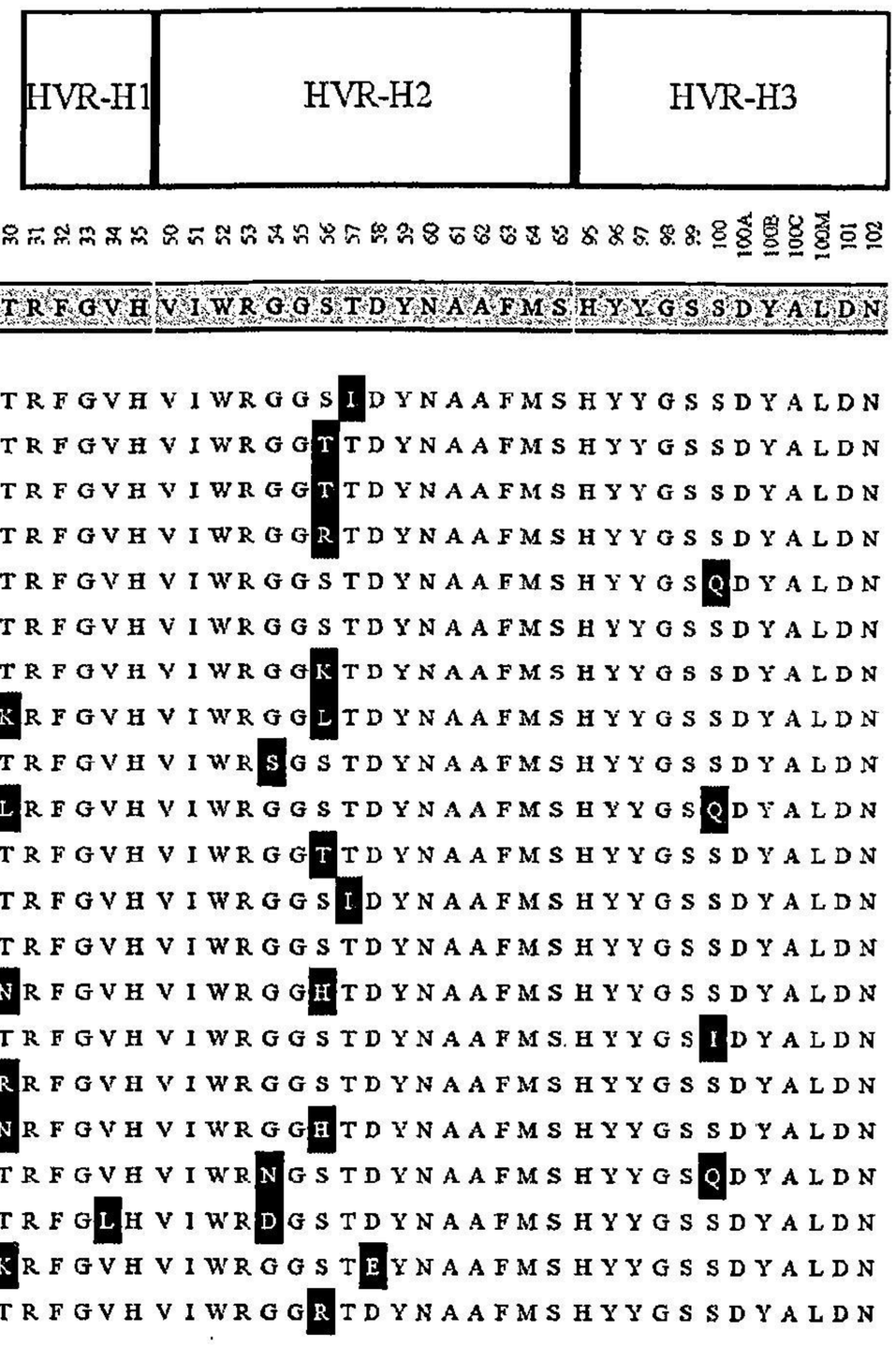
【0406】 對於初始親和力篩選實驗，直接從在瞬態轉染 Expi293 細胞(Invitrogen)之後收集的澄清培養基捕獲抗體(表 5A-5B)。每個抗體結合 FcRH5 蛋白質片段之能力在 100 nM 及 500 nM(實驗 1，表 5A-5B)或 0 nM，20 nM，100 nM，及 500 nM(實驗 2，表 5A-5B)下評估。締合及解離在 30 μl/min 之流速下分別監測 180 s 及 600 s。存在於表 5A 中之所有序列揭示於 SEQ ID NO: 4-6 中(即，FcRH5 L1、L2、L3 廣泛一致)。存在於表 5B 中之所有序列揭示於 SEQ ID NO: 1-3 中(即，FcRH5 H1、H2、H3 廣泛一致)。觀察到高達 5.2 倍之親和力改良(表 5A)。因為每個個別突變不提供所尋求之改良，所以決定將各種突變組合，集中於 VL 突變 S30R、I32L、A51G、S52Y、Y53N、T56S、H91Q、Y92F、S93Q 及 S94P 及 VH 突變 S28K、L29T 及 S56T。

表 5A. 選定抗體之親和力篩檢

實驗	純系	篩檢 K_D (nM)	與hulG7.vl對照相比，篩檢K_D之改良倍數	HVR-L1											HVR-L2							HVR-L3									
				24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	50	51	52	53	54	55	56	89	90	91	92	93	94	95	96	97
				K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.01	5	5.2	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	A	S	Y	R	Y	**S**	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
1	LC.02	5	5.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	**Q**	S	P	Y	T
2	LC.03	6	4.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
2	LC.04	6	4.2	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	**Q**	S	P	Y	T
1	LC.05	6	4.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
1	LC.06	7	3.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
1	LC.07	8	3.1	K	A	S	**H**	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	**Q**	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.08	8	3.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	**Y**	Y	R	Y	T	Q	Q	**Q**	**F**	S	S	P	Y	T
1	LC.09	9	2.9	K	A	S	Q	D	V	**R**	N	I	V	V	S	A	S	**N**	R	Y	T	Q	Q	**Q**	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.10	10	2.5	K	A	S	Q	D	V	**R**	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	**Q**	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.11	10	2.5	K	A	S	Q	D	V	**R**	N	I	V	V	S	A	S	**N**	R	Y	T	Q	Q	**Q**	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.12	10	2.4	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	**R**	S	P	Y	T
2	LC.13	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	**S**	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.14	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	**K**	N	I	V	V	S	A	S	**D**	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
1	LC.15	11	2.3	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	**S**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.16	11	2.2	K	A	S	Q	D	V	**R**	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	**Q**	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.17	12	2.0	K	A	S	Q	D	V	**K**	N	I	V	V	S	A	S	**D**	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
2	LC.18	12	2.0	K	A	S	Q	**R**	V	S	N	I	V	V	S	**S**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.19	12	2.0	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	**Q**	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.20	13	1.9	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	**P**	P	Y	T
2	LC.21	13	1.8	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	**Y**	Y	R	Y	**S**	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.22	14	1.8	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.23	14	1.7	K	A	S	Q	D	V	**K**	N	I	V	V	S	A	**A**	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.24	14	1.7	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	A	S	Y	R	Y	**H**	Q	Q	H	Y	**A**	S	P	Y	T
2	LC.25	15	1.7	K	A	S	**R**	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	**F**	T
1	LC.26	15	1.7	K	A	S	Q	**S**	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.27	15	1.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	**L**	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	**A**	S	P	Y	T
2	LC.28	15	1.6	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	**G**	S	**N**	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.29	17	1.4	K	A	S	Q	D	V	**R**	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.30	17	1.4	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	**A**	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.31	19	1.3	K	A	S	Q	**N**	V	S	N	I	V	V	S	**S**	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.32	20	1.2	K	A	S	Q	**E**	V	S	N	I	V	V	S	A	S	**F**	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.33	20	1.2	K	A	S	Q	D	V	S	**R**	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	**S**	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.34	20	1.2	K	A	S	**K**	D	V	S	N	I	V	V	S	A	**R**	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.35	21	1.2	K	A	S	Q	**E**	V	**R**	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.36	21	1.2	K	A	S	**K**	D	V	S	N	I	V	V	S	A	**T**	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
1	LC.37	22	1.1	K	A	S	Q	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	**R**	S	P	Y	T
1	LC.38	24	1.1	K	A	S	Q	**N**	V	S	N	I	V	V	S	A	S	Y	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T
2	LC.39	43	0.6	K	A	S	**H**	D	V	S	N	I	V	V	S	A	S	**D**	R	Y	T	Q	Q	H	Y	S	S	P	Y	T

表 5B. 選定抗體之親和力篩檢

實驗	參考編號	篩檢 K_D (nM)	與hulG7.vl對照相比，篩檢K_D之改良倍數
1	HC.01	15	1.7
1	HC.02	17	1.5
1	HC.03	20	1.3
2	HC.04	20	1.2
2	HC.05	22	1.1
1	HC.06	23	1.1
1	HC.07	23	1.1
2	HC.08	25	1.0
1	HC.09	26	1.0
2	HC.10	26	0.9
1	HC.11	26	0.9
2	HC.12	28	0.9
1	HC.13	30	0.8
2	HC.14	30	0.8
1	HC.15	32	0.8
2	HC.16	33	0.7
1	HC.17	45	0.6
2	HC.18	46	0.5
2	HC.19	48	0.5
2	HC.20	50	0.5
1	HC.21	67	0.4



【0407】 抗體噬菌體展示文庫使用硬及軟定點誘變來設計。文庫 L188 及 L189 用於軟誘變來使 VL 殘基 27-34、50-56、91-94 及 96(L188)或 VH 殘基 28-35、50-58 及 95-100d(L189)突變。在誘變位置，軟誘變寡核苷酸利用 91%之親本編碼核苷酸及 3%之每一種其他核苷酸。文庫 L190 及 L191 用於硬誘變(*NNK* 密碼子)來使 VL 殘基 27-34、50-56、及 89-96(L190)或 VH 殘基 28-35、50-58 及 95-100d(L191)突變，每次一個密碼子，並且高達三個 HVR 同時突變(Li 等人 *MAbs*. 6:437-445, 2014)。

【0408】 執行結合至 FcRH5 蛋白質片段的高達四個選擇循環。選擇在固相(直接吸附至微孔板上之靶蛋白質)及溶解狀態中執行。對於溶液選擇，生物素化靶蛋白質用於實現噬菌體-抗體-靶複合物之捕獲。具有選定突變之純系表現於 Expi293 細胞(Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)中，並且上清液藉由表面電漿子共振來篩檢。

【0409】 抗體噬菌體展示文庫藉由 Kunkel 誘變(Kunkel 等人 Methods in Enzymology, 154:367-382, 1987)使用在 CJ236 細菌中產生之單鏈 DNA 作

為模板來產生並且使用 Qiagen QIAprep Spin M13 Kit(QIAGEN, Inc., Valencia, CA)來純化。初始親和力成熟文庫之模板 DNA 在選擇用於誘變之彼等 HVR 中包含終止密碼子；用於隨後於下文描述之「聚焦」噬菌體文庫之模板 DNA 未利用模板 HVR 終止密碼子。除非另外說明，否則抗體可變區中之殘基根據 Kabat 系統來編號。酶購自 New England Biolabs(Ipswich, MA)。Kunkel 誘變反應使用 QIAprep 微型吸附柱(QIAGEN, Inc., Valencia, CA)來清理並且藉由電穿孔來轉型至 XLI Blue 大腸桿菌(Agilent Technologies, Santa Clara, CA)中。在 37℃下在 SOC 培養基中回收之後，培養物用輔助噬菌體感染並且在 37℃下再培育 0.5-2 小時，然後添加抗生素羥苄青黴素及卡那黴素。然後，培養物在 37℃下再培育 4-5 小時隨後進一步在 30℃下培育隔夜。噬菌體藉由用大約 1/6 體積之沉澱試劑(20% PEG，2.5M 氯化鈉)沉澱來從澄清培養基純化。沉澱噬菌體藉由離心來球團化並且溶解於磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中。溶液進一步藉由在 14,000g 下離心來澄清。純化噬菌體在 -20℃冷凍器中儲存於 50%甘油中並且在使用之前重新溶解於 PBS 中。

【0410】 在合理設計方法中，從噬菌體實驗識別之六個 VL 突變(S30R、I32L、A51G、T56S、H91Q 及 S94P)與額外 VL 人源化突變 S43A 組合並且成雙地評估以便評估相容性(表 6)。對於選定 VL 突變之相容性評估(表6)，從在瞬態轉染 Expi293 細胞之後收集的澄清培養基直接捕獲抗體。FcRH5 蛋白質片段之結合以 6 nM、19 nM、56 nM、167 nM 及 500 nM 在 30 μl/min 流速下評估。締合及解離分別監測 300 s 及 600 s。表 6 中揭示之序列為個別胺基酸(即，管柱頂部之數目來抗體序列內之胺基酸數目)。結果指示 VL 突變 I32L 及 H91Q，雖然個別地改良親和力，在組合時並非有益於親和力。然而，與 hu1G7.v1 對照相比，所測試的其他序列給出高達四倍之漸增親和力改良。基於此等結果，設計抗體 hu1G7.v1.1、hu1G7.v1.2、hu1G7.v1.3 及 hu1G7.v1.4(圖 2 及 3)。抗體 hu1G7.v1.1 被設計成併入六個 VL 突變 S30R、I32L、A51G、T56S、H91Q 及 S94P。抗體 hu1G7.v1.2 被設計成併入十個 VL 突變 S30R、I32L、A51G、S52Y、Y53N、T56S、H91Q、Y92F、S93Q 及 S94P。抗體 hu1G7.v1.3 及 hu1G7.v1.4 基於 hu1G7.v1.1 並且被設計成省略 I32L(hu1G7.v1.3)或 H91Q(hu1G7.v1.4)。

表 6. 經由抗體噬菌體展示識別之突變之組合分析

樣品名稱	KD 對照*/KD 樣品 * 平均值，n=2	HVR-L1 #30#32#43	HVR-L2 #51#56	HVR-L3 #91#94
LC.H91Q.S94P	4.1	S I A	AT T	QP P
LC.A51G.S94P	3.6	S I A	G T	H P
LC.I32L.A51G	2.8	S L A	G T	H S
LC.I32L.S94P	2.7	S L A	AT T	H P
LC.S30R.I32L	2.2	R L A	AT T	H S
LC.T56S.S94P	2.1	SI I A	A S	H P
LC.S30R.S94P	2.1	R I A	AT T	H P
LC.A51G.H91Q	2.1	S I A	G T	Q S
LC.S30R.H91Q	1.7	R I A	AT T	Q S
LC.S30R.A51G	1.6	R I A	G T	H S
LC.A51G.T56S	1.5	SI I A	GS	H S
LC.T56S.H91Q	1.3	SI I A	A S	Q S
LC.I32L.T56S	1.3	S L A	A S	H S
hu1G7.v1 (對照)	1.0	S I S	A T	H S
hu1G7.v1 (對照)	1.0	S I S	A T	H S
LC.I32L.H91Q	0.7	S L A	A T	Q S

【0411】 亦設計研究許多不同組合的相關突變(VL 突變 S30R、I32L、A51G、S52Y、Y53N、T56S、H91Q、Y92F、S93Q、S94P；VH 突變 S28K、L29T、S56T)的聚焦噬菌體文庫。為了試圖進一步增加與人抗體序列之相似性，聚焦噬菌體文庫亦允許如下構架位置處之有限變化：LC 中之 S43A，HC 中之 L48I，及/或 HC 中之 N73T。獲得大約 10^8 個轉型體。選擇使用 FcRH5 蛋白質片段作為「誘餌」來執行。選擇最初使用固相固定靶蛋白質來執行，並且溶液相選擇用於後來循環。抗體 hu1G7.v1.5、hu1G7.v1.7、hu1G7.v1.13 及 hu1G7.v1.13.1(圖 2 及 3)來源於此文庫。

【0412】 來自具有聚焦噬菌體文庫之實驗的測序資料亦支援 I32L 與 H91QVL 突變之間之負相互作用的概念(表 5A-5B)。在對於噬菌體之五個選擇循環及隨後分析 163VL 序列之後，與在 Leu32(5/93 純系)存在下相比，在 Ile32(49/70 純系)存在下，發現 VL 位置 91 處之麩醯胺酸之頻率高得多。在未經選擇的文庫中未觀察到此作用，其中在位置 32 處包含白胺酸之所分析

純系的 50%(9/18)中觀察到 Gln91。此等結果表明包含同時 I32L 及 H91Q 之純系之陰性選擇，儘管在其他情形下此等突變中之每一者之陽性富集。

【0413】 對於氧化之易感性藉由將抗體與 1mM 2,2'-偶氮雙(2-甲基丙脒)二鹽酸鹽(AAPH)一起培育 16 小時，隨後用胰蛋白酶消化以建置可使用液相層析(LC)-質譜法(MS)分析來分析之肽來進行研究。對於樣品中之每個肽，在 MS 中獲得來自 LC 之保留時間，及高解析度、精確質量及肽離子分裂資訊(胺基酸序列資訊)。從資料集在±10 ppm 之窗口下獲取相關肽(天然及修飾肽離子)之萃取離子層析圖(XIC)，並且將峰整合以確定面積。每個樣品之修飾之相對百分比如下計算：(修飾肽之面積)/(修飾肽之面積加上天然肽之面積)x100。此等相對百分比然後在對照與 AAPH 處理樣品之間進行比較。

【0414】 在 40℃下在 1 mM AAPH 存在下培育 16 小時之後，觀察到 HVR-H2 Trp52 及 Met64 之氧化增加(分別 44.5%及 52.7%)。另外，在光應力之後，Trp52 氧化從 2%增加至 62%，並且 Trp-52$_{HC}$之突變導致 1G7.v1.4 變異體親和力損失，如藉由 BIACORE® 量測(圖 4)。在來自抗體 hu1G7.v1、hu1G7.v1.3、hu1G7.v1.4、hu1G7.v1.5、hu1G7.v1.6 及 hu1G7.v1.7 之輕鏈的情形下研究將 Trp52 替換成苯丙胺酸、酪胺酸、白胺酸或組胺酸及 Met64 替換成苯丙胺酸、異白胺酸、纈胺酸或白胺酸(圖 2 及 3)。具體而言，W52 突變至 F、Y、L 或 H 分別產生 119 nM、131 nM、92 nM 及 60.4 nM 之 K_D 值。而在 1G7.v85 中 M64 突變至 V 產生 2.5 nM 之 K_D。對於 HVR-H2 Trp52 及 Met64 變異體之親和力篩檢(表 7)，抗體藉由瞬態轉染 Expi293 細胞來表現並且使用以親和力樹脂 MabSelect SuRe(Glygen Corp., Columbia, MD & GE Life Sciences, Piscataway, NJ)來定製填充之尖頭管柱來純化。對照抗體 hu1G7.v1 及 hu1G7.v1.5 藉由瞬態轉染 293T 細胞來表現並且使用 MabSelect SuRe 來純化。在 100 nM 及 500 nM 下監測 FcRH5 蛋白質片段結合至捕獲抗體。締合及解離在 40 μl/min 之流速下分別監測 180 s 及 300 s。表 7 示出之結果證明 HVR-H2 Met64 可突變至纈胺酸同時保持對於 FcRH5 之較高親和力。

【0415】 抗體 hu1G7.v1.4 基於超過其他 FcRH 家族成員的對於

FcRH5 之親和力及選擇性來選擇。為了改良此抗體對於氧化之抗性，將表 7 所描述之 M64V 突變亦併入 VH 區域。所得抗體 hu1G7.v1.4.M64V 稱為 hu1G7.v85(圖 5A-5B)並且以二價 IgG 及 T 細胞依賴性雙特異性抗體(TDB)形式來產生。hu1G7.v85 之序列呈現於圖 6A-6B 及圖 5A-5B 中。hu1G7.v85 之動力學分析在表 8 中示出。示出 hu1G7.v1.4 之分析以便比較。在 hu1G7.v1.4 之 K_D方面所觀察到的差異(表 7 及 8)在此等分子預期實驗變化範圍內。

【0416】 亦產生非親和力成熟型式之 hu1G7.v.1，hu1G7.v87，其在如上所述之人源化構架中具有小鼠 1G7 HVR，其中具有改良抗氧化能力之 M64V 突變。

表 7. hu1G7.v1 之 HVR-H2 位置 52 及 54 變異體之親和力篩檢

篩檢 K_D (M)		來自以下抗體之輕鏈：					
		hu1G7.v1	hu1G7.v1.3	hu1G7.v1.4	hu1G7.v1.5	hu1G7.v1.6	hu1G7.v1.7
重鏈突變	無	2.7×10^{-8}	-	-	2.0×10^{-9}	-	-
	W52F	2.5×10^{-7}	1.8×10^{-7}	1.2×10^{-7}	4.8×10^{-8}	8.1×10^{-8}	7.7×10^{-8}
	W52Y	1.5×10^{-7}	6.4×10^{-7}	1.3×10^{-7}	1.8×10^{-7}	5.3×10^{-7}	1.4×10^{-7}
	W52L	1.0×10^{-7}	2.4×10^{-7}	9.2×10^{-8}	1.3×10^{-7}	2.5×10^{-7}	1.3×10^{-7}
	W52H	1.2×10^{-7}	6.6×10^{-8}	6.0×10^{-8}	6.7×10^{-8}	1.1×10^{-7}	9.0×10^{-8}
	M64I	3.0×10^{-8}	2.1×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.6×10^{-9}
	M64V	2.7×10^{-8}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.7×10^{-9}	2.5×10^{-9}
	M64L	2.7×10^{-8}	2.4×10^{-9}	2.5×10^{-9}	2.3×10^{-9}	2.6×10^{-9}	2.0×10^{-9}
	M64F	2.6×10^{-8}	2.2×10^{-9}	2.5×10^{-9}	1.4×10^{-9}	2.6×10^{-9}	2.4×10^{-9}

表 8. 呈 hIgG1 及 TDB 格式之 hu1G7.v1.4 及 hu1G7.v85 之動力學分析

抗體	格式	人 FcRH5			獼猴 FcRH5		
		K_D (nM)	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	K_D (nM)	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)
1G7.v1.4	hIgG1	2.6	7×10^{5}	2×10^{-3}	7.7	1×10^{5}	1×10^{-3}
	TDB	2.4	5×10^{5}	1×10^{-3}	6.3	1×10^{5}	8×10^{-4}
1G7.v85	hIgG1	2.5	6×10^{5}	2×10^{-3}	7.2	1×10^{5}	1×10^{-3}
	TDB	2.4	4×10^{5}	1×10^{-3}	6.8	1×10^{5}	8×10^{-4}

【0417】 額外親和力成熟方法利用桑格測序使重鏈 HVR 位置隨機化；然而，未藉由此方法來識別合意突變。因此，將針對變異體來測試之位置之數目及使用下一代測序(Illumina 測序)來篩檢之深度加以擴大。設計出一

種文庫，其中重鏈可變區中之選定位置使用 *NNK* 密碼子來隨機化，該密碼子編碼任何胺基酸或琥珀終止密碼子。該設計在每個純系之抗體可變區中僅允許一個胺基酸變化。該等位置選自 HVR 以及與 HVR 直接接觸或近端之構架位置。將 1、2、24 至 40、43、45 至 78、80 至 83、85、86、91 及 93 至 102 之 Kabat 位置隨機化。文庫藉由 DNA 合成(GeneWiz)來建置，產生 75 個獨立線性 DNA 片段，其中每個片段中之一個位置使用 NNK 密碼子來隨機化。將線性 DNA 片段彙集並選殖至單價 Fab 片段噬菌體展示載體(Lee 等人 J. Immunol. Methods 284:119-132, 2004)中，該載體含有不具有親和力成熟突變之輕鏈可變區。將連接產物電穿孔至大腸桿菌 XL-1 中，該大腸桿菌 XL-1 以 M13KO7 輔助噬菌體(New England Biolabs)重疊感染並且如所描述來生長。在並行運作的使用人或食蟹猴 FcRH5 之三個分選循環中，選擇結合者。對於此等選擇，用中性親和素(Pierce)塗佈之 ELISA 板用於捕獲 PBS 中之 50 ng/ml 下之生物素化人或食蟹猴 FcRH5 域 8。噬菌體(1 OD_{268}/ml)在室溫下與固定 FcRH5 一起培育兩小時並且未結合噬菌體藉由用 PBS 洗滌 10 次來移除。文庫及選定噬菌體用於感染大腸桿菌 XL-1，將質體 DNA 提取並且插入物藉由使用 PhusionDNA 聚合酶(New England Biolabs)之 15 循環 PCR 擴增來擴增，隨後進行擴增子之瓊脂糖凝膠純化。將來自原始文庫(2 OD_{268})之噬菌體之 DNA 用 M13 DNA 純化套組(Qiagen)提取並且使用如上述相同條件，將 200 ng 之 DNA 用作擴增插入物之模板。擴增子藉由 Illumina 測序來測序，如前所述(Koenig 等人 J. Biol. Chem. 290:21773–21786, 2015)。將序列過濾並且如前所述(Koenig 等人 J. Biol. Chem. 290:21773–21786, 2015)來分析，移除在可變區中具有一個以上突變之所有序列，具有不符合 NNK 簡並密碼子用法之突變的序列及具有終止密碼子之序列。富集藉由將分選樣品中之給定位置處之給定突變之頻率除以未分選的(初始文庫)樣品中之完全相同突變之頻率來計算，如先前描述(Fowler 等人 Nat. Methods 7:741–746, 2010)，使用以下式：$Ev = log_2((Rv,s/\sum Rx,s)/(Rv,i/\sum Rx,i))$，其中 *Ev* 為突變體之富集，*Rv,s* 為在分選群體中之位置 s 處具有突變 v 之讀取之數目，*Rx,s* 為分選群體中的在與變異體 *Rv,s* 相同位置處具有突變之讀取之數目，*Rv,i* 為輸入、未分選群體中的與 *Rv,s* 相同

突變體之讀取之數目並且 *Rx,i* 為輸入、未分選群體中的在與變異體 *Rv,i* 相同位置處具有突變之所有變異體之總和。使用人及獼猴 FcRH5 之選擇的 *Ev* 評分分別在表 9 及 10 中示出，並且灰色框代表在選定樣品中或在文庫中未識別之突變。

【0418】 表 11 示出在使用人 FcRH5 之選擇中具有至少 0.5 之評分並且在使用食蟹猴 FcRH5 之選擇中具有至少 0 之評分的突變。在表 11 中，選擇用於進一步分析之突變(即，至少適度有利於結合至人 FcRH5 並且中性較好用於食蟹猴 FcRH5 結合之突變)以黑色或灰色標示，並且藉由桑格測序識別之 L29T 突變以灰色標示。總共 11 個位置具有滿足此等標準之突變，在一些位置處具有多個變異體。一個位置具有引入糖基化位點(G54N)並且未選擇用於進一步表徵之突變。另一種變異體，L29T，已經藉由用桑格測序篩檢來識別但是僅在具有 S56T 突變之純系中識別。該變異體顯示僅 1.2 倍之親和力之平均改良。S56T 突變體具有-2.1 之強負性富集評分(表 9)，表明 L29T 突變可具有藉由雙重突變體中之第二 S56T 突變之存在掩蔽的有利作用。在其他九個位置中，除了位置 1 及 65 以外，選擇具有最高評分之突變，其中選擇兩個突變。此等變異體藉由 DNA 合成(GenWiz)製成並且在 1 ml 培養物之 Expi293 細胞中，與 hu1G7.v1(沒有親和力成熟突變)之輕鏈組合來表現為人 IgG1。人 IgG1 變異體藉由蛋白質 A 層析純化並且在 BIACORE® 中測試親和力。在所測試的兩個突變中，僅兩者，L29T 及 S100P，在 BIACORE®中以可溶性人 FcRH5 測試時對於親和力具有顯著影響。單獨 L29T 突變在此情形下改良親和力 2.2 倍，而 S100P 突變改良親和力 3 倍。此等突變孤立地以及在親和力成熟輕鏈之情形下與存在於 hu1G7.v86 中之 I32L、A51G、T56S 及 S94P 突變組合來測試。重鏈 L29T 改良 hu1G7.v86 之親和力約 2 倍，類似於在沒有突變之輕鏈之情形下的作用。相比之下，在沒有突變之輕鏈之情形下改良親和力 3 倍的 S100P 改良 hu1G7.v86 之親和力 1.5 倍。組合 L29T 及 S100P 突變改良 hu1G7.v86 之親和力 2.5 倍。因此，即使使用藉由下一代測序之深度挖掘及針對重鏈中之有利突變來測試除了 CDR 位置以外之許多構架位置，僅可達成親和力之 2.5 倍改良。結果指示在個別地測試時顯著促進親和力之突變在已經具有其他突變之分子中

具有更少影響。重鏈中之 S100P 突變尤其如此，該突變個別地改良 hu1G7.v1 之親和力約 3 倍但是在具有輕鏈突變 I32L、A51G、T56S 及 S94P 及重鏈突變 L29T 之分子之情形下對於親和力具有極少額外影響(表 12，比較 hu1G7.v91 及 hu1G7.v93；hu1G7.v93 序列提供於圖 7A-7B 中)。因此，雖然顯著親和力改良可藉由將多個突變添加至輕鏈來達成，但是相對極少改良可藉由將突變引入重鏈中來達成。

表 9. 以人 FcRH5 選擇之 hu1G7.v1 中之突變之富集評分

區域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1	0.0	-1.4	-1.3		1.1	-0.5	1.0	0.8	-0.7	0.6	0.1	0.8	-2.1	-0.1	0.3	1.0	0.7	-0.7	0.1	0.7
	V2	-2.8	-6.0	-3.5	-6.2	-5.2	-4.8	-6.4	-1.1		-4.7	-9.0	-6.7	-5.4	-5.6	-6.8	-5.0	-5.2		-7.8	-4.9
	V24	-3.1	-6.9	-7.8	-4.1	-6.5	-2.0	-6.0	-2.4	-6.9	-4.5	-3.6	-7.3	-6.9	-5.4	-6.5	-6.7	-6.2		-5.2	-7.7
	S25	-2.6	-3.7	-2.5	-1.1	-3.1	-3.8	-3.4	-4.1	-2.1	-3.2	-3.3	-2.0	-4.1	-2.0	-1.4		-1.9	-4.4	-2.9	-1.0
CDR 1	G26	-5.1	-3.2	-5.3	-5.1	-8.6		-7.3	-6.7	-6.9	-6.1	-5.8	-7.1	-7.5	-6.1	-3.9	-4.3	-5.8	-2.4	-5.4	-5.3
	F27	-6.7	-6.5	-9.2	-7.1		-6.9	-6.6	-6.5	-6.1	-5.2	-6.1	-6.1	-8.5	-6.9	-6.5	-6.5	-6.4	-6.1	-6.2	-6.6
	S28	-0.5	-4.5	-3.4	-1.2	-2.1	-3.8	-1.9	-4.1	-0.1	-0.1	-2.3	-0.8	0.5	-0.9	-1.0		-3.1	-3.7	-0.7	-1.6
	L29	-5.7	-6.3	-6.8	-6.6	-6.0	-6.3	-5.9	0.5	-6.7		-2.6	-6.6	-3.2	-3.6	-3.7	-6.4	1.3	0.4	-6.7	-7.9
	T30	-2.2	-6.1	-1.8	-2.6	-5.4	-1.2	-2.7	-5.0	-0.1	-3.3	-3.6	-0.2	-5.7	-1.5	-0.7	-0.9		-6.5	-3.4	-3.5
	R31	-8.7	-6.2	-8.2	-5.7	-8.2	-5.7	-7.3	-7.3	-8.1	-6.8	-7.9	-6.8	-7.1	-5.9		-6.4	-6.4	-6.5	-5.5	-6.3
	F32	-6.9	-7.5	-6.7	-6.4		-7.5	-6.3	-5.4	-7.2	-5.8	-6.8	-7.0	-7.9	-7.6	-7.2	-6.8	-7.4	-5.7	-8.1	-6.4
	G33	-5.9	-6.7	-7.9	-6.9	-8.2		-6.0	-7.4	-6.8	-7.8		-8.1	-7.2	-5.7	-6.0	-7.5	-6.9	-6.3	-7.0	-6.6
	V34	-4.0	-6.9	-6.6	-4.2	-7.0	-3.2	-6.1	-1.8	-5.9	-2.9	-3.2	-5.8	-7.9	-7.0	-5.1	-6.1	-6.1		-5.0	-6.3
	H35	-7.9	-7.0	-7.7	-8.5	-7.9	-6.1		-7.1	-6.6	-6.2	-6.5	-9.8	-5.3	-4.2	-6.0	-5.9	-7.0	-6.0	-7.1	-6.5
FW2	V37	-0.6	-4.6	-2.2	-1.7	-4.0	-1.5	-2.4	-4.7	-4.5	-2.7	-3.2	-1.4	-5.5	-2.8	-6.1	-0.2	0.1		-3.3	1.4
	R38	-8.2	-6.9	-7.0	-5.9	-5.6	-5.6	-6.8	-8.6	-4.0	-5.7	-6.3	-6.8	-5.8	-4.9		-5.4	-6.5	-6.1	-4.7	-5.7
	Q39	-0.3	-6.0	-0.7	-1.3	-5.0	-4.1	-2.4	-4.1	-1.4	-2.6	-3.7	-4.4	-1.5		-2.0	-0.3	-3.3	-4.2	-1.5	-3.4
	P40	-1.5	-5.1	-5.5	-1.7	-3.8	-3.0	-2.3	-2.4	-0.9	-2.3	-3.0	-3.8		-1.0	-0.2	-1.0	-2.9	-1.3	-1.0	-2.9
	K43	-4.3	-6.1	-4.9	-2.3	-4.2	-1.8	-4.6	-5.2		-5.0	-3.2	-3.9	-5.1	-1.3	-2.2	-2.8	-1.6	-5.1	-4.3	-4.4
	L45	-6.0	-6.4	-5.4	-6.3	-6.3	-5.2	-5.9	-4.5	-6.0		-2.8	-6.7	-2.6	-4.0	-1.9	-6.7	-5.9	-3.2	-5.1	-6.0
	E46	-5.7	-6.9	-3.5			-5.6	-6.9		-7.4	-6.7		-6.2	-6.7	-2.2	-6.6	-3.9	-6.0			-5.2
	W47	-5.1	-2.5	-5.5	-5.2	-5.6	-1.6	-6.4	-5.1	-7.2	-2.7	-6.2	-6.8	-6.5	-5.9	-3.1	-5.1	-5.8	-4.7		-5.6
	L48	-5.5	-5.1	-8.6	-7.6	-6.0	-6.0	-6.2	-4.2	-6.7		-2.0	-5.4	-3.4	-3.3	-2.6	-7.1	-6.7	-2.7	-5.7	-5.5
	G49	-4.8	-6.0	-6.9	-4.6			-7.2	-5.1	-6.7	-8.6		-6.3	-7.0	-5.5	-5.6	-5.8	-6.9	-5.1	-4.7	-6.7
CDR 2	V50	-3.2	-6.9	-5.8	-3.5	-6.6	-1.3		-6.2	-7.6	-2.9	-3.1	-6.8		-7.8	-5.8	-7.2	-6.7		-3.8	-6.6
	I51	-4.9	-5.3	-5.9	-4.8	-3.8	-5.3	-6.1		-5.7	-2.0	-1.9	-5.3	-6.3	-6.2	-4.7	-1.9	-3.1	-2.5	-4.7	-5.5
	W52	-7.6	-2.3	-7.4	-6.5	-5.8	-2.5	-6.8	-6.8	-5.6	-3.2	-5.8	-6.7	-6.1	-6.5	-3.5	-5.2	-7.5	-5.6		-6.3
	R53	-6.6	-4.4	-7.0	-6.7	-7.0	-5.8	-6.5	-6.4	-5.9	-6.9	-6.1	-6.5	-7.4	-6.3		-5.9	-6.2	-6.4	-5.7	-6.3
	G54	-3.1	-1.8	0.1	-1.7	-3.5		-2.8	-5.4	-4.1	-5.2	-5.7	0.6	-4.9	-4.2	-3.4	-1.7	-2.8	-3.2	-1.4	-1.2
	G55	-5.2	-5.9	-5.6	-5.3	-7.8		-5.8	-7.0	-5.6	-6.1	-6.2	-5.0	-6.0	-5.6	-5.4	-5.3	-6.0	-5.8	-4.6	-6.1
	S56	-1.3	-4.3	-3.5	-2.2	-3.7	-2.8	-0.8	-3.2	-1.9	-2.6	-2.5	-2.1	-3.9	-0.4	-1.4		-2.1	-3.3	-1.5	-2.9
	T57	-2.2	-5.7	-4.7	-3.7	-4.1	-4.9	-2.9	-2.0	-3.1	-4.8	-3.7	-3.4	-1.8	-2.3	-3.1	-2.6		-0.9	-3.9	-2.3
	D58	-1.4	-5.9		-1.5	-2.6	-2.8	-3.4	-2.9	-4.9	-4.1	-2.9	-1.9	-5.7	-3.3	-4.7	-1.4	-3.9	-2.7	-2.2	-1.5
	Y59	-4.8	-3.9	-1.5	-3.8	-3.4	-5.1	-2.9	-1.4	-3.4	-2.2	-1.7	-4.4	-6.0	-4.3	-4.4	-2.5	-2.2	-1.4	-5.0	
	N60	-4.0	-6.8	-3.5	-4.8	-5.9	-4.0	-3.6	-6.5	-3.5	-5.7	-5.7		-5.0	-5.9	-6.1	-3.3	-5.7	-5.4	-6.0	-5.2
	A61		-6.0	-0.6	-0.2	-3.9	-1.3	-2.5	-4.7	-0.6	-3.3	-3.1	-1.0	1.3	-2.2	-1.0	-1.0	-1.2	-3.5	-4.9	-3.4
	A62		-5.8	-0.3	-0.5	-3.9	-3.2	-2.9	-4.2	-1.0	-3.1	-2.9	-1.3	-4.0	-2.0	-2.2	-0.7	-3.0	-4.6	-2.3	-2.0
	F63	-4.2	-1.5	-3.9	-1.0		-4.5	-2.3	-2.1	-4.4	-0.8	-1.3	-3.4	-5.5	-2.4	-5.5	-2.4	-3.8	-1.3	-3.3	-0.8
	M64	-0.2	-4.7	0.0	-0.7	-3.1	0.8	-1.4	-2.1	-0.3	-1.2		-0.3	-2.1	-0.4	-0.7	-0.5	-1.8	-2.1	-1.7	-2.5
	S65	-3.3	-3.1	0.7	-0.6	-6.8	-0.1	-0.4	-7.2	0.0	-4.1	-4.8	0.3	0.6	-1.5	-0.5		-2.6	-5.5	-0.3	-1.9
FW3	R66	-6.0	-6.0	-6.2	-5.7	-5.8	-5.5	-6.2	-6.4	-5.5	-6.3	-5.6	-5.7	-5.6	-5.2		-5.9	-6.2	-5.7	-5.5	-6.2
	L67	-2.3	-6.1	-4.5	-5.0	-5.4	-6.4	-5.8	-2.3	-4.8		-1.8	-4.5	-2.6	-2.7	-2.3	-4.8	-3.4	-3.6		-5.2
	T68	-1.2	-4.4	-2.4	-1.5	-2.8	-2.6	-0.6	-1.4	-1.1	-2.1	-2.6	-1.1	-2.8	-0.7	-1.5	-1.1		-2.9	-3.0	-1.3
	I69	-5.7	-7.2	-7.8		-5.4	-7.7			-7.2	-3.2	-2.7	-6.1	-7.4	-5.5	-6.0	-7.1	-8.2	-5.1	-5.1	-7.3
	S70	-1.7	-2.7	-1.2	-1.0	-2.2	-2.8	-1.8	-2.6	-1.1	-2.6	-2.7	-1.4	-6.1	-1.6	-1.8		-1.1	-3.2	-1.2	-1.7
	K71	-7.2	-8.0	-6.2	-5.5	-6.2	-8.7	-5.8	-8.8		-6.0	-5.8	-4.4	-7.4	-8.1	-5.8	-7.0	-6.6	-6.8	-6.5	-6.6
	D72	-2.9	-5.1		-1.3	-5.4	-4.1	-3.3	-4.0	-5.1	-4.8	-5.7	-1.6	-6.0	-4.6	-6.0	-3.9	-4.7	-3.1	-3.6	-1.7
	N73	-3.5	-5.1	-3.4	-3.9	-3.7	-4.6	-4.4	-1.3	-3.6	-1.8	-3.2		-3.5	-3.5	-4.4	-4.1	-3.3	-2.3	-5.7	-1.9
	S74	-1.0	-5.7	-1.8	-1.1	-1.5	-2.0	-1.3	-1.0	-0.4	-1.9	-1.3	-1.0	-1.4	-1.1	-1.2		-0.4	-2.0	-2.1	-0.8
	K75	-3.0	-5.1	-5.1	-2.6	-5.6	-6.6	-4.1	-3.5		-2.6	-3.2	-3.0	-5.7	-3.2	-2.4	-3.1	-2.5	-2.9	-5.5	-4.9
	N76	-3.7	-5.2	-4.2	-1.5	-5.2	-3.6	-2.8	-5.8	-1.3	-5.3	-5.1		-5.4	-0.2	-2.4	-1.8	-3.6		-2.8	-3.9
	Q77	-4.1	-4.8	-5.1	-1.9	-5.8	-6.2	-2.2	-3.2	-2.0	-2.7	-3.8	-3.0	-3.1		-3.3	-3.0	-2.5	-3.0	-3.6	-4.3
	V78	-2.4	-5.6	-5.0	-3.2	-4.8	-1.5	-5.9	-6.4	-6.4	-3.1	-2.8	-6.0	-5.3	-5.9	-5.5	-2.8	-3.0		-3.7	-5.7
	L80	-3.5	-7.3	-6.9	-5.6	-1.6	-7.1	-5.9	-4.3	-7.1		-1.1	-7.6	-6.4	-5.8	-6.9	-6.0	-7.1	-4.6		-5.3
	K81	-2.0	-5.2	-2.8	-2.8	-3.5	-3.7	-0.5	-3.2		-3.2	0.5	-1.8	-6.3	-1.7	-1.7	-2.4	-2.9	-3.1	-3.9	-2.4
	S82a	-2.6	-4.0	-1.9	-3.9	-4.4	-1.9	-1.6	-4.8	-1.0	-2.1	-4.0	-1.3	-4.8	-1.7	-0.9		-2.6	-4.2	-3.9	-3.0
	S82b	-1.9	-4.0	0.9	0.4	-5.5	-0.8	-0.4	-6.1	-0.1	-3.2	-4.9	0.3	-0.8	-1.0	-0.6		-3.3	-3.7	0.0	-1.9
	T83	-3.7	-6.4	-2.7	-1.7	-5.0	-4.7	-3.9	-4.9	-3.2	-4.1	-3.4	-2.7	-5.1	-3.3	-3.9	-2.3		-4.3	-3.5	-4.2
	A85		-5.0	-0.2	-0.4	-4.2	-1.5	-2.2	-5.3	-1.8	-3.0	-3.7	-1.0	-4.1	-1.7	-2.3	-1.3	-3.6	-4.3	-1.2	-2.0
	D86				-2.9			-6.7		-7.9	-6.7		-6.6	-6.1	-5.8		-6.4	-6.4	-6.2	-4.2	-6.6
	Y91	-5.9	-3.6	-2.9	-5.4	-2.3	-5.9	-3.5	-6.0	-7.6	-5.3	-4.9	-4.6	-5.9	-5.2	-4.2	-4.7	-4.7	-5.0	-2.6	
	S93	-6.9	-6.5	-7.7		-5.6	-6.4		-7.0	-6.9	-7.2	-7.4	-6.3	-6.8	-8.1	-4.4		-5.8	-6.8	-5.9	-7.5
	N94	-5.2	-5.5	-3.2	-4.9			-3.2	-4.3	-3.7	-5.0	-5.4		-5.8	-0.7	-6.1	-3.8	-4.0	-6.6	-5.2	-2.7
CDR 3	H95	-6.4	-5.2	-4.6	-7.5	-6.6	-6.4			-6.2	-4.9	-6.4	-4.5	-3.9	-1.9	-4.1	-6.8	-6.4	-6.2	-5.6	-3.6
	Y96	-7.2	-2.1	-1.5	-4.6	-3.8	-5.8	-3.3	-6.8	-6.0	-6.4	-8.1	-5.1	-6.9	-5.1		-4.9	-6.2	-6.4	-5.2	
	Y97	-6.2	-3.3	-2.9	-8.0	-4.3	-5.2	-4.4	-7.1	-8.0	-6.6	-9.2	-5.7	-6.8	-6.4	-8.2	-4.4	-6.5	-7.3	-7.1	
	G98	-5.2	-2.1	-3.2	-6.3	-5.2		-6.1	-6.5	-5.8	-7.1	-7.6	-7.0	-6.9	-6.0	-6.0	-4.3	-7.1	-2.6	-5.4	-6.0
	S99	-6.7	-5.0		-6.4	-7.3	-6.6	-7.7	-8.2	-7.4	-7.9	-6.6	-6.2	-7.1	-8.3	-4.8		-6.1	-8.1		-6.4
	S100	-3.0	-5.6	-4.5	-0.8	-4.4	-5.5	-5.2	-5.0	-4.3	-5.8	-2.8	-5.9	0.5	-3.4	-4.1		-4.4	-4.5	-5.9	-5.0
	D100a	-5.0	-7.1		-2.1	-4.5	-4.2	-4.0	-6.7	-5.0	-6.1	-4.9	-3.2	-5.9	-4.6	-6.0	-5.2	-5.7	-4.3	-6.4	-2.9
	Y100b	-6.3	-2.4	-3.0	-5.2	-0.5	-6.5	-3.8	-6.6	-4.8	-6.1	-5.1	-4.3	-6.6	-8.1	-5.6	-4.3	-5.6	-5.4	-5.9	
	A100c		-5.7	-7.4	-6.2	-5.9	-7.6	-6.7	-6.0	-6.8	-8.1	-7.8	-7.8	-6.9		-7.9	-6.6	-8.7	-7.5	-6.8	-7.3
	L100d	-4.3	-5.8	-5.4	-2.7	-5.7	-5.7	-4.9	-6.2	-5.5		0.0	-5.1	-3.4	-2.5	-1.5	-3.9	-5.9	-4.2	-6.6	-6.2
	D101	-3.7			-2.7	-7.1	-2.7	-4.1	-7.6	-6.1	-6.3	-7.3	-4.1	-5.9	-4.9	-7.1	-7.8		-3.5		-2.4
	N102	-5.4		-6.5	-5.8	-6.1	-6.3	-6.3		-5.5	-6.7	-5.3		-6.8	-7.1	-6.4	-4.2	-2.2	-6.0	-5.5	-7.5

表 10. 以食蟹猴 FcRH5 選擇之 hu1G7.v1 中之突變之富集評分

區域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1	1.8	-1.4	-0.1		2.5	0.9	2.1	2.4	1.0	2.1	1.7	2.5	0.4	1.4	2.1	2.6	2.3	1.0	0.9	2.1
	V2	-2.0		-2.8	-4.5	-4.5	-4.6	-6.4	0.0	-4.4	-4.9	-6.0	-6.7	-5.1	-4.6		-5.8	-4.3		-5.8	-5.2
	V24	-2.4	-5.9	-6.2	-3.3	-7.1	-1.5	-5.8	-1.5	-5.6	-3.9	-3.0	-5.7	-6.9	-7.4	-6.4	-5.8	-7.2		-5.8	-7.8
	S25	-2.1	-3.1	-0.4	-0.8	-2.7	-3.0	-2.6	-4.9	-0.7	-3.8	-4.6	-0.8	-3.6	-2.0	-0.3		-1.3	-5.6	-4.4	-1.1
CDR 1	G26	-5.1	-3.0	-4.7	-4.7	-6.6		-6.3	-6.7	-6.5	-7.0	-7.1	-6.6	-6.5		-3.9	-4.4	-7.0	-2.4	-4.5	-5.0
	F27	-6.7	-7.3	-6.3	-7.4		-5.9	-7.2	-4.5	-7.5	-4.5	-5.3	-8.1	-6.3	-7.5	-7.5	-6.5	-6.9	-7.4	-7.5	-6.0
	S28	-0.1	-5.3	-1.9	-0.4	-2.9	-3.6	-1.5	-5.0	-0.7	-0.4	-2.3	0.3	2.1	-1.1	-1.9		-3.0	-4.7	-0.9	-2.5
	L29	-5.5	-7.4	-6.6	-6.4	-5.6	-6.5	-6.7	0.1	-6.3		-2.3	-6.3	-2.6	-4.0	-3.5	-6.7	0.8	0.2	-5.7	-7.9
	T30	-1.1	-7.1	0.5	-1.0	-5.0	0.4	-1.0	-5.4	1.0	-2.5	-2.5	1.7	-5.1	0.0	0.1	0.6		-6.1	-4.9	-3.0
	R31	-6.4	-7.5	-5.4	-5.9	-7.8	-7.3	-6.3	-6.9	-6.3	-6.2	-6.9	-7.1	-5.5	-6.1		-6.5	-6.0	-6.8	-4.1	-6.7
	F32	-6.2	-7.5	-6.3	-5.9		-7.9	-5.8	-6.4	-6.0	-5.2	-6.1	-7.1	-6.3	-7.0	-6.9	-6.8	-7.1	-5.9		-5.3
	G33	-6.3	-5.3	-6.9	-5.3	-7.2		-6.2	-7.4		-6.2		-7.7	-6.7	-7.0	-7.8	-6.9	-7.5	-6.9	-6.0	
	V34	-3.4	-6.4	-6.0	-4.3	-6.2	-2.7	-6.7	-0.7	-5.4	-2.4	-2.8	-5.6	-6.3	-6.5	-0.7	-5.0	-5.1		-3.8	-7.1
	H35	-6.9	-5.7	-6.8	-6.5	-6.9	-6.7		-6.5	-6.6	-6.8	-5.0	-6.0	-5.1	-3.5	-5.5	-6.7	-6.8	-5.5		-6.2
FW2	V37	-0.9	-3.9	-0.6	-1.7	-2.5	-1.3	-2.3	-3.5	-5.8	-2.4	-3.0	-4.5	-6.5	-4.7	-6.1	-1.1	-1.4		-4.5	3.1
	R38	-5.3	-6.0	-7.0		-5.1	-5.7	-5.8	-6.6	-4.1	-6.0	-5.9		-4.8	-4.9		-6.7	-6.8	-6.7	-3.7	-7.0
	Q39	-2.5	-6.0	-2.4	-2.0	-6.0	-5.3	-1.9	-5.1	-0.7	-2.5	-3.1	-5.8	-1.1		-1.8	-1.6	-3.3	-4.6	-3.7	-4.4
	P40	0.6	-4.9	-7.5	-2.2	-3.2	-2.9	-2.2	-0.7	1.1	-0.7	-2.0	-3.8		-0.1	1.9	-1.6	-1.7	0.6	-2.4	-2.7
	K43	-5.0	-5.0	-5.7	-2.4	-6.6	0.2	-4.2	-6.6		-5.3	-3.2	-3.6	-4.4	-0.8	-1.6	-3.4	-1.4	-6.4	-7.2	-5.8
	L45	-7.2	-5.7	-6.7	-7.7	-6.5	-5.8	-5.5	-6.2	-6.1		-2.4	-7.2	-2.5	-3.5	-1.5	-6.5	-7.1	-3.2	-4.8	-5.9
	E46	-4.1	-5.9	-2.8			-4.6	-5.9	-4.5		-4.9	-5.6	-6.1	-6.4	-2.0	-5.6	-6.3	-6.6			-7.4
	W47	-7.3	-2.3		-4.3	-6.8	-1.2	-5.7	-6.4	-5.3	-2.2	-7.8	-6.5	-6.3	-7.5	-2.8	-4.5		-4.2		-8.2
	L48	-7.2	-4.7	-6.0	-6.7	-5.6	-7.6	-6.5	-3.7	-6.7		-1.7	-8.0	-2.9	-2.4	-2.0	-7.9	-7.0	-2.8	-4.5	-5.8
	G49	-5.4	-6.6	-6.0	-4.3						-6.0		-6.9		-5.1	-5.4			-4.6	-5.0	-7.3
CDR 2	V50	-3.3	-5.5	-5.8	-3.8	-6.8	-1.2	-7.2	-6.1	-5.8	-2.5	-2.8	-6.2	-6.5	-5.8	-5.3	-5.8	-7.0		-3.7	-5.8
	I51	-6.4	-5.8	-6.4	-4.8	-3.6	-5.9	-6.9		-5.4	-1.6	-1.3	-5.5	-6.0	-6.8	-4.3	-1.5	-3.6	-1.8	-4.1	-5.4
	W52	-5.9	-2.1	-7.2	-7.7	-7.5	-2.0	-7.3	-5.8	-5.7	-2.5	-6.4	-7.0	-5.6	-6.9	-3.3	-4.6	-7.5	-4.3		-6.5
	R53	-5.9	-5.0	-6.2	-6.9	-5.0	-5.5	-6.3	-6.5	-2.9	-5.5	-5.7	-6.0	-6.7	-6.5		-6.2	-5.7		-5.7	-5.3
	G54	-1.9	-1.7	1.1	-2.6	-5.0		-1.8	-5.8	-4.5	-6.3	-5.1	2.3	-4.6	-3.2	-3.4	-0.5	-1.1	-2.4	-1.9	-1.8
	G55	-5.6	-6.1	-5.5	-5.1	-5.5		-6.2	-7.6	-6.1	-6.3	-6.8	-5.2	-5.8	-5.9	-6.2	-5.6	-6.1	-5.6	-5.3	-5.5
	S56	-0.3	-4.0	-2.9	-0.8	-3.5	-1.3	-0.4	-2.8	0.2	-2.0	-1.4	-0.1	-4.6	1.1	0.1		-0.8	-2.9	-0.7	-2.4
	T57	-1.9	-5.9	-5.2	-4.2	-5.3	-6.4	-3.3	-2.3	-3.5	-5.7	-4.1	-3.2	-1.6	-4.7	-3.9	-2.9		-0.2	-7.3	-4.3
	D58	-0.9	-6.5		-1.1	-3.9	-2.8	-3.2	-2.6	-4.4	-3.5	-2.3	-1.2	-5.4	-1.6	-4.5	-0.8	-2.3	-2.4	-3.4	-1.5
	Y59	-4.9	-3.6	-1.3	-4.2	-3.2	-5.4	-2.8	0.0	-2.6	-1.5	-2.4	-4.1	-5.2	-4.8	-5.2	-2.2	-1.5	0.1	-4.8	
	N60	-3.1	-5.8	-4.1	-5.7	-5.9	-5.1	-5.9	-5.9	-3.4	-5.8	-7.5		-4.9	-3.4	-5.6	-3.5	-5.6	-5.3	-7.6	-5.4
	A61		-5.0	0.6	0.6	-4.1	0.0	-0.8	-5.3	0.9	-3.0	-3.4	0.4	2.7	-0.7	-0.4	0.7	-0.1	-4.0	-5.7	-3.2
	A62		-6.4	0.8	0.5	-2.9	-3.0	-1.9	-4.0	-0.3	-3.0	-2.9	0.1	-2.5	-1.2	-1.7	-0.9	-2.1	-4.3	-3.1	-3.6
	F63	-4.0	-1.2	-4.9	-2.0		-5.3	-0.8	-2.0	-6.0	0.1	-0.3	-3.7	-5.5	-2.4	-4.6	-3.0	-3.9	-1.1	-3.4	-0.2
	M64	2.0	-4.3	1.9	0.8	-2.5	2.8	0.2	-1.3	1.8	-0.4		1.3	-1.4	1.6	1.3	1.3	-0.2	-0.7	-1.3	-1.5
	S65	-2.1	-2.3	3.2	1.1	-5.8	1.4	0.9	-4.6	1.1	-3.7	-4.3	2.0	2.6	-0.5	0.1		-1.5	-3.7	-0.7	-2.1
FW3	R66	-6.5	-7.6		-6.5		-5.8	-6.3	-8.4	-6.0	-5.5	-6.1	-6.2	-6.0	-5.5		-5.9	-6.2	-6.5	-5.9	-6.6
	L67	-0.4	-7.1	-4.7		-6.8	-5.4	-6.8	-1.2	-4.6		-1.3	-4.8	-2.0	-2.3	-1.6	-6.0	-3.2	-2.7	-6.1	-5.4
	T68	-1.0	-6.9	-1.6	-0.5	-2.0	-2.2	-0.1	-0.9	-0.2	-2.2	-1.5	-0.1	-2.2	0.1	-1.2	-0.5		-2.3	-2.7	-1.1
	I69	-6.3		-6.8	-4.9	-5.7	-5.7			-6.2	-2.3	-2.8	-7.1	-8.5	-6.5	-7.4	-6.4	-6.3	-4.3		-4.8
	S70	-0.4	-3.4	-0.4	-0.5	-2.7	-3.6	-1.6	-2.5	-0.9	-1.8	-2.0	-0.5	-4.5	-0.6	-1.5		0.3	-3.3	-0.6	-1.6
	K71	-6.2		-6.3	-5.8	-8.2	-7.8	-5.5	-5.8		-8.2	-8.1	-4.3	-5.8	-5.5	-5.8	-7.4	-5.9	-5.8	-6.5	-5.9
	D72	-2.5	-6.3		-1.2	-5.6	-3.5	-3.1	-3.2	-5.9	-4.3	-4.6	-2.0	-5.8	-4.2	-5.4	-4.1	-5.7	-3.3	-6.0	-1.4
	N73	-2.8	-6.7	-1.5	-2.7	-3.3	-5.8	-4.0	-0.7	-3.6	-0.3	-2.9		-2.5	-2.7	-5.1	-2.9	-2.3	-1.2	-6.5	-1.9
	S74	-0.1	-4.7	0.5	0.2	-1.8	-1.6	0.0	-0.9	-0.3	-0.9	0.1	-0.2	-1.4	0.3	-1.2		0.7	-1.3	-4.2	-1.6
	K75	-2.4	-6.4	-4.4	-2.5	-4.6	-4.6	-3.8	-3.0		-1.2	-3.3	-2.4	-5.9	-1.8	-2.0	-1.3	-1.3	-3.4	-5.8	-4.8
	N76	-2.0	-4.3	-3.8	-4.0	-5.3	-1.0	-2.1	-3.3	-2.0	-6.9	-5.4			-0.1	-4.0	-1.9	-4.4			
	Q77	-4.4	-4.5	-3.9	-0.8	-6.4	-6.8	-1.6	-2.6	-1.4	-2.1	-2.9	-2.2	-2.9		-2.8	-2.7	-1.0	-2.8	-4.9	-4.4
	V78	-2.2		-6.4	-2.7	-4.7	-1.4	-7.0	-5.0	-6.7	-2.6	-2.4	-6.9	-7.3	-5.2	-5.9	-2.5	-3.5		-2.7	-6.0
	L80	-4.4	-5.6		-5.4	-0.8	-7.7		-4.2	-6.7		0.2	-5.4	-6.4	-6.1	-4.9	-6.8	-6.5	-5.4	-6.3	-4.6
	K81	-1.6	-5.8	-1.7	-2.4	-4.5	-3.9	-0.6	-1.6		-2.6	2.5	-0.3	-6.6	-0.8	-0.5	-1.8	-1.3	-2.1	-5.3	-3.0
	S82a	-1.2	-6.8	-1.3	-3.1	-4.7	-1.0	-0.4	-5.8	0.1	-3.5	-3.8	-0.2	-4.5	-1.4	-0.3		-1.5	-4.3	-3.4	-3.8
	S82b	-0.1	-3.6	2.9	1.3		0.5	1.1	-5.5	1.2	-4.0	-3.7	2.3	0.3	0.2	0.3		-2.7	-5.3	-0.1	-1.4
	T83	-3.8	-5.4	-1.6	-1.8	-5.9	-4.6	-4.6	-8.4	-3.8	-6.2	-4.8	-2.1	-5.9	-3.7	-4.5	-1.4		-6.7		-5.4
	A85		-5.6	1.5	0.5	-6.7	-0.9	-1.9	-6.7	-0.8	-3.7	-4.7	-0.1	-3.7	-0.7	-2.2	-0.6	-2.7	-6.5	-3.0	-2.2
	D86	-5.3			-2.4			-5.7		-6.9	-7.3	-4.6	-5.9			-3.8					
	Y91	-5.4	-3.5	-2.3	-7.4	-2.1	-6.3	-3.7	-5.0	-7.0	-5.9	-7.0	-5.4	-5.9	-5.6	-5.4	-4.4	-5.1	-5.9	-2.6	
	S93	-6.0	-5.5		-6.4	-6.6		-5.7	-5.6	-5.5	-6.8	-5.5	-6.9	-6.0	-7.1	-3.6		-5.2	-6.5	-4.4	-5.5
	N94	-4.7	-3.7	-2.6	-4.3		-5.7	-3.0	-3.7	-3.3	-4.5	-5.0		-5.6	-0.4	-6.2	-3.5	-4.3	-6.6		-1.7
CDR 3	H95	-5.7	-7.2	-4.4	-7.5	-4.3	-5.4		-6.2	-5.3	-4.6	-6.7	-4.3	-3.8	-1.5	-3.5	-6.0	-6.4	-5.9	-6.7	-3.1
	Y96	-6.3	-2.3	-1.1	-4.6	-3.3	-6.4	-2.6	-5.0	-5.5		-6.1	-4.6		-5.1		-3.9	-7.6			
	Y97	-6.1	-2.3	-2.9		-3.7		-3.9	-5.9	-6.5	-7.1	-8.2	-5.1	-6.3	-5.8	-6.7	-4.0	-6.1	-6.0	-7.1	
	G98	-3.5	-1.8	-3.0		-6.4		-7.7	-6.5	-6.1	-5.7		-7.2	-5.5	-4.8	-4.8	-3.6	-5.7	-2.1	-6.0	-5.8
	S99	-6.7		-4.9	-5.4		-4.6	-7.7	-8.2	-6.9	-5.9	-6.1	-6.4	-6.5	-7.3	-4.0		-6.4	-5.5	-4.6	-5.4
	S100	-0.1	-6.0	-5.8	-3.0	-4.3	-3.2	-1.1	-3.8	1.1	-5.5	-1.2	-4.7	0.2	-0.8	-0.1		-4.5	-2.1	-6.0	-3.2
	D100a	0.0	-6.1		-0.8	1.7	-3.6	1.9	-2.2	-0.9	-1.0	0.6	0.4	-4.6	2.1	-1.1	0.6	-1.0	-0.8	-2.3	-0.2
	Y100b	-5.1	-2.5	-2.3	-5.2	0.0	-6.3	-3.0	-5.7	-5.3	-5.4	-4.4	-4.8	-5.6	-7.1	-7.8	-4.6	-6.3	-4.6	-6.5	
	A100c		-5.7	-5.4	-5.2	-7.0	-6.6	-7.3	-5.8	-6.2	-7.1		-6.2	-5.9	-6.6	-7.0	-6.2	-7.1	-4.9		
	L100d	-4.4	-4.8	-6.2	-2.8	-5.9	-5.2	-5.1	-5.0	-6.0		0.0	-4.7	-3.6	-1.7	-1.1	-3.5	-5.7	-3.8	-5.0	-5.5
	D101	-2.9			-2.6	-7.1	-1.9	-2.4			-7.3		-4.3	-5.5	-5.0		-6.2	-6.5	-3.4		-1.8
	N102	-5.0	-4.1	-7.1	-5.6		-5.6	-4.9		-5.3	-6.3	-6.7		-4.5	-5.5	-5.9	-3.6	-2.3		-6.1	-5.9

表 11. 在以人 FcRH5 之選擇中具有至少 0.5 之富集評分(表 9)及在以食蟹猴 FcRH5 之選擇中具有至少 0 之富集評分(表 10)的突變

區域	位置	A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y
FW1	E1					1.1		1.0	0.8		0.6		0.8				1.0	0.7			0.7
	V2																				
	V24																				
	S25																				
CDR 1	G26																				
	F27																				
	S28													0.5							
	L29								0.5									1.3			
	T30																				
	R31																				
	F32																				
	G33																				
	V34																				
	H35																				
FW2	V37																				1.4
	R38																				
	Q39																				
	P40																				
	K43																				
	L45																				
	E46																				
	W47																				
	L48																				
	G49																				
CDR 2	V50																				
	I51																				
	W52																				
	R53																				
	G54												0.6								
	G55																				
	S56																				
	T57																				
	D58																				
	Y59																				
	N60																				
	A61													1.3							
	A62																				
	F63																				
	M64						0.8														
	S65			0.7										0.6							
FW3	R66																				
	L67																				
	T68																				
	I69																				
	S70																				
	K71																				
	D72																				
	N73																				
	S74																				
	K75																				
	N76																				
	Q77																				
	V78																				
	L80																				
	K81											0.5									
	S82a																				
	S82b			0.9																	
	T83																				
	A85																				
	D86																				
	Y91																				
	S93																				
	N94																				
CDR 3	H95																				
	Y96																				
	Y97																				
	G98																				
	S99																				
	S100																				
	D100a																				
	Y100b																				
	A100c																				
	L100d																				
	D101																				
	N102																				

表 12. 具有藉由以 FcRH5 來選擇之噬菌體展示文庫之深度測序來識別之突變的 hu1G7 變異體之親和力

	突變(Kabat 位置)			超過以下之改良倍數	
變異體	重鏈	輕鏈	K_D (nM)	hu1G7.v1	hu1G7.v86
hu1G7.v1	-	-	14.6	-	
A	E1S	-	14.6	1.0	

B	E1F	-	19.1	0.8	
C	S28P	-	13.3	1.1	
D	L29T	-	6.7	2.2	
E	V37Y	-	11.0	1.3	
F	A61P	-	11.7	1.2	
G	M64G	-	14.4	1.0	
H	S65D	-	15.0	1.0	
I	S65P	-	16.2	0.9	
J	K81M	-	15.3	1.0	
K	S82bD	-	15.0	1.0	
L	S100P	-	4.8	3.0	
hu1G7.v85	M64V	S30R, I32L, A51G, T56S, S94P	0.8	17.0	
hu1G7.v86	M64V	I32L, A51G, T56S, S94P	1.4	10.3	
hu1G7.v91	M64V, L29T	I32L, A51G, T56S, S94P	0.7	20.9	2.0
hu1G7.v92	M64V, S100P	I32L, A51G, T56S, S94P	0.9	15.9	1.5
hu1G7.v93	M64V, L29T, S100P	I32L, A51G, T56S, S94P	0.6	25.3	2.5

實例 3. 示例性 FcRH5 TDB 之產生及體外表徵

【0419】 本文描述之抗 FcRH5 抗體用於產生 T 細胞依賴性雙特異性(TDB)抗體，包含結合決定子抗人 FcRH5 一個臂及抗人 CD3ε 其他臂。FcRH5 結合決定子包括人源化及親和力成熟單株抗體純系 1G7、1G7.v85 及 1G7.v87。抗 CD3ε 之人源化結合決定子包括高親和力抗體純系 38E4.v1、高親和力純系 38E4.v11 及低親和力純系 40G5(相應地，hCD3ε 之 EC50=1.0 nM、50 pM 及 13 nM)。抗 CD3 純系 38E4.v1、38E4.v11 及 40G5c 結合人 CD3ε 多肽(由胺基酸 1-26 或 1-27(SEQ ID NO: 174)組成之人 CD3ε 多肽之片段)並且 CD3ε 之胺基酸殘基 Glu5 並非結合所必需的(亦參見 PCT 公開案第 WO 2015/095392 號及美國公開案第 2015-0166661 號，其中之每一者全部以引用方式併入本文)。

【0420】 將示例性 FcRH5 TDB 表徵以評估其治療潛力。發現人源化全長 FcRH5 TDB 分子殺傷在極低(pM)劑量下人漿細胞及患者衍生原代骨髓瘤腫瘤細胞並且觸發 T 細胞之穩健增殖。FcRH5 TDB 在體內有效抑制骨

髓瘤異種移植物之生長並且在靈長類中在預期使靶飽和之良好耐受劑量水準下導致 B 細胞及漿細胞之完全耗盡。完全漿細胞耗盡提供在骨髓微環境中之功效的令人信服之證據。FcRH5 TDB 之活性與靶表現(例如，FcRH5 表現)水準相關，表明具有染色體 1q 複本增益之高風險骨髓瘤患者可能對於此免疫療法特別敏感。

材料及方法

A. 抗體

a. 產生 TDB

1. 合理設計方法

【0421】 為了優化 TDB 之表現並增加產率，在抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之 Fc、VH、VL、CH1 及 CL 域中工程設計突變以驅動合適抗體單體形成。具體而言，在 VH、VL、CH1 及/或 CL 域中引入電荷區之胺基酸修飾提供減少重鏈及輕鏈錯配之機制。具有相反總電荷之同源電荷區驅動到一起並且輔助合適重鏈及輕鏈配對，從而增加抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之總產率。示例性合理設計組態，包括 Fc、VH、VL、CH1 及 CL 域之胺基酸修飾，提供於圖 1A-1B 中。

2. 羅塞塔設計方法

【0422】 附加於或替代優化 TDB 之表現並增加產率，在抗 FcRH5 抗體(例如，FcRH5 TDB)之 Fc、VH、VL、CH1 及 CL 域中工程設計突變以驅動合適抗體單體形成。除了電荷區突變以外，羅塞塔設計方法以 CH1 及 CL 域中之結及孔突變之形式來提供驅動合適重鏈及輕鏈配對之額外機制。示例性羅塞塔設計組態，包括 Fc、VH、VL、CH1 及 CL 域之胺基酸修飾，提供於圖 1C-1F 中。

3. 用於產生 FcRH5 TDB 之單細胞方法

【0423】 在一種方法中，FcRH5 TDB 可藉由培養用兩個質體共轉染之宿主細胞來產生，每個質體編碼 FcRH5 TDB 之兩個臂之一者(例如，第一質體編碼抗 FcRH5 半抗體並且第二質體編碼抗 CD3 半抗體)。宿主細胞(例如，細菌、哺乳動物或昆蟲細胞)之轉染以 96 孔板格式來執行。為了篩檢 FcRH5 TDB 產生，大約 2,000 至 3,000 個純系可採集並藉由 ELISA 來評

估並且針對其結合靶抗原 FcRH5 之能力來執行完整 IgG 均勻時間解析螢光(HTRF)。產生能夠結合至 FcRH5 或其片段之 FcRH5 TDB 之純系選擇用於擴增及進一步篩檢(例如，結合 CD3)。然後，前列純系可基於所產生的雙特異性抗體(bsAb)百分比、效價及性能合格性(PQ)來選擇用於進一步分析。

【0424】 可用於產生本發明 FcRH5 TDB 之示例性單細胞方法描述於國際專利申請案第 PCT/US16/28850 號中，其全部以引用方式併入本文。

4. 用於產生 FcRH5 TDB 之雙細胞方法

【0425】 或者，FcRH5 TDB 可藉由使用高細胞密度發酵個別地(即，在兩個不同細胞株中)培養抗體半體(例如，半抗體)，然後獨立地藉由蛋白質 A 層析分離每個半抗體來產生。接著在 1:1 莫耳比下組合純化半抗體且在 2 mM DTT 存在下在 50 mM Tris(pH 8.5)中培育 4 小時以允許黏接及鉸鏈區中之二硫化物還原。相對於無 DTT 之相同緩衝液透析 24-48 小時導致形成鏈間二硫鍵。

【0426】 TDB 可替代地藉由將兩個質體轉染至分開宿主細胞中來產生，每個質體編碼 TDB 之不同臂。宿主細胞可個別地共培養或培養。宿主細胞之轉染可以 96 孔板格式來執行。為了篩檢 TDB 產生，將 2,000 至 3,000 個純系採集並藉由 ELISA 來評估並且針對其結合選定抗原(例如 FcRH5)之能力來執行完整 IgG 均勻時間解析螢光(HTRF)。選擇產生能夠結合至 FcRH5 或其片段之 TDB 的純系用於擴增及進一步篩檢。基於所產生的雙特異性抗體(bsAb)百分比、效價及 PQ 來選擇前列純系用於進一步分析。

5. 示例性產生方法

【0427】 在一個實例中，使用此策略，FcRH5 TDB 藉由共培養策略來產生，該策略使用表現一個半抗體(孔)之大腸桿菌細胞及表現第二半抗體(結)之大腸桿菌細胞在搖瓶中以預定比率在一起生長以使得其產生類似量之每個半抗體(參見，Spiess 等人 *Nat. Biotechnol.* 31(8):753-8, 2013；PCT 公開案第 WO 2011/069104 號，其全部以引用方式併入本文)。接著收集共培養之細菌肉湯，在微射流機中破碎細胞且藉由蛋白質 A 親和力純化抗體。已觀測到在微射流及蛋白質 A 捕捉期間，兩臂黏接且形成鉸鏈間二硫橋鍵。

【0428】 在另一個實例中，全長雙特異性抗體如前所述來產生(Junttila 等人 *Cancer Res.* 74:5561-5571, 2014; Sun 等人 *Science Trans. Med.* 7:287ra270, 2015)。簡言之，在其 CH3 域中含有「結」或「孔」突變之兩個半抗體(例如，抗 FcRH5(例如，1G7 之優化變異體)及抗 CD3(例如，38E4.v1))藉由 CHO 細胞之瞬態轉染來表現，然後以蛋白質 A 來進行親和力純化。相等量之兩個半抗體在 32℃下與 pH 8.5 下之 200 莫耳過量之還原型谷胱甘肽一起培育隔夜以驅動結-孔二硫鍵之形成。組裝雙特異性抗體(例如，FcRH5 TDB)經由疏水性相互作用層析來純化以除去污染物。純化 FcRH5 TDB 藉由質譜法、尺寸排阻層析(SEC)及凝膠電泳來針對純度進行表徵。

b. 純化 FcRH5 TDB

【0429】 FcRH5 TDB 藉由疏水性相互作用層析(HIC)來純化以除去污染物。使用 Endosafe 便攜式測試系統分析所得物質之內毒素含量，且必要時，藉由用 0.1%曲通(Triton)X-114 洗滌蛋白質來降低內毒素含量。藉由如之前所述(Jackman 等人 *The Journal of Biological Chemistry*. 285:20850-9, 2010)之質譜分析法(LC-ESI/TCF)來分析 TDB 之分子量。亦藉由使用 Agilent 1:100 HPLC 系統，在 Zenix SEC-300 管柱(Sepax Technologies USA)中進行分析型尺寸排阻層析來分析 FcRH5 TDB。藉由使用 2100 生物分析儀及蛋白質 230 晶片進行電泳來對殘餘抗體片段之存在定量。

c. 加標記之抗體

【0430】 除了另外提及以外，用於流式細胞術之所有直接標記抗體購自 BD Bioscience。抗人 PD-1 購自 Affymetrix。山羊抗人 IgG 及山羊抗小鼠 IgG 購自 Jackson Immunoresearch。抗 PC-FITC(純系 Vs38c)購自 DAKO。用於蛋白質印跡之 SLP-76 抗體購自 Cell Signaling Technology。p-SLP76(Ser376)在 Genentech, Inc 處產生。

【0431】 為了藉由 FACS 來偵測來自多發性骨髓瘤(MM)樣品及健康供體血漿及 B 細胞之 FcRH5，抗 FcRH5 抗體 1G7 使用 Southern Biotec 之 PE 來標記。對於顯微術，TDB 使用合適蛋白質標記套組(ThermoFisher)根據製造商之說明書用 Alexa Fluor 647 標記。在標記之前，TDB 滲析至 PBS，pH 7.2 中並且常規達成~4 之染料/蛋白質比率。

B. 分子穩定性分析

【0432】 為了評估 FcRH5 TDB 之分子穩定性，熱應力測試在 30℃至 40℃下在四週內進行。FcRH5 TDB 在 20 mM 組胺酸乙酸鹽、240 mM 蔗糖，pH 5.5 中以 1 mg/mL 培育，並且在 2 週之後評估。在 2 週時，針對 N 脫胺基作用/D 異構化作用之<5%變化來評估 TDB，藉由 SEC 來評估單體損失之<2.5%變化，並且藉由 IEC 來評估<16%主峰損失。所使用之 SEC 緩衝液為 0.25M KCl, 0.2M K_3PO_4, pH6.3。LC-MS 在還原條件下使用 TCEP 在 60℃下進行 10 分鐘。LC-MS/MS 分析藉由 RCM 胰蛋白酶肽作圖經由 DTT 還原、IAA 加蓋及 pH 8.2 消化來進行。

【0433】 進行 AAPH 氧化分析以評估<35% Trp 氧化及<1.1 Met Ox/Met_{256}。FcRH5 TDB 在 1.0 mg/mL 濃度下培育並且在 1 mM AAPH 下加應力 16 小時。亦進行光氧化分析以評估>0.5 之 TrpOX/TrpOX_ApoMabW53。對於光氧化分析，TDB 在 1.0 mg/mL 濃度下培育 48 小時並且曝露於光歷時 2.4 百萬勒克司小時。氧化藉由 LC-MS/MS 分析以 RCM 胰蛋白酶肽作圖，經由 DTT 還原、IAA 戴帽及 pH 8.2 消化來評估。

C. 細胞培養及穩定細胞株產生

【0434】 表現 1G4 TCR 複合物及關鍵 TCR 信號傳導組分之 HEK-293T 及 HEK-T 細胞 (James 等人 *Nature* 487:64-69, 2012) 在 DMEM(Sigma Aldrich)中培養。所有其他細胞株在 RPMI 中培養。所有培養基補充 10%熱滅活 FBS(Life Technologies)、1mMHEPES(Lonza)、2mM 麩醯胺酸、100 U/ml 青黴素及 100 μg/ml 鏈黴素(Sigma Aldrich)。

【0435】 為了評估免疫突觸形成，SVT2 細胞用編碼具有 N 末端 gD 標籤之全長 FcRH5 之逆轉錄病毒或編碼具有 N 末端 gD 標籤之截斷 FcRH5(即，包括胺基酸 1-744 缺失之 FcRH5)之病毒來感染。為了評估 FcRH5 TDB 殺傷之靶依賴性，FOX-NY 細胞用編碼全長 FcRH5 之慢病毒感染。然後，具有差異表現水準之 FcRH5 的單一細胞衍生純系使用 2 μg/ml 嘌呤黴素來選擇。

【0436】 為了評估 PD-1/PD-L1 信號傳導對於 FcRH5 TDB 活性之作用，293 細胞用編碼 FcRH5 之慢病毒感染，隨後使用脂質體(Invitrogen)來

轉染編碼人 PD-L1 之質體。

D. 放射配位體細胞結合分析

【0437】 抗 FcRH5 1G7.v85 抗體使用 Iodogen 方法碘化至 20 μCi/μg 之比活性。含有固定濃度之碘化抗體及降低濃度之連續稀釋、未標記抗體的競爭反應混合物安置於 96 孔板中。表現內源性人 FcRH5 之細胞株(例如，MOLP-2、RI-1、KARPAS 620 及 KMS21-BM)用由杜爾貝科氏改良伊格爾氏培養基(DMEM)與 2%胎牛血清(FBS)、50 mM HEPES(pH 7.2)及 0.1%疊氮化鈉組成之結合緩衝液洗滌，然後添加至 96 孔板。對於每個濃度之未標記抗體，使用細胞之競爭反應重複三次進行分析並且在室溫下培育兩小時。在培育 2 小時之後，將競爭反應物轉移至 Millipore 多重篩檢過濾培養盤(Billerica, MA)中且用結合緩衝液洗滌 4 次以使遊離抗體與結合之碘化抗體分離。風乾過濾器在 Wallac Wizard 2470γ 計數器(PerkinElmer Life and Analytical Sciences Inc.; Wellesley, MA)上計數並且結合資料使用 NewLigand 軟體(Genentech)來評估，該軟體使用 Munson 及 Robard 之擬合演算法來確定抗體之結合親和力(Munson 等人 *Anal. Biochem.* 107:22-39, 1980)。

E. 載體及用於顯微術之瞬態轉染

【0438】 將具有 N 末端 gD 標籤之 FcRH5 融合至螢光蛋白質 mRuby2，方法是首先將 FcRH5 插入 pHR-SIN 慢病毒載體，然後將 mRuby2 DNA 序列連接至此載體中，從而建置 pHR-FcRH5-mRuby2。此載體中之 SFFV 啟動子隨後置換成 mHSP 啟動子，從而建置 pHRI-FcRH5-mRuby2，後者利用比 pHR 較弱之啟動子，使得更多生理表現水準之 FcRH5-Ruby。表現 LCK、ZAP70、CSK/CBP 及 CD45 之載體先前已經描述(James 等人 *Nature.* 487:64-69, 2012)。所使用之 CD45 構築體為 RO 同功異型物或構築體，其含有 CD45 之細胞質域以及已知模擬 CD45 功能之 CD43 之跨膜及細胞外域。在轉染構築體之前，HEK 細胞在 6 孔板中接種至約 60%匯合。然後遵循製造商之說明書，載體在合適比率下使用 GeneJuice(Novagen)來瞬態轉染。在轉染之後 24-48 小時，細胞用於實驗中。

F. 顯微術成像及分析

【0439】 為了將細胞結合物成像，將要成像之每個細胞類型之 $3x10^5$

細胞從培養物收穫並且再懸浮於 100μl 之含有 20nM TDB 的 RPMI-1640(沒有酚紅)中。在 20-30 min 培育以允許細胞結合之後，細胞用 PBS 洗滌，再懸浮於 DMEM^{gfp2}成像培養基(Evrogen)中並且添加至 35mm 成像培養皿(Mattek)。Andor 旋轉盤共焦顯微鏡系統用於在 37℃下將細胞成像。將所有影像分析並且所有呈現影像以相等方式使用 ImageJ 來操縱。將所呈現影像背景減去，然後裁剪以聚焦於成對細胞上並且將對比度優化。蛋白質群集及分離之程度使用質膜中之螢光標記蛋白質之強度來判定。質膜藉由手動劃線來選擇並且細胞-細胞界面內之質膜之平均螢光強度除以細胞-細胞界面外之質膜之平均螢光強度以計算群集或分離程度。為了從 z-堆疊產生藉由 TDB 結合之一對細胞之界面之影像，影像堆疊首先去卷積，然後使用 Huygens 軟體來裁剪以突出界面區。

G. 體外細胞毒性及 T 細胞活化分析

【0440】 根據製造商方案(Life Technology, #C34554)用羧基螢光素丁二醯亞胺基酯(CFSE)標記靶細胞。CFSE 標記靶細胞及純化 CD8+細胞以 3:1 效應細胞與靶細胞(E:T)比率混合並且與 TDB 一起培育 48 小時。在培育結束時，細胞藉由流式細胞術在 FACSCalibur 上以自動格式來分析。藉由對 CFSE+/PI 陰性細胞進行閘控來對活靶細胞之數目進行計數。如下計算細胞毒性之百分比：細胞毒性%(無 TDB 之活靶細胞數目–有 TDB 之活靶細胞數目)/(無 TDB 之活靶細胞數目)x 100。

a. 體外細胞毒性分析細胞株

【0441】 進行周邊血單核細胞(PBMC)及 CD8+分離、Cell Titer Glo(Promega)及基於流式細胞術之生存力分析(48h)，如前所述 Junttila 等人 *Cancer Res.* 74:5561-5571, 2014。CD8+細胞用作 3:1 效應物:靶比率中之效應物。

b. 人漿細胞及原代多發性骨髓瘤樣品

【0442】 健康供體(ALLCELLS)之人骨髓吸出物在 PBS 中稀釋並且骨髓單核細胞(BMMC)藉由習知梯度分離(Lymphoprep, STEMCELL)來分離。流式細胞術生存力分析用於測試 72h FcRH5 TDB 治療對於 BMMC 漿細胞之作用。來自 MM 患者之冷凍人 BMMC 購自 Conversant Bio。骨髓瘤 BMMC

與新鮮分離之健康供體 CD8+T 細胞混合並且共培養物用 FcRH5 TDB 治療 72h。PI 陰性 CD38+CD138+細胞藉由流式細胞術來計數。

H. T 細胞活化及增殖分析

【0443】 T 細胞活化分析先前已經描述於 Junttila 等人 *Cancer Res.* 74:5561-5571, 2014 中。新鮮分離 CD8+T 細胞用 CFSE 標記並且與靶細胞(例如，MOLP-2 細胞)以 1:1 比率混合並且與 1 μg/ml TDB 一起共培養 48 小時或五天。細胞用抗 CD8-APC(BD Bioscience, #555634)、抗 CD69-PE(BD Bioscience, #555531)及/或抗 CD25-APC(BD Bioscience, #555434)染色並且 CFSE 之螢光強度之稀釋藉由流式細胞術來分析。

I. 獼猴漿細胞之流式細胞術分析

【0444】 將獼猴骨髓吸出物在 ACK 溶解緩衝液(Life Technology, #A10492)中稀釋(1:10)兩次。獼猴骨髓細胞用抗 CD45、抗 CD20 及抗 CD38 染色。洗滌之後，將細胞固定並且使用 IntraStain 套組(DAKO)來透化。然後，細胞用抗 PC(純系 Vs38c)染色。獼猴漿細胞藉由流式細胞術分類以形式 CD45-CD20-CD38+PC+。

J. 獼猴 IgG 水準之 ELISA 分析

【0445】 總獼猴血清 IgG 使用基於標準比色之夾心 ELISA 來定量。山羊抗猴 IgG(Bethyl A140-202A)及辣根過氧物酶(HRP)結合山羊抗猴 IgG(Bethyl A140-202P)分別用作捕獲及偵測抗體。獼猴 IgG(Cell Sciences CSI20163A)用作蛋白質定量標準。

K. 蛋白質印跡分析

【0446】 新鮮分離之人 CD8+T 細胞及 293T-FcRH5 細胞(2:1 比率)用 1 μg/ml 之 1G7.v85/38E4.v1(「1G7.v85 TDB」)、10A8/38E4.v1(「10A8 TDB」)或抗 gD/38E4.v1(「抗 gD TDB」)TDB 治療並且在 4℃下在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中洗滌並且用 RIPA 溶解緩衝液(Cell Signaling Technology)裂解。pSLP76(Ser376)及 SLP76 使用標準蛋白質印跡方法及抗體來偵測。

結果

A. FcRH5 TDB 之結合親和力

【0447】 在所產生的 FcRH5 TDB 之中者為以下分子，該分子包含作

為 FcRH5-結合域之純系 1G7 及選擇作為 CD3-結合域之純系，包括 38E4.v1、40G5c 及 38.E4.v11。抗體 hu1G7.v1.1 (「1G7.v1.1 TDB」)、hu1G7.v1.2 (「1G7.v1.2 TDB」)、hu1G7.v1.3 (1G7.v1.3 TDB」)、hu1G7.v1.4 (「1G7.v1.4 TDB」)、hu1G7.v1.5 (「1G7.v1.5 TDB」)、hu1G7.v1.7 (「1G7.v1.7 TDB」)、hu1G7.v1.13 (「1G7.v1.13 TDB」)及 hu1G7.v1.13.1 (「1G7.v1.13.1 TDB」)產生為具有抗 CD3 38E4.v1 臂之 FcRH5 TDB 並且藉由總體上如本文描述之 BIACORE®判定為具有對於可溶性 FcRH5 蛋白質片段之較高親和力(表 13)。包括「結」突變體之半抗體格式之 1G7.v85 及 1G7.v87 之表現測試給出高於災難條之效價(圖 8)。

表 13. TDB 格式之八個選定親和力成熟變異體之親和力評估

可變區種類	抗體	K_D
親本(鼠科可變區)	1G7 TDB (平均值，n=3)	5.4 nM
1G7.v1 之定點誘變	1G7.v1.1 TDB	2.7 nM
	1G7.v1.2 TDB	2.6 nM
	1G7.v1.3 TDB	1.5 nM
	1G7.v1.4 TDB	1.4 nM
聚焦噬菌體抗體文庫(文庫模板 = 1G7.v1)	1G7.v1.5 TDB	1.1 nM
	1G7.v1.7 TDB	0.6 nM
	1G7.v1.13 TDB	1.2 nM
	1G7.v1.13.1 TDB	0.9 nM

B. FcRH5 TDB 之結合及交叉反應性

【0448】 人 FcRH5、獼猴 FcRH5、人 FcRH1、FcRH2、FcRH3 及 FcRH4 轉染小鼠 SVT2 細胞用於測試 FcRH5 TDB 之結合及交叉反應性。該方法執行如下。培養 SVT2 細胞使用非酶細胞解離緩衝液(Sigma, #C5914)來提升。$1x10^5$細胞懸浮於 100 µL 中並且與 3 µg/ml 之 FcRH5 TDB 一起培育。然後，細胞用 FACS 緩衝液(PBS, 1% BSA, 2 mM EDTA)洗滌並且以 1:100 稀釋與山羊-抗人 FcPE(Jackson Immunoresearch, #109-116-170)一起培育。細胞用 FACS 緩衝液洗滌兩次且在 FACSCalibur 上進行流動式細胞測量分析。

【0449】 在鼠科 1G7 之人源化及親和力成熟之後，產生 TDB 格式之八個親和力成熟變異體。產生「孔中結」格式之優化 1G7 TDB，其中 38E4.v1 為抗 CD3 臂。藉由 BIACORE®，在 TDB 格式下，所有八個變異體顯示超過鼠科 1G7 TDB 之 5 至 15 倍增加之親和力(表 13)。所有變異體證明陰性結

合至 FcRH1 或 FcRH4，以及不同程度陽性結合至 FcRH2 或 FcRH3。1G7.v1.4 TDB 顯示與 FcRH2 及 FcRH3 之最小交叉反應性(表 14)。亦藉由 FACS 來評估含有不同抗 FcRH5 臂之 FcRH5 TDB(即，1G7、1G7.v85 或 1G7.v1.4)與 FcRH3 之結合(圖 9A)。

表 14. FcRH5 TDB 結合及交叉反應性

TDB	SVT2-FcRH1	SVT2-FcRH2	SVT2-FcRH3	SVT2-FcRH4	SVT2-FcRH5	SVT2-Cyno-FcRH5
1G7	-	-	-	-	+	+
1G7.v1.1	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.2	-	+/-	+	-	++	++
1G7.v1.3	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.4	-	+/-	+/-	-	++	++
1G7.v1.5	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.13	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.7	-	+	+	-	++	++
1G7.v1.13.1	-	+/-	+	-	++	++

【0450】 1G7.v1.4、1G7.v85 及 1G7 TDB 結合 huFcRH5 及 huFcRH3 之能力藉由 BIACORE®分析來評估(圖 10A-10D)。1G7.v85 TDB 及 1G7.v1.4 TDB 之親和力為可比較的。1G7.v1.4 TDB 分別以 2.4 nM 及~80 nM 之 K_D 結合至人 FcRH5 及人 FcRH3，並且 1G7.v85 TDB 分別以 2.4 nM 及~90 nM 之 K_D結合至人 FcRH5 及人 FcRH3(圖 10A-10D)。額外抗 FcRH5 變異體 hu7D8.L1H2、17B1-VH66、17B1 及 15G8(提供於圖 11A-13B 中之)序列亦以具有抗 CD3 臂 38E4.v1 之 TDB 格式來產生。hu7D8.L1H2、17B1 及 15G8 TDB 針對結合至人及獼猴 FcRH5 來進行測試。結果提供於圖 14 及表 4 中。

【0451】 1G7.v85 TDB 及 1G7.v93 TDB 結合至人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 之比較藉由 BIACORE®分析來進行(圖 15)。1G7.v85 TDB 展示結合至人 FcRH5 之 2.1 nM 之 K_D及結合至獼猴 FcRH5 之 7.8 nm 之 K_D。1G7.v93 TDB 展示對於人 FcRH5 之 1.1 nM 及獼猴對於 FcRH5 之 8.1 nm 的 K_D。

【0452】 執行動力學表徵實驗(參見表 8)。在此等實驗中，可溶性 FcRH5 蛋白質片段結合至人 TDB 抗體格式之純化抗體在六個不同非零濃度

下進行分析(1:3 稀釋系列，一種濃度注射兩次作為平行測定)。流速設定為 40 μl/min 並且監測締合及解離 600 s。使用 hIgG 捕獲格式及 1:1 結合模型之單價 1G7.v85 TDB 親和力之動力學分析產生針對人 FcRH5 及獼猴 FcRH5 分別為 2.4 nM 及 6.8 nM 之 K_D(圖 16A-16B)。1G7.v85 TDB 中的易氧化 Met-64$_{HC}$突變至 Val 不影響結合親和力。

C. 活體外細胞毒性分析

【0453】 為了評估人源化 FcRH5 TDB 變異體之功能，測試對於內源性表達 FcRH5 之 FcRH5 MOLP-2 細胞之細胞毒性。所有變異體顯示類似靶細胞殺傷活性但是與鼠科 1G7 相比，顯著增加之活性(圖 17A-17B)。在變異體 1G7.v1.4 TDB 的情況下，相對於鼠科 1G7 TDB，EC50 改良 5 至 13 倍(n=10)。

【0454】 基於其較高細胞毒性活性及與其他家族成員之低交叉反應性，選擇 1G7.v1.4 TDB 用於進一步分析。為了增加 TDB 分子之穩定性，1G7.v1.4 臂在潛在氧化位點突變，從而產生精煉型式，1G7.v85。兩種型式，1G7.v1.4 及 1G7.v85，以 TDB 格式在各種分析中評估，包括 T 細胞活化、MOLP-2 靶細胞殺傷活性、獼猴 B 細胞體外耗盡及獼猴漿細胞耗盡(圖 18A-18D)。在所有測試分析中，1G7.v85 TDB 與 1G7.v1.4 TDB 無差別地起作用。

【0455】 人源化及精煉 1G7.v87 TDB 亦與 1G7.v85 TDB 比較。與其更低親和力一致，相對於 1G7.v85 TDB，1G7.v87 TDB 展示與人 FcRH5 之減少結合，如流式細胞術分析所指示(圖 19A)。1G7.v87 亦顯示與 FcRH3 之陰性交叉反應性。

【0456】 1G7.v87 TDB 及 1G7.v85 TDB 之靶細胞毒性對於 MOLP-2 CD8+細胞(圖 19B)及來自四個健康供體之 PBMC(圖 19C)進行評估。在所有供體中，1G7.v87 TDB 對於人 B 細胞殺傷呈陰性，而 the1G7.v85 TDB 顯示某種程度之陽性殺傷活性。亦測試來自四個健康供體之獼猴 PBMC(圖 19D)。三種型式 1G7 TDB 之 EC50 之分級在所有三個供體中為一致的。1G7.v87 TDB 與鼠科 1G7 TDB 為可比較的但是與 1G7.v85 TDB 相比，具有顯著更小活性。與 1G7.v85 TDB 相比，1G7.v87 TDB 顯示在體外對於獼猴 B 細胞

之顯著較弱殺傷活性。亦評估 1G7.v85 TDB 對於人 NK 細胞之活性並且發現在≤20 μg/mL 下沒有殺傷活性(圖 9B)。1G7.v85 TDB 之 EC50 比 1G7.v87 TDB 好 5 至 8 倍。

D. FcRH5 TDB 之穩定性之分子評估

【0457】 親和力成熟之前之 hu1G7.v1 之化學穩定性指示氧化易感性在於 Met-64$_{HC}$及 Trp-52$_{HC}$。1G7.v85 TDB 樣品經由 AAPH 及光應力測試來加應力並且藉由 BIACORE®來評估 FcRH5 結合。如與無應力的對照相比，1G7.v85 TDB 在 AAPH 及光應力測試之後展示與 FcRH5 之減少結合(圖 20A-20D)。在低 pH 緩衝液(組胺酸乙酸鹽，pH 5.5)中加應力 2 週之後，1G7.v85 TDB 之單體穩定性及電荷非均勻性分別藉由尺寸排阻層析(SEC)及成像毛細管等電聚焦(icIEF)來評估(圖 21A-21B)。單體峰損失之可觀察到變化對於單體穩定性(0.1%)及電荷非均勻性(7.7%)而言均為較小的(圖 21A-21B)。此外，在兩週低 pH 應力之後，1G7.v85 TDB 之輕鏈或重鏈之質量沒有可觀察到之變化(圖 22A-22B)。在 30℃下熱應力 2 週之後，單體峰損失藉由 SEC 為 0.1%並且藉由 icIEF 為 8%。

E. 膜近側抗原決定基為有效 TCR 信號傳導及 FcRH5 TDB 之殺傷活性所需要

【0458】 為了表徵在藉由 FcRH5 TDB 刺激後導致觸發 T 細胞受體(TCR)之分子事件，利用一種重構系統(James 等人 *Nature*. 487:64-69, 2012)，其允許以受控方式研究導致受體活化之初始事件。使用健康供體 CD8 細胞，1G7/UCHT1.v9 TDB 導致很穩健 SLP76 磷酸化，指示 TCR 信號傳導，並且介導靶細胞之有效殺傷(圖 23A-23B；EC50=0.5 nM)。相比之下，靶向膜遠側抗原決定基之抗 gD TDB 不產生可偵測 TCR 信號傳導並且不能介導 T 細胞殺傷(圖 23A-23B)。亦證實 TDB 活性由抗原決定基之位置及細胞外域之大小來決定，該決定過程受到靶向表現保持 1G7 及 gD 表位之重度截斷靶的細胞所支配(圖 23C)。近端 1G7/UCHT1.v9 TDB 之活性增加 25 倍 (圖 23D；EC50=20 pM)，並且當由 ECD 造成之干擾得以移除時，gD TDB 能夠有效地介導細胞之殺傷(EC50 = 0.19 nM)。藉由 FACS 分析來排除導致細胞株之間之活性差異的差異靶表現水準之可能性(圖 24A)。

【0459】 為了證明殺傷活性之差異與抗原決定基而非與具體抗體純系之性質相關，測試全部五種呈 TDB 格式的靶向 FcRH5 之膜近側域之獨特抗體純系並且證明與 10A8 相比，每個純系之活性高~20 倍(圖 23E)。FcRH5 在多發性骨髓瘤中之內源性表現水準較低(例如，~100 至~2000 複本/細胞)並且與 MOLP-2 骨髓瘤細胞株為可比較的(例如，~2200 複本/細胞)。當將 T 細胞重新定向以殺傷 MOLP-2 細胞時，僅膜近側 TDB 誘導 MOLP-2 細胞之殺傷。使用 10A8 TDB 來靶向 FcRH5 之中間區域不導致殺傷骨髓瘤細胞所需要的足夠高 TCR 觸發(圖 24B)。

F. FcRH5 TDB 誘導靶依賴性細胞殺傷及 T 細胞增殖

【0460】 在圖 18A 中，發現 1G7.v1.4 TDB 及 1G7.v85 TDB 具有不能辨別的 T 細胞活化能力。評估 1G7.v85 TDB 之 1G7 抗原決定基特異性及獼猴交叉反應性(圖 25A-25C)。1G7/38E4.v1TDB(「1G7 TDB」)結合至 MOLP-2 細胞、健康供體 B 細胞、骨髓漿細胞及原代骨髓瘤腫瘤細胞，如預期(圖 26A-26D)。1G7 TDB 活性之臨床前分析藉由使用健康供體 CD8 細胞來表徵作用機制來開始。靶表現細胞之 1G7 TDB 治療導致劑量依賴性 T 細胞活化(圖 27A)。1G7 TDB 之細胞毒性活性為靶陽性細胞專用並且與 FcRH5 表現水準相關(圖 27B)。藉由用 1G7 TDB 及靶細胞刺激來活化 T 細胞導致 T 細胞之穩健增殖。在五天中，95%之 CD8 細胞經歷多達六次細胞分裂，如螢光染料 CSFE 之稀釋所證明(圖 27C-27E)。進一步評估抗 CD3 臂及 Fc 域對於 TDB 之細胞毒性活性之貢獻，並且發現為了達成細胞毒性活性，高親和力抗 CD3 臂為必需的，而 Fc 域並非必需的(圖 27F-27G)。

G. FcRH5 TDB 介導正常漿細胞及患者衍生原代骨髓瘤細胞之有效殺傷

【0461】 FcRH5 在 CD138+CD38+多發性骨髓瘤細胞及正常骨髓漿細胞中之表現使用 1G7.v85 TDB 及 FACS 來研究。在所有樣品中，所有患者衍生腫瘤細胞及所有正常漿細胞表現 FcRH5，表明在骨髓瘤中之 100%發生率(圖 28A)。在骨髓瘤中偵測到表現水準之相當大患者之間變化性。總體上，與正常漿細胞相比，腫瘤細胞中之表現水準未顯著升高，表明開發腫瘤細胞特異性、正常漿細胞保護性 FcRH5 TDB 可能不可行。與正常漿細胞

及多發性骨髓瘤腫瘤細胞相比，正常 B 細胞中之表現水準始終並且顯著更低。

【0462】 FcRH5 基因定位於 1q21 中之染色體斷裂點(Hatzivassiliou 等人 *Immunity.* 14:277-289, 2001)。~20 個原代多發性骨髓瘤生檢之分析證明 FcRH5 RNA 表現與 1q21 增益之間之顯著關聯(圖 28E)，證明染色體易位可導致高風險骨髓瘤患者中之 FcRH5 過度表現。

【0463】 1G7.v85 TDB 殺傷漿細胞之能力藉由靶向從健康供體之骨髓吸出物分離之骨髓單核細胞(BMMC)來分析(圖 28B)。1G7.v85 TDB 誘導漿細胞之劑量依賴性、高度有效及有效力的(EC50=85-180 pM)殺傷。在來自多發性骨髓瘤患者之 BMMC 經受 1G7.v85 TDB 治療時，偵測到類似穩健活性(圖 28C)。偵測到在較高效力(EC50=60-1200 pM)下的骨髓瘤細胞之接近 100%殺傷，不論在一生中之治療歷史為何。

【0464】 因為 FcRH5 表現在骨髓瘤中可變化(圖 28A)並且 1G7.v85 TDB 相關與表現水準活性(圖 28D)，亦研究是否可預測表現譜低端範圍內之患者對於FcRH5 TDB作出響應。MOLP-2 骨髓瘤細胞株識別為基準細胞株，其具有與漿細胞及原代 MM 細胞中之平均表現相似的 FcRH5 之表現水準(圖 28A)。我們亦識別表達極低水準靶之若干癌細胞株並且使用 Scatchard 分析來判定每個細胞之 FcRH5 數目。此等細胞株中之 FcRH5 結合位點之範圍從 2200 變化至低至 160/細胞。儘管靶複本數目很低，1G7.v85 TDB 誘導所有測試細胞株之穩健殺傷(EC50=2-230 pM)。佔用計算指示僅僅~50 個 TDB 分子(在 MOLP-2 下，2%佔用；EC50=58 pM)足以誘導 T 細胞活化及靶細胞凋亡。

【0465】 總之，FcRH5 表現於所有骨髓瘤患者中。FcRH5 TDB 可在 pM 劑量下殺傷人漿細胞及患者衍生原代骨髓瘤腫瘤細胞。因為需要很少的 TDB 來重定向 T 細胞活性，所以在靶之表現很低的情況下，該分子有效地殺傷細胞。結果表明 FcRH5 TDB 具有在骨髓瘤患者中廣泛起作用之潛力並且不支援基於 FcRH5 表現水準將阻止患者接受治療。

H. 食蟹猴(獼猴)為 FcRH5 TDB 之合適安全性及功效模型

【0466】 周邊 B 細胞及骨髓漿細胞之 FACS 分析證實與人相似，

FcRH5 在獼猴中之整個 B 細胞譜系中表現(圖 29A-29B；Polson 等人 *Int. Immunol.* 18:1363-1373, 2006)。人及獼猴 FcRH5 之胺基酸序列 89%相同，並且 1G7.v85 TDB 以可比較的親和力結合至獼猴 FcRH5 及 CD3。體外治療表現獼猴 FcRH5 之靶細胞或表現人 FcRH5 之 MOLP-2 細胞導致使用來自人或獼猴之周邊 T 細胞以可比較的效率來實現穩健殺傷(圖 29C-29D)。將 1G7.v85 TDB 添加至來自獼猴之 PBMC/BMMC 樣品導致獼猴 B 細胞(圖 29E)及骨髓漿細胞(圖 29F)之劑量依賴性及穩健殺傷。在圖 18C 中，發現 1G7.v1.4 TDB 與 1G7.v85 TDB 具有不能辨別的獼猴漿細胞殺傷能力。此等結果證實獼猴為抗 FcRH5/CD3 之合適安全性及功效模型。

實例4. 示例性FcRH5 TDB之體內表徵

材料及方法

A. 鼠科模型中之體內功效研究

a. huNSG/MOLP-2 小鼠異種移植模型

【0467】 雌性人源化 NOD.Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ(NOD/scid gamma; NSG)小鼠從 Jackson Laboratory 獲得。在細胞接種日，五個動物在皮下右腰窩中接種 HBSS/基質膠中之 100 百萬細胞/毫升濃度之 0.2 mL 之 MOLP-2 腫瘤細胞。一旦腫瘤體積達到 100-250 mm^3之體積範圍，動物隨機分組成兩個組，媒劑及治療組，並且在當時(第 0 天)投與第一治療。所有治療藉由靜脈內(i.v.)尾靜脈注射每週一次投與總共四個劑量。媒劑組用 0.1 ml 之 20mM 組胺酸乙酸酯，pH 5.5，240mM 蔗糖，0.02% TW-20 緩衝液治療。治療組用 0.5 mg/kg 濃度之 0.1 ml 之 1G7.v85 TDB 治療。腫瘤在研究持續時間內每週 1-2 次用卡尺量測，並且每週至少一次獲得動物體重。在此研究之持續時間內，臨床觀察每週兩次執行以監測動物之健康狀況。

B. 食蟹猴中之毒理學研究

【0468】 抗 FcRH5 TDB 之耐受性、毒性概況、藥代動力學(PK)及藥效學(PD)在雛期、雄性食蟹猴(獼猴)中在 Charles River Laboratories(CRL)評估。獼猴用單一劑量、靜脈內輸注(1h)之媒劑，1、2 或 4 mg/kg 1G7.v85 TDB 治療並且在治療之後七天剖檢。在前五個小時期間及在處死時，針對詳細臨床觀察結果、呼吸速率及體溫，對動物進行嚴密監測。每日收集籠側臨

床觀察結果及體重。在研究前及整個研究中之選定時間點，經由股靜脈藉由靜脈穿刺來收集血液樣品以便分析血液學、血清化學、凝血及 PK 總抗體水準)及 PD 端點。PD 由細胞因子(IL-1β、IL-1RA、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-12/23、IL-13、IL-17、G-CSF、GM-CSF、IFN-γ,TNF-α 及 MCP-1)之量測，T-淋巴細胞、B-淋巴細胞、NK 細胞、活化 T-淋巴細胞、PD-1 及循環獼猴 IgG 之流式細胞術組成。在研究前以及在剖檢之前第 8 天，在麻醉動物中藉由從肱骨抽吸來收集骨髓以藉由流式細胞術評估 B-淋巴細胞及漿細胞。在剖檢時，量測器官重量並且選擇器官及組織藉由肉眼及顯微鏡檢查來充分地檢查。脾、腸系膜及下頜淋巴節針對 T-淋巴細胞、B-淋巴細胞及 NK 細胞來進行評估。所有程序依從動物福祉法案、實驗室動物保健及使用指導及實驗室動物福祉局來執行。

C. 食蟹猴及小鼠中之 PKPD 研究

【0469】 血清中之 FcRH5 TDB 之濃度藉由通用 ELISA 來判定。羊抗人 IgG 抗體用作捕獲試劑，並且結合至辣根過氧物酶(HRP)之綿羊抗-人 IgG 用作偵測試劑。來自可獲得樣品的隨著時間之血清濃度之分析藉由非隔室靜脈推注輸入模型(Phoenix™ WinNonlin®, Version 6.3; Pharsight Corporation; Mountain View, CA)來分析。在資料分析中使用標稱試樣收集時間及標稱劑量濃度。所有 TK 分析基於個別動物資料。

結果

A. FcRH5 TDB 抑制經重構具有人免疫細胞之小鼠中之確立MOLP-2 腫瘤的生長。

【0470】 將小鼠中之 FcRH5 TDB 之抗骨髓瘤活性建模為挑戰性的，因為抗 CD3 抗體不與小鼠 CD3 交叉反應並且 FcRH5 同源基因不存在於小鼠中。因此，具有重構人免疫系統之小鼠模型藉由將 CD34+選擇人造血幹細胞移植至照射小鼠(huNSG 小鼠)中來建立。從 huNSG 小鼠之脾收穫之人 CD8+細胞能夠在體外以與來自健康供體之人周邊 CD8+細胞可比較的效率殺傷 MOLP2 細胞(圖 30A)。移植後 20 週，將 huNSG 小鼠皮下接種五百萬 MOLP-2 細胞。患有既定 100-200 mm^3腫瘤之小鼠用單一 IV 劑量之媒劑或 0.5 mg/kg 之 FcRH5 TDB 來治療。FcRH5 TDB 治療在所有動物中導致腫瘤

消退(圖 30B)，指示 FcRH5 TDB 治療在體內抑制腫瘤生長。

B. FcRH5 TDB 具有長血清半衰期

【0471】 單一劑量研究被設計成評估 1G7.v85 TDB 在非人靈長類中之安全性、功效、藥代動力學(PK)及藥效(PD)性質。獼猴用單一緩慢輸注靜脈內劑量之媒劑或 1-4 mg/kg 1G7.v85 TDB 來治療。動物針對不良作用來嚴密監測。血液樣品在 0、2、6 及 24h 收集用於細胞因子分析、臨床病理學分析及 PK/PD 響應。研究在投與治療之後七天終止。FcRH5 TDB 展示在 1-4 mg/kg 之間的與劑量成比例之暴露(C 最大及 AUC)並且在所有群組中清除 29-33 ml/天/kg(圖 31A)並且 4 mg/kg 劑量水準下之 C 最大為 129 μg/ml。此劑量水準比達到人漿細胞及MOLP-2之體外殺傷EC50所需要之劑量水準高~2000 倍。APK 研究亦在 SCID.bg 小鼠中進行，此並非約束性的，並且發現 1G7.v85 TDB 具有與抗 gD TDB 可比較的清除速率(圖 31B)。受體佔用計算表明在所有劑量水準之 C 最大下，周邊血 B 細胞之接近飽和 FcRH5 接合(圖 32D)。此等結果證明 1G7.v85 TDB 具有長體內半衰期並且支援每週或不太頻繁給藥排程。

C. FcRH5 TDB 在獼猴中耗盡 B 細胞及骨髓漿細胞

【0472】 周邊血之FACS分析證明所有劑量水準下之穩健藥理作用。1G7.v85 TDB 治療在 24 小時內導致 T 細胞活化及瞬態淋巴球減少症(邊集響應)(圖 31C-31D)。在給藥之後七天，B 細胞保持在血液中不可偵測到，表明其由 1G7.v85 TDB 耗盡(圖 31E)。相比之下，CD4+及 CD8+細胞在研究結束時回收(圖 32A-32B)。所有劑量水準導致脾及骨髓中之 B 細胞完全耗盡(圖 31F 及 31H)。FcRH5 治療亦誘導來自淋巴節之 B 細胞之穩健、劑量依賴性耗盡(圖 31G 及 32C)。

【0473】 在體內耗盡獼猴骨髓漿細胞為抗 FcRH5/CD3 之臨床前研發中之關鍵功效端點。漿細胞之完全耗盡在用 2-4 mg/kg 劑量治療之動物中偵測到(圖 31I)。1G7.v85 TDB 治療亦導致獼猴 IgG 之劑量依賴性減少，此為由漿細胞耗盡產生之預期次要結果。理論上，到第 7 天，漿細胞之完全耗盡應降低 IgG 水準~30-40%。獼猴 IgG 之所量測減少在 2 mg/kg 組中為 37% 並且在 4 mg/kg 組中為 44%(圖 31J)。總之，1G7.v85 TDB 在獼猴中誘導穩

健 PD 響應，與其作用機制一致。完全漿細胞耗盡提供在骨髓微環境中之功效的令人信服證據。

D. FcRH5 TDB 在獼猴中良好耐受

【0474】 1G7.v85 TDB 在≤4 mg/kg 劑量水準下在獼猴中良好耐受。偵測到之輕度/中度不良作用在所有劑量水準下為相似的並且我們未能觀察到明確劑量響應。在給藥後四小時，臨床觀察結果限於 0.4-1.6℃範圍內之體溫可逆增加。對於血液學之效應由歸因於邊集之預期急性及可逆淋巴球減少症組成。如預期，偵測到急性及可逆促炎症性狀態之跡象(增加之 CRP、纖維蛋白原、凝血酶原時間及活化部分促凝血酶原激酶時間)。治療造成 ALT、AST 及總膽紅素之可逆增加。

【0475】 與作用機制一致，1G7.v85 TDB 誘導快速、總體上輕度/中度細胞因子釋放(圖 33A-33F)。所有劑量水準誘導促炎症性響應(包括 IL-6、IL-5、IFN-g、IL-2、IL-13、G-CSF 及 MCP-1)及在 2-6 h 達到高峰之抗衡此(IL1R)之抗炎症響應。所有細胞因子在 24 小時內逆轉至正常水準。未發現廣泛或延長細胞因子釋放之跡象。廣泛組織病理學分析包括詳細分析中樞神經系統(CNS)不展示顯著器官毒性。總之，在研究中未達到最大耐受劑量。1G7.v85 TDB 在預期使靶飽和並且足以完整耗盡 B 細胞及漿細胞之劑量水準下良好耐受。在不良作用中未偵測到劑量響應。

實例5. FcRH5組合治療

【0476】 為了檢查可能 FcRH5 組合療法，FcRH5 TDB 與兩個示例性 PD-1 軸結合拮抗劑中之每一者來組合進行測試。此等實驗證明，雖然 PD-1/PD-L1 回饋信號傳導可減少 FcRH5 TDB 介導之殺傷，但是 PD-L1 阻斷克服此抑制，導致改良治療功效。

材料及方法

A. 抗體

【0477】 除了另外提及以外，用於流式細胞術之所有標記抗體購自 BD Bioscience。所使用之抗 PD-1 抗體為 KEYTRUDA®(帕姆利珠單抗)並且抗 PD-L1 抗體在 Genentech, Inc 產生。山羊抗人 IgG 及山羊抗小鼠 IgG 購自 Jackson Immunoresearch。抗 PC-FITC(純系 Vs38c)購自 DAKO。

B. PD-1誘導及使用抗PD-L1之細胞毒性分析

【0478】 新鮮分離人 CD8+T 細胞與 MOLP-2 細胞以 1:1 比率混合並且在 1000 ng/ml 之 1G7.v85 TDB 存在下共培養 48 小時。細胞用異硫氰酸螢光素(FITC)標記抗 CD8 抗體(「抗 CD8-FITC」)、藻紅蛋白(PE)結合抗 CD69 抗體(「抗 CD69-PE」),及別藻藍蛋白(APC)結合抗 PD-1 抗體(「抗 PD-1-APC」)染色，並且藉由流式細胞術分析。如總體上本文所述，在存在或不存在 10 mg/ml 抗 PD-L1 或抗 PD-1 抗體的情況下，建立表現 FcRH5 及 PD-L1 之 HEK-293 T 細胞(「293-FcRH5-PD-L1 細胞」)之細胞毒性分析並且藉由流式細胞術來分析。

C. 細胞培養及穩定細胞株產生

【0479】 PD-1/PD-L1 信號傳導對於 1G7.v85 TDB 活性之作用藉由用編碼 FcRH5 之慢病毒感染 HEK-293 T 細胞，隨後使用脂質體(Invitrogen)來轉染人 PD-L1 編碼質體來評估

D. 體外細胞毒性及T細胞活化分析

【0480】 根據製造商方案(Life Technology, #C34554)用羧基螢光素丁二醯亞胺基酯(CFSE)標記靶細胞。CFSE 標記靶細胞及純化 CD8+細胞以 3:1 效應細胞與靶細胞(E:T)比率混合並且與 1G7.v85 TDB 一起培育 24 至 48 小時。在培育結束時，細胞藉由流式細胞術在 FACSCalibur 上以自動格式來分析。藉由對 CFSE+/PI 陰性細胞進行閘控來對活靶細胞之數目進行計數。如下計算細胞毒性之百分比：細胞毒性%(無 TDB 之活靶細胞數目–有 TDB 之活靶細胞數目)/(無 TDB 之活靶細胞數目)x 100。

結果

A. PD-1/PD-L1阻斷增強FcRH5 TDB之活性

【0481】 強烈 TCR 刺激信號可導致限制 T 細胞活性之免疫抑制回饋。PD-1/PD-L1 途徑為此回饋之關鍵部分以及多個腫瘤適應症中之在治療上證實之免疫逃避機制。PD-L1 經常藉由骨髓瘤腫瘤細胞表現(Gorgun 等人 *Amer. Assoc. for Cancer Res.* 21:4607-4618, 2015)，並且其信號傳導可限制骨髓瘤患者中之 T 細胞活性。PD-1 在靜止 T 細胞中缺失，在 T 細胞活化後誘導並且在慢性感染中限制 T 細胞活性(Zou 等人 *Science Tran. Med.* 8:328rv324,

2016)。在 FcRH5 表現細胞存在下，人健康供體 CD8+細胞之 1G7.v85 TDB 刺激(48h)導致 T 細胞中之顯著 PD-1 誘導(圖 34)。回饋信號亦在體內啟動。在獼猴 T 細胞中、在所有劑量水準下發現 PD-1-陽性 T 細胞之顯著增加。在血液、脾、淋巴節及骨髓中之 CD8+及 CD4+細胞中偵測 PD-1 誘導(圖 35A-35B 及 36A-36D)。

【0482】 1G7.v85 TDB 介導的使用預敏化 CD8+細胞之靶細胞殺傷在存在及不存在 PD-1/PD-L1 拮抗劑的情況下評估。1G7.v85 TDB 使 CD8+T 細胞預敏化以殺傷 PD-L1 表現靶細胞的效率為有限的(圖 37A)。使用抗 PD-L1 抗體來阻斷 PD-1/PD-L1 信號傳導顯著增加 1G7.v85 TDB 介導殺傷之效率(圖 37A)。在特定實驗中，預敏化 CD8+細胞與 293-FcRH5-PD-L1 細胞混合並且用單獨，或與抗 PD-L1 抗體或抗 PD-1 抗體(帕姆利珠單抗)組合之 1G7.v85 TDB 治療(圖 37B)。與抗 PD-L1 抗體或抗 PD-1 抗體(帕姆利珠單抗)之組合治療顯著增強 1G7.v85 TDB 之功效。兩種組合治療方法之 EC50 為 0.4ng/mL，而用單獨 1G7.v85 TDB 治療之 EC50 為 0.63 ng/mL(圖 37B)。

【0483】 此等結果證明 1G7.v85 TDB 介導的 T 細胞活化導致在體外及體內誘導 T 細胞中之 PD-1。此等結果進一步證明 PD-1/PD-L1 信號傳導可限制FcRH5 TDB 介導之殺傷並且 PD-L1 阻斷可克服此抑制並且產生改良之功效。此等資料支援使用與 PD-1 軸結合拮抗劑，諸如抗 PD-1 抗體或抗 PD-L1 抗體組合之 FcRH5 TDB。

B. 地塞米松減少第一劑量細胞因子響應而不影響FcRH5 TDB活性。

【0484】 靶細胞殺傷亦存在及不存在地塞米松(Dex)的情況下評估，其為具有抗炎症及免疫抑制劑作用的骨髓瘤治療標準組分(圖 38A)。1G7.v85 TDB 在緩衝液或 DMSO 中之 IC50 分別為 7 pM 及 6 pM。在 0.1 μM 或 1 μM Dex 存在下，1G7.v85 TDB 之 IC50 分別為 16 pM 及 25 pM。Dex 組合治療對於 1G7.v85 TDB 功效僅具有有限的作用並且顯著減少 IL-2、IL-6、TNF-α 及 IFN-γ 水準。此等結果證明地塞米松可與 FcRH5 TDB 療法組合使用以減輕患者中之第一劑量細胞因子響應(圖 38B)。

實例6. 產生及測試FcRH5雙-Fab

A. 製備硫基-Fab及鉸鏈-cys-Fab及蛋白質產生

【0485】 為了製備具有自由巯基之抗體片段，半胱胺酸(Cys)取代藉由定點誘變在輕鏈或重鏈之可變或恆定域中之各個位置處引入抗體構築體中以建置硫基-mAb，如先前描述 Junutula 等人 *J. Immunol Methods* 332(1-2):41-52, 2008。硫基-Fab 從硫基-mAb 酶促產生，方法是將硫基-mAb 在 25 mM Tris，pH 8.0 中稀釋至 1 mg/mL，隨後在酶與抗體之 1:1000(wt:wt)比率下，使用 Lys-C(Wako Chemicals USA, Inc., Richmond, VA)在 37℃下酶消化 1 小時。Lys-C 消化用 5 μM 之蛋白酶抑制劑甲苯磺醯基-L-離胺酸氯甲基酮(TLCK)(Bachem, Torrence, CA)停止並且使用 50 mM 乙酸鈉緩衝液及 0 至 300 mM NaCl 10 管柱容積(CV)梯度之 5 mL Hi-Trap SP FF 管柱(GE Healthcare, Piscataway, NJ)上之陽離子離子交換層析來純化。藉由此方法產生之硫基-Fab 有時在本文中被稱為「酶促硫基-Fab」。在另一種方法中，將編碼具有工程改造 Cys 殘基之 Fab 之 DNA 構築體或編碼在鉸鏈區中含有一個天然 Cys 殘基之重鏈片段之 DNA 構築體次選殖至質體表達載體中並且直接在 CHO 細胞中表現。藉由此方法產生之硫基-Fab 有時在本文中被稱為「重組硫基-Fab」。第三種方法用於缺乏工程改造 Cys 殘基之抗體並且依賴於存在於鉸鏈區 lgG 中之天然 Cys 殘基。此方法用於產生「鉸鏈-cys-Fab」並且在下文進一步詳細描述。

【0486】 為了從不含有用於合成反應之工程改造半胱胺酸的天然抗體製備鉸鏈-cys-Fab，使用以下酶程序，如圖 39 之圖面 1 描述。FcRH5 及 CD3 親本抗體藉由 pH 4.5 之乙酸鈉緩衝液中之胃蛋白酶(1%w/w)治療來消化。在消化 1 小時之後，藉由在 SP-HP 陽離子交換樹脂上捕捉來自消化混合物分離 $F(ab')_2$且藉由 10 CV 鹽梯度之 0-1 M NaCl 純化。然後，$F(ab')_2$在含有 25 mm MES，pH 5.8、2 mM EDTA 及 300 mM NaCl 之緩衝液中還原。在用 1 mM TCEP 還原之後，如圖 39 之圖面 2 描繪，Fab 藉由添加 5 mM DHAA 來氧化以重新組成重鏈與輕鏈之間之二硫化物。通常觀察到，在此等反應條件下，僅重鏈與輕鏈之間之二硫化物得以重新組成；鉸鏈區中之兩個半胱胺酸殘基保持未氧化。

【0487】 然後如圖 39 之圖面 2 描繪，鉸鏈處之兩個自由硫醇(Cys 殘基)與 1 M 當量 N 之-乙馬來醯亞胺(NEM)(Sigma Aldrich, St. Louis, MO)反應。

然後如圖 39 之圖面 3 描繪，含有單一修飾、雙重修飾及未修改 Fab 之所得混合物與過量雙馬來醯亞胺交聯劑反應。

【0488】 此等反應條件產生三個產物：具有一個交聯劑及一個 NEM 之 Fab，具有兩個 NEM 之 Fab，及僅含有一個交聯劑之 Fab。發現僅含有一個交聯劑之 Fab 沒有自由半胱胺酸。因此，在此等反應條件下，單一交聯劑很有效地與兩種半胱胺酸反應，產生其中半胱胺酸藉由交聯劑環化的分子。包含以上三種反應產物之材料藉由凝膠過濾從反應混合物純化(以移除不必要的反應組分)並且如圖 39 之圖面 4 描繪，連同以與硫基-Fab 類似方式製備的其他鉸鏈-cys-Fab 一起聯合使用。僅如描述來製備並且含有一個交聯劑、一個自由馬來醯亞胺及一個自由巰基之鉸鏈 cys-Fab 或硫基-Fab 能夠在以下詳細描述之雙-Fab 合成反應中反應。

B. 蛋白質表現及純化

【0489】 為了促進純化，Fab 使用旗標-或 His-標籤來表現。在 CHO 細胞中之表現藉由標準程序來執行。細胞培養之後之親和力純化使用抗旗標 mAb 樹脂或鎳珠粒樹脂來執行。純化硫基-Fab 藉由 SDS-PAGE 及質譜法來表徵。此等表徵經常顯示 275 Da 及 306 Da 之質量增加。發現此等質量增加為未配對半胱胺酸上之二硫化物加合物，該等加合物藉由還原及氧化來移除以製備與雙馬來醯亞胺交聯之硫基-Fab。硫基-Fab 之還原及氧化執行如下。首先，硫基-Fab 藉由將 2 mM 參(2-羧乙基)膦 HCl(TCEP-HCl；亦被稱為 TCEP)(Pierce [Thermo Fisher Scientific], Rockford, IL)添加於含有 25 mM MES，pH 5.8，300 mL NaCl 及 5 mM EDTA 之緩衝液中來還原 24 小時。還原之後，蛋白質藉由添加 5 mM 脫氫抗壞血酸(DHAA)(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)來氧化。分離硫基-Fab 藉由 SDS-PAGE 及質譜法分析來確保蛋白質正確地還原及氧化。

C. 雙-Fab 合成

【0490】 兩種不同類型交聯劑可用來共價連接兩個 Fab：雙-馬來醯亞胺及成對接頭 DBCO-PEG-馬來醯亞胺溴乙醯胺-PEG-疊氮化物。

使用雙馬來醯亞胺交聯劑之結合

【0491】 在雙-Fab 合成之第一階段，使用具有未配對半胱胺酸之硫

基-Fab 或鉸鏈-cys-Fab。總體上，硫基-Fab 或鉸鏈-cys-Fab 在相同緩衝液中，其中在 1 mg/mL 之蛋白質濃度下，執行還原(圖 39，圖面 1)及氧化(圖 39，圖面 2)(MES，pH 5.8，2 mM EDTA，及 300 mM NaCl)。在此階段存在兩種潛在不需要的反應產物：二硫化物二聚體及交聯二聚體。在合成之此階段具有 1 mg/mL 之蛋白質濃度為反應之重要特徵，因為二聚化在此蛋白質濃度下最小化。另外，藉由使用具有 EDTA 之低 pH 緩衝液來控制反應有助於最大限度地減少二聚化。

【0492】 五倍過量之雙-馬來醯亞胺交聯劑(Quanta BioDesign, Powell, OH)添加至反應混合物，如圖 39 之圖面 3 描繪。此五倍過量之交聯劑亦有用於最大限度地減少不良二聚化。反應在室溫(RT)或 37℃下培育四小時直到完成為止。然後，混合物濃縮至適合於凝膠過濾之體積。使用 22 mL S-200 Tricom 管柱(GE Healthcare, Piscataway, NJ)用於 μg 至 mg 數量合成。此第一凝膠過濾步驟允許移除未使用的交聯劑，產生結合至交聯劑之純化硫基-Fab 或鉸鏈-cys-Fab。如上所述之狀況通常導致至少 90%或更大之所需產物。沒有硫基-Fab 或鉸鏈-cys-Fab 保留為自由-硫醇，因為其全部結合至交聯劑或藉由二硫化物結合至另一個硫基-Fab 或經由未配對半胱胺酸結合至鉸鏈-cys-Fab。然後，將分離及純化硫基-Fab(或鉸鏈-cys-Fab)加上交聯劑物質添加至第二硫基-Fab(或鉸鏈-cys-Fab)並且濃縮至 5 mg/mL 或更大，總體上濃縮至適合於凝膠過濾之體積，如圖 39 之圖面 4 描繪。在合成之此階段期間，至少 5 mg/mL 之蛋白質濃度對於驅動反應完成為至關重要的。較低蛋白質濃度導致形成僅少量交聯雙-Fab 二聚體。不受理論約束，假設阻礙形成交聯雙-Fab 二聚體之位阻效應或黏度有關變數藉由增加反應物之濃度來克服。另外，測試高達並且包括 65 mg/mL 之蛋白質濃度範圍。發現蛋白質濃度與反應時間之間之相互關係以使得蛋白質濃度越高，反應達到完成越快。在室溫或 37℃下 2-24 小時之後，反應完成，如藉由質譜法判定。總體上，一種試劑過量並且在最終混合物中保持未偶合。

使用 DBCO-PEG-馬來醯亞胺/溴乙醯胺-PEG-疊氮化物之結合

【0493】 經純化並解封之 Fab 中之一者在 50 mM HEPES pH 8 中、在 5 莫耳過量之 DBCO-PEG-馬來醯亞胺(#760676, Sigma)中反應，而另一種

Fab 在 50 mM HEPES pH 8 中、與 5 莫耳過量之疊氮化物-PEG-馬來醯亞胺(#21097 BroadPharm)反應。在 37℃下培一小時育之後，反應藉由質譜法檢查以證實反應完成。結合 Fab 藉由 SEC 從過量交聯劑純化，並且隨後以 1:1 比率混合並且調整至高於 5 mg/ml 之濃度並且在室溫下培育隔夜。

【0494】 不論所使用交聯劑為何，完成反應再次藉由凝膠過濾純化；此時，收集二聚體峰，其包含經由自由半胱胺酸胺基酸(在硫基-Fab 的情況下)或經由未配對半胱胺酸定位鉸鏈區(在未工程改造鉸鏈-cys-Fab 的情況下)不可逆地交聯的 100 kD 雙-Fab。兩個步驟期間之反應進程經常藉由質譜法監測，明確顯示兩種反應物之存在及雙-Fab 產物之形成。第二凝膠過濾之後之所需產物之純度藉由質譜法及 SDS-PAGE 來判定。在還原及 SDS-PAGE 分析後，藉由存在表示不可還原之交聯鏈的 50-kD 泳帶而觀察到不可逆的交聯。使用小標度下的如上所述過程，通常達成使用微克數量起始材料之微克產率。另外，在較大標度下，通常達成來自毫克數量起始材料之毫克產率。

D. 合成靶向 CD3 及 FcRH5 之雙-Fab

【0495】 產生從靶向 CD3 及 FcRH5 之兩種不同抗體獲得之雙特異性雙-Fab。所使用抗 CD3 親本抗體可為任何抗 CD3 抗體，諸如 38E4v.1、38E4.v11 或 40G5。在一實施例中，雙-Fab 利用 38E4.v1 作為抗 CD3 組分，其具有輕鏈序列 SEQ ID NO: 134 及重鏈序列 SEQ ID NO: 133。所使用抗 FcRH5 抗體親本抗體亦可為任何抗 FcRH5，例如，本文描述的彼等抗體諸如 hu1G7.v85 及 hu1G7.v87。具體而言，一個例示雙-Fab 包括可變輕鏈序列 SEQ ID NO: 105 及可變重鏈序列 SEQ ID NO:104。

【0496】 對於此等抗體中之每一者，重組硫基-Fab 如上所述在 CHO 細胞中產生。然後，使用合成基質，以大約 2 mg 之每一種硫基-Fab 開始，從硫基-Fab 以組合格式來合成雙-Fab。不同硫基-Fab 組合以合成四種獨特雙-Fab 分子。對於所示實例，從合成中回收約一 mg 之每一種雙-Fab，但是產率預期取決於不同硫基-Fab 而變化。雙-Fab 中之每一者賦予唯一識別符。每一種雙-Fab 之純度使用在此項技術中熟知之標準方法藉由 SDS-PAGE 及質譜法來分析。

【0497】 使用如上所述之基質重組方法，合成一系列 CD3-及 FcRH5 衍生之雙-Fab 結構變異體。選擇四個不同硫基-連接點來合成雙-Fab；一個位置在抗 CD3 硫基-Fab 臂之重鏈(例如，位置 76($Cys76_{HC}$))，一個位置在抗 CD3 硫基-Fab 臂之輕鏈(例如，位置 22($Cys22_{LC}$))，一個位置在抗 FcRH5 硫基-Fab 臂之重鏈(例如，位置 114($Cys114_{HC}$))，並且一個位置在抗 FcRH5 硫基-Fab 臂之輕鏈(例如，位置 149($Cys149_{LC}$))。其他位置可用於插入所需半胱胺酸。含有硫基-連接點之 Fab 來源於三個不同來源；(1)具有半胱胺酸取代之硫基-mAb，其使用離胺酸-C 消化以從抗體釋放硫基-Fab，(2)具有半胱胺酸取代之硫基-Fab，其直接表現於 CHO 細胞中並從 CHO 細胞中純化，及(3)藉由如上所述酶促方法產生之鉸鏈-cys-Fab 以便在用胃蛋白酶消化之後將單一交聯劑連接至非工程改造抗體之鉸鏈區。此方法在硫基-Fab 中產生不同取代點以便與其他硫基-Fab 重組，由此產生結構變異體(參見表 15)。

表 15. 每一種 Fab 中之工程改造 Cys 之位置及對應雙-Fab 編號

		FcRH5 Fab (1G7.v85)		
		HC A114C	LC A149C	鉸鏈 Cys
CD3 Fab (38E4.v1)	HC S76C	雙 Fab A	雙 Fab C	
	LC N22C	雙 Fab B	雙 Fab D	
	鉸鏈 Cys			$F(ab')_2$ A

E. FcRH5 雙-Fab 之生物活性

【0498】 隨後，藉由 ELISA 來測試雙-Fab 結構變異體中之每一者結合至抗原(即，CD3 及 FcRH5)中之每一者之能力。藉由連接鉸鏈區中之 Cys 來產生之雙-Fab 類似於天然抗體之架構並且充當對照。雖然所有雙-Fab 構築體具有與 FcRH5 之類似結合能力(圖 40A)，但是與參考雙-Fab 相比，大多數雙-Fab 顯示與 CD3 之減少結合(圖 40B)。生物活性在充當 T 細胞殺傷活性之替代的體外 T 細胞活化分析中評估(圖 41)。此分析使用在轉錄因子 NF-kB 控制下用螢光素酶報道基因穩定轉染之 Jurkat 細胞株(Jurkat-Dual, Invivogen)，並且使用此分析超過 T 細胞殺傷分析之優勢為可利用之細胞數目無限制。在 PBMC 細胞殺傷分析中，測試數目受到可從單一供體獲得之細胞之數目限制。分析執行如下。合適細胞株，諸如 MOLP-2，選擇為靶細胞並且與 Jurkat 細胞一起共培養。在存在或不存在雙-Fab 的情況下，每個

孔添加 10,000 個細胞株靶細胞及 50,000 個效應細胞(Jurkat)(10,000 靶細胞/孔，200 μL 總體積，其中靶:效應之比率=1:5)。在隔夜培育之後，不同孔之 10 μl 上清液使用 50 μL 之 QUANTI-LUC(Invivogen)來分析螢光素酶活性，並且螢光在 Envision(Perkin Elmer)光度計儀器中定量。

【0499】 引起關注地，雖然對於抗 CD3 或抗 FcRH5 產生之每一種雙-Fab 變異體之 HVR 序列未在雙-Fab 本身之產生中改變，對於每一種雙-Fab 觀察到之 T-細胞刺激之最大量顯示變化，在不同雙-Fab 之間變化，此變化僅基於半胱胺酸工程改造交聯之位置。不受理論約束，此可具有可如何調節雙-Fab 之毒性及/或效力以適應特定治療或診斷需要的啟示。另一個觀察結果為一些雙-Fab(例如，雙-Fab C)具有對於 CD3 之顯著減少親和力，仍具有與參考 $F(ab')_2$ A 可比較的 T 細胞活化活性(圖 40B 及 41，表 15)。

F. 使用內源性人 B 細胞之 FcRH5 雙-Fab 之生物活性

【0500】 在周邊內源性 B 細胞殺傷之 T 細胞依賴性雙-Fab 殺傷分析中，如下測試每一種雙-Fab 變異體之生物功效：在使用或使用雙-Fab 的情況下，每孔添加從三個健康供體中之每一者分離之 200,000 個 hPBMC。48 hr 培育之後，細胞用靶細胞株(B 細胞=CD20)之合適細胞表面抗原(5 μl/孔)及碘化丙啶染色以進行細胞生存力評估，然後藉由 FACS 分析。雙-Fab-依賴性殺傷活性根據以下方程來計算：殺傷%=(1-具有雙-Fab 之活細胞之數目/沒有雙-Fab 之活細胞之數目) x 100。作為陽性對照，使用來源於「孔中結」FcRH5 TDB 抗體之 $F(ab')_2$，其中每個 Fab 之抗 CD3 及抗 FcRH5 臂具有與用於所測試雙-Fab 之彼等序列相同的序列(除了沒有半胱胺酸工程改造點突變以外)(參見例如，Ridgway 等人 *Protein Eng.*, 9:617-621, 1996)。總體上，結果證明可重現性，儘管使用不同供體細胞。

【0501】 對於以上測試之每個雙-Fab，將在本文中為周邊內源性人 B 細胞之半最大溶解所需要之測試 FcRH5 雙-Fab 之量，或 ng/ml 為單位來表現之 EC50 效力值加以計算。總體上，預期在內源性人 B 細胞分析所測試的每一種雙-Fab 之效力之趨勢將依循在如上所述之 ELISA 分析中判定之結果(圖 40A-40B)。

【符號說明】

無

【生物材料寄存】

國內寄存資訊【請依寄存機構、日期、號碼順序註記】

無

國外寄存資訊【請依寄存國家、機構、日期、號碼順序註記】

無

【序列表】(請換頁單獨記載)

有

【序列表】

<110> 美商建南德克公司(GENENTECH, INC.)

<120> FcRH5 之人源化及親和力成熟抗體及使用方法

<140> TW 105118965
<141> 2016-06-16

<150> US 62/180,459
<151> 2015-06-16

<160> 215

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 1

Arg Phe Gly Val His
1 5

<210> 2
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa 為 Ala 或 Pro

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa 為 Met、Gly 或 Val

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (16)..(16)
<223> Xaa 為 Ser、Asp 或 Pro

<400> 2

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Xaa Ala Phe Xaa Xaa
1 5 10 15

<210> 3
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa 為 Ser 或 Pro

<400> 3

His Tyr Tyr Gly Ser Xaa Asp Tyr Ala Leu Asp Asn
1 5 10

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa 為 Ser 或 Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa 為 Ile 或 Leu

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Asp Val Xaa Asn Xaa Val Val
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 為 Ala 或 Gly

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 為 Ser 或 Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 為 Tyr 或 Asn

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> Xaa 為 Thr 或 Ser

<400> 5

Ser Xaa Xaa Xaa Arg Tyr Xaa
1 5

<210> 6
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> Xaa 為 His 或 Gln

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> Xaa 為 Tyr 或 Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> Xaa 為 Gln 或 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa 為 Ser 或 Pro

<400> 6

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Tyr Thr
1 5

<210> 7
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 7

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Ser
1 5 10 15

<210> 8
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 8

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val Ser
1 5 10 15

<210> 9
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 9

His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn
1 5 10

<210> 10
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 10

His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn
1 5 10

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

<220>
<223> 合成構築體

<400> 11

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile Val Val
1 5 10

<210> 12
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 12

Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu Val Val
1 5 10

<210> 13
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 13

Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Ile Val Val
1 5 10

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 14

Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Leu Val Val
1 5 10

<210> 15
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 15

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 16
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 16

Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 17
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 17

Ser Gly Tyr Asn Arg Tyr Ser
1 5

<210> 18
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 18

Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr
1 5

<210> 19
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 19

Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Ser
1 5

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 20

Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 21
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 21

Gln Gln Gln Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 22
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 22

Gln Gln Gln Phe Gln Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 23
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 23

Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 24
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 24

Gln Gln Gln Tyr Gln Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 25
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 25

Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr Thr
1 5

<210> 26
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 26

Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Ala Met Gly
1 5 10

<210> 27
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 27

Thr Ile Gly Thr Gly Gly Thr Pro Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly
1 5 10 15

<210> 28

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 28

Ala Arg Asp Met Tyr Thr Gly Ser Ile Tyr Tyr Asp Met
1 5 10

<210> 29
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 29

Gln Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Asn Ala Gln Leu Ser
1 5 10

<210> 30
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 30

Asp Thr Ser Asn Leu Ala Ser
1 5

<210> 31
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 31

Leu Gly Ala Tyr Thr Asp Asp Ala Asp Asn Ala
1 5 10

<210> 32
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 32

Gly Tyr Thr Phe Thr His Tyr Ala Met His
1 5 10

<210> 33
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 33

Met Ile Ser Ser Ser Ser Gly Asn Thr Asn Phe Asn Gln Lys Phe Met
1 5 10 15

Asp

<210> 34
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 34

Ala Arg Trp Ser Tyr Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 35

Ser Ala Asp Ser Ser Val Asp Tyr Ile His
1 5 10

<210> 36
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 36

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 37
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 37

Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 38

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Val Ile His
1 5 10

<210> 39
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 39

Tyr Ile Ser Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 40
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 40

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr
1 5 10

<210> 41
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 41

Ser Ala Ser Ser Ser Val Asp Tyr Met His
1 5 10

<210> 42
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 42

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 43
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 43

Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
1 5

<210> 44
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 為 Glu、Ser 或 Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa 為 Ser 或 Pro

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (29)..(29)
<223> Xaa 為 Leu 或 Thr

<400> 44

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Xaa Xaa Thr
20 25 30

<210> 45
<211> 14
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> Xaa 為 Val 或 Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa 為 Leu 或 Ile

<400> 45

Trp Xaa Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Xaa Gly
1 5 10

<210> 46
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 46

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Asn
20 25 30

<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 47

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 48
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 48

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa 為 Ala 或 Ser

<400> 49

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Xaa Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 50
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 50

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 51
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 51

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 52
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 52

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 53
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 53

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr
20 25 30

<210> 54
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 54

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 55
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 55

Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 56
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 56

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 57

Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 58
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 58

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser
20 25

<210> 59
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 59

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 60
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Ser Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
20 25 30

<210> 61
<211> 11

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 61

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 62
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 62

Asp Ala Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr
20

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 63

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 64
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 64

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 65
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 65

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 66
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 66

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser
20 25

<210> 67
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 67

Trp Val Lys Gln Ser His Thr Lys Ser Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 68
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 68

Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

Leu Ala Arg Leu Thr Phe Gly Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 69
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 69

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 70
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 70

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

<210> 71
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 71

Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 72
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 72

Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 73
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 73

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys

1 5 10

<210> 74
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 74

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

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser
20 25

<210> 75
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 75

Trp Met Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 76
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 76

Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 77
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 77

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 78
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 78

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys
20

<210> 79
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 79

Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Lys Trp Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 80
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 80

Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser
1 5 10 15

Leu Thr Ile Gly Ser Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 81
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 81

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 82
<211> 120
<212> PRT

〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 82

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 83
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 83

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 84
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 84

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 85
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 85

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Arg Asn Leu

20 25 30

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gln Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

〈210〉 86
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 86

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 87
〈211〉 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 87

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Tyr Asn Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gln Phe Gln Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 88
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 88

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser

85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 89
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 89

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gln Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 90
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 90

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 91
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 91

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 92
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 92

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 93

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

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

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

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gln Phe Gln Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 94
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 94

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 95
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 95

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gln Tyr Gln Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

〈210〉 96
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 96

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 97
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 97

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 98
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 98

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 99

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 100
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 100

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 101
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 101

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Tyr Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Gln Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 102
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 102

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 103
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 103

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 104
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 104

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 105
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 105

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 106
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 106

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 107
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 107

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 108
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 108

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Thr Ile Gly Thr Gly Gly Thr Pro Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys
50 55 60

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

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Met Tyr Thr Gly Ser Ile Tyr Tyr Asp Met Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 109
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 109

Asp Ala Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Phe Asn Asn
20 25 30

Ala Gln Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu
35 40 45

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

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu
65 70 75 80

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gly Ala Tyr Thr Asp
85 90 95

Asp Ala Asp Asn Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 110
<211> 118
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 110

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Val
1 5 10 15

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

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser His Thr Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Met Ile Ser Ser Ser Ser Gly Asn Thr Asn Phe Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Met Asp Lys Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Thr Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ala Arg Leu Thr Phe Gly Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Thr Val Thr Val Ser Ser
115

〈210〉 111
〈211〉 106
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 111

Glu Asn Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Asp Ser Ser Val Asp Tyr Ile
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Asn Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Leu Thr
85 90 95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

〈210〉 112
〈211〉 118
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 112

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

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

Val Ile His Trp Met Lys Gln Lys Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Tyr Ile Ser Pro Tyr Asn Asp Tyr Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ser Asp Lys Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Arg Asp Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Thr Leu Thr Val Ser Ser
115

〈210〉 113
〈211〉 106
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 113

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Asp Tyr Met
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Thr Ser Pro Lys Lys Trp Ile Tyr
35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Gly Ser Met Glu Ala Glu
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 114
<211> 977
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

Met Leu Leu Trp Val Ile Leu Leu Val Leu Ala Pro Val Ser Gly Gln
1 5 10 15

Phe Ala Arg Thr Pro Arg Pro Ile Ile Phe Leu Gln Pro Pro Trp Thr
20 25 30

Thr Val Phe Gln Gly Glu Arg Val Thr Leu Thr Cys Lys Gly Phe Arg
35 40 45

Phe Tyr Ser Pro Gln Lys Thr Lys Trp Tyr His Arg Tyr Leu Gly Lys
50 55 60

Glu Ile Leu Arg Glu Thr Pro Asp Asn Ile Leu Glu Val Gln Glu Ser
65 70 75 80

Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Ala Gln Gly Ser Pro Leu Ser Ser Pro Val
85 90 95

His Leu Asp Phe Ser Ser Ala Ser Leu Ile Leu Gln Ala Pro Leu Ser
100 105 110

Val Phe Glu Gly Asp Ser Val Val Leu Arg Cys Arg Ala Lys Ala Glu
115 120 125

Val Thr Leu Asn Asn Thr Ile Tyr Lys Asn Asp Asn Val Leu Ala Phe
130 135 140

Leu Asn Lys Arg Thr Asp Phe His Ile Pro His Ala Cys Leu Lys Asp
145 150 155 160

Asn Gly Ala Tyr Arg Cys Thr Gly Tyr Lys Glu Ser Cys Cys Pro Val
165 170 175

Ser Ser Asn Thr Val Lys Ile Gln Val Gln Glu Pro Phe Thr Arg Pro
180 185 190

Val Leu Arg Ala Ser Ser Phe Gln Pro Ile Ser Gly Asn Pro Val Thr
195 200 205

Leu Thr Cys Glu Thr Gln Leu Ser Leu Glu Arg Ser Asp Val Pro Leu
210 215 220

Arg Phe Arg Phe Phe Arg Asp Asp Gln Thr Leu Gly Leu Gly Trp Ser
225 230 235 240

Leu Ser Pro Asn Phe Gln Ile Thr Ala Met Trp Ser Lys Asp Ser Gly
245 250 255

Phe Tyr Trp Cys Lys Ala Ala Thr Met Pro Tyr Ser Val Ile Ser Asp
260 265 270

Ser Pro Arg Ser Trp Ile Gln Val Gln Ile Pro Ala Ser His Pro Val
275 280 285

Leu Thr Leu Ser Pro Glu Lys Ala Leu Asn Phe Glu Gly Thr Lys Val
290 295 300

Thr Leu His Cys Glu Thr Gln Glu Asp Ser Leu Arg Thr Leu Tyr Arg
305 310 315 320

Phe Tyr His Glu Gly Val Pro Leu Arg His Lys Ser Val Arg Cys Glu
325 330 335

Arg Gly Ala Ser Ile Ser Phe Ser Leu Thr Thr Glu Asn Ser Gly Asn
340 345 350

Tyr Tyr Cys Thr Ala Asp Asn Gly Leu Gly Ala Lys Pro Ser Lys Ala
355 360 365

Val Ser Leu Ser Val Thr Val Pro Val Ser His Pro Val Leu Asn Leu
370 375 380

Ser Ser Pro Glu Asp Leu Ile Phe Glu Gly Ala Lys Val Thr Leu His
385 390 395 400

Cys Glu Ala Gln Arg Gly Ser Leu Pro Ile Leu Tyr Gln Phe His His
405 410 415

Glu Gly Ala Ala Leu Glu Arg Arg Ser Ala Asn Ser Ala Gly Gly Val
420 425 430

Ala Ile Ser Phe Ser Leu Thr Ala Glu His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys
435 440 445

Thr Ala Asp Asn Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Lys Ala Val Ser Leu
450 455 460

Ser Val Thr Val Pro Val Ser His Pro Val Leu Thr Leu Ser Ser Ala
465 470 475 480

Glu Ala Leu Thr Phe Glu Gly Ala Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val
485 490 495

Gln Arg Gly Ser Pro Gln Ile Leu Tyr Gln Phe Tyr His Glu Asp Met
500 505 510

Pro Leu Trp Ser Ser Ser Thr Pro Ser Val Gly Arg Val Ser Phe Ser
515 520 525

Phe Ser Leu Thr Glu Gly His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Thr Ala Asp
530 535 540

Asn Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Glu Val Val Ser Leu Phe Val Thr
545 550 555 560

Val Pro Val Ser Arg Pro Ile Leu Thr Leu Arg Val Pro Arg Ala Gln
565 570 575

Ala Val Val Gly Asp Leu Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Pro Arg Gly
580 585 590

Ser Pro Pro Ile Leu Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly
595 600 605

Ser Ser Ser Ala Pro Ser Gly Gly Glu Ala Ser Phe Asn Leu Ser Leu
610 615 620

Thr Ala Glu His Ser Gly Asn Tyr Ser Cys Glu Ala Asn Asn Gly Leu
625 630 635 640

Val Ala Gln His Ser Asp Thr Ile Ser Leu Ser Val Ile Val Pro Val
645 650 655

Ser Arg Pro Ile Leu Thr Phe Arg Ala Pro Arg Ala Gln Ala Val Val
660 665 670

Gly Asp Leu Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Ser Pro
675 680 685

Ile Leu Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Lys Ile Ser
690 695 700

Ala Pro Ser Gly Gly Gly Ala Ser Phe Asn Leu Ser Leu Thr Thr Glu
705 710 715 720

His Ser Gly Ile Tyr Ser Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Glu Ala Gln
725 730 735

Arg Ser Glu Met Val Thr Leu Lys Val Ala Val Pro Val Ser Arg Pro
740 745 750

Val Leu Thr Leu Arg Ala Pro Gly Thr His Ala Ala Val Gly Asp Leu
755 760 765

Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Pro Leu Ile Leu Tyr
770 775 780

Arg Phe Phe His Glu Asp Val Thr Leu Gly Asn Arg Ser Ser Pro Ser
785 790 795 800

Gly Gly Ala Ser Leu Asn Leu Ser Leu Thr Ala Glu His Ser Gly Asn
805 810 815

Tyr Ser Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Gly Ala Gln Arg Ser Glu Thr
820 825 830

Val Thr Leu Tyr Ile Thr Gly Leu Thr Ala Asn Arg Ser Gly Pro Phe
835 840 845

Ala Thr Gly Val Ala Gly Gly Leu Leu Ser Ile Ala Gly Leu Ala Ala
850 855 860

Gly Ala Leu Leu Leu Tyr Cys Trp Leu Ser Arg Lys Ala Gly Arg Lys
865 870 875 880

Pro Ala Ser Asp Pro Ala Arg Ser Pro Ser Asp Ser Asp Ser Gln Glu
885 890 895

Pro Thr Tyr His Asn Val Pro Ala Trp Glu Glu Leu Gln Pro Val Tyr
900 905 910

Thr Asn Ala Asn Pro Arg Gly Glu Asn Val Val Tyr Ser Glu Val Arg
915 920 925

Ile Ile Gln Glu Lys Lys Lys His Ala Val Ala Ser Asp Pro Arg His
930 935 940

Leu Arg Asn Lys Gly Ser Pro Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Val Ala
945 950 955 960

Ser Thr Pro Val Ser Gly Ser Leu Phe Leu Ala Ser Ser Ala Pro His
965 970 975

Arg

〈210〉 115
〈211〉 5
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 115

Ser Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 116
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 116

Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 117
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> Xaa 為 Tyr 或 Ala

<400> 117

Asp Gly Tyr Ser Arg Xaa Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 118
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 118

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 119
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 119

Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser
1 5

<210> 120
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa 為 Lys 或 Thr

<400> 120

Xaa Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 121
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 121

Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 122
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 122

Asp Gly Tyr Ser Arg Ala Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 123
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 123

Lys Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr

1 5

<210> 124
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 124

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 125
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 125

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr
20 25 30

<210> 126
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 126

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 127
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 127

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 128
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 128

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 129
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 129

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 130
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 130

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 131
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 131

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 132
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 132

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 133
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 133

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 134

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

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

〈210〉 135
〈211〉 119
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 135

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Arg Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

〈210〉 136

<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 136

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Gln
85 90 95

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

<210> 137
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 137

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Glu Asn Asp Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 138
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 138

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

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

<210> 139
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 139

Asn Tyr Tyr Ile His
1 5

<210> 140
<211> 17
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 140

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 141

Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 142
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 142

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu
1 5 10 15

Ala

<210> 143
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 143

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser
1 5

<210> 144
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 144

Thr Gln Ser Phe Ile Leu Arg Thr
1 5

<210> 145
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 145

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

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

<210> 146
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 146

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile Gly
1 5 10

<210> 147
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 147

Arg Ala Thr Leu Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Leu Glu
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 148
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 148

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 149
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 149

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys
20

<210> 150
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 150

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 151
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 151

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 152
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 152

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 153
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 153

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

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

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Ser Tyr Ser Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 154
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 154

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Arg Thr Arg Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Gln
85 90 95

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

<210> 155
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 155

Gly Tyr Thr Met Asn
1 5

<210> 156
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9)..(9)
<223> Xaa 為 Ser 或 Thr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (12)..(12)
<223> Xaa 為 Asn 或 Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (13)..(13)
<223> Xaa 為 Gln 或 Asp

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> Xaa 為 Lys 或 Ser

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15)..(15)
<223> Xaa 為 Val 或 Phe

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (17)..(17)
<223> Xaa 為 Gly 或 Asp

<400> 156

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Xaa Thr Tyr Xaa Xaa Xaa Xaa Lys
1 5 10 15

Xaa

<210> 157
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 157

Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val
1 5 10

<210> 158
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 158

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 159
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 159

Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser
1 5

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 160

Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr
1 5

<210> 161
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 161

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 162
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 162

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys
1 5 10 15

Asp

<210> 163
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 163

Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 164
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 164

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr
20 25 30

<210> 165
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 165

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val Ala
1 5 10

<210> 166
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 166

Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
20 25 30

<210> 167
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 167

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 168
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 168

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
20

<210> 169
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 169

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 170
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 170

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 171
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 171

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
1 5 10

<210> 172
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 172

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Asp Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 173
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 173

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

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

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 174
<211> 28
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成構築體

<400> 174

Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr Gln Thr Pro Tyr Lys
1 5 10 15

Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr Cys
20 25

<210> 175
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 175

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ala Phe Met Ser
1 5 10 15

<210> 176
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 176

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Gly Ser
1 5 10 15

<210> 177
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 177

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Asp
1 5 10 15

<210> 178
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 178

Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Met Pro
1 5 10 15

<210> 179
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 179

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 180
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 180

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr
20 25 30

<210> 181
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 181

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Thr
20 25 30

<210> 182
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 182

Trp Tyr Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Gly
1 5 10

<210> 183
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 183

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Met
1 5 10 15

Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Asn
20 25 30

<210> 184
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 184

Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu Lys
1 5 10 15

Leu Ser Asp Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Asn
20 25 30

<210> 185
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 185

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 186
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 186

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

〈210〉 187
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 187

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 188
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 188

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 189
<211> 120
<212> PRT

〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 189

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Pro Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 190
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 190

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 191
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 191

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 192
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 192

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Ser Asn Ile

20 25 30

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

〈210〉 193
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 193

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Tyr Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 194
〈211〉 107

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 194

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 195
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 195

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ala Phe Met
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser

85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 196
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 196

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 197
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 197

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Gly
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 198
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 198

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 199
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 199

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Asp Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 200
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 200

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 201
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 201

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Pro Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 202
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 202

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

〈210〉 203
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 203

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Met Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 204
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 204

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 205
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 205

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Asp Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 206
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 206

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 207
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 207

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

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

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 208
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 208

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

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

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

Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 209
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 209

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 210
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 210

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

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

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

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 211
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 211

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Thr Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Ser Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 212
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成構築體

<400> 212

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

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

Val Val Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

〈210〉 213
〈211〉 120
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉
〈223〉 合成構築體

〈400〉 213

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Arg Phe
20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
35 40 45

Gly Val Ile Trp Arg Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Val
50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ser Lys Asn Gln Val Ser Leu
65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser
85 90 95

Asn His Tyr Tyr Gly Ser Pro Asp Tyr Ala Leu Asp Asn Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

〈210〉 214
〈211〉 107
〈212〉 PRT
〈213〉 人工序列

〈220〉

<223> 合成構築體

<400> 214

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

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

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

Tyr Ser Gly Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser Pro Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 215
<211> 975
<212> PRT
<213> 食蟹猴

<400> 215

Met Leu Leu Trp Val Ile Leu Leu Val Leu Ala Pro Val Ser Gly Gln
1 5 10 15

Phe Val Arg Thr Tyr Lys Ser His Phe Leu Gln Pro Pro Trp Thr Thr
20 25 30

Val Phe Arg Gly Glu Arg Val Asn Leu Thr Cys Lys Gly Phe Gly Phe
35 40 45

Tyr Ser Ser Gln Lys Thr Lys Trp Tyr Tyr Arg His Leu Gly Lys Glu
50 55 60

Ile Ser Arg Glu Thr Gln Lys Asn Thr Leu Glu Val Gln Glu Ser Gly
65 70 75 80

Glu Tyr Arg Cys Gln Ala Gln Gly Ser Pro Leu Ser Ser Pro Val Ser
85 90 95

Leu Asp Phe Ser Ser Ala Ser Leu Ile Leu Gln Ala Pro Leu Ser Val
100 105 110

Phe Glu Gly Asp Ser Val Val Leu Arg Cys Arg Ala Lys Ala Glu Val
115 120 125

Thr Leu Lys Thr Thr Ile Tyr Lys Asn Glu Asn Val Leu Ala Phe Leu
130 135 140

Asn Lys Ser Thr Asp Phe His Ile Ser His Ala Ser Leu Lys Asp Asn
145 150 155 160

Gly Ala Tyr Arg Cys Thr Gly Tyr Lys Glu Thr Cys Cys Leu Val Ser
165 170 175

Ser Asn Thr Val Lys Ile Gln Val Gln Glu Ser Phe Thr Arg Pro Val
180 185 190

Leu Arg Val Ser Ser Phe Gln Pro Ile Ser Gly Ser Pro Val Thr Leu
195 200 205

Thr Cys Glu Thr Gln Leu Ser Leu Glu Arg Ser Asp Val Pro Leu Gln
210 215 220

Phe Cys Phe Phe Arg Asn Asp Gln Met Leu Gly Ser Gly Cys Ser Leu
225 230 235 240

Ser Pro Lys Phe Arg Ile Thr Ala Met Trp Ser Lys Asp Ser Gly Ser
245 250 255

Tyr Trp Cys Lys Ala Ala Thr Met Cys Tyr Asp Thr Thr Ser Asn Ser
260 265 270

Leu Arg Ser Trp Ile Gln Val Leu Ile Pro Ala Ser His Pro Val Leu
275 280 285

Thr Leu Ser Pro Glu Lys Ala Leu Asn Phe Glu Gly Thr Lys Val Lys
290 295 300

Leu His Cys Glu Thr Gln Glu Asp Ser Leu Arg Thr Leu Tyr Lys Phe
305 310 315 320

Tyr His Asp Gly Val Pro Leu Arg Tyr Lys Ser Val Arg Cys Glu Lys
325 330 335

Gly Ala Ser Ile Ser Phe Ser Leu Thr Thr Glu His Ser Gly Asn Tyr
340 345 350

Tyr Cys Thr Ala Asp Asn Gly His Gly Ala Lys Pro Ser Glu Ala Val
355 360 365

Ser Leu Ser Val Thr Val Pro Val Ser Arg Pro Val Leu Thr Leu Ser
370 375 380

Ser Ala Glu Asp Leu Ile Ser Glu Gly Ala Lys Leu Thr Leu His Cys
385 390 395 400

Glu Ala Gln Arg Gly Ser Leu Pro Ile Val Tyr Gln Phe His His Glu
405 410 415

Asn Ala Ser Leu Gly Asn Arg Ser Ala His Ser Ala Gly Gly Val Ala
420 425 430

Ile Ser Phe Ser Leu Thr Ala Asp His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Thr
435 440 445

Ala Asn Asn Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Glu Ala Val Ser Leu Ser
450 455 460

Ile Thr Val Pro Val Ser Arg Pro Val Leu Thr Leu Ser Ser Ala Glu
465 470 475 480

Ala Leu Thr Phe Glu Gly Ala Thr Val Thr Leu Tyr Cys Glu Val Gln
485 490 495

Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Tyr Gln Phe Tyr His Glu Asp Val Pro
500 505 510

Leu Gly Ser Asn Ser Thr Pro Ser Val Gly Lys Val Ser Phe Ser Phe
515 520 525

Ser Leu Thr Ala Ala His Ser Gly Asn Tyr Tyr Cys Thr Ala Asp Asn
530 535 540

Gly Phe Gly Pro Gln Arg Ser Glu Ala Val Ser Leu Phe Val Thr Val
545 550 555 560

Pro Val Ser Arg Pro Ile Leu Thr Leu Arg Val Pro Arg Ala Gln Ala
565 570 575

Val Val Gly Asp Leu Leu Glu Leu Arg Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser
580 585 590

Pro Pro Ile Met Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Ser
595 600 605

Ser Ser Val Pro Ser Gly Gly Glu Ala Ser Phe Asn Leu Ser Leu Thr
610 615 620

Ala Glu His Ser Gly Asn Tyr Ser Cys Glu Ala Asn Asn Gly Leu Val
625 630 635 640

Ala Gln His Ser Asp Thr Ile Ser Leu Ser Val Ile Val Pro Val Ser
645 650 655

Arg Pro Ile Leu Thr Phe Arg Ala Pro Arg Ala Gln Ala Val Val Gly
660 665 670

Asp Leu Leu Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Ser Pro Ile
675 680 685

Leu Tyr Trp Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Lys Ile Ser Ala
690 695 700

Pro Ser Gly Gly Gly Ala Tyr Phe Asn Leu Ser Leu Thr Thr Glu His
705 710 715 720

Ser Gly Ile Tyr Ser Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Glu Ala Gln Arg
725 730 735

Ser Glu Met Val Thr Leu Lys Val Ala Val Pro Val Ser Arg Pro Val
740 745 750

Leu Thr Leu Arg Ala Pro Arg Ala Gln Val Ala Val Gly Asp Leu Leu
755 760 765

Glu Leu His Cys Glu Ala Leu Arg Gly Ser Pro Leu Ile Leu Tyr Gln
770 775 780

Phe Tyr His Glu Asp Val Thr Leu Gly Asn Ser Ser Ala Leu Ser Gly
785 790 795 800

Gly Ala Phe Phe Asn Leu Ser Leu Thr Ala Glu His Gly Asn Tyr Ser
805 810 815

Cys Glu Ala Asp Asn Gly Leu Gly Ala Gln Arg Ser Glu Thr Val Thr
820 825 830

Leu Tyr Leu Thr Gly Leu Thr Glu Asn Arg Ser Gly Pro Val Ala Thr
835 840 845

Gly Val Thr Gly Gly Leu Leu Ser Leu Ala Gly Leu Ala Ala Val Ala
850 855 860

Leu Leu Leu Tyr Cys Trp Leu Ser Arg Lys Ala Gly Arg Glu Pro Ala
865 870 875 880

Ser Asp Pro Cys Arg Ser Pro Ser Asp Leu Asp Ser Gln Glu Pro Thr
885 890 895

Tyr His Asn Val Pro Ala Trp Glu Glu Leu Gln Pro Val Tyr Ser Asn
900 905 910

Val Asn Pro Arg Gly Glu Asn Val Val Tyr Ser Glu Val Arg Ile Ile

915 920 925

Arg Glu Lys Lys Lys His Ala Val Ala Ser Asn Pro Arg His Leu Arg
930 935 940

Asn Lys Gly Ser Cys Ile Ile Tyr Ser Glu Val Lys Val Ala Ser Thr
945 950 955 960

Pro Ala Ser Arg Cys Leu Phe Leu Ala Ser Ser Ala Pro His Arg
965 970 975

申請專利範圍

1. 一種抗 Fc 受體樣 5(FcRH5)抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含以下六個高變區(HVR)：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23。

2. 如請求項 1 之抗 FcRH5 抗體，其中該結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的重鏈可變(VH)域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的輕鏈可變(VL)域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。

3. 如請求項 2 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗體進一步包含以下重鏈可變區構架區(FR)：

(a) FR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 52；

(b) FR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 54；

(c) FR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 46；及

(d) FR-H4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 47。

4. 如請求項3之抗FcRH5抗體，其中該 VH 域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 104。

5. 如請求項 4 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗體進一步包含以下輕鏈可變區 FR：

(a) FR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 48；

(b) FR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 57；

(c) FR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 50；及

(d) FR-L4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 51。

6. 如請求項5之抗FcRH5抗體，其中該 VL 域包含胺基酸序列SEQ ID NO: 105。

7. 一種抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包含結合域，該結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 104 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 105 之 VL 域。
8. 如請求項 1 至 7 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體結合至 FcRH5 之 Ig 樣域 9 中之抗原決定基。
9. 如請求項 8 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基包含 SEQ ID NO: 114 之胺基酸 745-850 之一部分。
10. 如請求項 8 之抗 FcRH5 抗體，其中該結合域結合至人 FcRH5 或食蟹猴(獼猴)FcRH5 或兩者。
11. 如請求項 10 之抗 FcRH5 抗體，其中該結合域不特異性結合至 FcRH1、FcRH2、FcRH3 及/或 FcRH4。
12. 如請求項 10 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體以下列 K_D 結合人 FcRH5：
    (a) 約 100 nM 或更低；
    (b) 約 10 pM 與約 100 nM 之間；
    (c) 約 100 pM 與約 100 nM 之間；
    (d) 約 1 nM 與約 20 nM 之間；及/或
    (e) 約 1 nM 與約 10 nM 之間。
13. 如請求項 12 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體以下列 K_D 結合獼猴 FcRH5：
    (a) 約 100 nM 或更低；
    (b) 約 10 pM 與約 100 nM 之間；
    (c) 約 100 pM 與約 100 nM 之間；及/或
    (d) 約 1 nM 與約 50 nM 之間。
14. 如請求項 1 至 7 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包含取代突變在胺基酸殘基 N297、L234、L235、D265 及/或 P329 (EU 編號)處。
15. 如請求項 14 之抗 FcRH5 抗體，其中該取代突變選自由以下組成之群：N297G、N297A、L234A、L235A、D265A 及 P329G。
16. 如請求項 15 之抗 FcRH5 抗體，其中該取代突變為 N297G 突變。

17. 如請求項 1 至 7 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體為單株抗體、人抗體、人源化抗體或嵌合抗體。
18. 如請求項 17 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體為 IgG 抗體。
19. 如請求項 1 至 7 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體為結合 FcRH5 之抗體片段。
20. 如請求項 19 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗體片段選自由以下組成之群：雙-Fab、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv 及$(Fab')_2$片段。
21. 如請求項 20 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗體片段為雙-Fab 片段。
22. 如請求項 1 至 7 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體為全長抗體。
23. 如請求項 1 至 7 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體為(a)單特異性抗體或(b)多特異性抗體。
24. 如請求項 23 之抗 FcRH5 抗體，其中該多特異性抗體為雙特異性抗體。
25. 如請求項 24 之抗 FcRH5 抗體，其中該雙特異性抗體包含結合分化抗原簇 3(CD3)之第二結合域。
26. 如請求項 25 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域結合至 CD3 上之抗原決定基，該抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Glu6。
27. 如請求項 26 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基進一步包含一或多個選自由以下組成之群之額外胺基酸殘基：CD3 之 Gln1、Asp2 及 Met7。
28. 如請求項 27 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2 及 Glu6。
29. 如請求項 28 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基包含 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2、Glu6 及 Met7。
30. 如請求項 29 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基不包含 CD3 之胺基酸殘基 Glu5。
31. 如請求項 30 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基不包含 CD3 之胺基酸殘基 Gly3 及 Glu5。
32. 如請求項 31 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗原決定基由 CD3 之胺基酸殘基 Gln1、Asp2、Glu6 及 Met7 組成。
33. 如請求項 25 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域能夠結合至人 CD3

多肽或獼猴 CD3 多肽。

34. 如請求項 33 之抗 FcRH5 抗體，其中該人 CD3 多肽或該獼猴 CD3 多肽分別為人 CD3ε 多肽或獼猴 CD3ε 多肽；或分別為人 CD3γ 多肽或獼猴 CD3γ 多肽。

35. 如請求項 25 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域以下列 K_D 結合該人 CD3ε 多肽：

(a) 約 100 nM 或更低；

(b) 約 10 pM 至約 100 nM 之間；

(c) 約 100 pM 至約 50 nM 之間；及/或

(d)約 1 nM 至約 10 nM 之間。

36. 如請求項 25 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下六個 HVR：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 117；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 120。

37. 如請求項 36 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下六個 HVR：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123。

38. 如請求項 37 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。

39. 如請求項 38 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：

(a) FR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 125；

(b) FR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 126；

(c) FR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 127；及

(d) FR-H4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 128。

40. 如請求項 39 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域。

41. 如請求項 40 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：

(a) FR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 129；

(b) FR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 130；

(c) FR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 131；及

(d) FR-L4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 132。

42. 如請求項 41 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域。

43. 如請求項 42 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 133 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 134 之 VL 域。

44. 如請求項 36 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下六個 HVR：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 124。

45. 如請求項 44 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。

46. 如請求項 45 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：

(a) FR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 125；

(b) FR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 126；

(c) FR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 127；及

(d) FR-H4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 128。

47. 如請求項 46 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 之 VH 域。

48. 如請求項 47 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：

(a) FR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 129；

(b) FR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 130；

(c) FR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 131；及

(d) FR-L4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 132。

49. 如請求項 48 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 之 VL 域。

50. 如請求項 49 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 137 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 138 之 VL 域。

51. 如請求項 25 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下六個 HVR：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 139；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 140；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 141；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 142；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 143；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 144。

52. 如請求項 51 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。

53. 如請求項 52 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：

(a) FR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 145；

(b) FR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 146；

(c) FR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 147；及

(d) FR-H4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 148。

54. 如請求項 53 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 之 VH 域。

55. 如請求項 54 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：

(a) FR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 149；

(b) FR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 150；

(c) FR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 151；及

(d) FR-L4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 152。

56. 如請求項 55 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 之 VL 域。

57. 如請求項 56 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 153 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 154 之 VL 域。

58. 如請求項 25 之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下六個 HVR：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 155；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 156；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 157；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 158；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 159；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 160。

59. 如請求項 58 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下六個 HVR：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 155；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 162；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 157；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 158；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 159；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 160。

60. 如請求項 59 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VH 域，(b)包含與胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 具有至少 95%序列一致性之胺基酸序列的 VL 域，或(c)如(a)中之 VH 域及如(b)中之 VL 域。

61. 如請求項 60 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含以下重鏈可變區 FR：

(a) FR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 164；

(b) FR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 165；

(c) FR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 166；及

(d) FR-H4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 167。

62. 如請求項 61 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 之 VH 域。

63. 如請求項 62 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域進一步包含以下輕鏈可變區 FR：

(a) FR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 168；

(b) FR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 169；

(c) FR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 170；及

(d) FR-L4，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 171。

64. 如請求項 63 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含包括胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 之 VL 域。

65. 如請求項 64 項之抗 FcRH5 抗體，其中該第二結合域包含(a)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 172 之 VH 域及(b)包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 173 之 VL 域。

66. 一種結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23；及

抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123。

67. 一種結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包含

抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23；及

抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123；及

其中該抗FcRH5臂及該抗CD3臂各自包含N297G取代突變(EU編號)；

並且其中該抗 FcRH5 臂包含 T366W 取代突變(EU 編號)並且該抗 CD3 臂包含 T366S、L368A 及 Y407V 取代突變(EU 編號)。

68. 一種結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包

含：

抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23；及

抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123；及

其中該抗 FcRH5 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變(EU 編號)之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈；並且其中該抗 CD3 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變(EU 編號)之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

69. 一種結合至 FcRH5 及 CD3 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體包含抗 FcRH5 臂，該抗 FcRH5 臂包含包括以下六個 HVR 之第一結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 1；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 8；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 9；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 12；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 16；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 23；及

抗 CD3 臂，該抗 CD3 臂包含包括以下六個 HVR 之第二結合域：

(a) HVR-H1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 115；

(b) HVR-H2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 116；

(c) HVR-H3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 121；

(d) HVR-L1，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 118；

(e) HVR-L2，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 119；及

(f) HVR-L3，其包含胺基酸序列 SEQ ID NO: 123；及

其中該抗 FcRH5 臂包含包括 Q38K 及 V133E 取代突變(EU 編號)之輕鏈及包括 Q39E、S183K 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈；並且其中該抗 CD3 臂包含包括 Q38E 及 V133K 取代突變(EU 編號)之輕鏈及包括 Q39K、S183E 及 N297G 取代突變(EU 編號)之重鏈。

70. 如請求項 1 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體具有下列之靜脈內注射後清除率：

(a) 在小鼠中約 10 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日；

(b) 在小鼠中約 10 ml/kg/日至約 20 ml/kg/日；及/或

(c) 在小鼠中約 12 ml/kg/日至約 16 ml/kg/日。

71. 如請求項 70 之抗 FcRH5 抗體，其中該抗 FcRH5 抗體具有下列之靜脈內注射後清除率：

(a) 在獼猴中約 20 ml/kg/日至約 40 ml/kg/日；

(b) 在獼猴中約 25 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日；及/或

(c) 在獼猴中約 30 ml/kg/日至約 35 ml/kg/日。

72. 一種分離核酸，其編碼如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體，或其一部分，包含其結合至 FcRH5 的結合域。

73. 一種載體，其包含如請求項 72 之分離核酸。

74. 一種宿主細胞，其包含如請求項 73 之載體。

75. 如請求項 74 之宿主細胞，其中該宿主細胞為哺乳動物細胞或原核細胞。

76. 如請求項 75 之宿主細胞，其中該哺乳動物細胞為中國倉鼠卵巢(CHO)細胞，或該原核細胞為大腸桿菌細胞。

77. 一種產生如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體的方法，該方法包含在培養基中培養如請求項 74 之宿主細胞。

78. 如請求項 77 之方法，其中該方法進一步包含從該宿主細胞或該培養基回收該抗 FcRH5 抗體。

79. 如請求項 77 之方法，其進一步包含培養第二宿主細胞，該第二宿主細胞包含編碼抗 CD3 抗體之第二核酸，該抗 CD3 抗體包含結合至 CD3 之結合域。
80. 如請求項 79 之方法，其中共培養該等宿主細胞。
81. 如請求項 79 或 80 之方法，其中該方法進一步包含從該等宿主細胞或該培養基回收結合至 FcRH5 及 CD3 之該抗 FcRH5 抗體。
82. 一種免疫結合物，其包含如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體及細胞毒性劑。
83. 一種組合物，其包含如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體。
84. 如請求項 83 之組合物，其中該組合物進一步包含醫藥學上可接受之賦形劑或稀釋劑。
85. 如請求項 84 之組合物，其中該醫藥學上可接受之賦形劑為緩衝液、載劑、穩定劑或防腐劑。
86. 如請求項 85 之組合物，其中該組合物為醫藥組合物。
87. 如請求項 83 之組合物，其中該組合物進一步包含 PD-1 軸結合拮抗劑或額外治療劑。
88. 如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體，其作為藥物來使用。
89. 一種如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體或如請求項 83 之組合物之用途，用於製造治療或延遲受試者之 FcRH5 陽性癌症之進程之藥物。
90. 一種如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體或如請求項 83 之組合物之用途，用於製造用於增強患有 FcRH5 陽性癌症之受試者之免疫功能之藥物。
91. 如請求項 89 之用途，其中該 FcRH5 陽性癌症為 B 細胞癌症。
92. 如請求項 91 之用途，其中該 B 細胞癌症選自由以下組成之群：多發性骨髓瘤(MM)、慢性淋巴性白血病(CLL)、套膜細胞淋巴瘤(MCL)、彌散性大 B-細胞淋巴瘤(DLBCL)及濾泡性淋巴瘤(FL)。
93. 如請求項 92 之用途，其中該 B 細胞癌症為 MM。

94. 如請求項 89 之用途，其中該抗 FcRH5 抗體結合至(a)定位於靶細胞上之 FcRH5 分子及(b)定位於免疫效應細胞上之 CD3 分子。
95. 如請求項 94 之用途，其中該抗 FcRH5 抗體在結合至該 FcRH5 分子及該 CD3 分子之後活化該免疫效應細胞。
96. 如請求項 95 之用途，其中該活化免疫效應細胞能夠對於該靶細胞施加細胞毒性作用及/或凋亡作用。
97. 如請求項 94 之用途，其中該靶細胞為漿細胞。
98. 如請求項 97 之用途，其中該漿細胞為短壽命漿細胞；或長壽命漿細胞。
99. 如請求項 97 之用途，其中該漿細胞為骨髓瘤細胞。
100. 如請求項 94 之用途，其中該藥物包含下列劑量之該抗 FcRH5 抗體：
    (a) 約 0.01 mg/kg/wk 至約 50 mg/kg/wk；
    (b) 約 0.1 mg/kg/wk 至約 10 mg/kg/wk；及/或
    (c) 約 1 mg/kg/wk。
101. 如請求項 94 之用途，其中該藥物係經調配與 PD-1 軸結合拮抗劑及/或額外治療劑一併投與。
102. 如請求項 101 之用途，其中該 PD-1 軸結合拮抗劑或額外治療劑在投與該抗 FcRH5 抗體同時、之前或之後投與。
103. 如請求項 101 之用途，其中該 PD-1 軸結合拮抗劑選自由以下組成之群：PD-L1 結合拮抗劑、PD-1 結合拮抗劑及 PD-L2 結合拮抗劑。
104. 如請求項 103 之用途，其中該 PD-1 軸結合拮抗劑為 PD-L1 結合拮抗劑。
105. 如請求項 104 之用途，其中該 PD-L1 結合拮抗劑選自由以下組成之群：MPDL3280A(阿特立單抗)、MDX-1105、MEDI4736(德瓦魯單抗)及 MSB0010718C(納武單抗)。
106. 如請求項 105 之用途，其中該 PD-L1 結合拮抗劑為 MPDL3280A(阿特立單抗)。
107. 如請求項 103 之用途，其中該 PD-1 軸結合拮抗劑為 PD-1 結合拮抗劑或 PD-L2 結合拮抗劑。
108. 如請求項 107 之用途，其中該 PD-1 結合拮抗劑選自由以下組成之群：MDX1106(妮威祿單抗)、MK-3475(帕姆利珠單抗)、MEDI-0680

(AMP-514)、PDR001、REGN2810 及 BGB-108，或該 PD-L2 結合拮抗劑為抗體或免疫黏附素。

109. 如請求項 94 之用途，其中該藥物係經調配與 PD-1 軸結合拮抗劑、類固醇、免疫調節劑(IMiD)、蛋白體抑制劑(PI)或其組合一併投與。

110. 如請求項 109 之用途，其中：

(i)該類固醇為糖皮質激素；

(ii)該 IMiD 為來那度胺；或

(iii)該 PI 為硼替佐米。

111. 如請求項 110 之用途，其中該糖皮質激素為地塞米松。

112. 如請求項 109 之用途，其中該抗 FcRH5 抗體、PD-1 軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI 或其組合係以靜脈內、皮下、肌肉內、局部、經口、經皮、腹膜內、眶內、藉由植入、藉由吸入、鞘內、心室內或鼻內投與。

113. 如請求項 112 之用途，其中該抗 FcRH5 抗體、PD-1 軸結合拮抗劑、類固醇、IMiD、PI 或其組合係以靜脈內投與；或皮下投與。

114. 如請求項 94 之用途，其中該受試者為人。

115. 一種用於偵測來自受試者之生物樣品中之 FcRH5 的方法，其中該方法包含：

(a) 使該生物樣品與如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗 FcRH5 抗體在容許該抗 FcRH5 抗體結合至該生物樣品中之天然存在 FcRH5 的條件下接觸，並且

(b) 偵測是否在該抗 FcRH5 抗體與該生物樣品中之天然存在 FcRH5 之間形成複合物。

116. 如請求項 115 之方法，其中該生物樣品為血液樣品。

117. 如請求項 116 之方法，其中該受試者為人。

118. 一種套組，其包含如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗體及藥品說明書，該藥品說明書包含使用該抗體來治療或延遲受試者之 FcRH5 陽性癌症之進程的說明。

119. 如請求項 118 之套組，其中該受試者為人。

120. 一種套組，其包含如請求項 1 至 7 及 66 至 69 中任一項之抗體及藥品說明書，該藥品說明書包含使用該抗體來增強患有 FcRH5 陽性癌症之

受試者之免疫功能的說明。

121. 如請求項 120 之套組，其中該受試者為人。

圖式

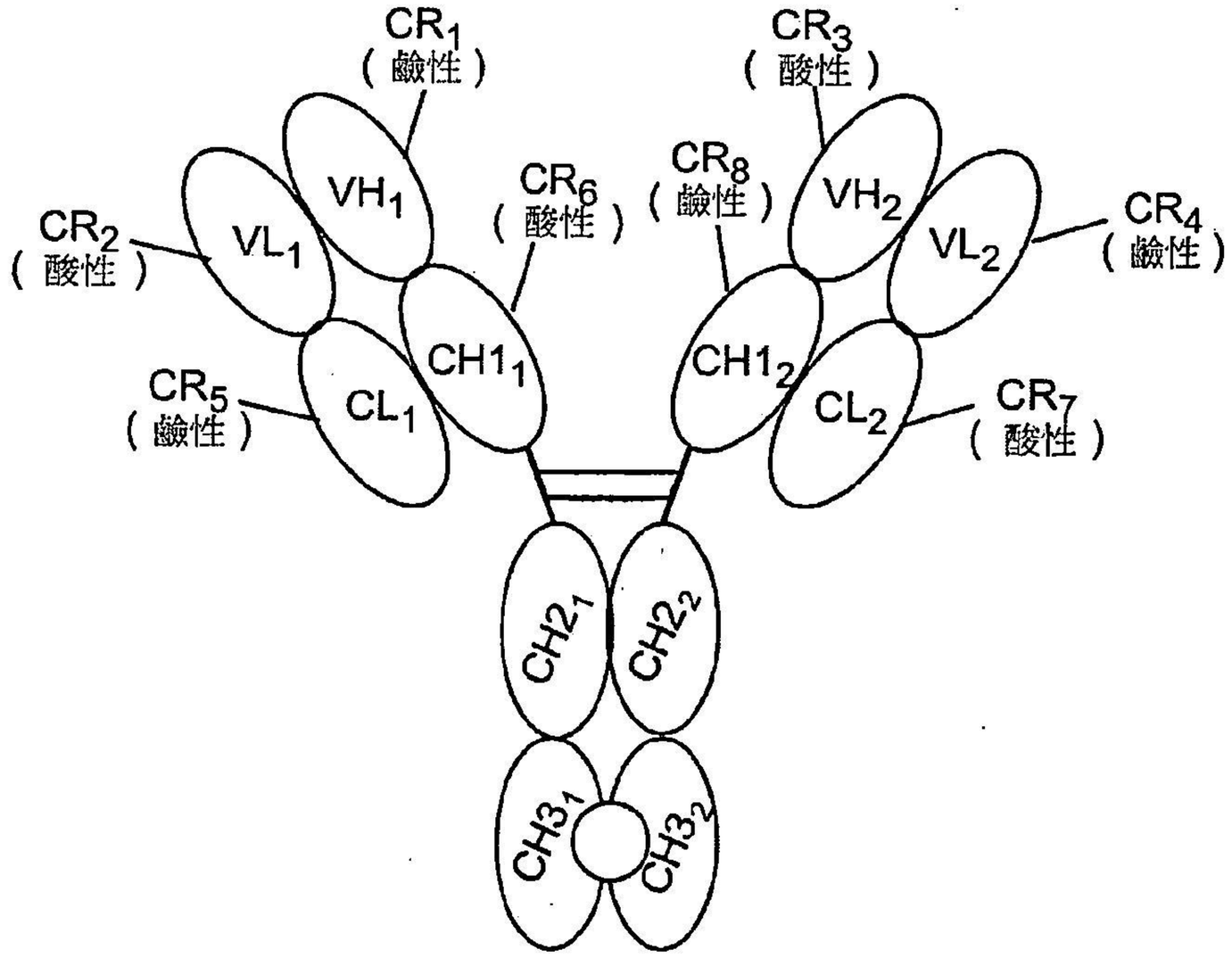

CR1
（鹼性）
CR3
（酸性）
CR2
（酸性）
VL1
VH1
CR6
（酸性）
CR8
（鹼性）
VH2
VL2
CR4
（鹼性）
CR5
（鹼性）
CL1
CH11
CH12
CL2
CR7
（酸性）
CH21
CH22
CH31
CH32

圖 1A

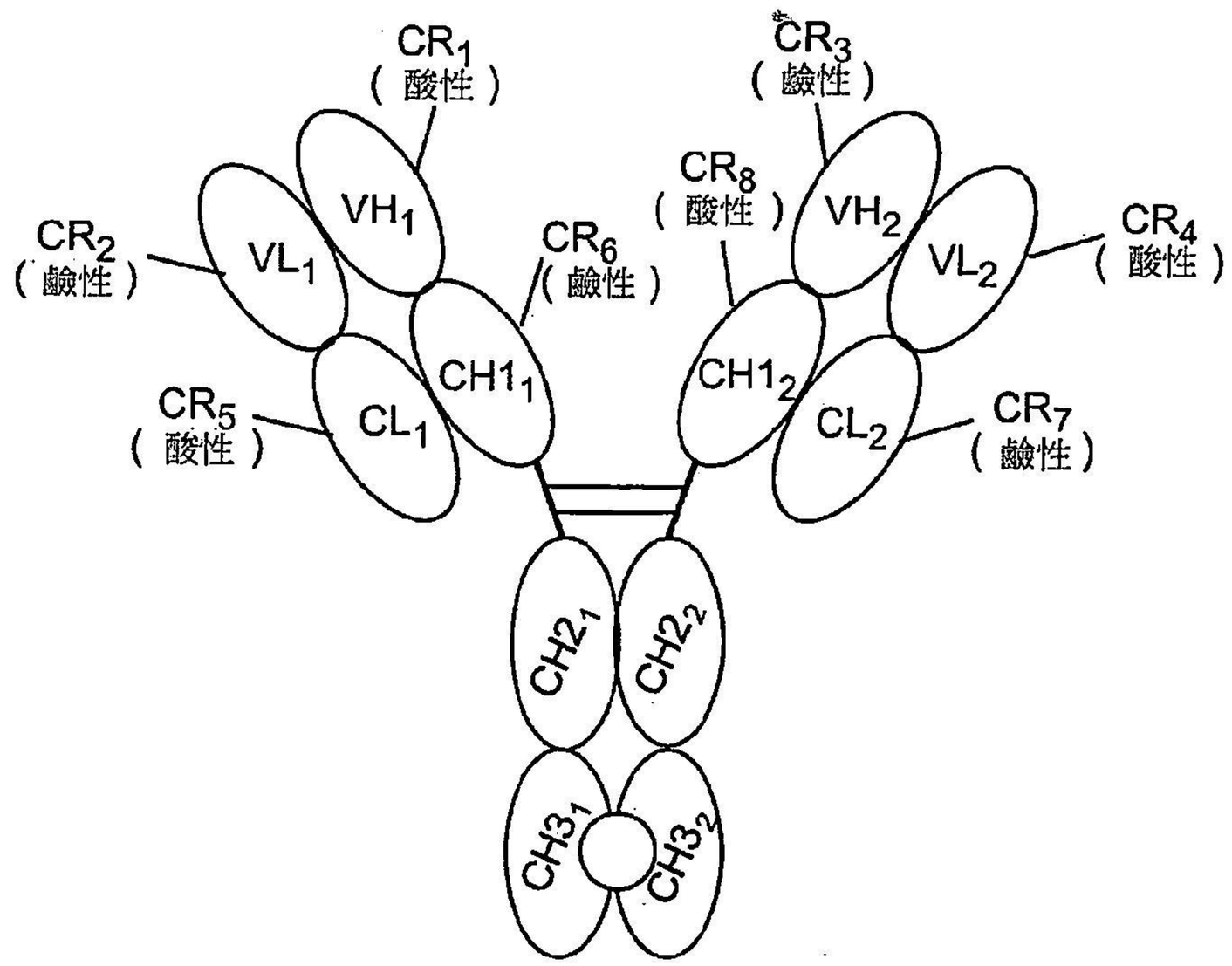

CR1
（酸性）
CR3
（鹼性）
CR2
（鹼性）
VL1
VH1
CR6
（鹼性）
CR8
（酸性）
VH2
VL2
CR4
（酸性）
CR5
（酸性）
CL1
CH11
CH12
CL2
CR7
（鹼性）
CH21
CH22
CH31
CH32

圖 1B

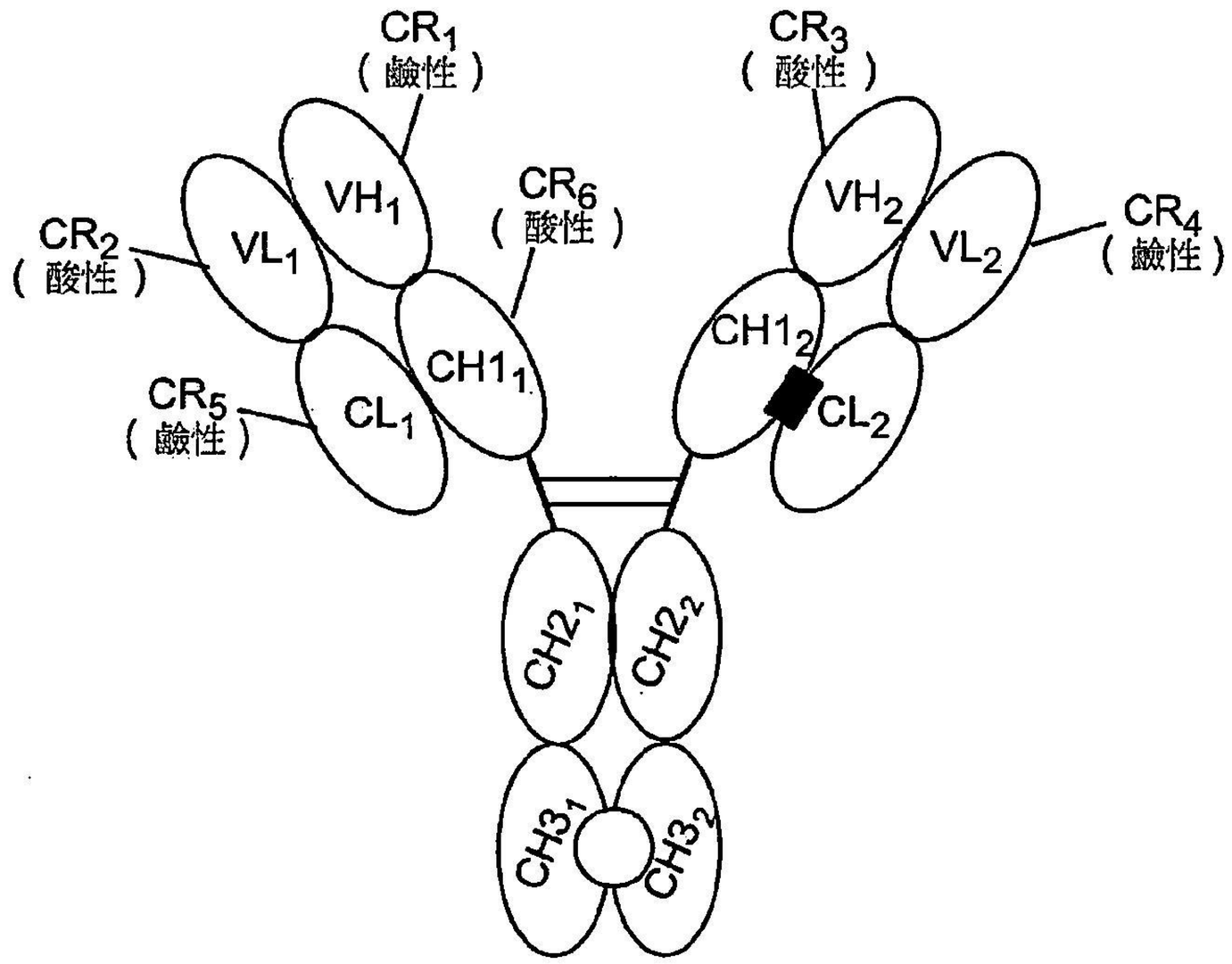

CR1
（鹼性）
CR3
（酸性）
VH1
VH2
CR6
（酸性）
CR2
（酸性）
VL1
VL2
CR4
（鹼性）
CH11
CH12
CR5
（鹼性）
CL1
CL2
CH21
CH22
CH31
CH32

圖 1C

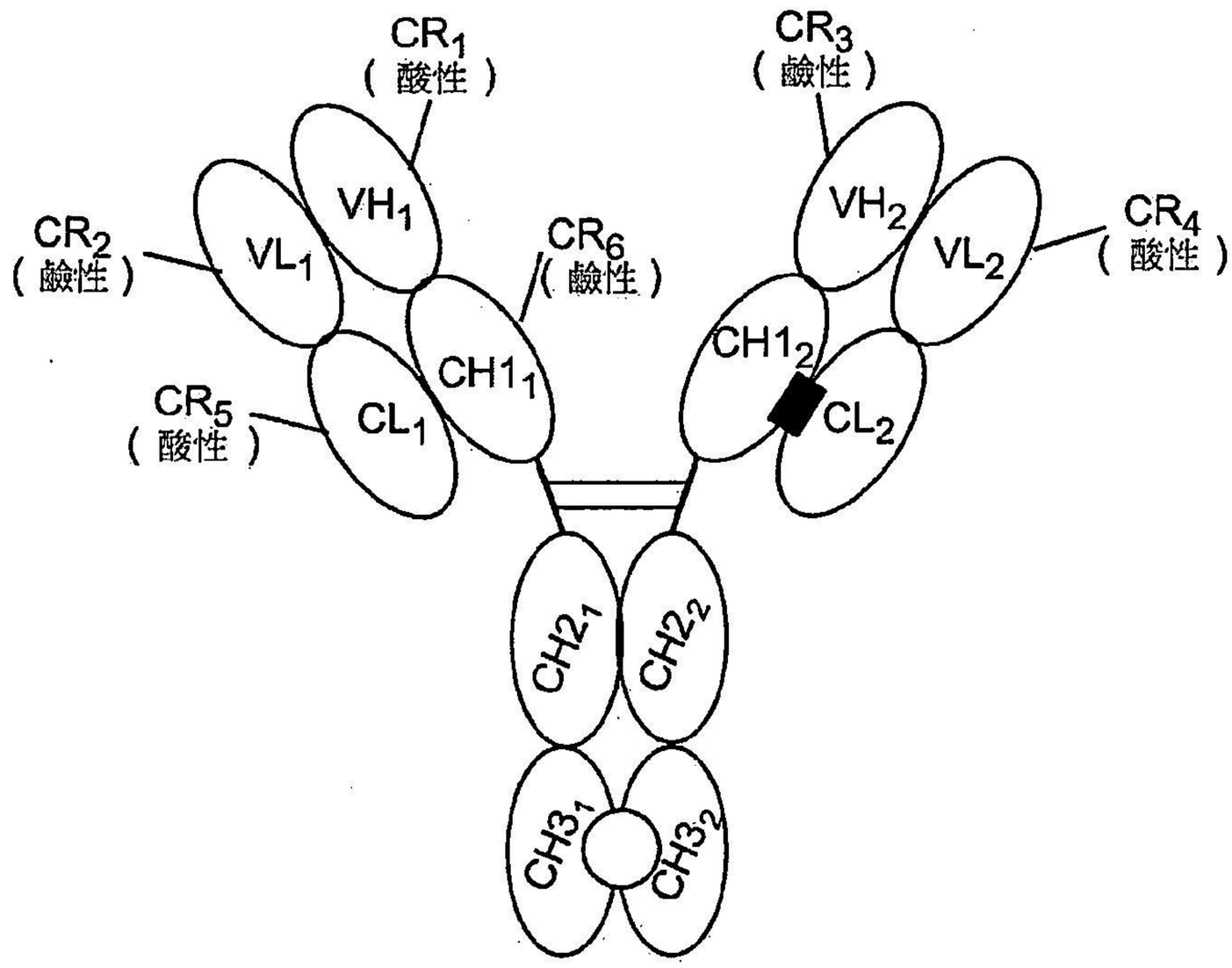

CR1
（酸性）
CR3
（鹼性）
VH1
VH2
CR2
（鹼性）
VL1
CR6
（鹼性）
VL2
CR4
（酸性）
CH11
CH12
CR5
（酸性）
CL1
CL2
CH21
CH22
CH31
CH32

圖 1D

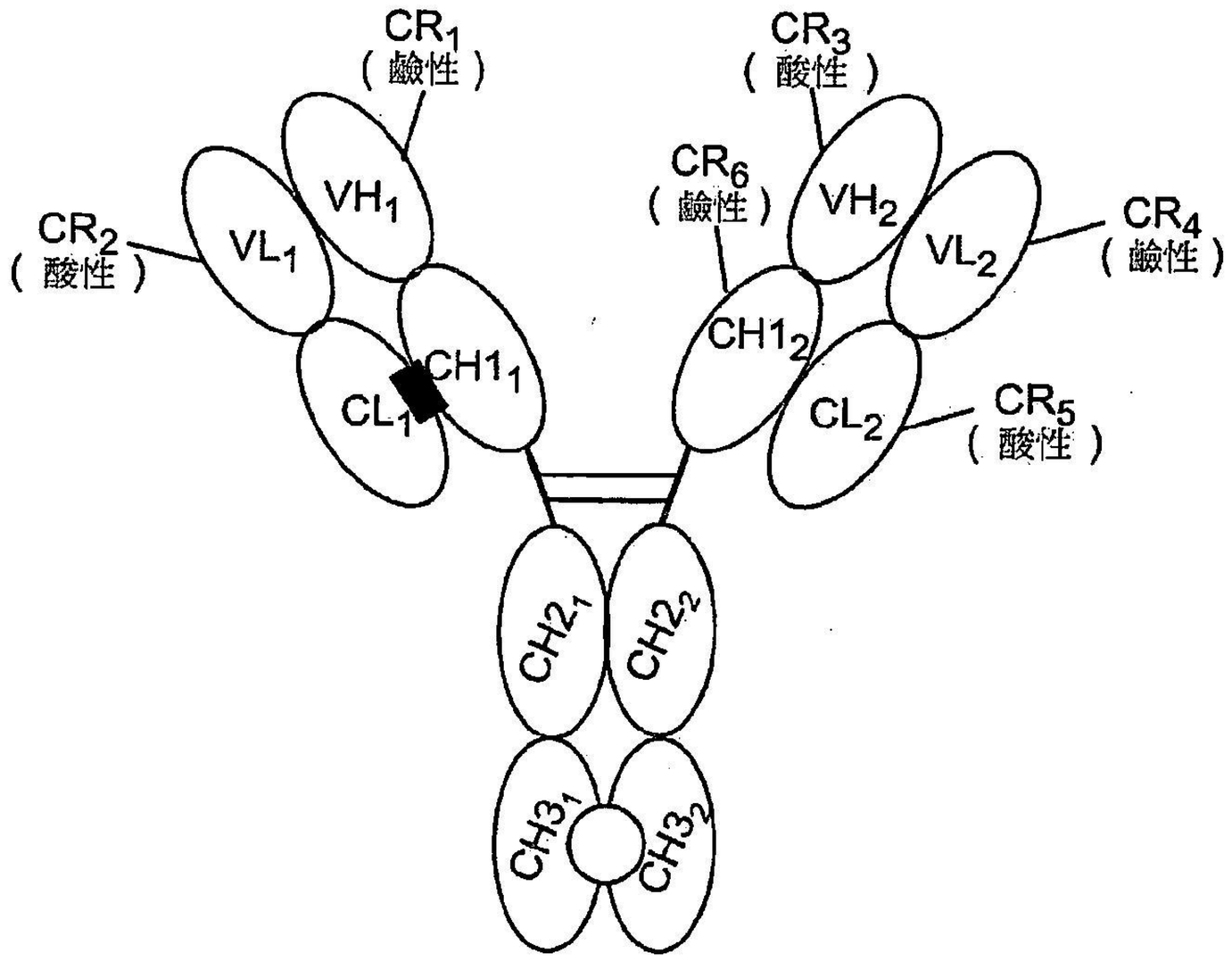

CR1
(鹼性)
CR3
(酸性)
CR6
(鹼性)
VH1
VH2
CR2
(酸性)
VL1
VL2
CR4
(鹼性)
CH11
CH12
CL1
CL2
CR5
(酸性)
CH21
CH22
CH31
CH32

圖 1E

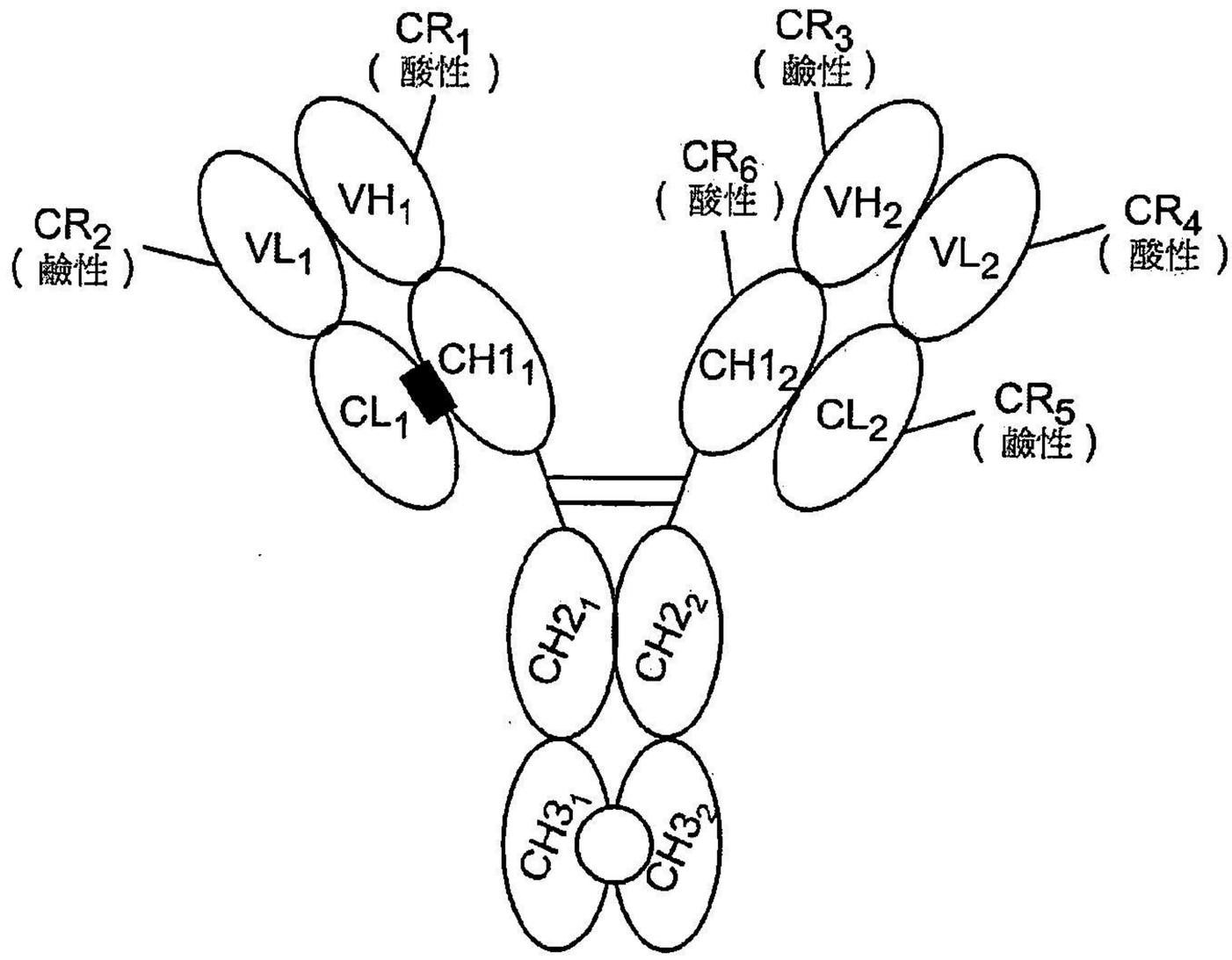

CR1
(酸性)
CR3
(鹼性)
CR6
(酸性)
VH1
VH2
CR2
(鹼性)
VL1
VL2
CR4
(酸性)
CH11
CH12
CL1
CL2
CR5
(鹼性)
CH21
CH22
CH31
CH32

圖 1F

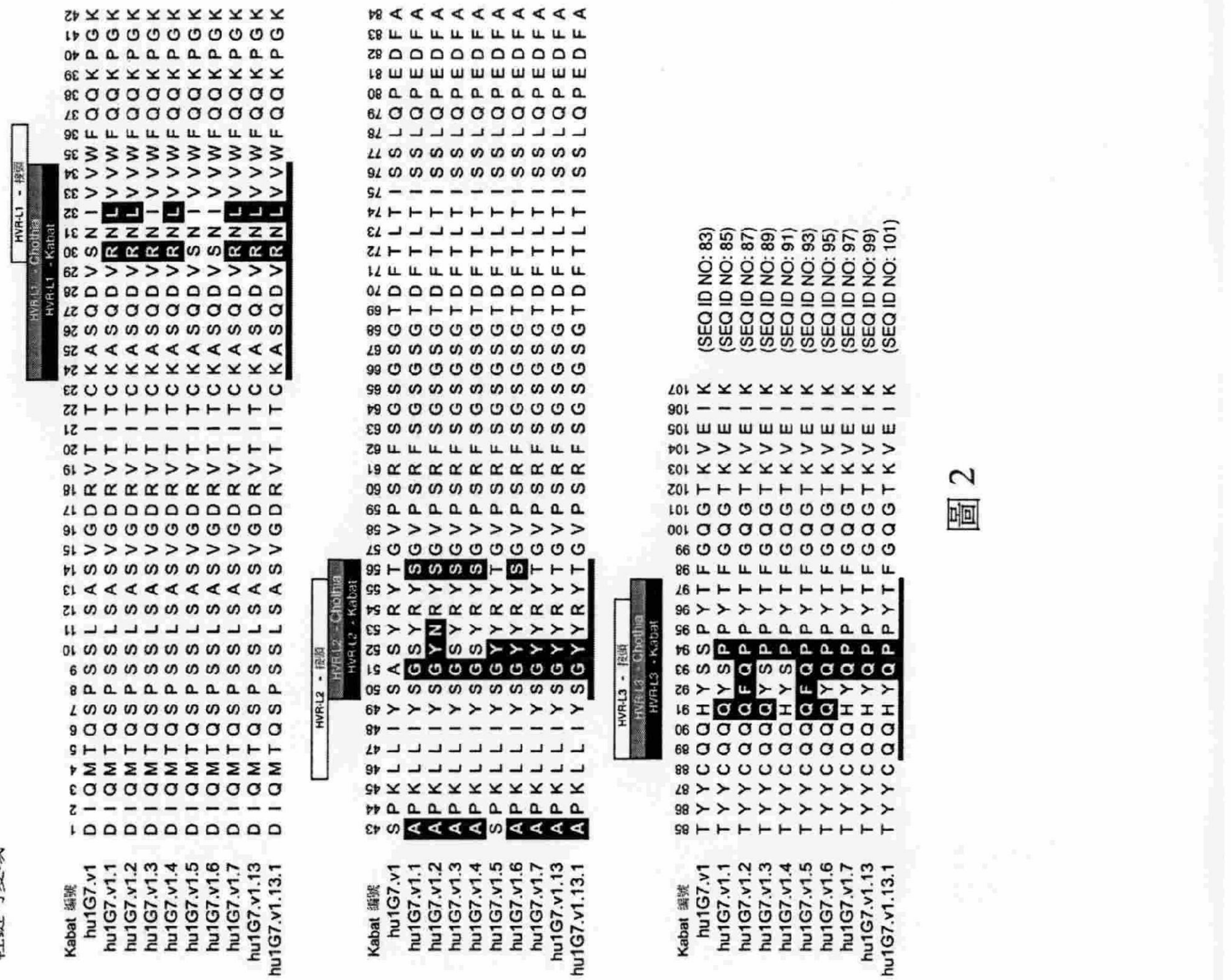
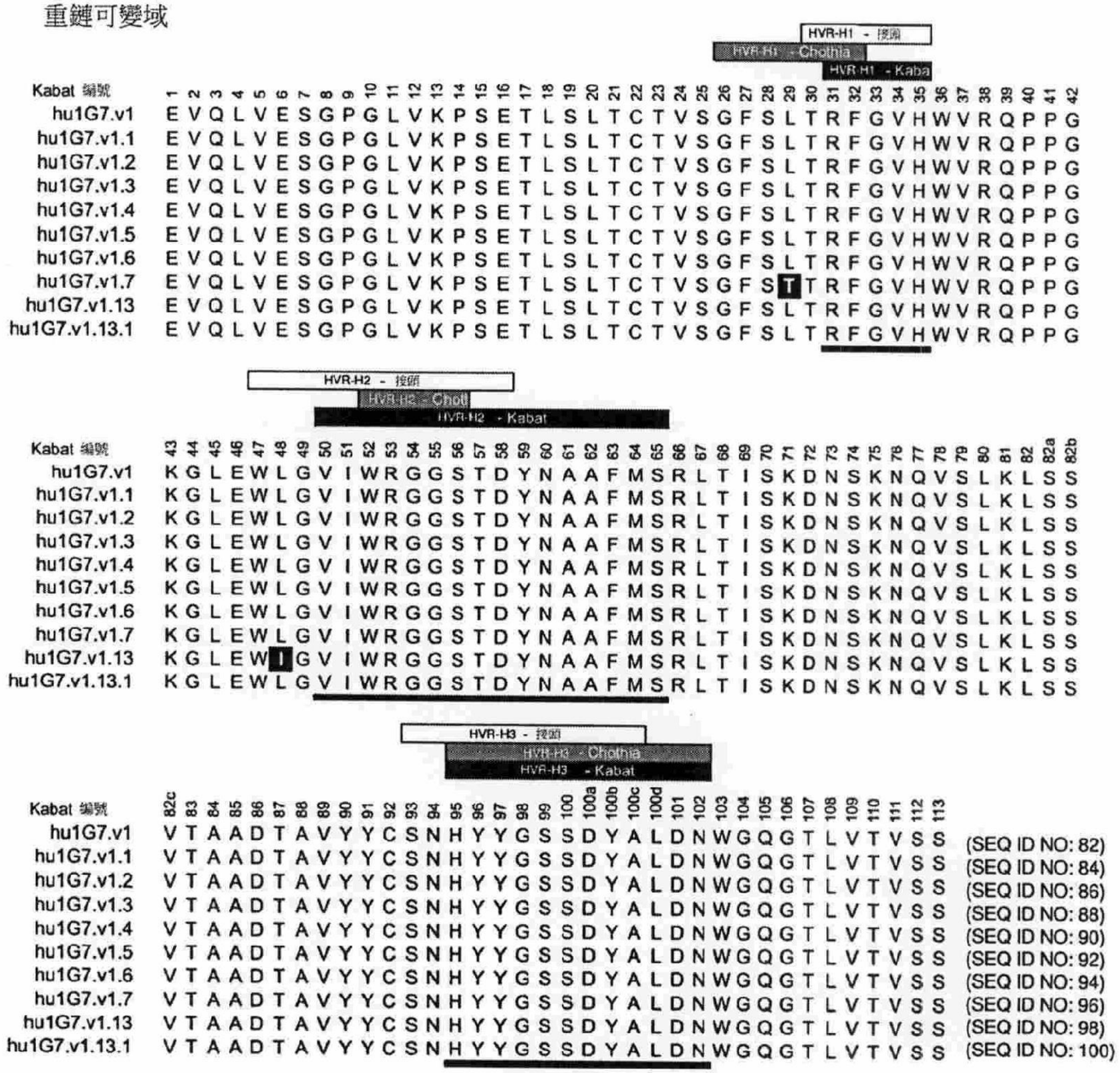

輕鏈可變域
HVR-L1 - 接頭
HVR-L1 - Chothia
HVR-L1 - Kabat
HVR-L2 - 接頭
HVR-L2 - Chothia
HVR-L2 - Kabat
HVR-L3 - 接頭
HVR-L3 - Chothia
HVR-L3 - Kabat
Kabat 編號
hu1G7.v1
hu1G7.v1.1
hu1G7.v1.2
hu1G7.v1.3
hu1G7.v1.4
hu1G7.v1.5
hu1G7.v1.6
hu1G7.v1.7
hu1G7.v1.13
hu1G7.v1.13.1
(SEQ ID NO: 83)
(SEQ ID NO: 85)
(SEQ ID NO: 87)
(SEQ ID NO: 89)
(SEQ ID NO: 91)
(SEQ ID NO: 93)
(SEQ ID NO: 95)
(SEQ ID NO: 97)
(SEQ ID NO: 99)
(SEQ ID NO: 101)

圖 2

C197586DA.pdf

重鏈可變域



Kabat 編號	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
hu1G7.v1	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.1	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.2	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.3	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.4	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.5	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.6	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.7	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	**T**	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.13	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G
hu1G7.v1.13.1	E	V	Q	L	V	E	S	G	P	G	L	V	K	P	S	E	T	L	S	L	T	C	T	V	S	G	F	S	L	T	R	F	G	V	H	W	V	R	Q	P	P	G

Kabat 編號	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	82a	82b
hu1G7.v1	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.1	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.2	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.3	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.4	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.5	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.6	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.7	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.13	K	G	L	E	W	**I**	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S
hu1G7.v1.13.1	K	G	L	E	W	L	G	V	I	W	R	G	G	S	T	D	Y	N	A	A	F	M	S	R	L	T	I	S	K	D	N	S	K	N	Q	V	S	L	K	L	S	S

Kabat 編號	82c	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	
hu1G7.v1	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 82)
hu1G7.v1.1	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 84)
hu1G7.v1.2	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 86)
hu1G7.v1.3	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 88)
hu1G7.v1.4	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 90)
hu1G7.v1.5	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 92)
hu1G7.v1.6	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 94)
hu1G7.v1.7	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 96)
hu1G7.v1.13	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 98)
hu1G7.v1.13.1	V	T	A	A	D	T	A	V	Y	Y	C	S	N	H	Y	Y	G	S	S	D	Y	A	L	D	N	W	G	Q	G	T	L	V	T	V	S	S	(SEQ ID NO: 100)

圖 3

VL 變異體

VH 變異體		v1	v1.3	**v1.4**	v1.5	v1.6	v1.7
	v1	27.0			2.0		
W52 突變	**W52F**	253.5	177.0	**119.0**	47.5	81.4	76.6
	W52Y	146.0	641.0	**131.0**	177.0	529.0	136.0
	W52L	103.0	239.0	**92.0**	125.0	250.0	129.0
	W52H	120.0	65.5	**60.4**	67.3	109.0	89.8
M64 突變	M64I	29.8	2.1	2.5	2.7	2.7	2.6
	M64V	27.4	2.5	**2.5***	2.5	2.7	2.5
	M64L	26.5	2.4	2.5	2.3	2.6	2.0
	M64F	25.9	2.2	2.5	1.4	2.6	2.4

* 1G7.v85

圖 4

C197586DA.pdf

重鏈可變域

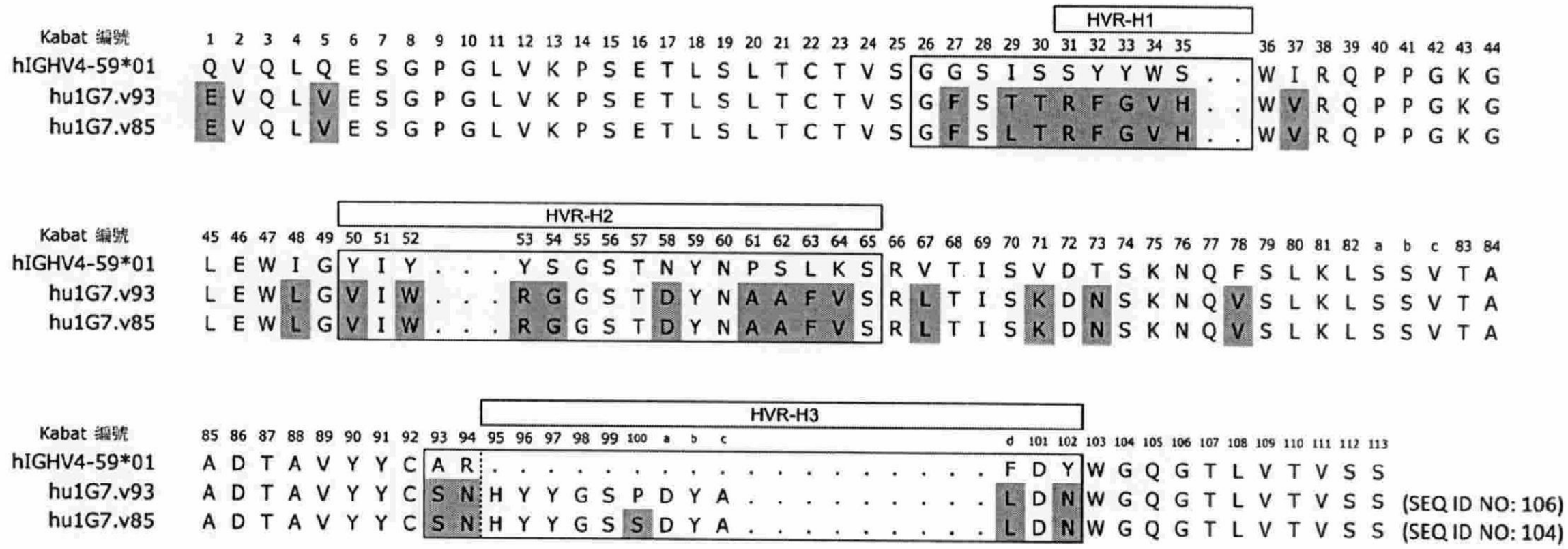


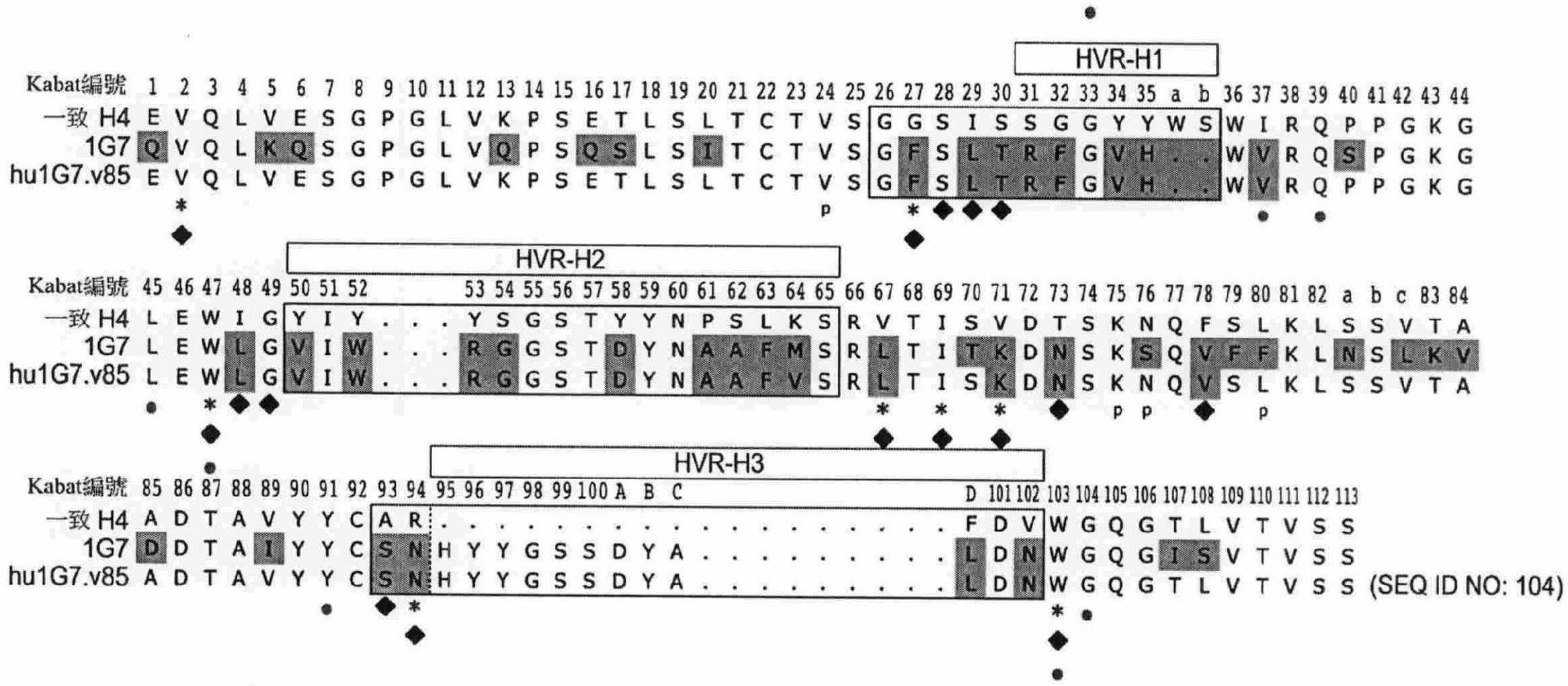
圖 5A

輕鏈可變域

| | | |

C197586DA.pdf

重鏈可變域



◆ Vernier位置：Foote及Winter JMB (1992) 224:487

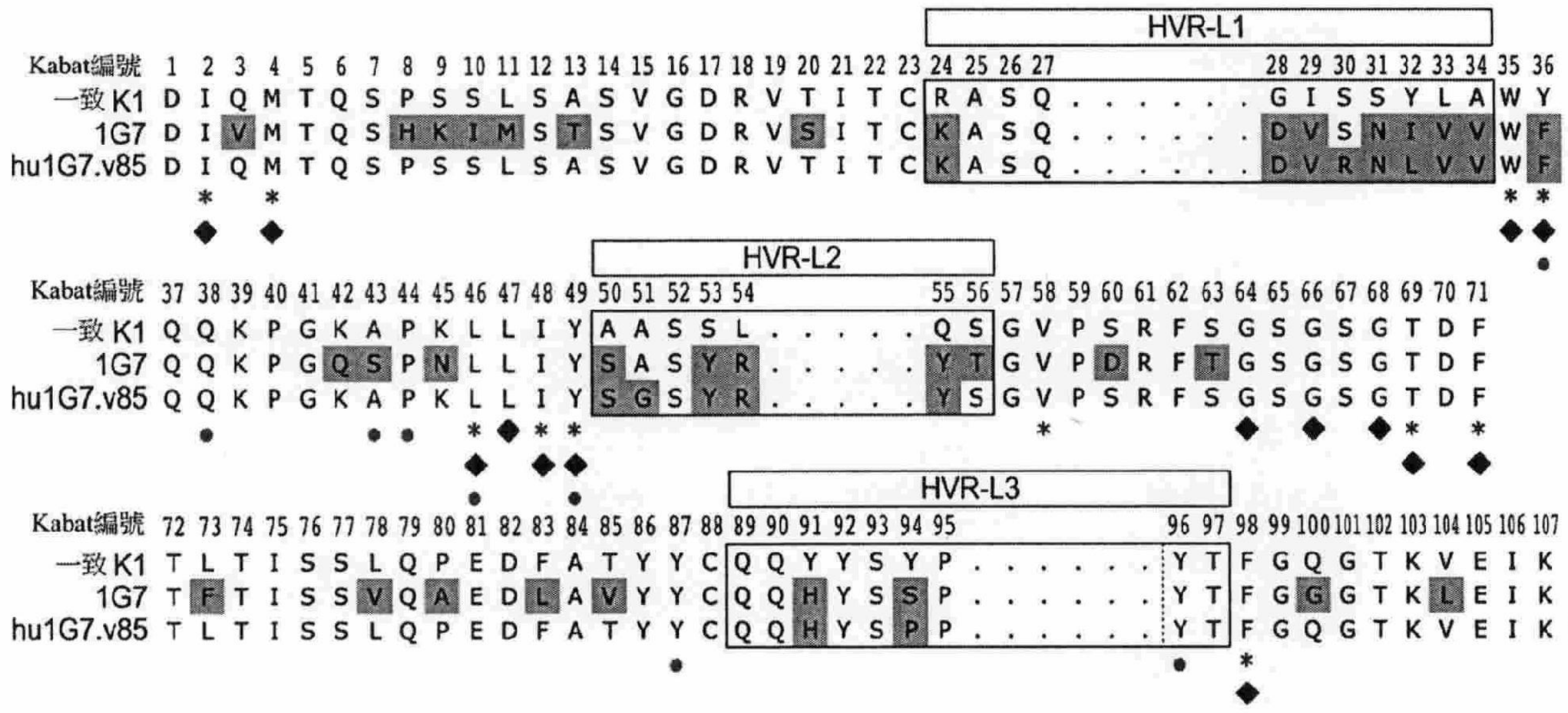
* FW-CDR相互作用：Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169

● VH-VL相互作用：Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169

圖 6A

C197586DA.pdf

輕鏈可變域



◆ Vernier位置：Foote及Winter JMB (1992) 224:487
* FW-CDR相互作用：Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169
● VH-VL相互作用：Padlan Mol. Immunol. (1994) 31:169

圖 6B

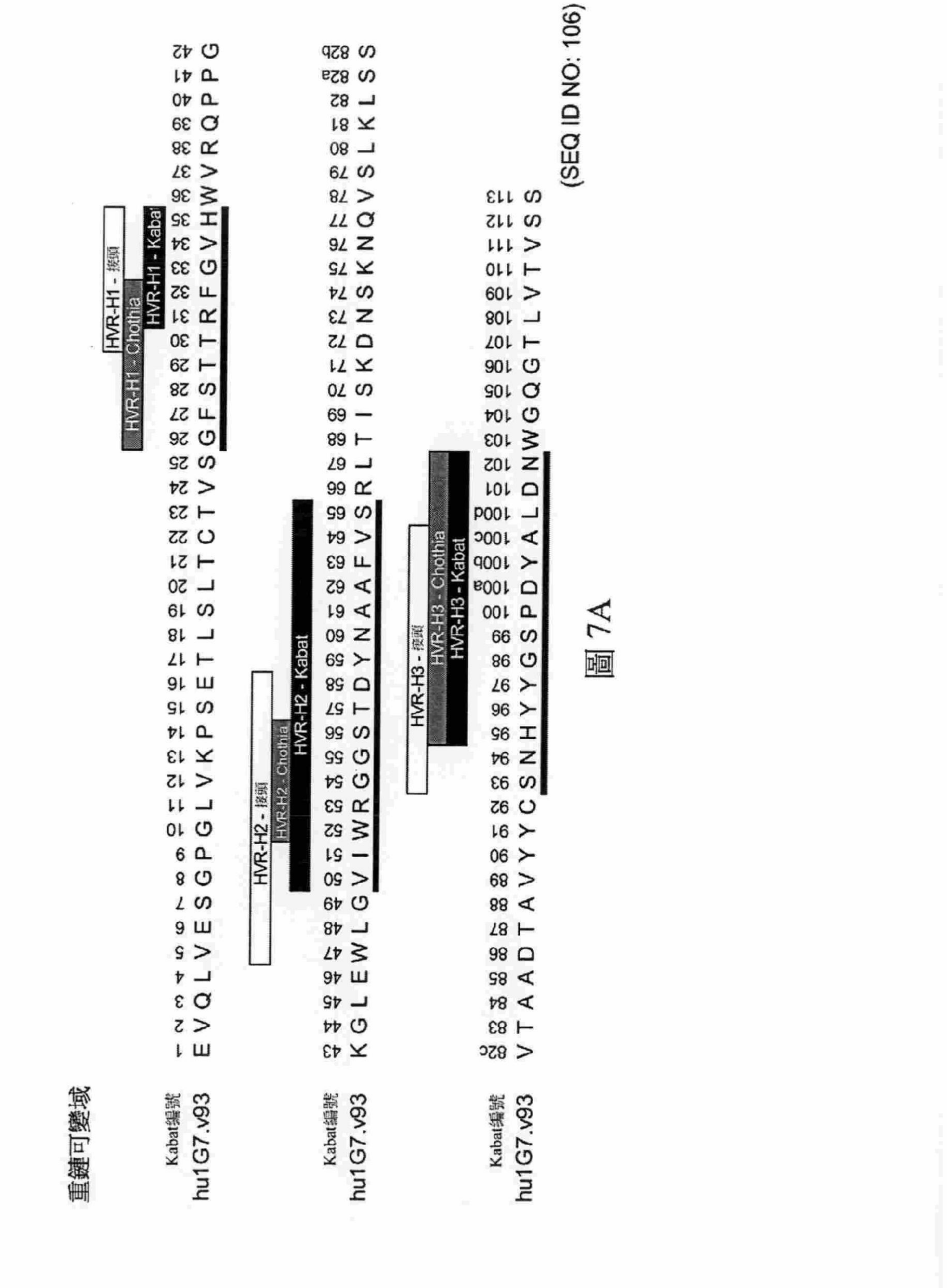
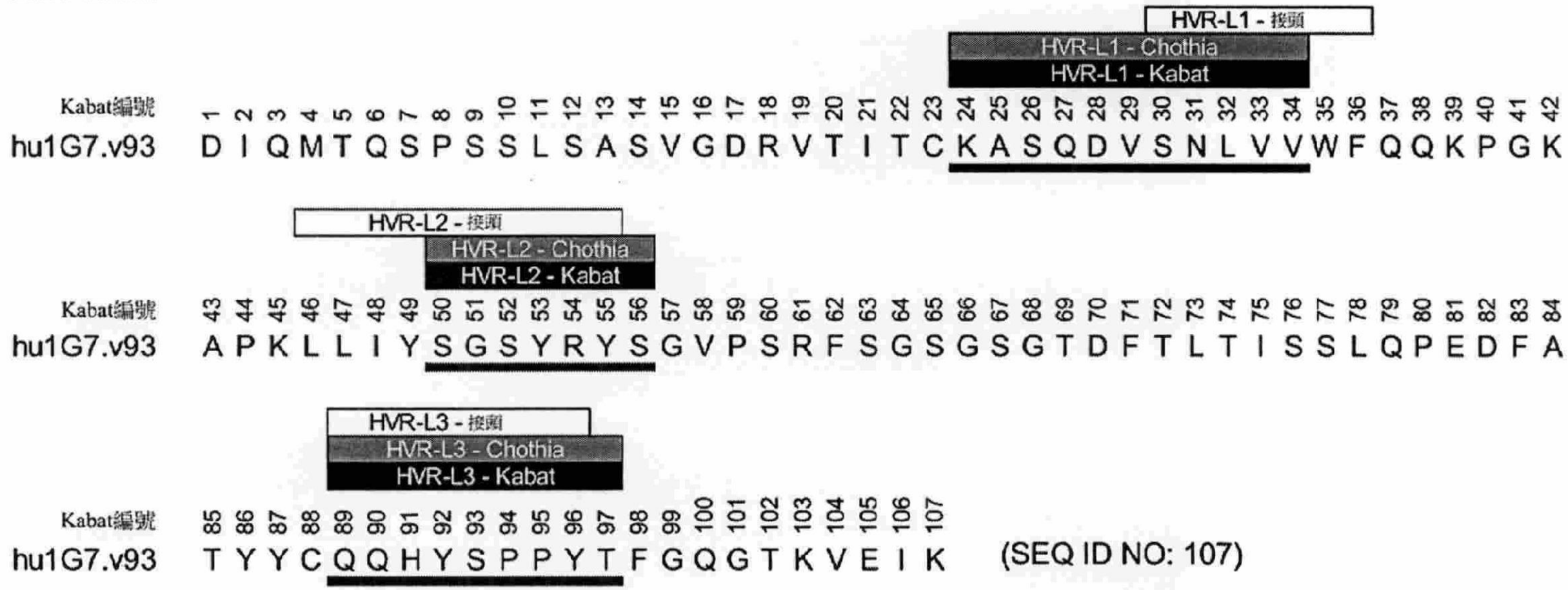

重鏈可變域
Kabat編號
hu1G7.v93
E V Q L V E S G P G
K G L E W L G V I W
V T A A D T A V Y Y
HVR-H1 - 接頭
HVR-H1 - Chothia
HVR-H1 - Kabat
HVR-H2 - 接頭
HVR-H2 - Chothia
HVR-H2 - Kabat
HVR-H3 - 接頭
HVR-H3 - Chothia
HVR-H3 - Kabat
(SEQ ID NO: 106)

圖 7A

C197586DA.pdf

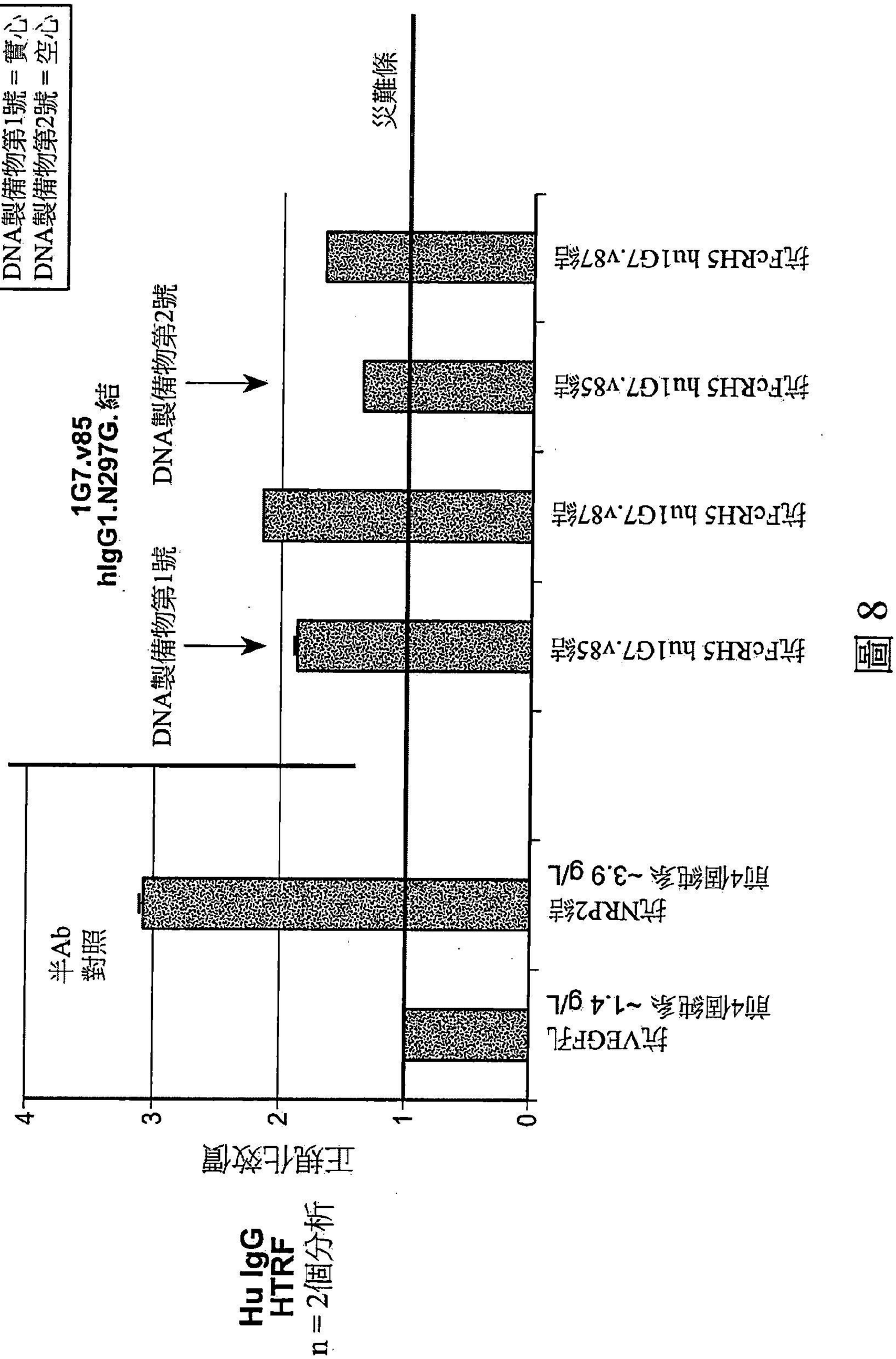
輕鏈可變域



(SEQ ID NO: 107)

圖 7B

圖 8


抗FcRH5 hu1G7.v87結
抗FcRH5 hu1G7.v85結
抗NRP2結
前4個純系 ~3.9 g/L
抗VEGFR
前4個純系 ~1.4 g/L
半Ab
對照
正規化效價
0
1
2
3
4
DNA製備物第1號
DNA製備物第2號
1G7.v85
hIgG1.N297G.結
災難條
抗FcRH5 hu1G7.v87結
抗FcRH5 hu1G7.v85結
n = 2個分析
DNA製備物第1號 = 實心
DNA製備物第2號 = 空心
Hu IgG
HTRF
n = 2個分析

C197586DA.pdf

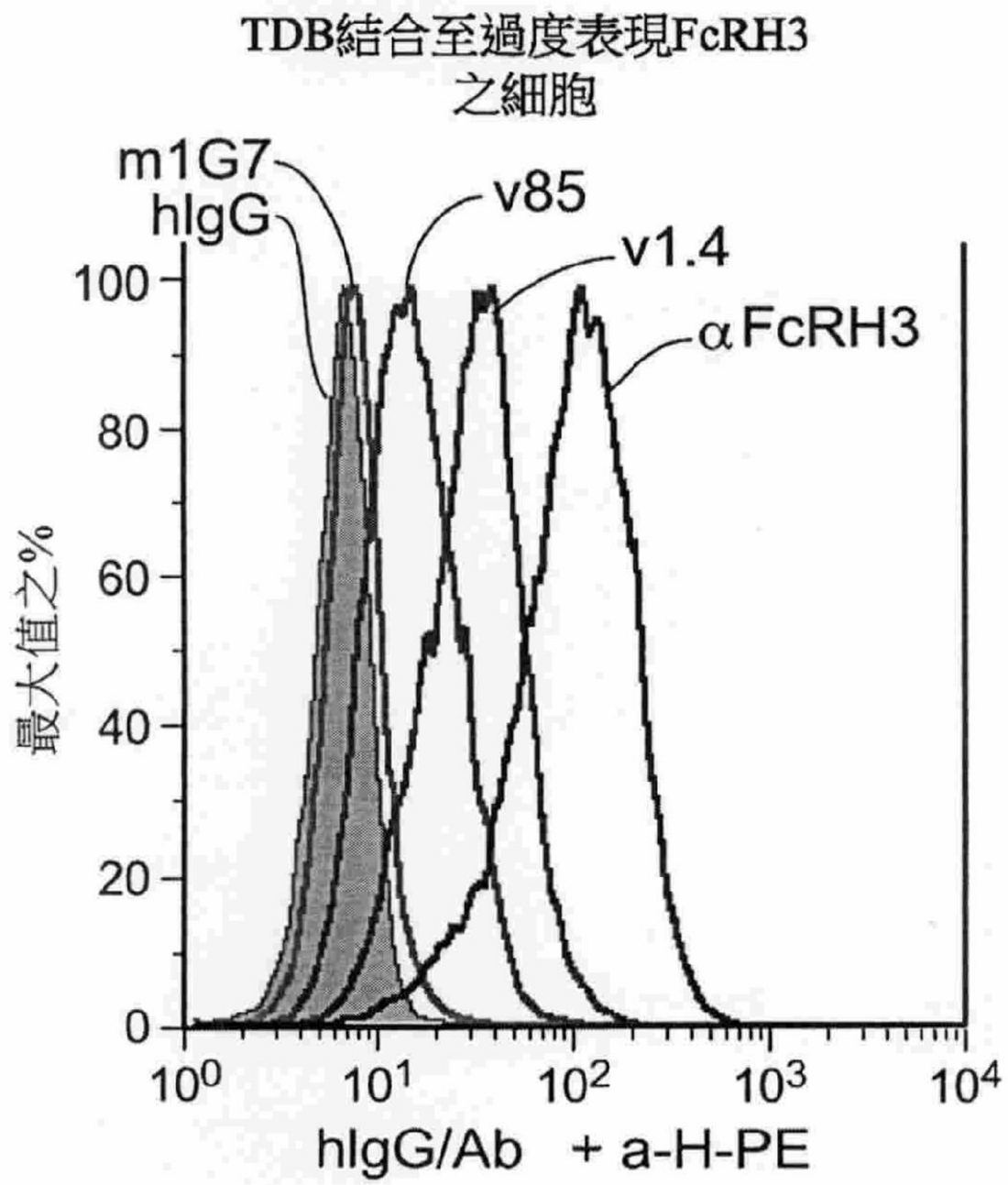


圖 9A

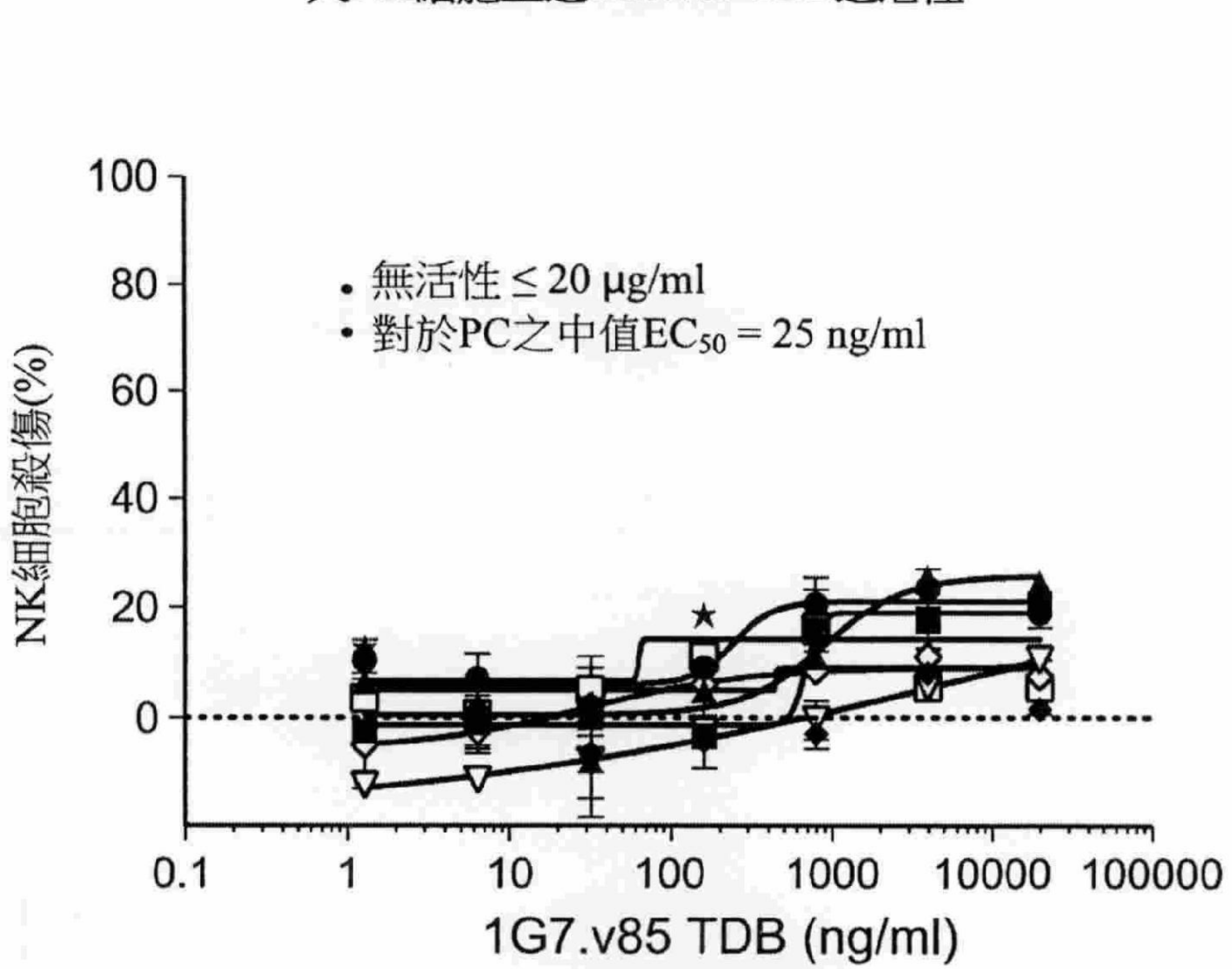


圖 9B

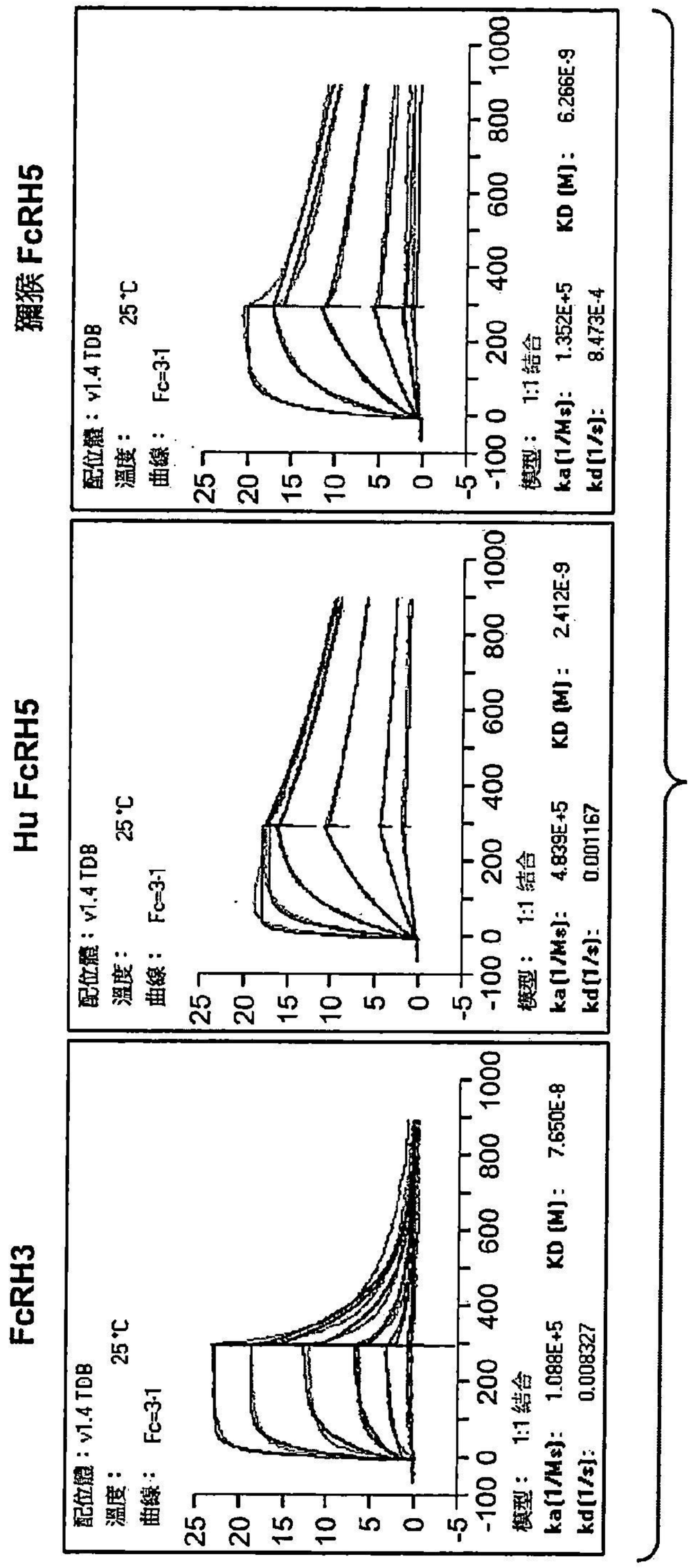

獼猴 FcRH5
配位體：v1.4 TDB
溫度： 25°C
曲線： Fc=3-1
25
20
15
10
5
0
-5
-100 0 200 400 600 800 1000
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 1.352E+5 KD (M): 6.266E-9
kd[1/s]: 8.473E-4
Hu FcRH5
配位體：v1.4 TDB
溫度： 25°C
曲線： Fc=3-1
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 4.839E+5 KD (M): 2.412E-9
kd[1/s]: 0.001167
FcRH3
配位體：v1.4 TDB
溫度： 25°C
曲線： Fc=3-1
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 1.088E+5 KD (M): 7.650E-8
kd[1/s]: 0.008327

圖 10A

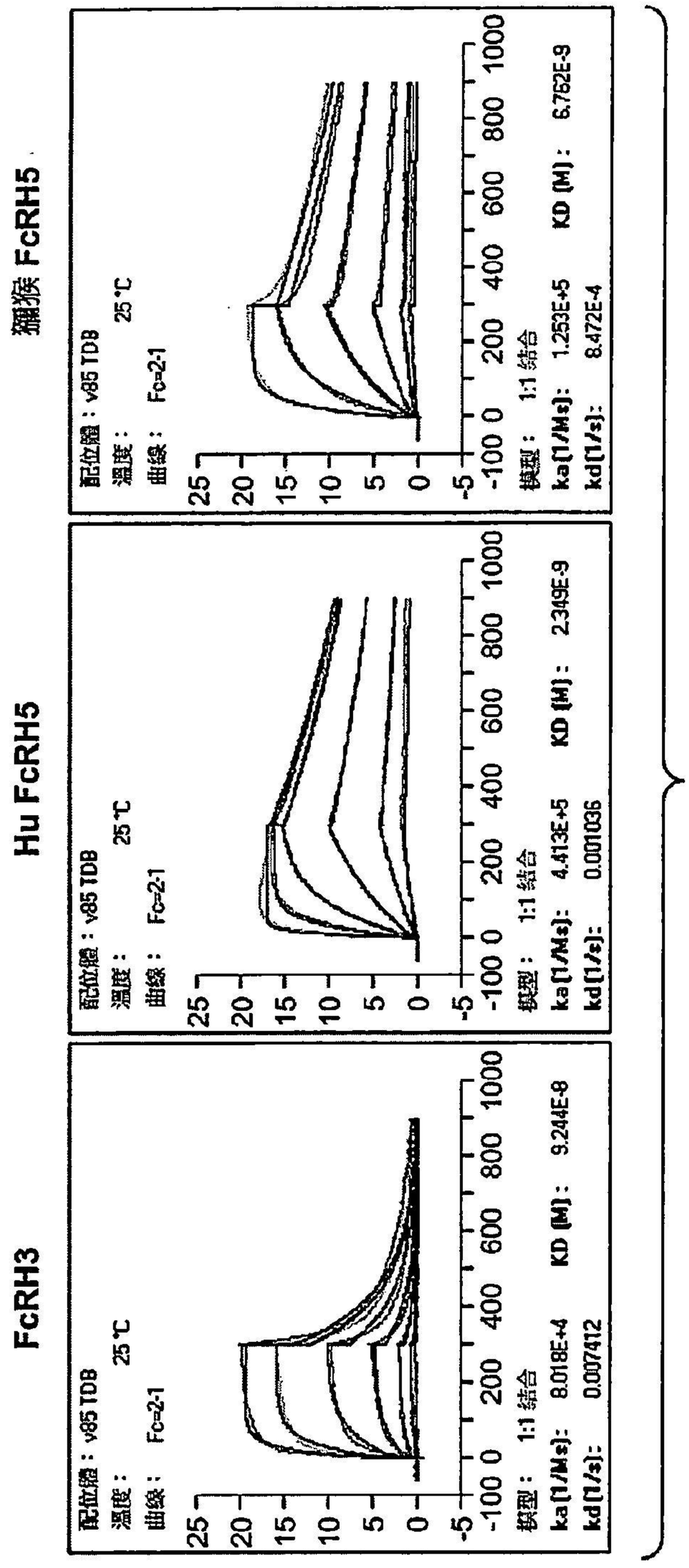

獼猴 FcRH5
配位體：v85 TDB
溫度： 25 °C
曲線： Fc=2-1
25
20
15
10
5
0
-5
-100 0 200 400 600 800 1000
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 1.253E+5
KD [M]: 6.752E-9
kd[1/s]: 8.472E-4
Hu FcRH5
配位體：v85 TDB
溫度： 25 °C
曲線： Fc=2-1
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 4.413E+5
KD [M]: 2.349E-9
kd[1/s]: 0.001036
FcRH3
配位體：v85 TDB
溫度： 25 °C
曲線： Fc=2-1
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 8.018E+4
KD [M]: 9.244E-8
kd[1/s]: 0.007412

圖 10B

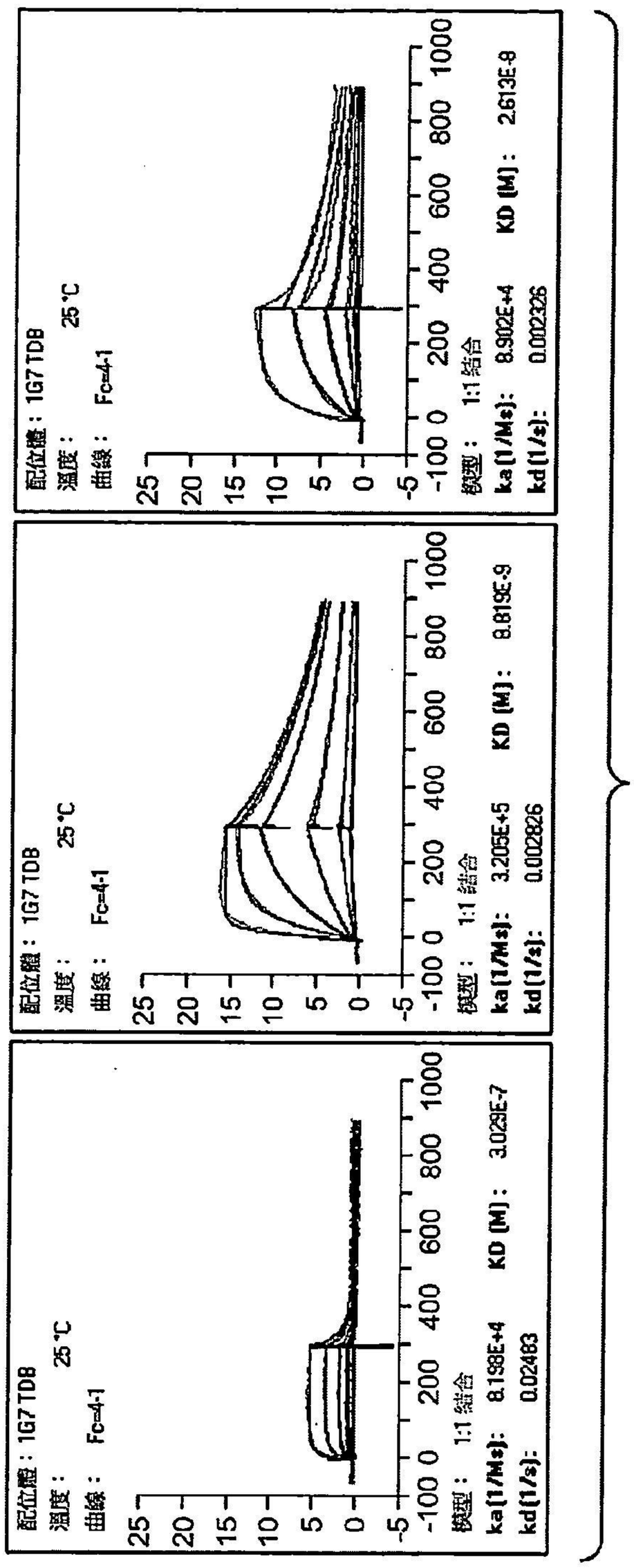

獼猴 FcRH5
配位體：1G7 TDB
溫度：25°C
曲線：Fc=4-1
模型：1:1 結合
ka(1/Ms): 8.902E+4
KD (M): 2.613E-8
kd(1/s): 0.0023326
Hu FcRH5
配位體：1G7 TDB
溫度：25°C
曲線：Fc=4-1
模型：1:1 結合
ka(1/Ms): 3.205E+5
KD (M): 8.815E-9
kd(1/s): 0.0002826
FcRH3
配位體：1G7 TDB
溫度：25°C
曲線：Fc=4-1
模型：1:1 結合
ka(1/Ms): 8.198E+4
KD (M): 3.029E-7
kd(1/s): 0.02483
25
20
15
10
5
0
-5
-100 0 200 400 600 800 1000

圖 10C

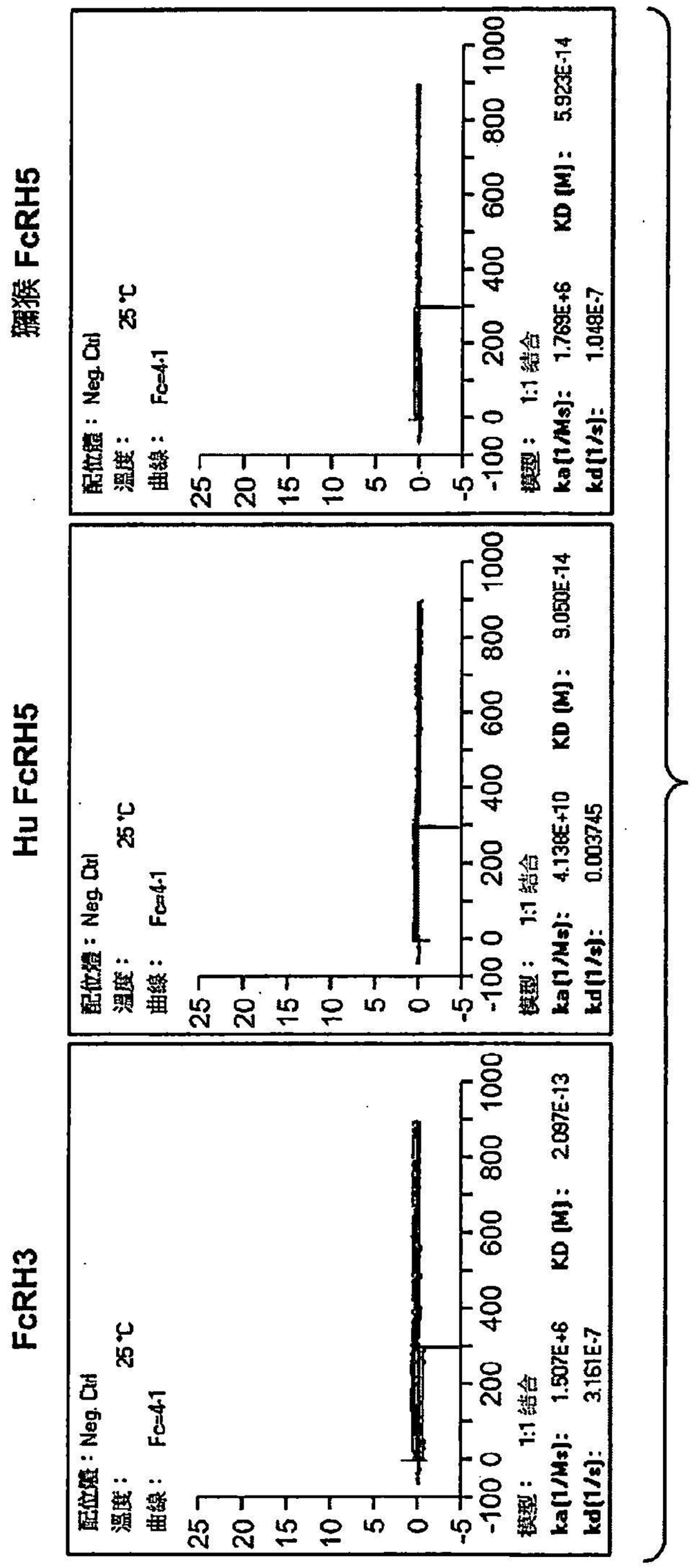

獼猴 FcRH5
配位體：Neg Ctrl
溫度：25℃
曲線：Fc=4:1
模型：1:1 結合
ka[1/Ms]: 1.769E+6
KD [M]: 5.923E-14
kd[1/s]: 1.048E-7
Hu FcRH5
配位體：Neg Ctrl
溫度：25℃
曲線：Fc=4:1
模型：1:1 結合
ka[1/Ms]: 4.138E+10
KD [M]: 9.050E-14
kd[1/s]: 0.003745
FcRH3
配位體：Neg Ctrl
溫度：25℃
曲線：Fc=4:1
模型：1:1 結合
ka[1/Ms]: 1.507E+6
KD [M]: 2.097E-13
kd[1/s]: 3.161E-7
25
20
15
10
5
0
-5
-100 0 200 400 600 800 1000

圖 10D

重鏈可變域

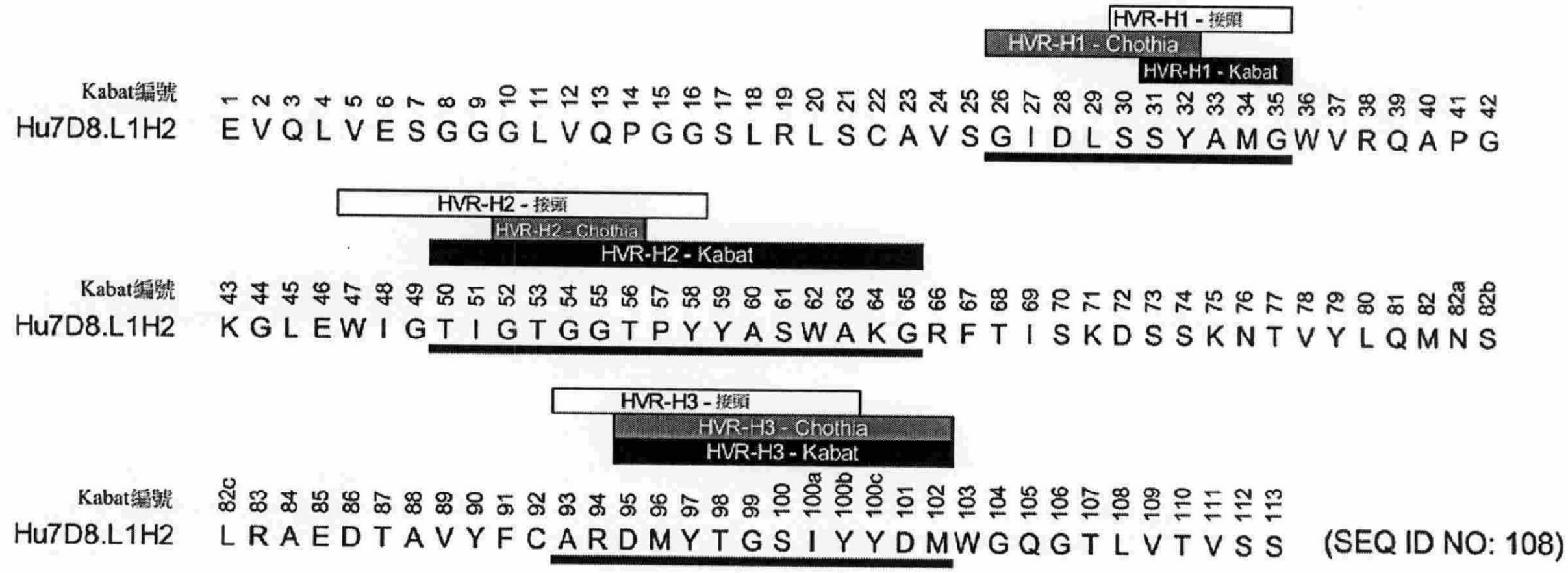

HVR-H1 - 接頭
HVR-H1 - Chothia
HVR-H1 - Kabat
Kabat編號
Hu7D8.L1H2
E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G I D L S S Y A M G W V R Q A P G
HVR-H2 - 接頭
HVR-H2 - Chothia
HVR-H2 - Kabat
Kabat編號
Hu7D8.L1H2
K G L E W I G T I G T G G T P Y Y A S W A K G R F T I S K D S S K N T V Y L Q M N S
HVR-H3 - 接頭
HVR-H3 - Chothia
HVR-H3 - Kabat
Kabat編號
Hu7D8.L1H2
L R A E D T A V Y F C A R D M Y T G S I Y Y D M W G Q G T L V T V S S
(SEQ ID NO: 108)

圖 11A

輕鏈可變域

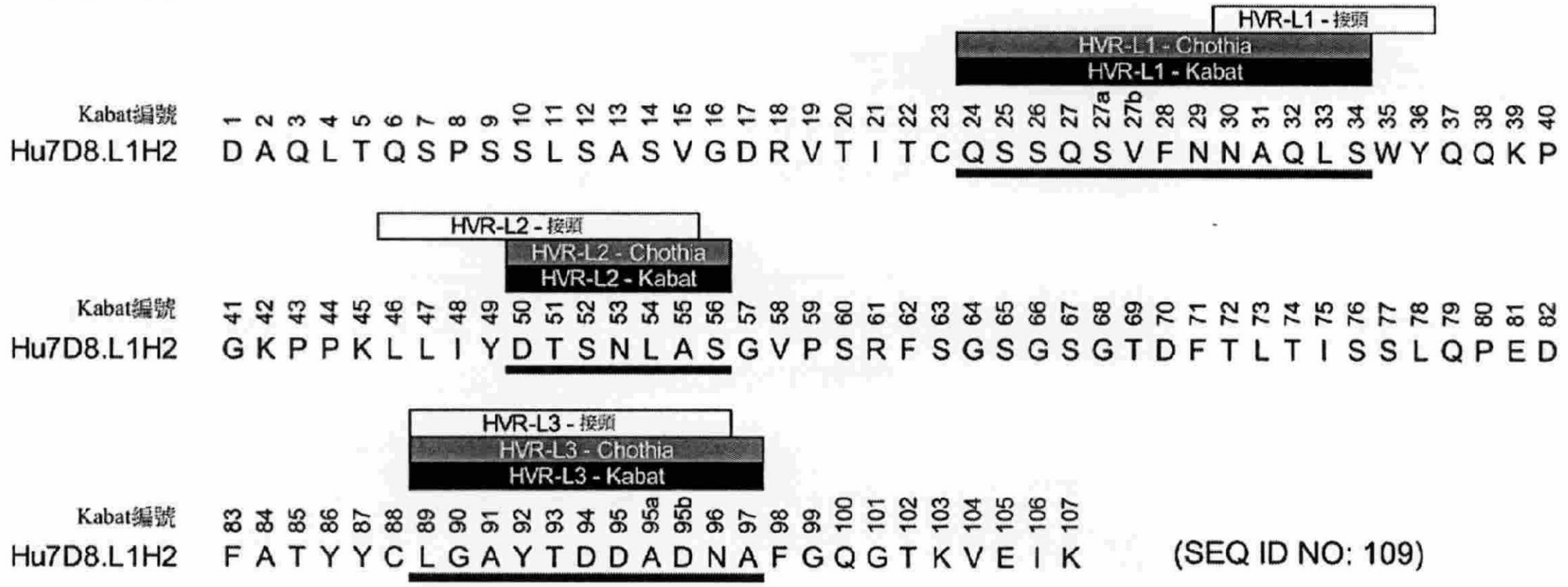

HVR-L1 - 接頭
HVR-L1 - Chothia
HVR-L1 - Kabat
Kabat編號
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 27a 27b 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40
Hu7D8.L1H2
D A Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C Q S S Q S V F N N A Q L S W Y Q Q K P
HVR-L2 - 接頭
HVR-L2 - Chothia
HVR-L2 - Kabat
Kabat編號
41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82
Hu7D8.L1H2
G K P P K L L I Y D T S N L A S G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P E D
HVR-L3 - 接頭
HVR-L3 - Chothia
HVR-L3 - Kabat
Kabat編號
83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 95a 95b 96 97 98 99 100 101 102 103 104 105 106 107
Hu7D8.L1H2
F A T Y Y C L G A Y T D D A D N A F G Q G T K V E I K
(SEQ ID NO: 109)

圖 11B

C197586DA.pdf

重鏈可變域

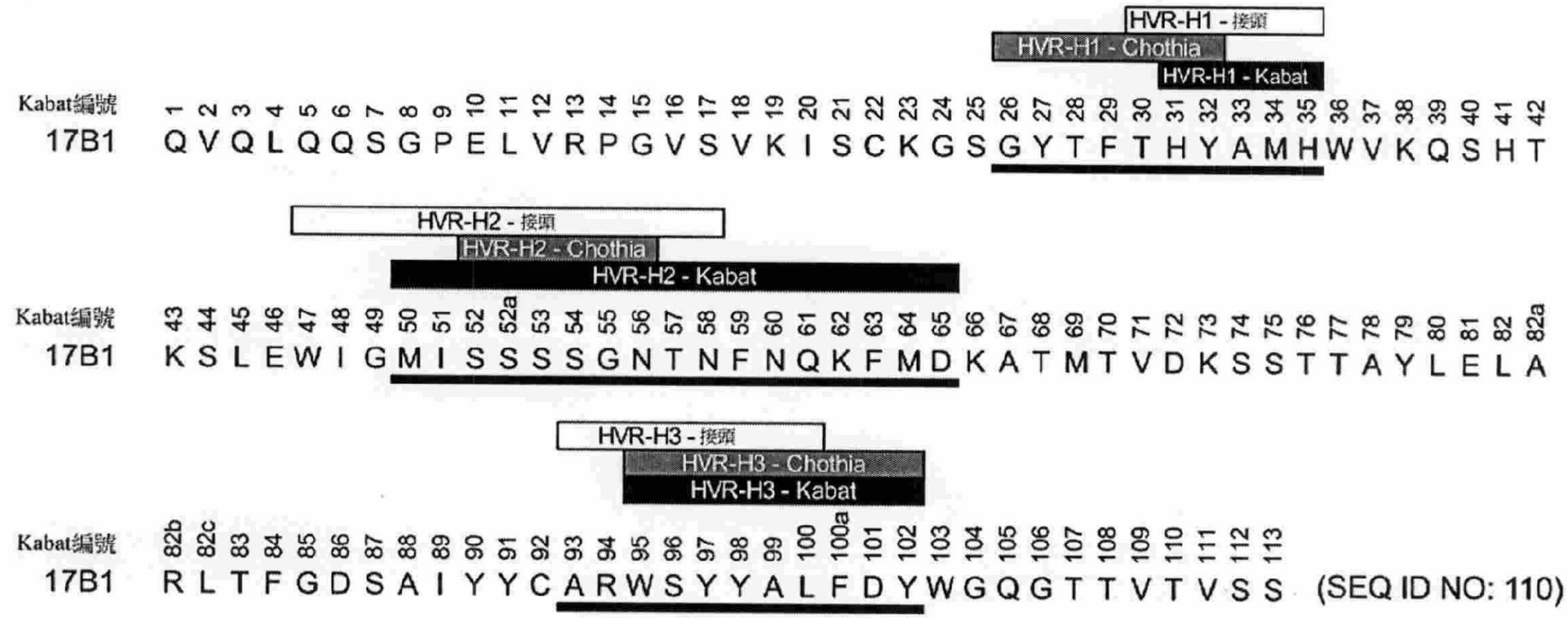
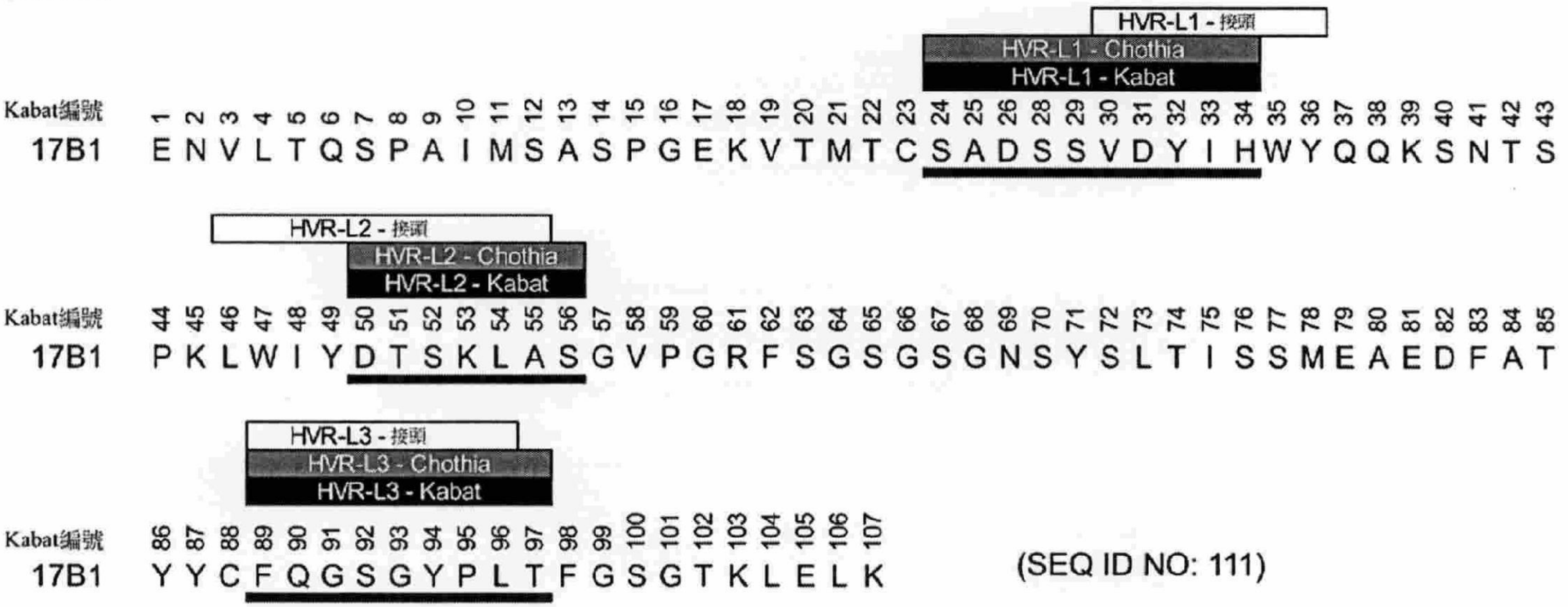


圖 12A

輕鏈可變域

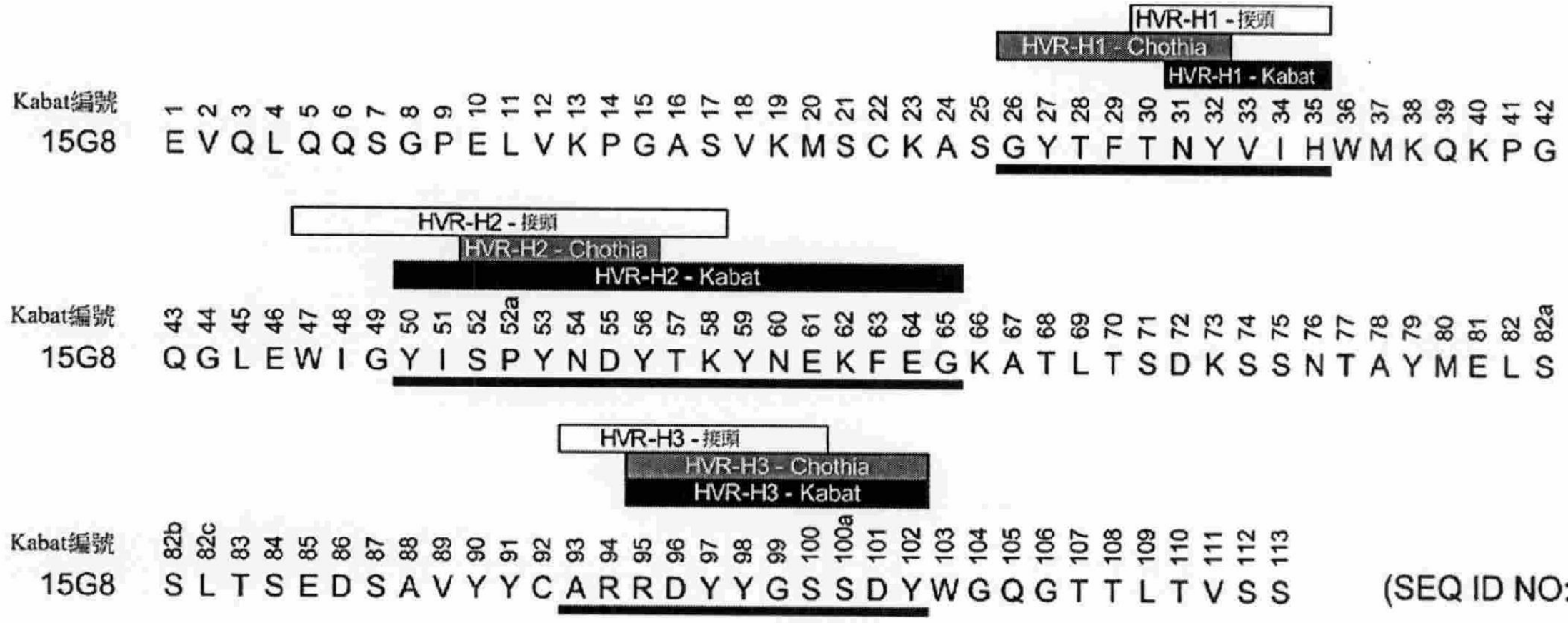


(SEQ ID NO: 111)

圖 12B

C197586DA.pdf

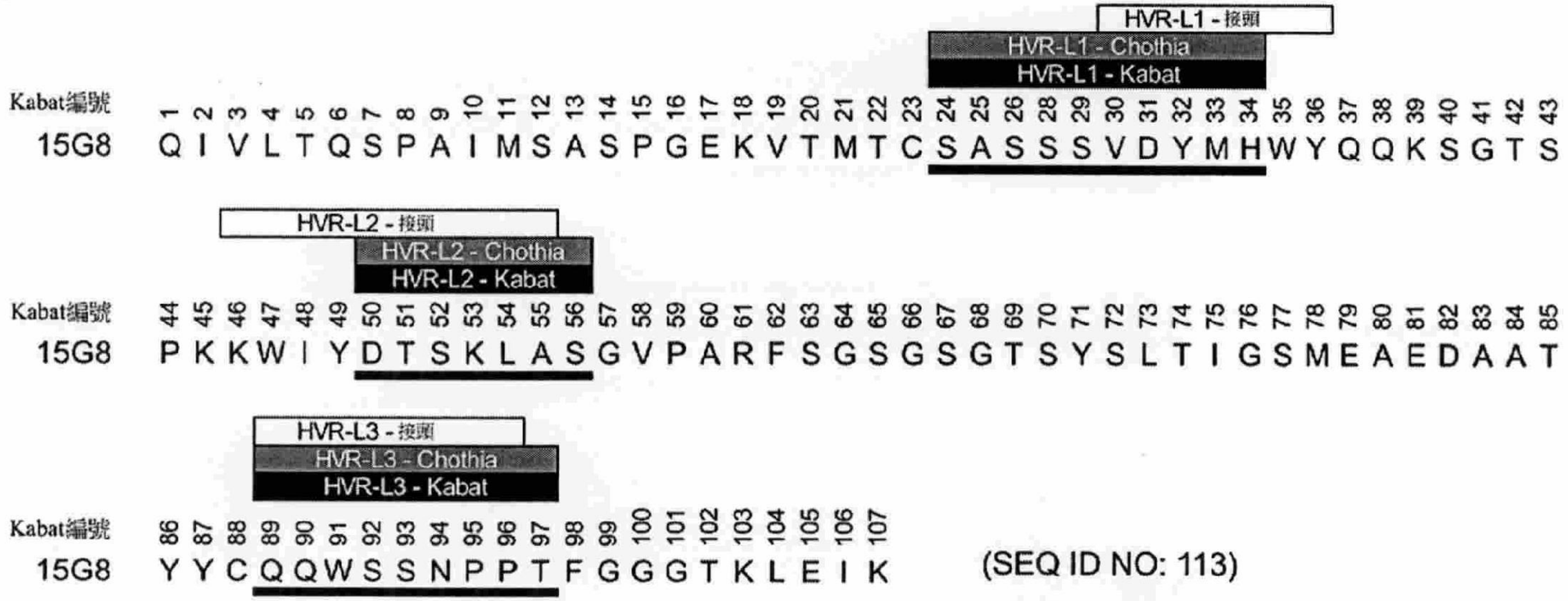
重鏈可變域



(SEQ ID NO: 112)

圖 13A

輕鏈可變域



(SEQ ID NO: 113)

圖 13B

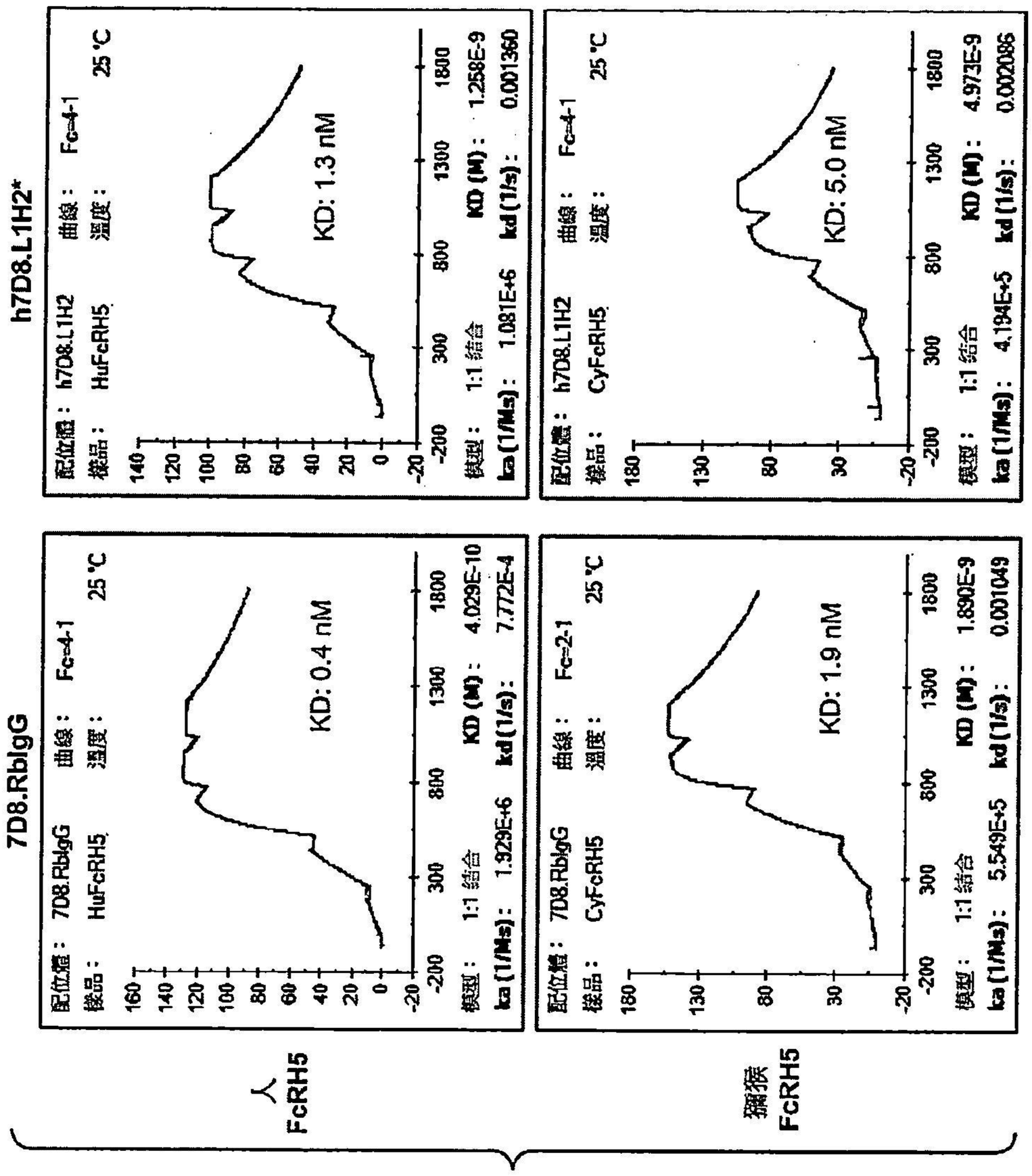

h7D8.L1H2*
配位體： h7D8.L1H2 曲線： Fc=4-1
樣品： HuFcRH5 溫度： 25 °C
KD: 1.3 nM
模型： 1:1 結合 KD (M): 1.258E-9
ka (1/Ms): 1.081E+6 kd (1/s): 0.001360
配位體： h7D8.L1H2 曲線： Fc=4-1
樣品： CyFcRH5 溫度： 25 °C
KD: 5.0 nM
模型： 1:1 結合 KD (M): 4.973E-9
ka (1/Ms): 4.194E+5 kd (1/s): 0.002086
7D8.RbIgG
配位體： 7D8.RbIgG 曲線： Fc=4-1
樣品： HuFcRH5 溫度： 25 °C
KD: 0.4 nM
模型： 1:1 結合 KD (M): 4.029E-10
ka (1/Ms): 1.929E+6 kd (1/s): 7.772E-4
配位體： 7D8.RbIgG 曲線： Fc=2-1
樣品： CyFcRH5 溫度： 25 °C
KD: 1.9 nM
模型： 1:1 結合 KD (M): 1.890E-9
ka (1/Ms): 5.549E+5 kd (1/s): 0.001049
人 FcRH5
獼猴 FcRH5

圖 14

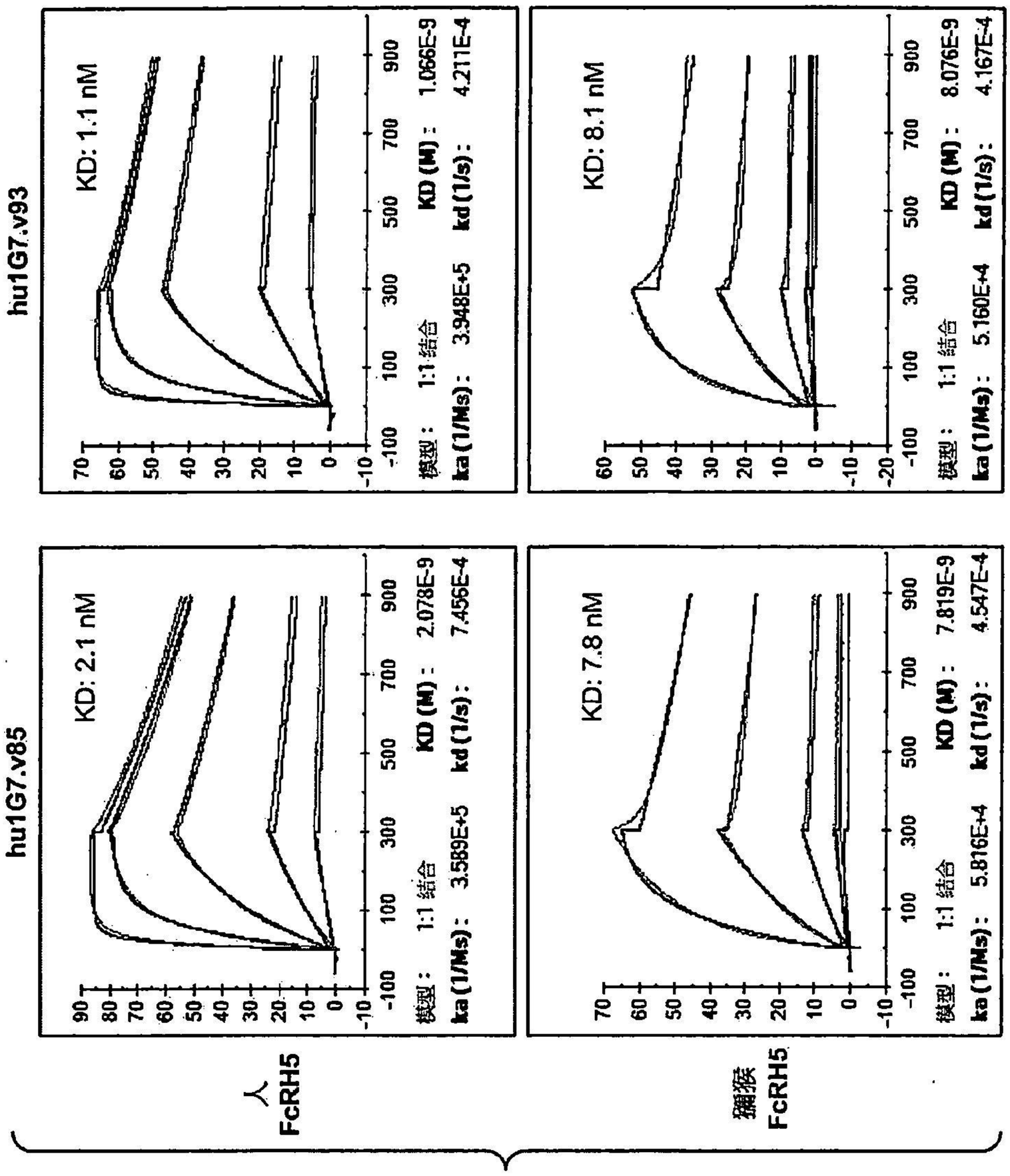

hu1G7.v93
KD: 1.1 nM
模型： 1:1 結合
ka (1/Ms): 3.948E+5
KD (M): 1.066E-9
kd (1/s): 4.211E-4
KD: 8.1 nM
模型： 1:1 結合
ka (1/Ms): 5.160E+4
KD (M): 8.076E-9
kd (1/s): 4.167E-4
hu1G7.v85
KD: 2.1 nM
模型： 1:1 結合
ka (1/Ms): 3.589E+5
KD (M): 2.078E-9
kd (1/s): 7.456E-4
KD: 7.8 nM
模型： 1:1 結合
ka (1/Ms): 5.816E+4
KD (M): 7.819E-9
kd (1/s): 4.547E-4
人 FcRH5
獼猴 FcRH5

圖 15

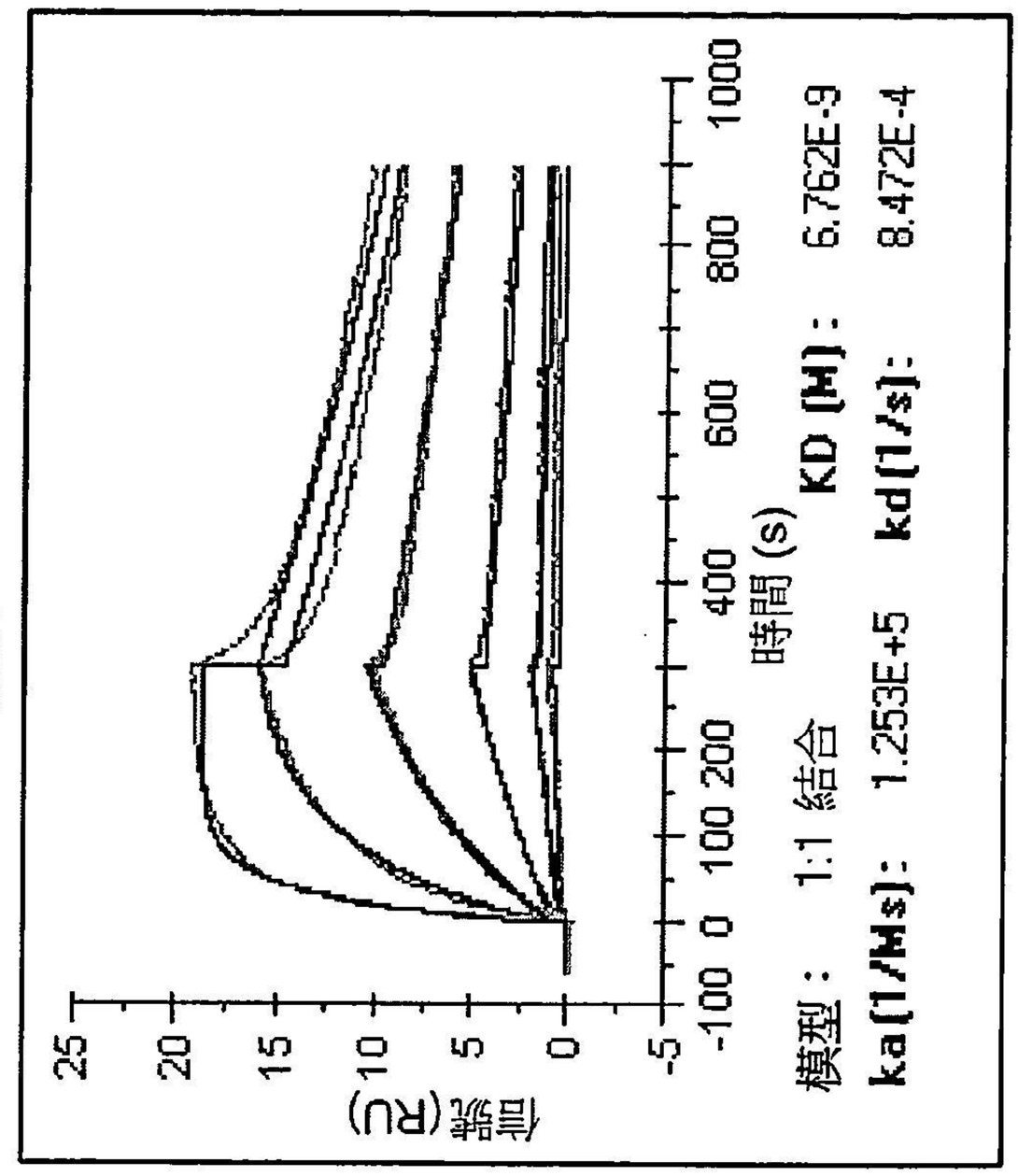

1G7.v85 TDB
獼猴 FcRH5
信號(RU)
時間 (s)
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 1.253E+5
KD [M]: 6.762E-9
kd[1/s]: 8.472E-4

圖 16B

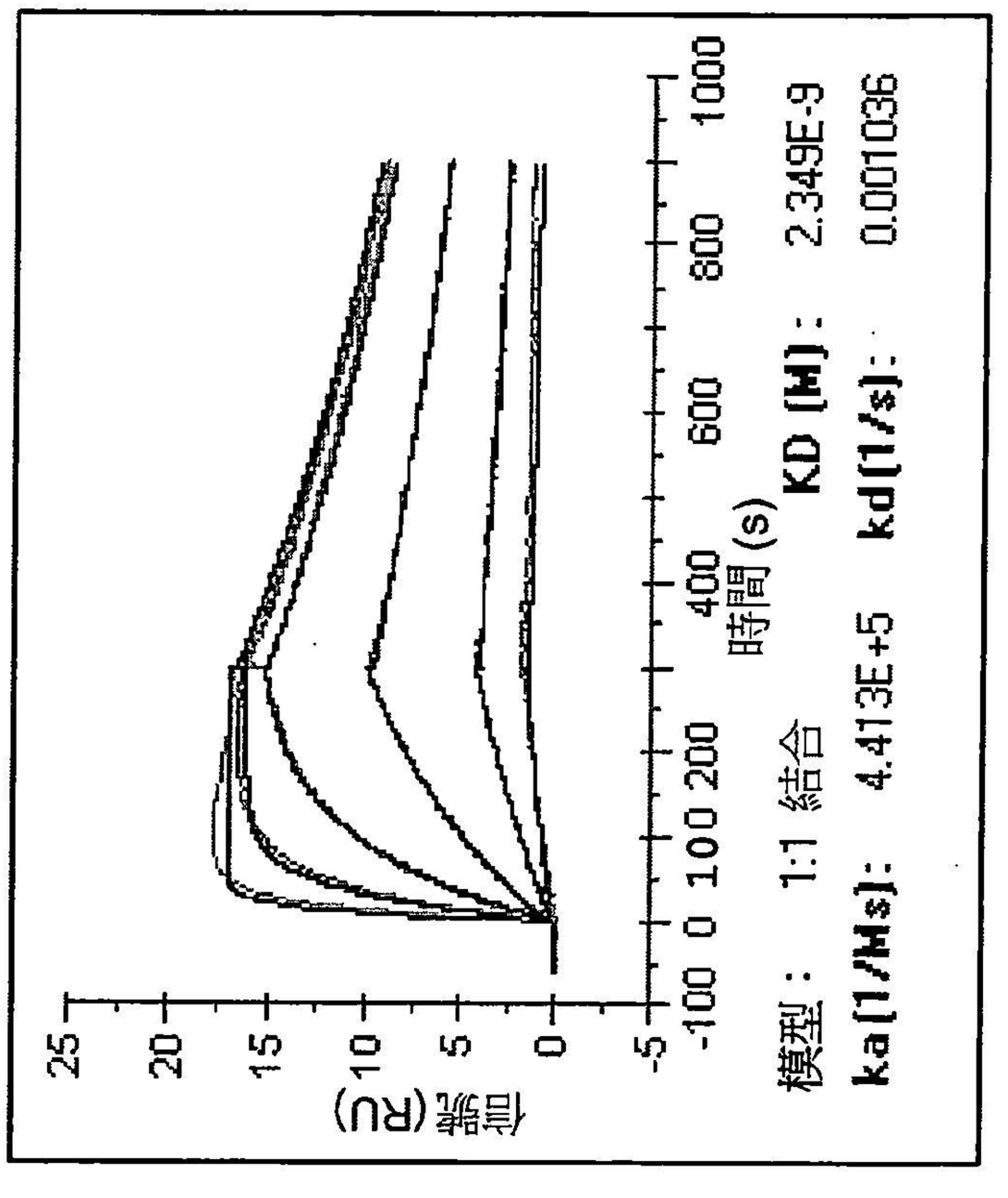

1G7.v85 TDB
Hu FcRH5
信號(RU)
時間 (s)
模型： 1:1 結合
ka[1/Ms]: 4.413E+5
KD [M]: 2.349E-9
kd[1/s]: 0.00103

圖 16A

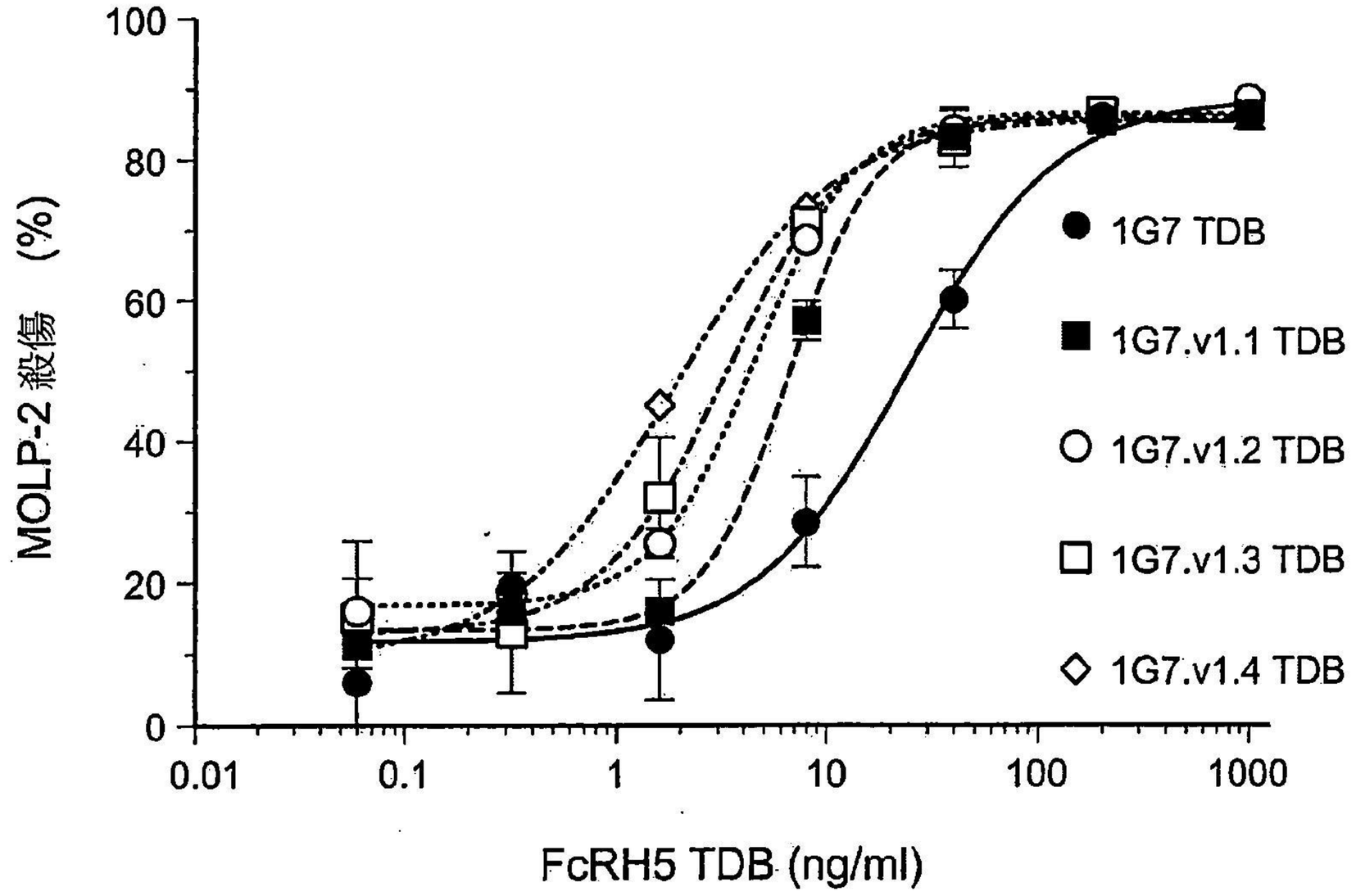

MOLP-2 殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
FcRH5 TDB (ng/ml)
1G7 TDB
1G7.v1.1 TDB
1G7.v1.2 TDB
1G7.v1.3 TDB
1G7.v1.4 TDB

圖 17A

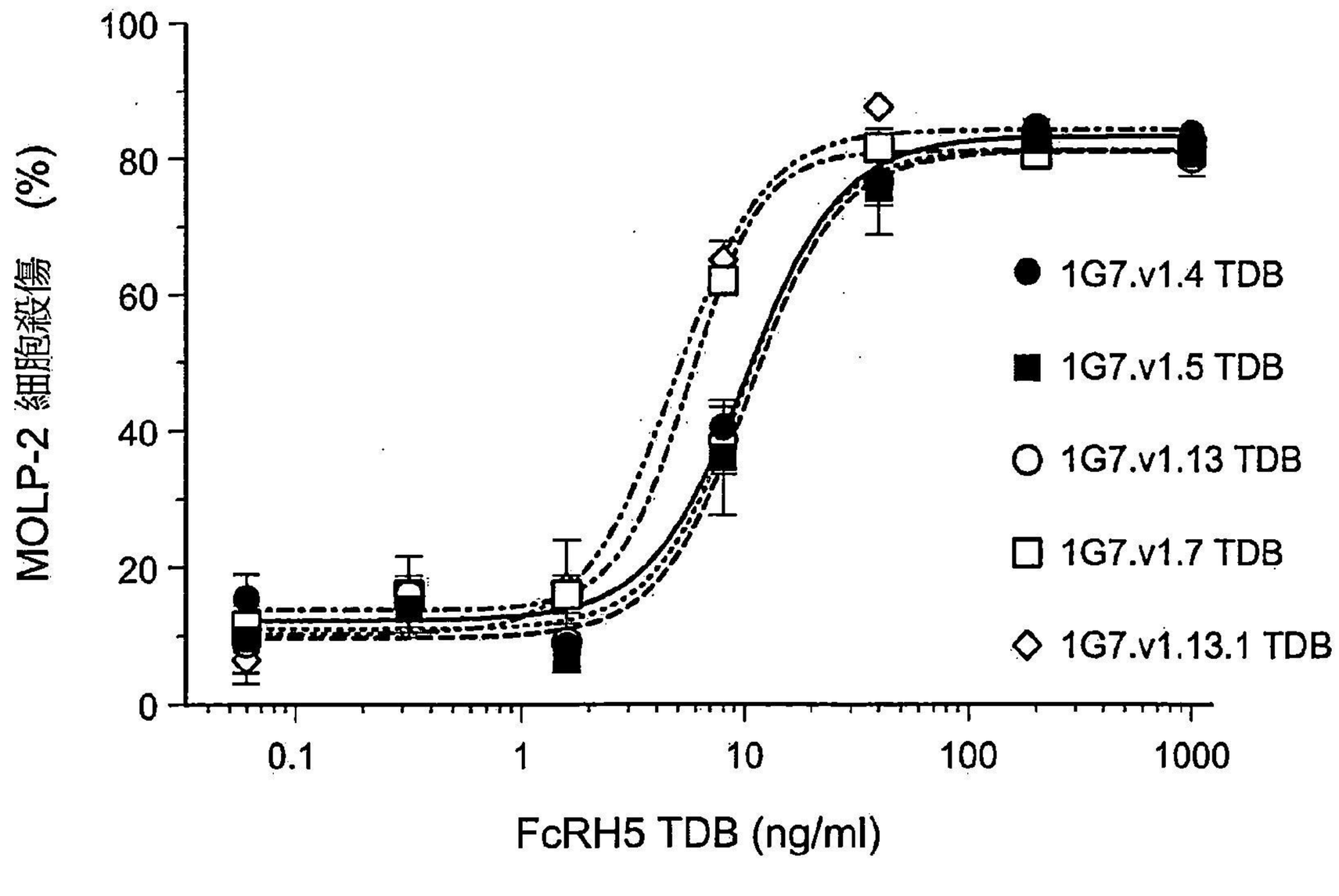

MOLP-2 細胞殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
FcRH5 TDB (ng/ml)
1G7.v1.4 TDB
1G7.v1.5 TDB
1G7.v1.13 TDB
1G7.v1.7 TDB
1G7.v1.13.1 TDB

圖 17B

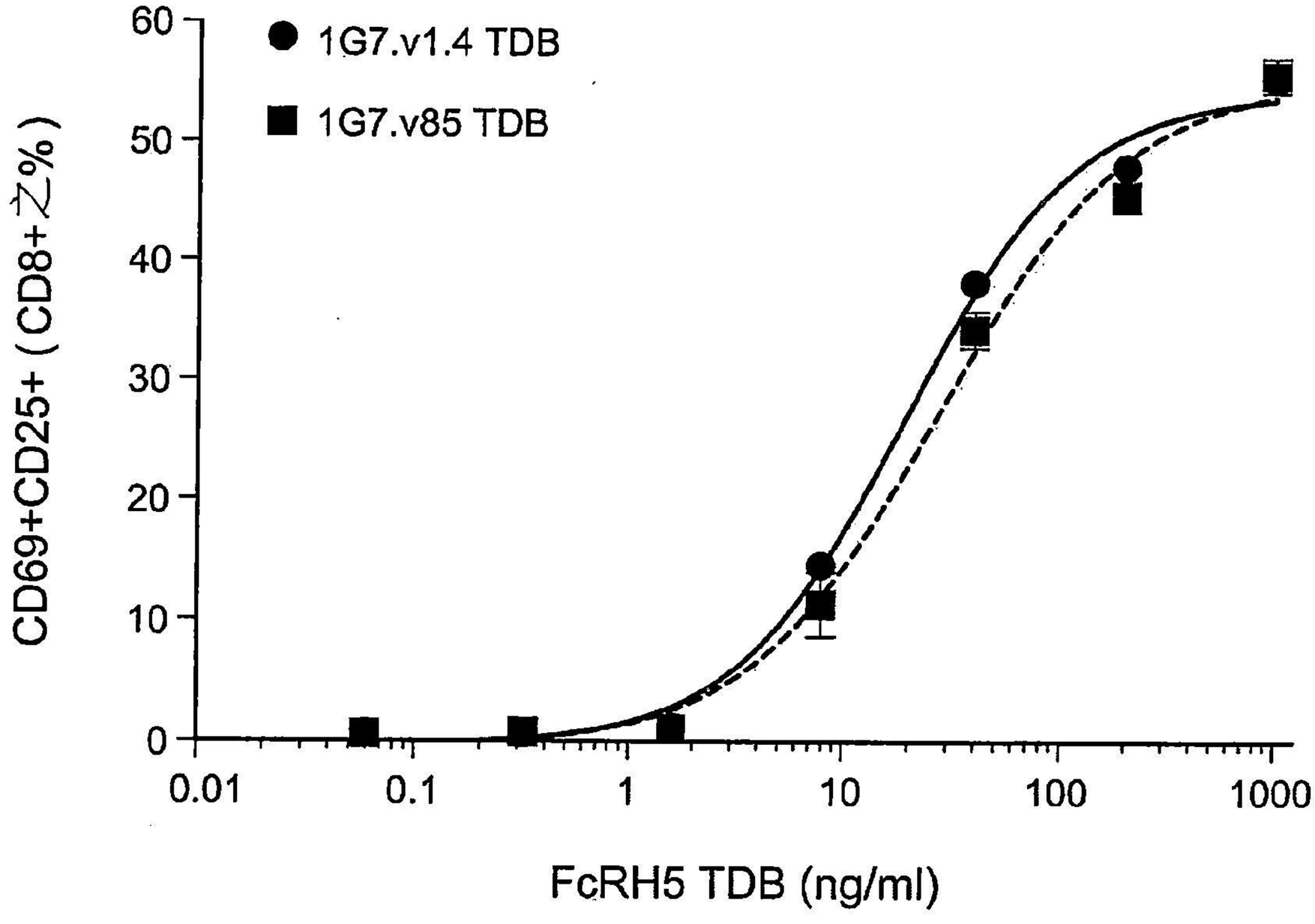

1G7.v1.4 TDB
1G7.v85 TDB
CD69+CD25+ (CD8+之%)
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 18A

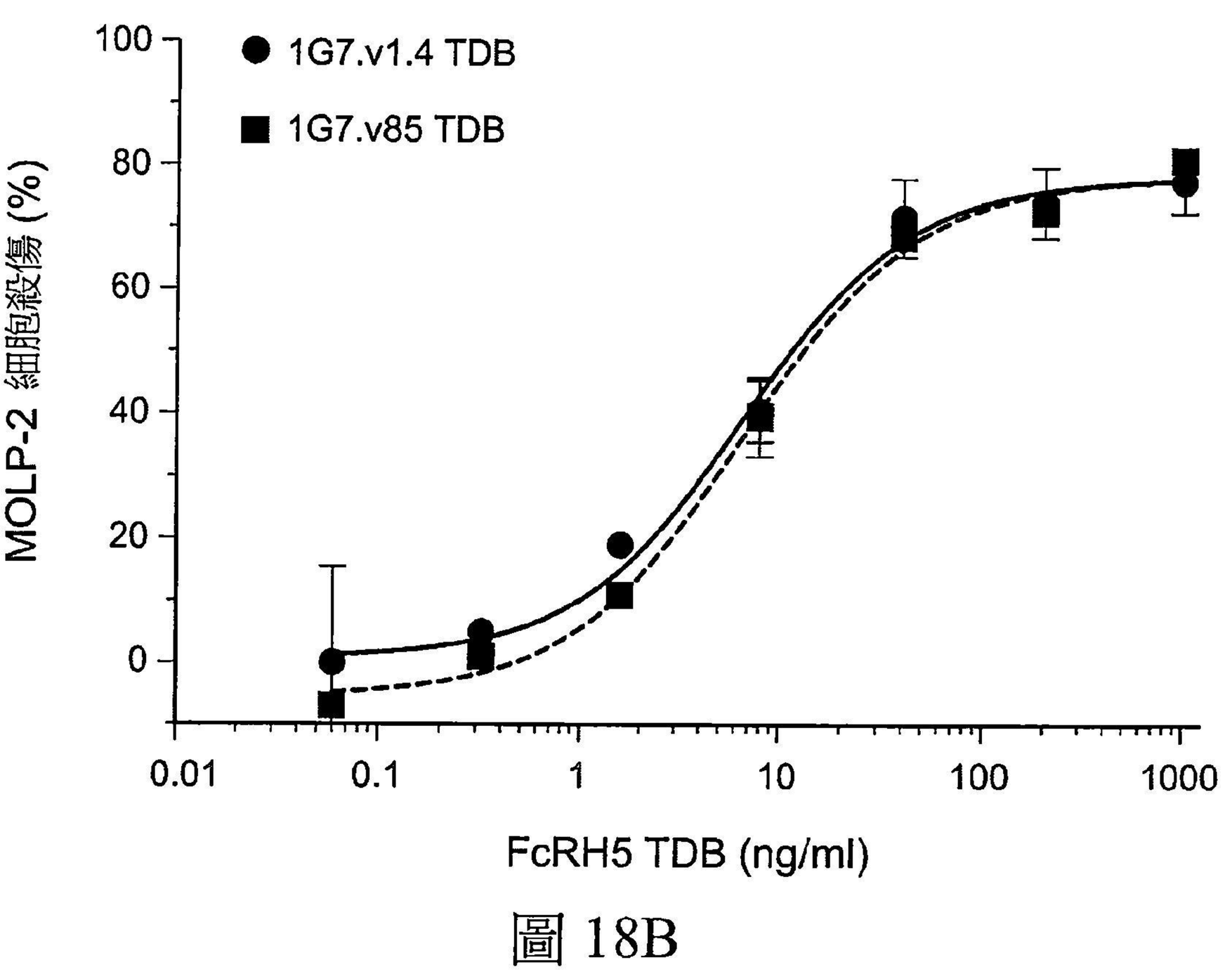

1G7.v1.4 TDB
1G7.v85 TDB
MOLP-2 細胞殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 18B

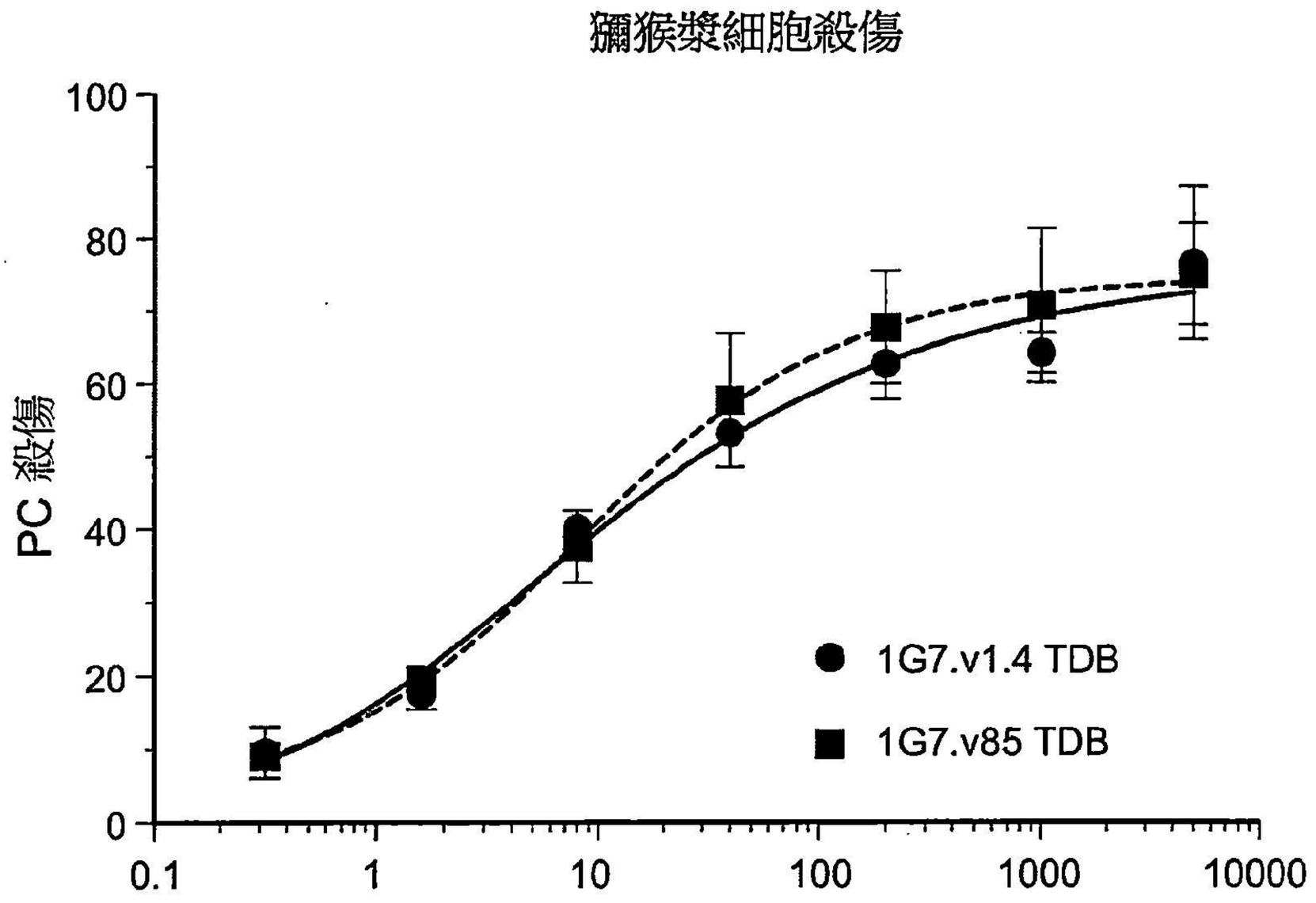

獼猴漿細胞殺傷
PC 殺傷
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
1G7.v1.4 TDB
1G7.v85 TDB
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 18C

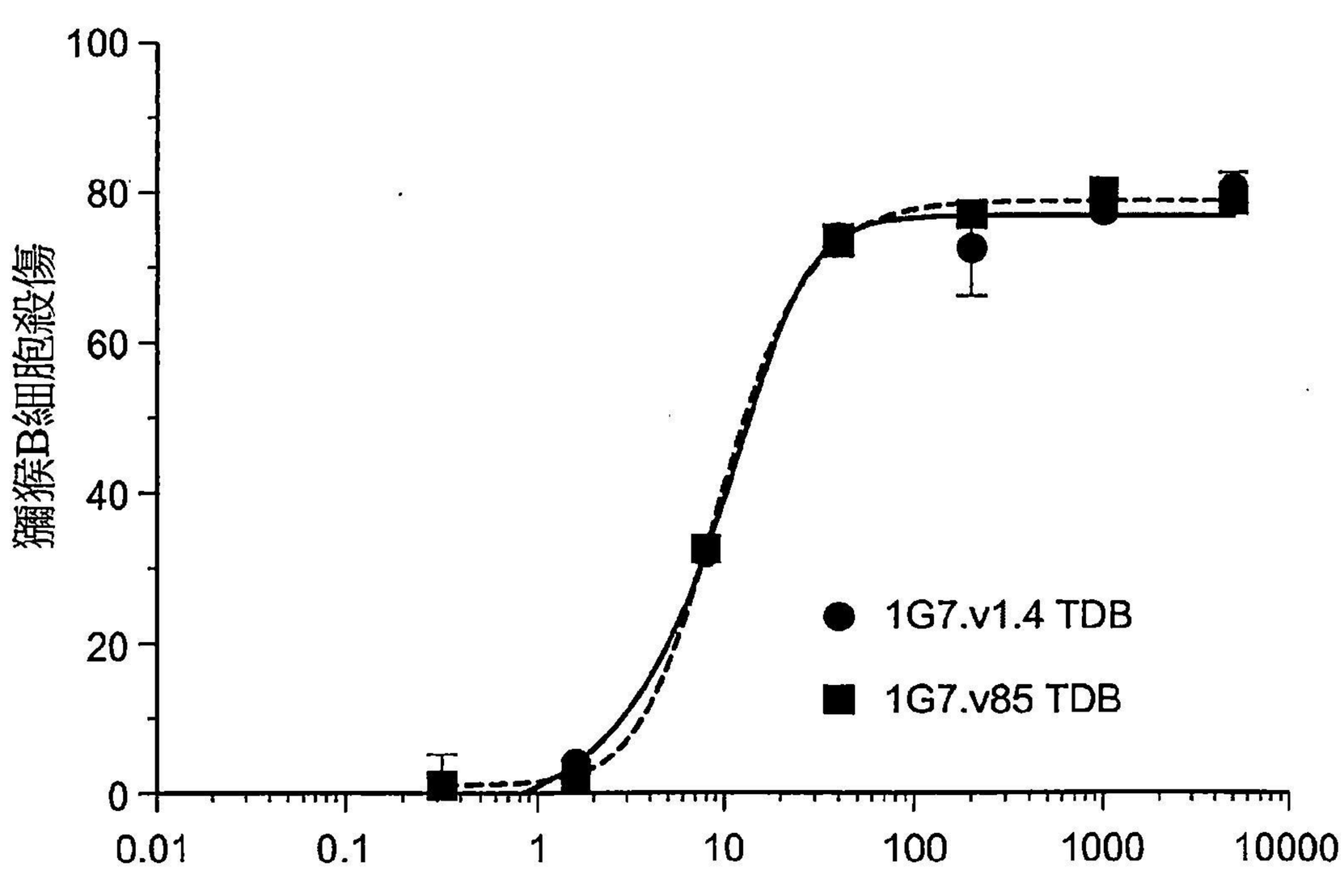

獼猴B細胞殺傷
獼猴B細胞殺傷
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
1G7.v1.4 TDB
1G7.v85 TDB
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 18D

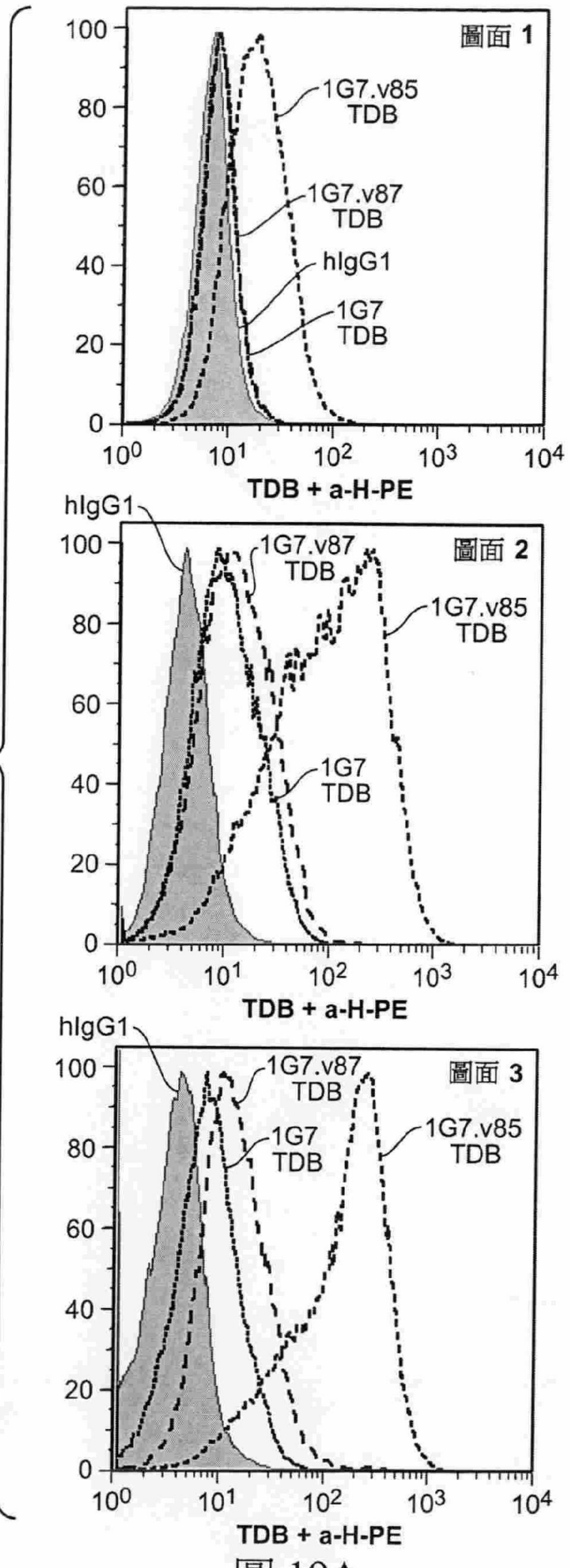

圖面 1
100
80
60
40
20
0
1G7.v85
TDB
1G7.v87
TDB
hIgG1
1G7
TDB
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
TDB + a-H-PE
hIgG1
圖面 2
1G7.v87
TDB
1G7.v85
TDB
1G7
TDB
TDB + a-H-PE
hIgG1
圖面 3
1G7.v87
TDB
1G7
TDB
1G7.v85
TDB
TDB + a-H-PE

圖 19A

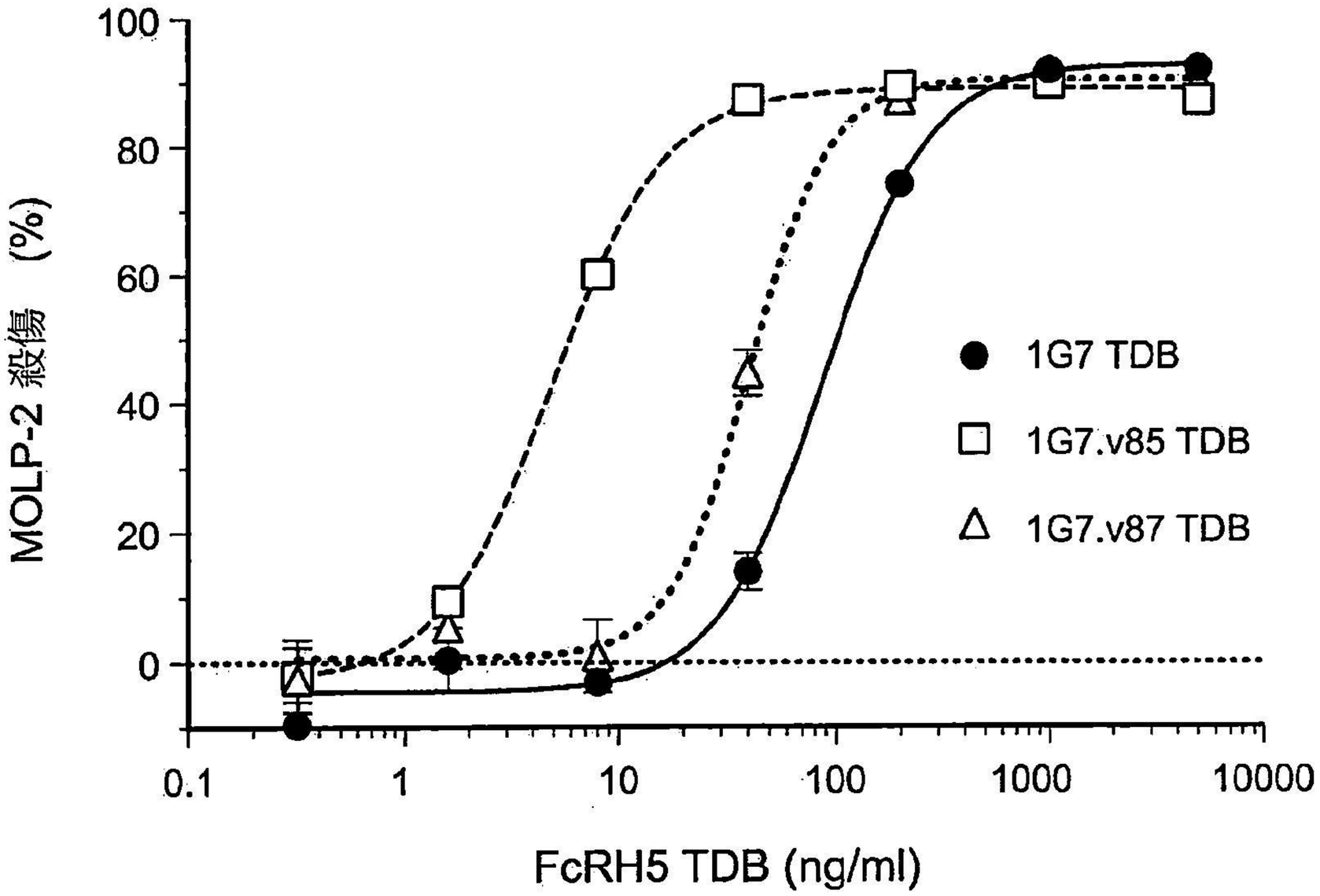


圖 19B

人B細胞殺傷

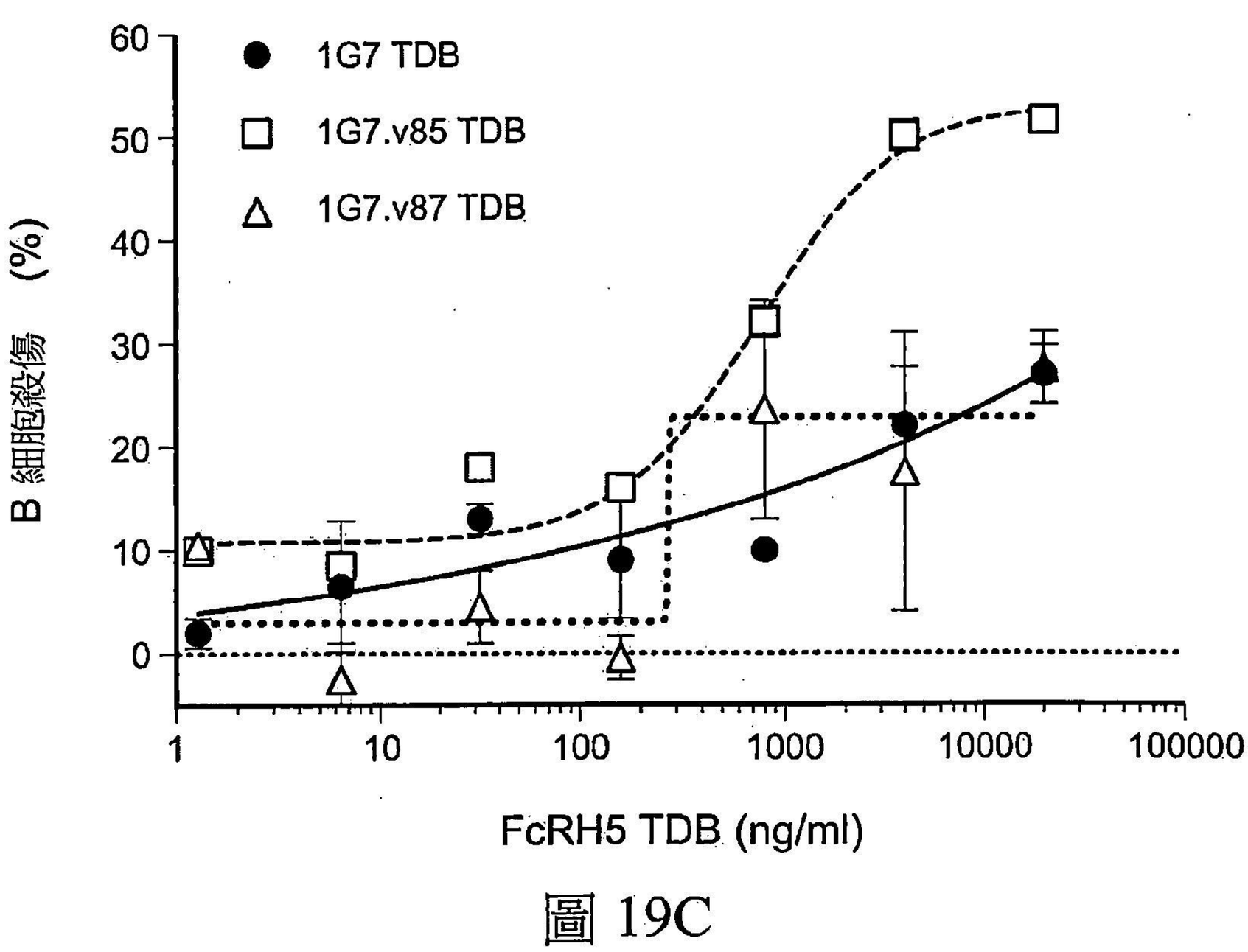


圖 19C

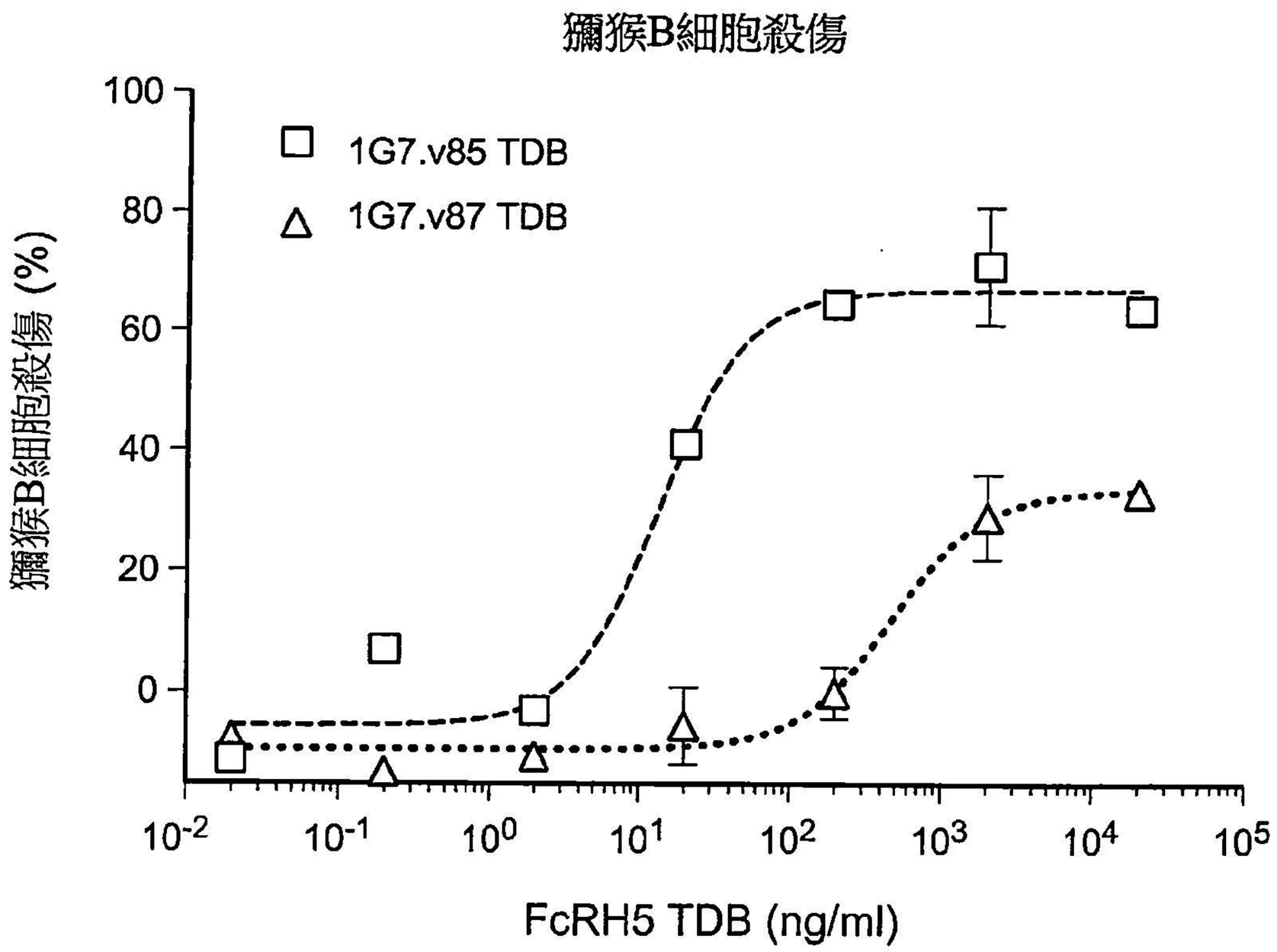

獼猴B細胞殺傷
100
80
60
40
20
0
獼猴B細胞殺傷 (%)
1G7.v85 TDB
1G7.v87 TDB
10-2
10-1
100
101
102
103
104
105
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 19D

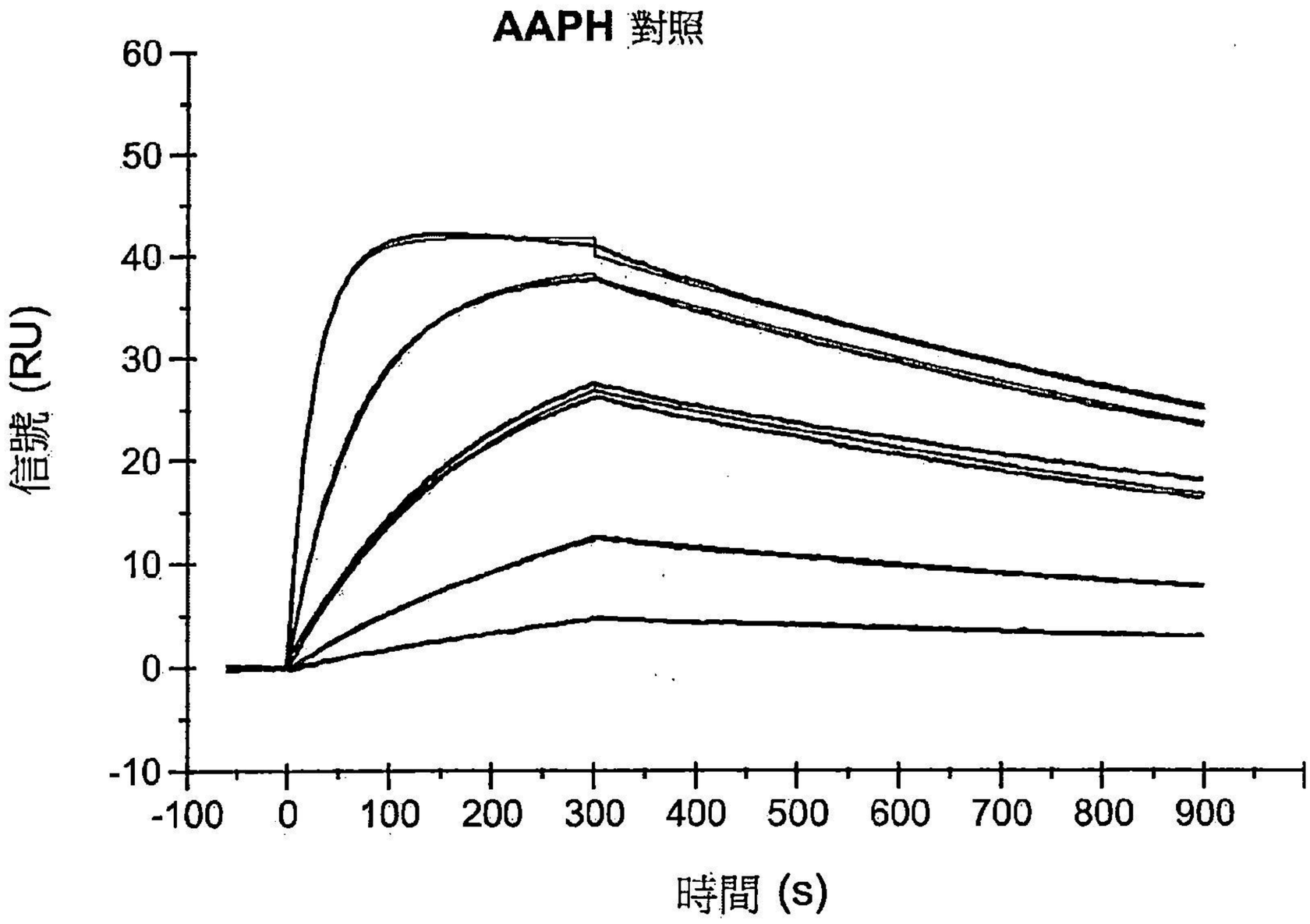

AAPH 對照
信號 (RU)
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
時間 (s)

圖 20A

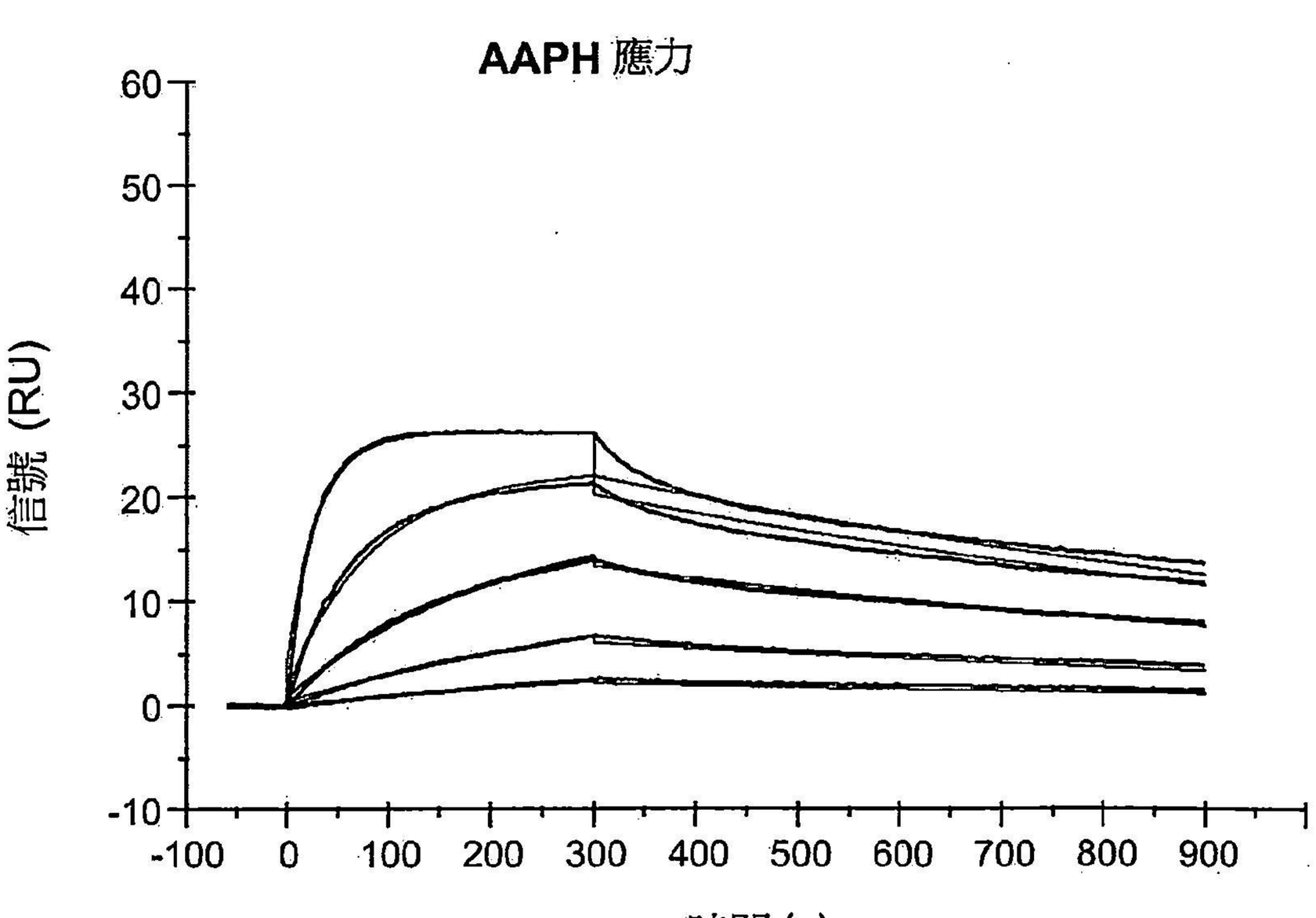

AAPH 應力
信號 (RU)
60
50
40
30
20
10
0
-10
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
時間 (s)

圖 20B

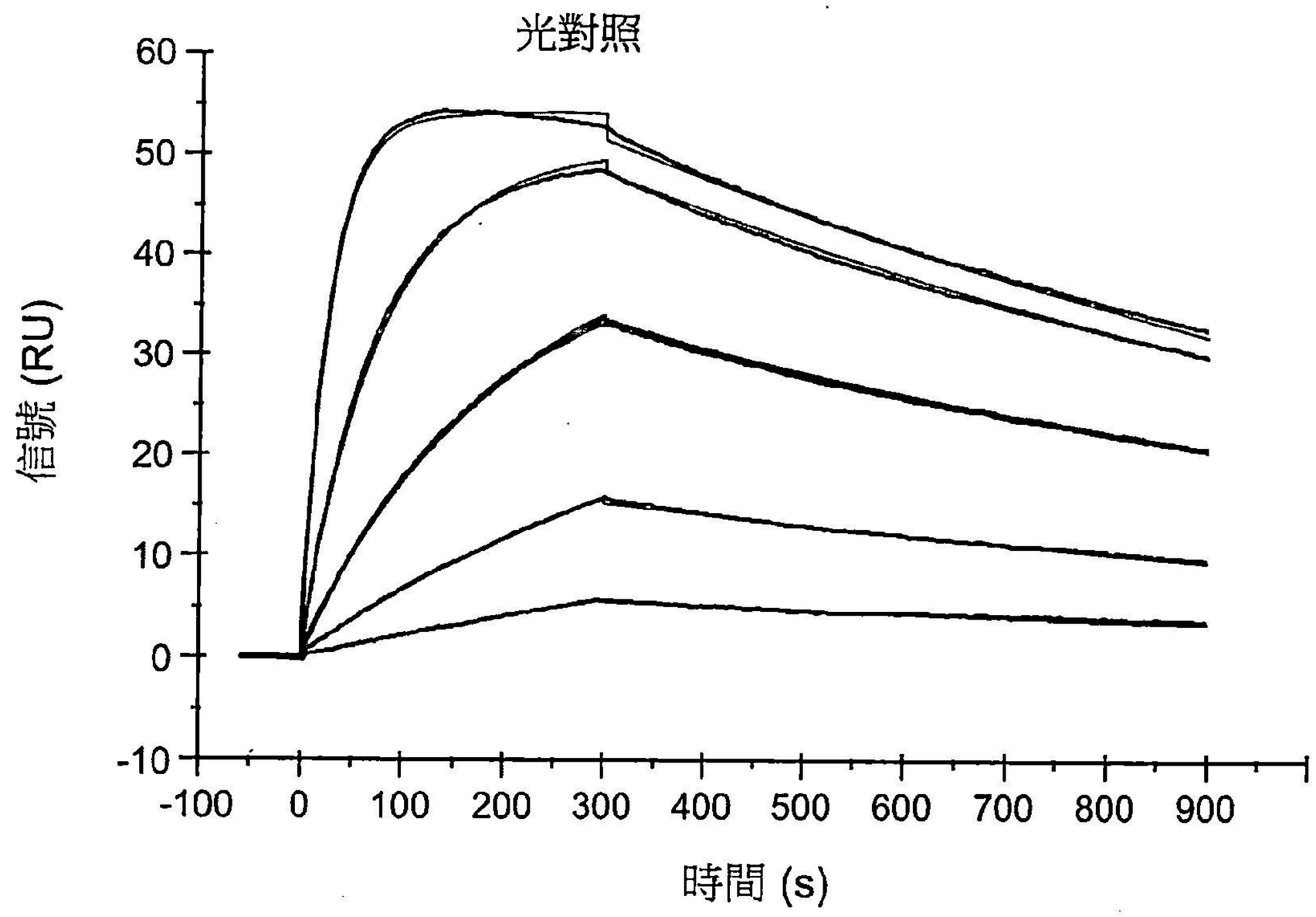

光對照
60
50
40
30
20
10
0
-10
信號 (RU)
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
時間 (s)

圖 20C

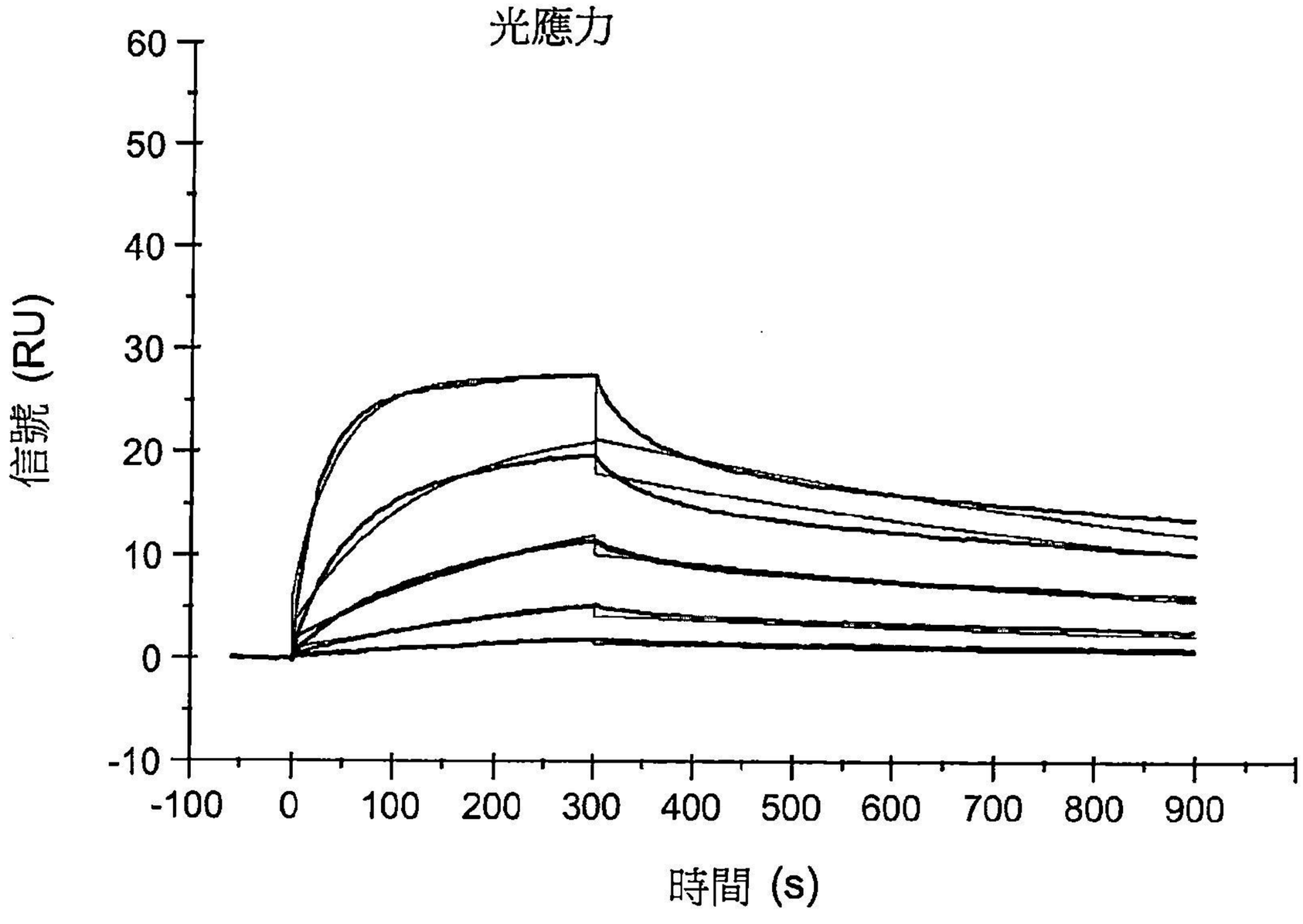

光應力
60
50
40
30
20
10
0
-10
信號 (RU)
-100
0
100
200
300
400
500
600
700
800
900
時間 (s)

圖 20D

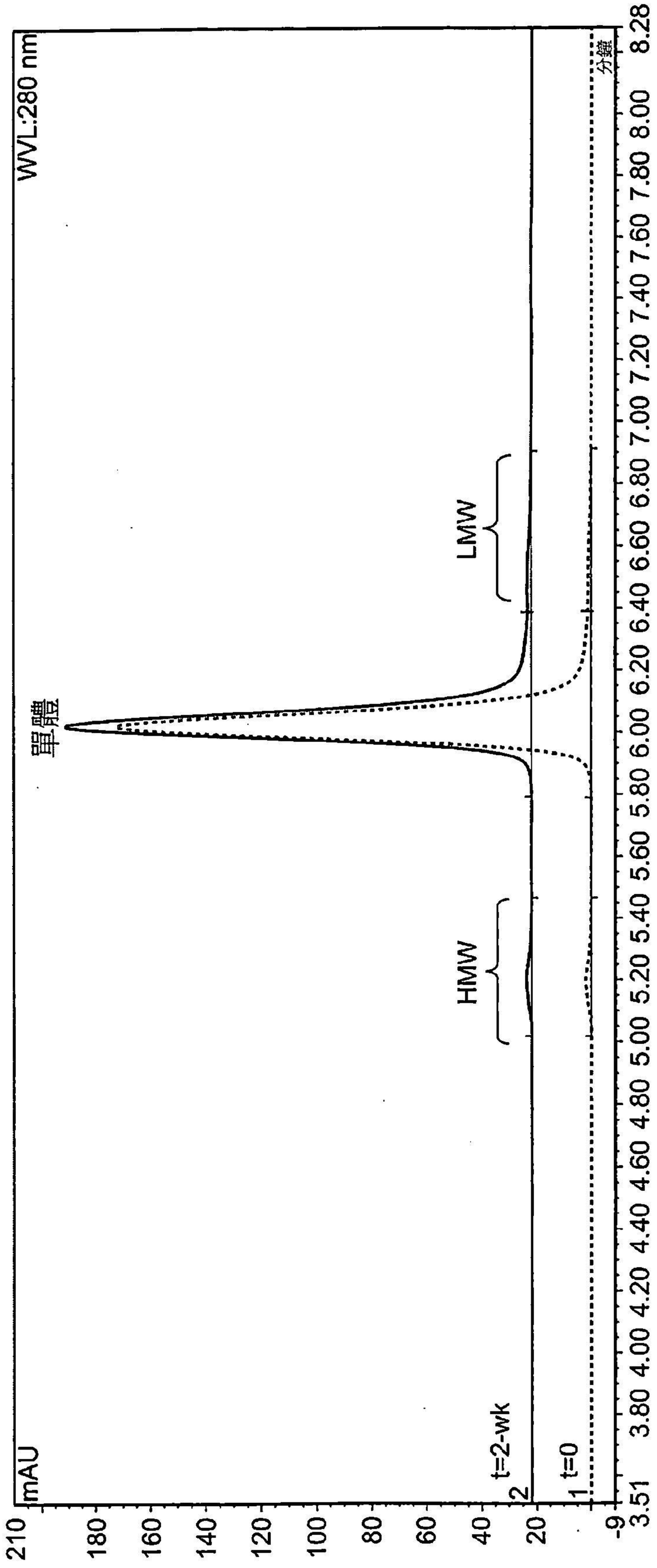

WVL:280 nm
單體
LMW
HMW
mAU
t=2-wk
t=0
分鐘
8.28
8.00
7.80
7.60
7.40
7.20
7.00
6.80
6.60
6.40
6.20
6.00
5.80
5.60
5.40
5.20
5.00
4.80
4.60
4.40
4.20
4.00
3.80
3.51
210
180
160
140
120
100
80
60
40
20
-9

圖 21A

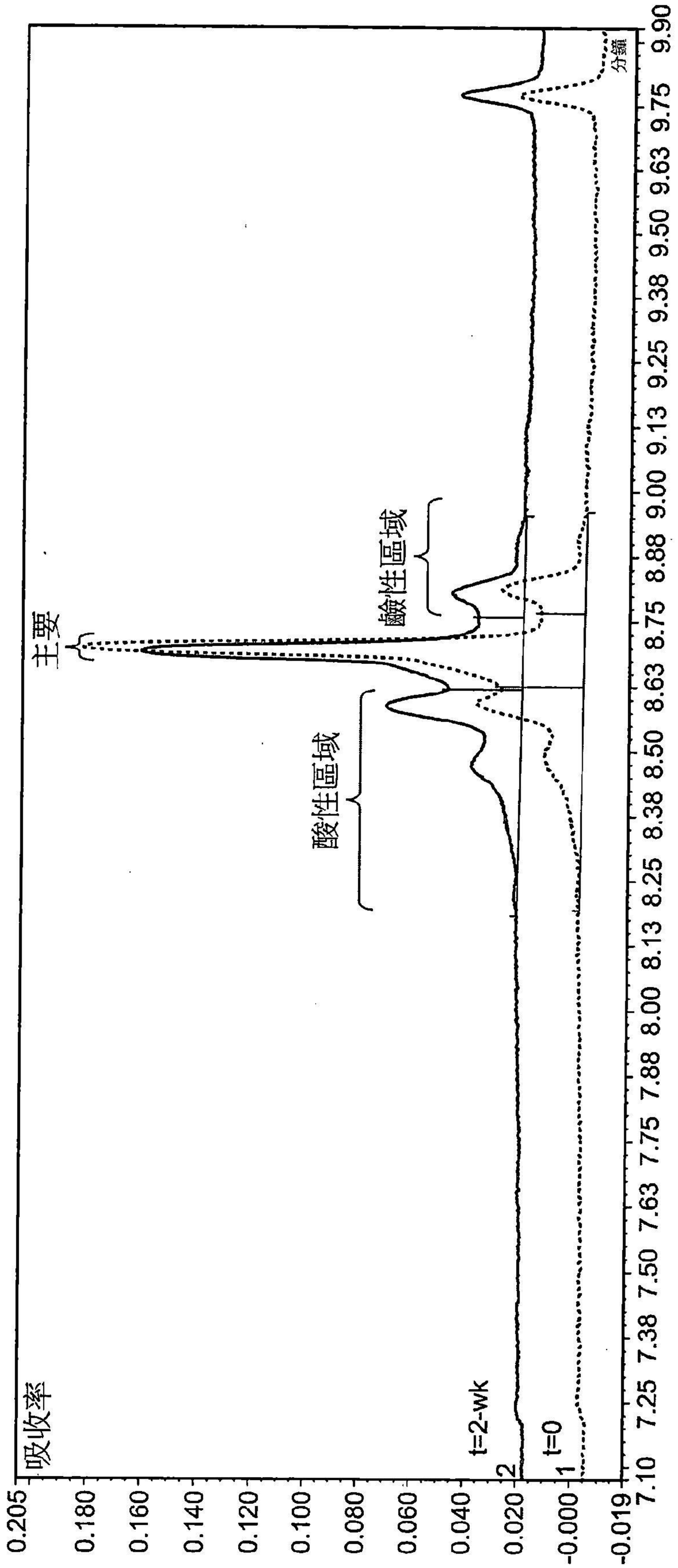

吸收率
0.205
0.180
0.160
0.140
0.120
0.100
0.080
0.060
0.040
0.020
-0.000
-0.019
t=2-wk
t=0
2
1
主要
酸性區域
鹼性區域
7.10
7.25
7.38
7.50
7.63
7.75
7.88
8.00
8.13
8.25
8.38
8.50
8.63
8.75
8.88
9.00
9.13
9.25
9.38
9.50
9.63
9.75
9.90
分鐘

圖 21B

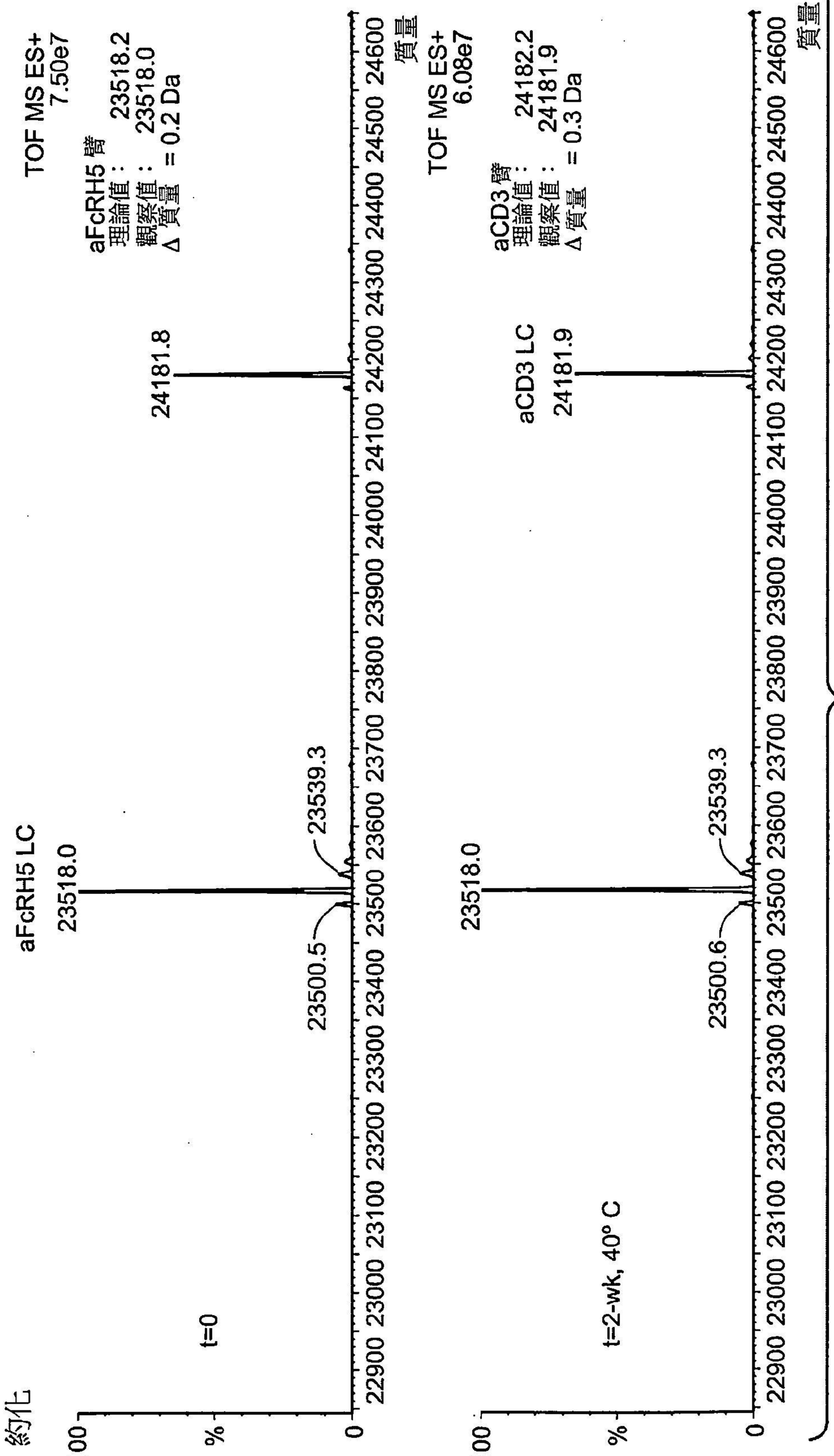

TOF MS ES+
7.50e7
aFcRH5 臂
理論值： 23518.2
觀察值： 23518.0
Δ 質量 = 0.2 Da
TOF MS ES+
6.08e7
aCD3 臂
理論值： 24182.2
觀察值： 24181.9
Δ 質量 = 0.3 Da
24181.8
24181.9
aCD3 LC
23539.3
23518.0
23500.5
23500.6
aFcRH5 LC
t=0
t=2-wk, 40° C
約化
100
%
0
22900 23000 23100 23200 23300 23400 23500 23600 23700 23800 23900 24000 24100 24200 24300 24400 24500 24600
質量

圖 22A

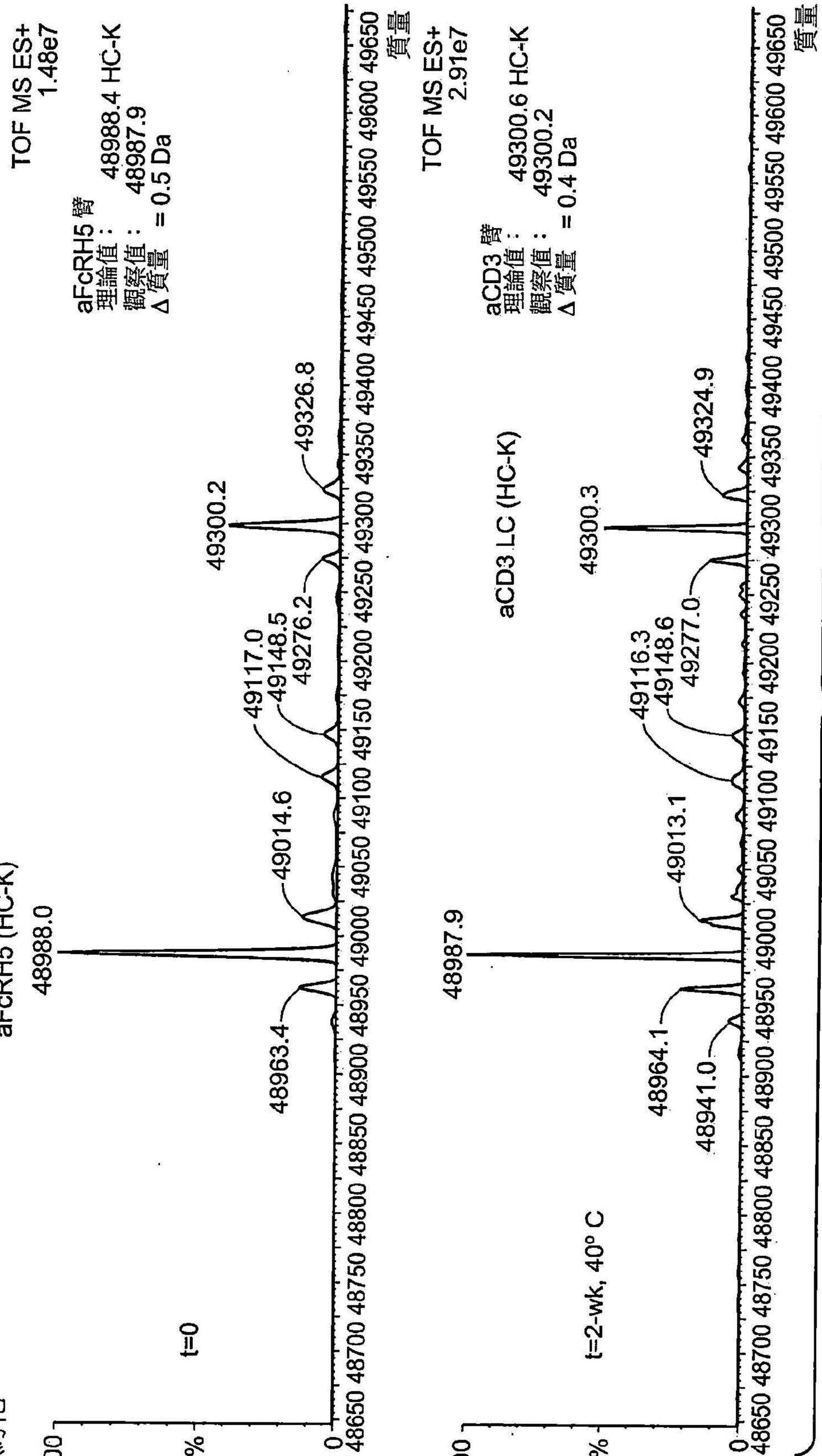

TOF MS ES+
1.48e7
aFcRH5 臂
理論值： 48988.4 HC-K
觀察值： 48987.9
Δ 質量 = 0.5 Da
TOF MS ES+
2.91e7
aCD3 臂
理論值： 49300.6 HC-K
觀察值： 49300.2
Δ 質量 = 0.4 Da
aFcRH5 (HC-K)
aCD3 LC (HC-K)
t=0
t=2-wk, 40° C
約化
%
質量

圖 22B

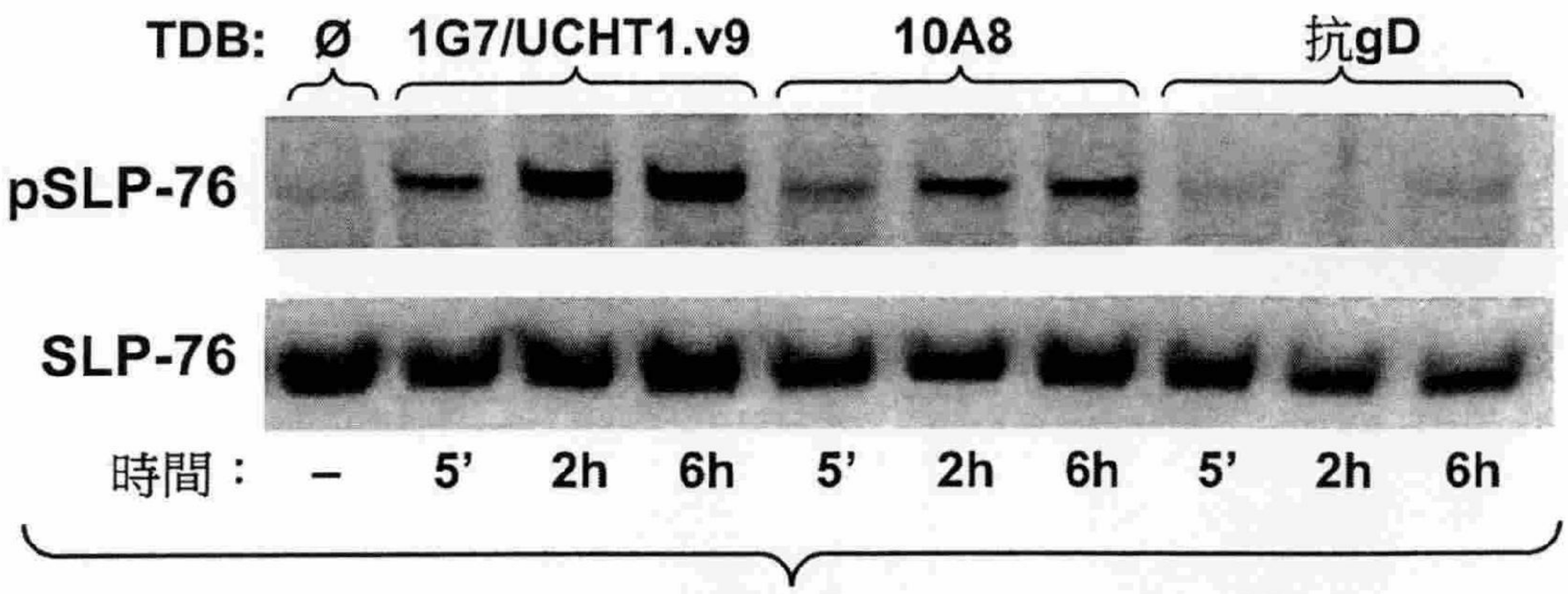

TDB: Ø
1G7/UCHT1.v9
10A8
抗gD
pSLP-76
SLP-76
時間：
–
5’
2h
6h
5’
2h
6h
5’
2h
6h

圖 23A

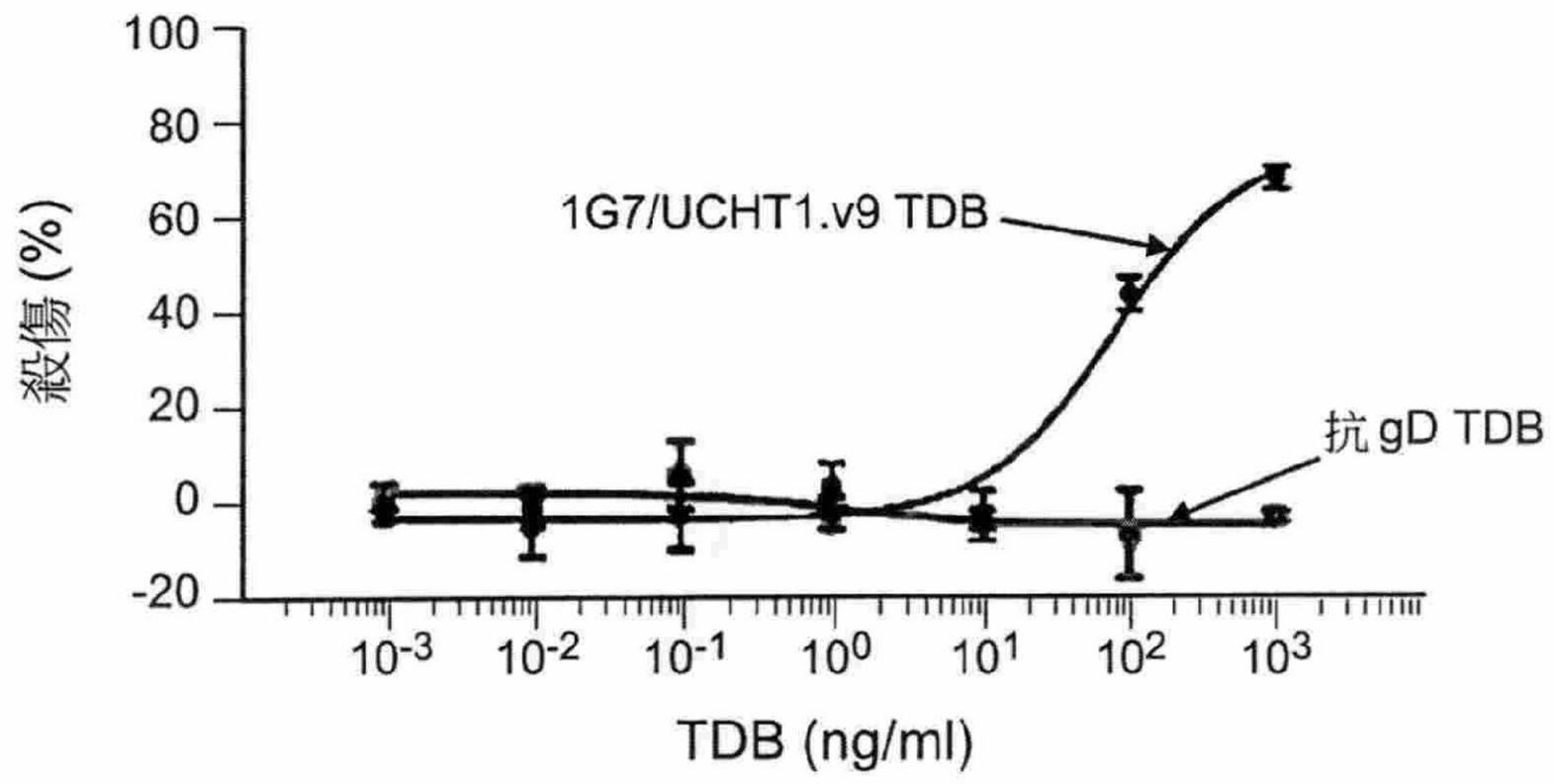

100
80
60
40
20
0
-20
殺傷 (%)
1G7/UCHT1.v9 TDB
抗 gD TDB
10-3
10-2
10-1
100
101
102
103
TDB (ng/ml)

圖 23B

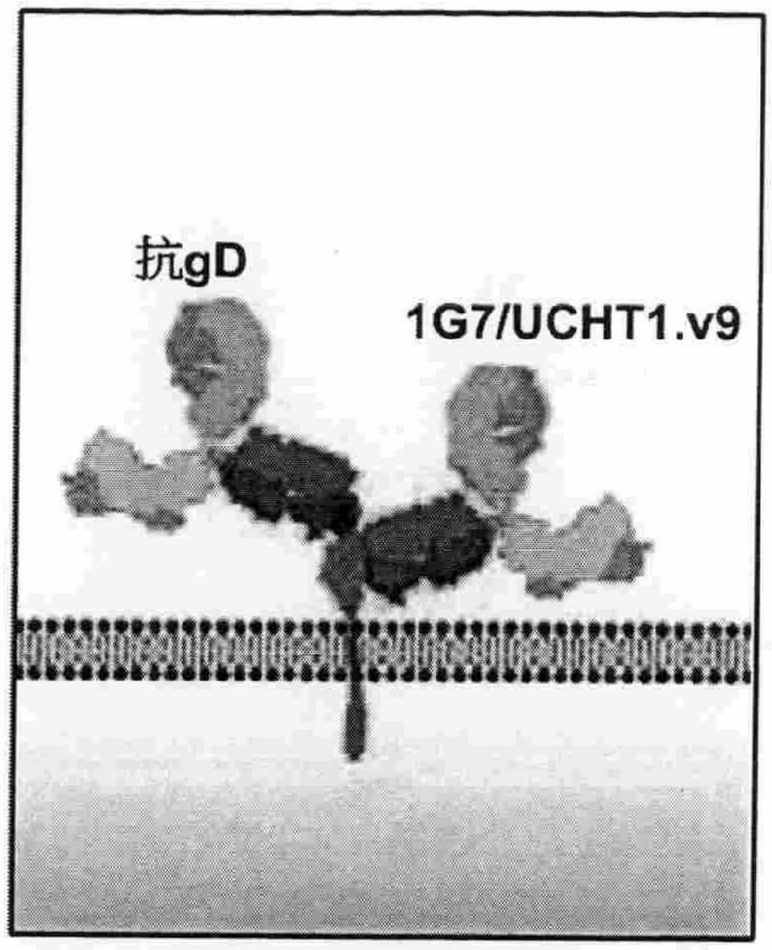


圖 23C

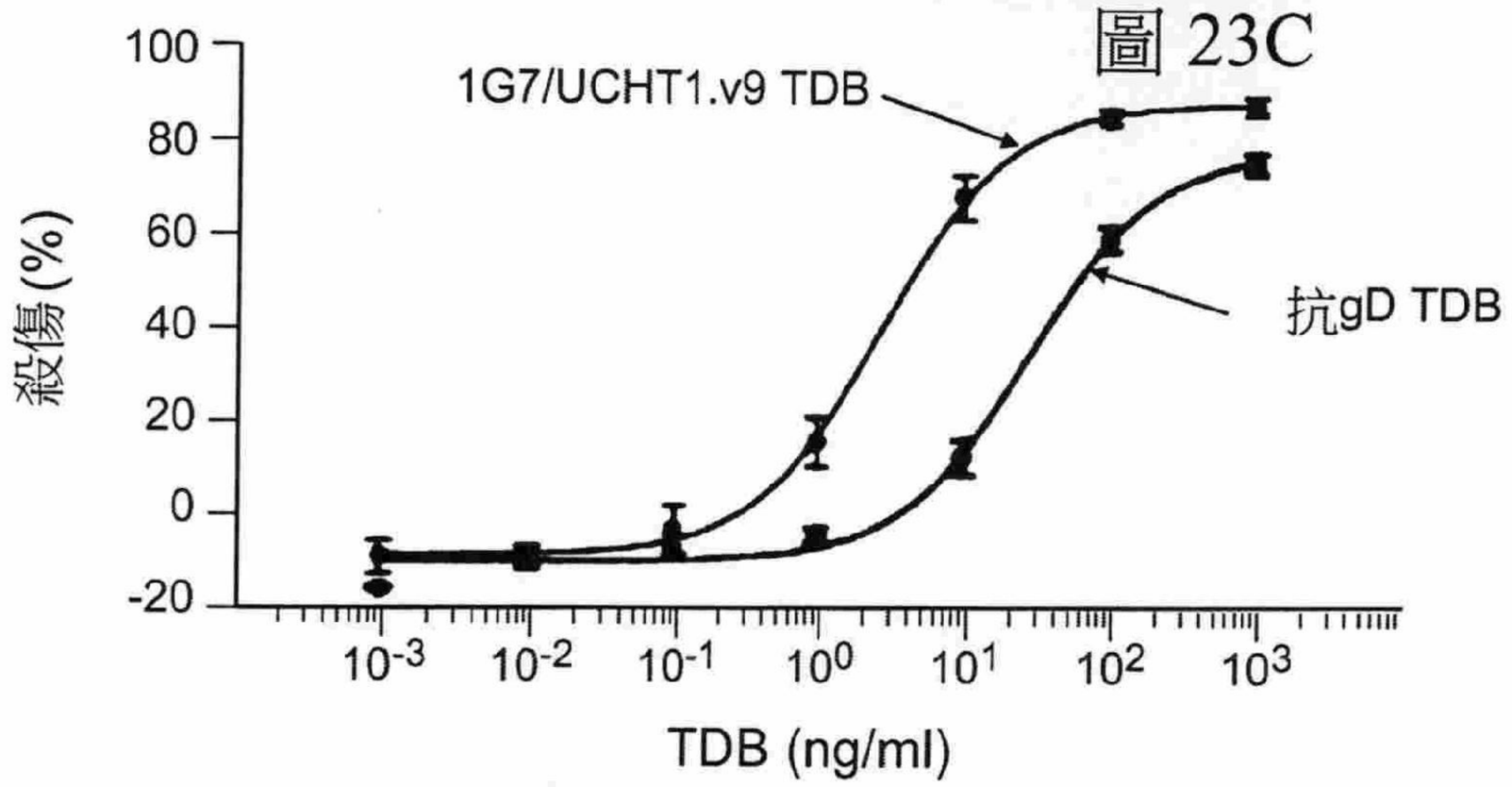


圖 23D

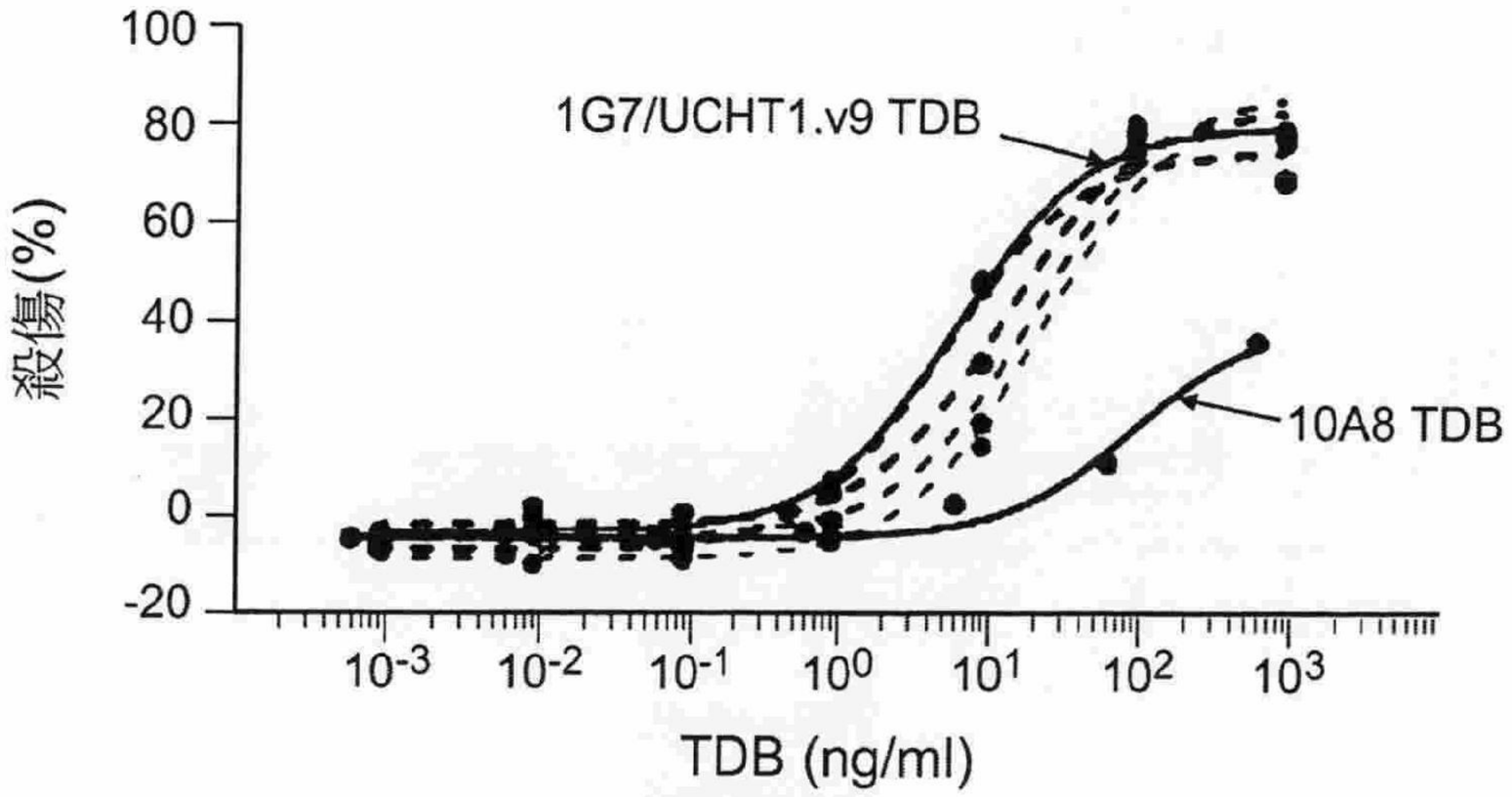


圖 23E

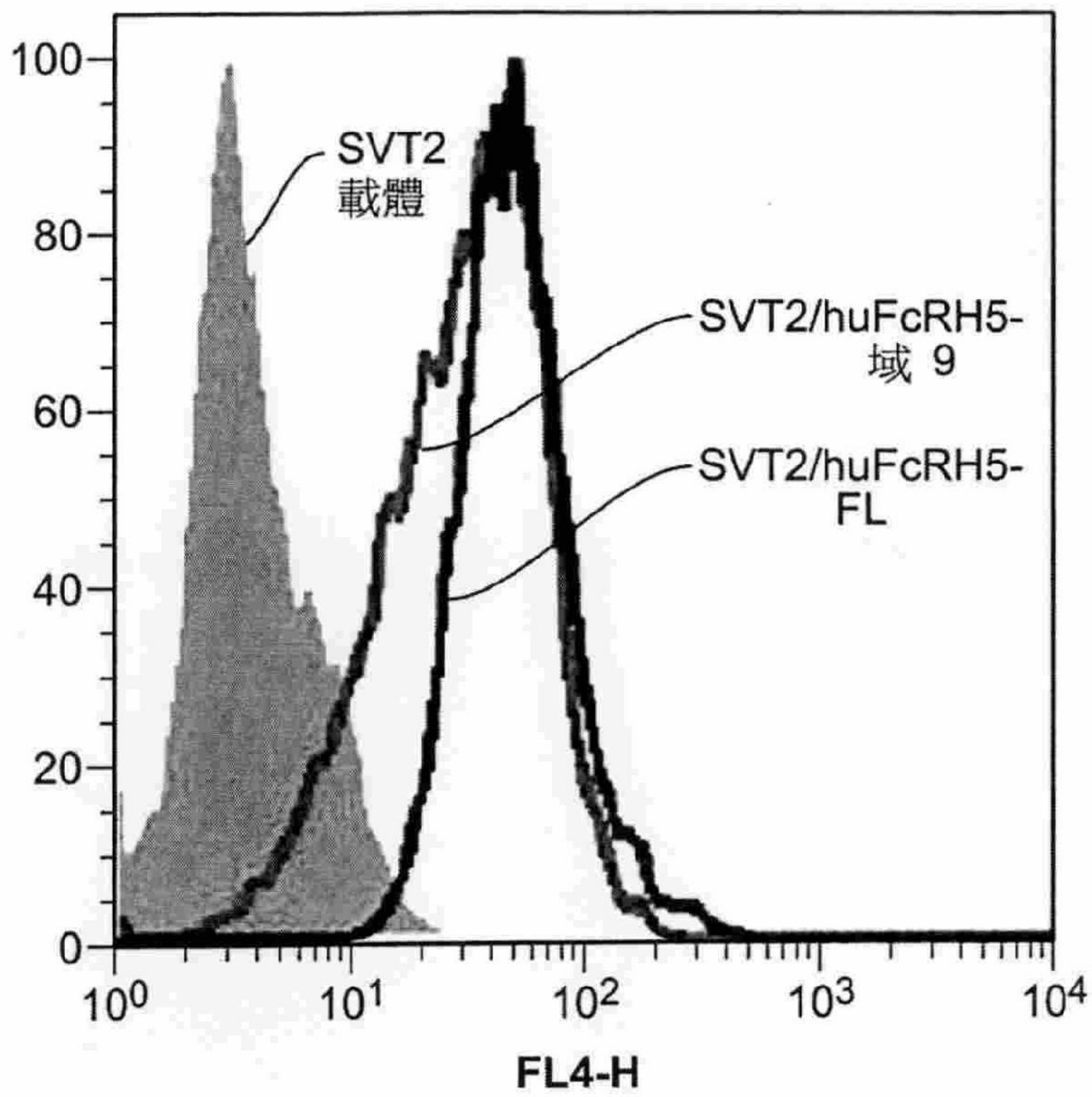

100
80
60
40
20
0
SVT2
載體
SVT2/huFcRH5-
域 9
SVT2/huFcRH5-
FL
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
FL4-H

圖 24A

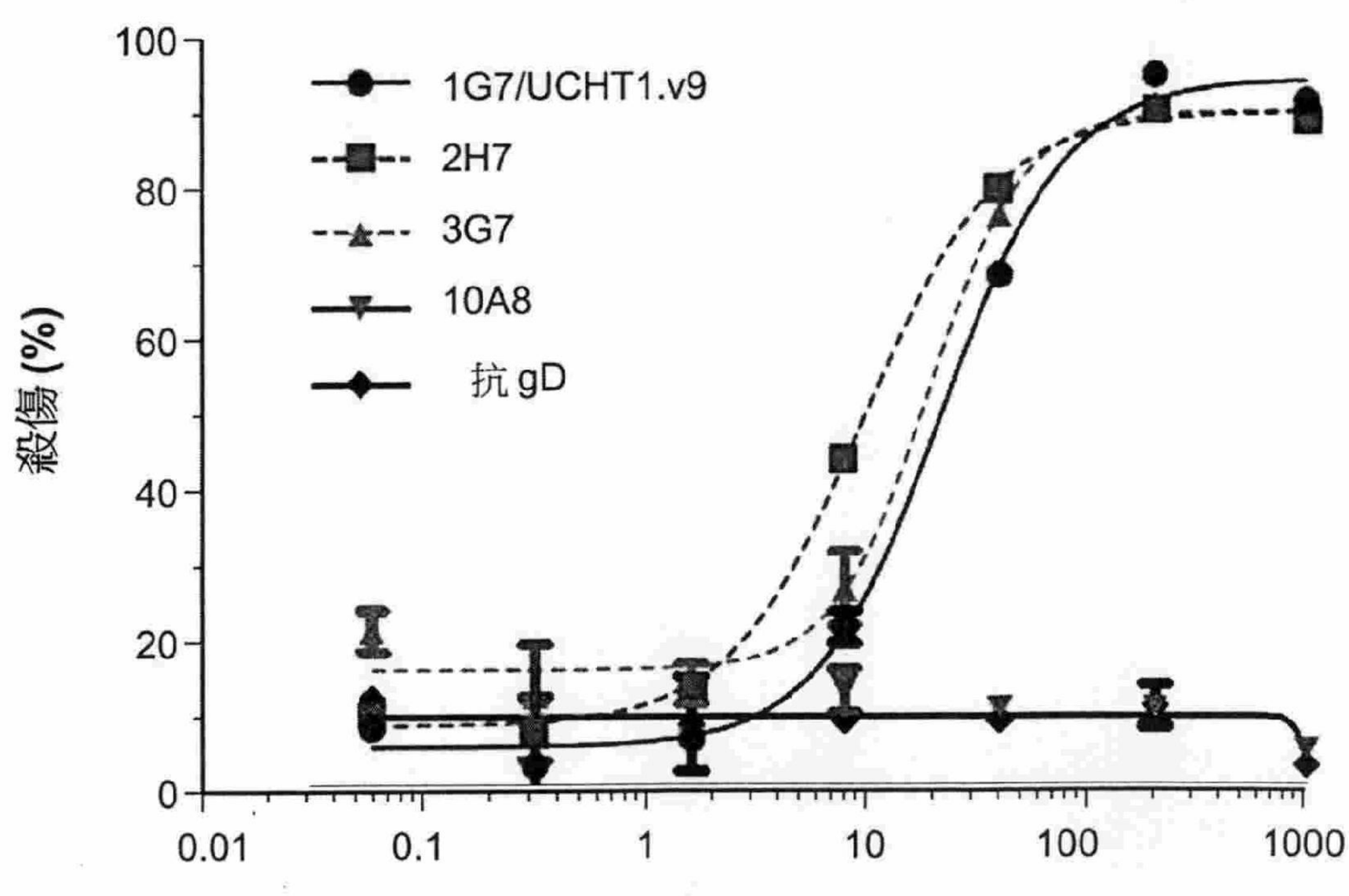

100
80
60
40
20
0
殺傷 (%)
1G7/UCHT1.v9
2H7
3G7
10A8
抗 gD
0.01
0.1
1
10
100
1000
TDB (ng/ml)

圖 24B

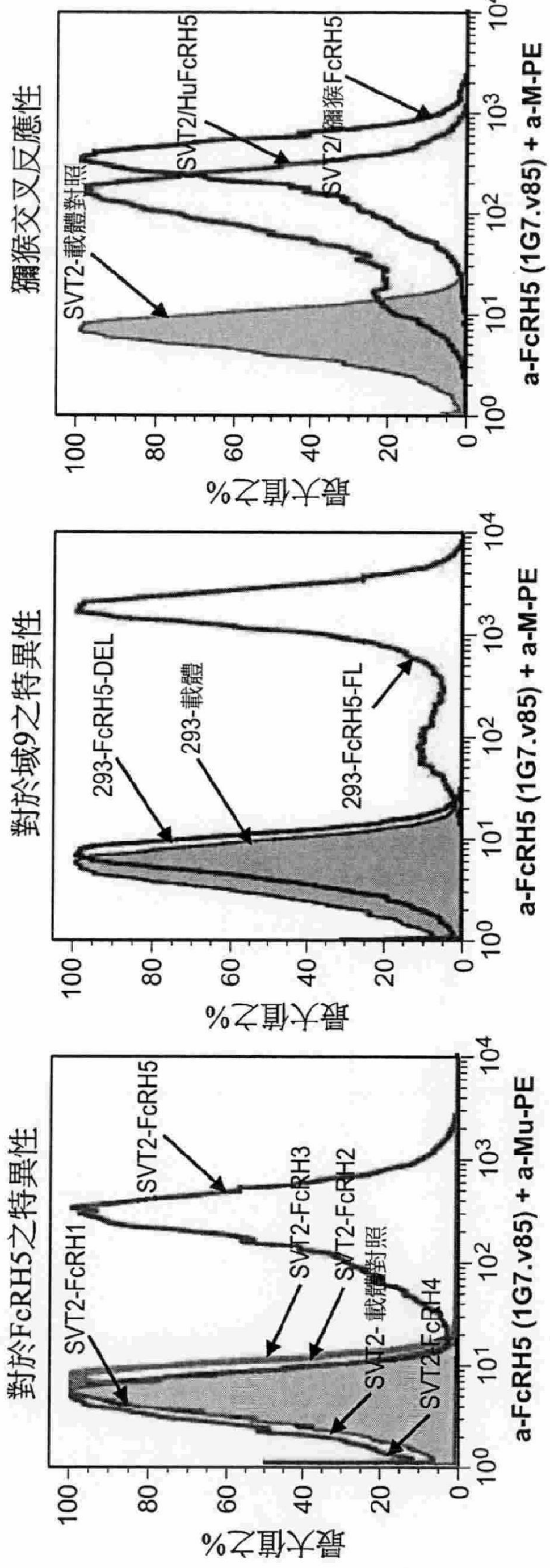


圖 25C

圖 25B

圖 25A

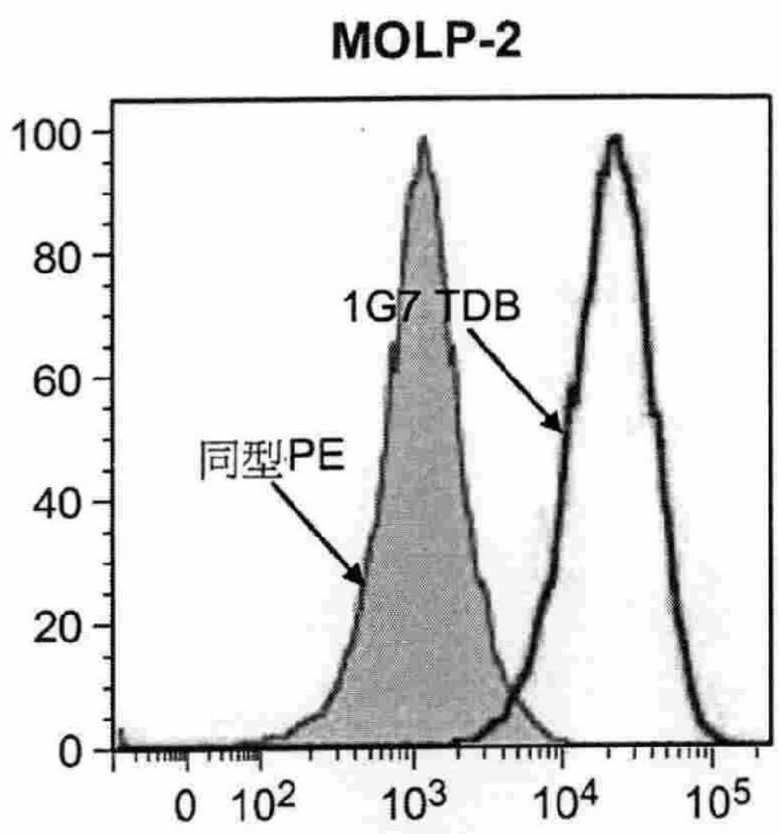


圖 26A

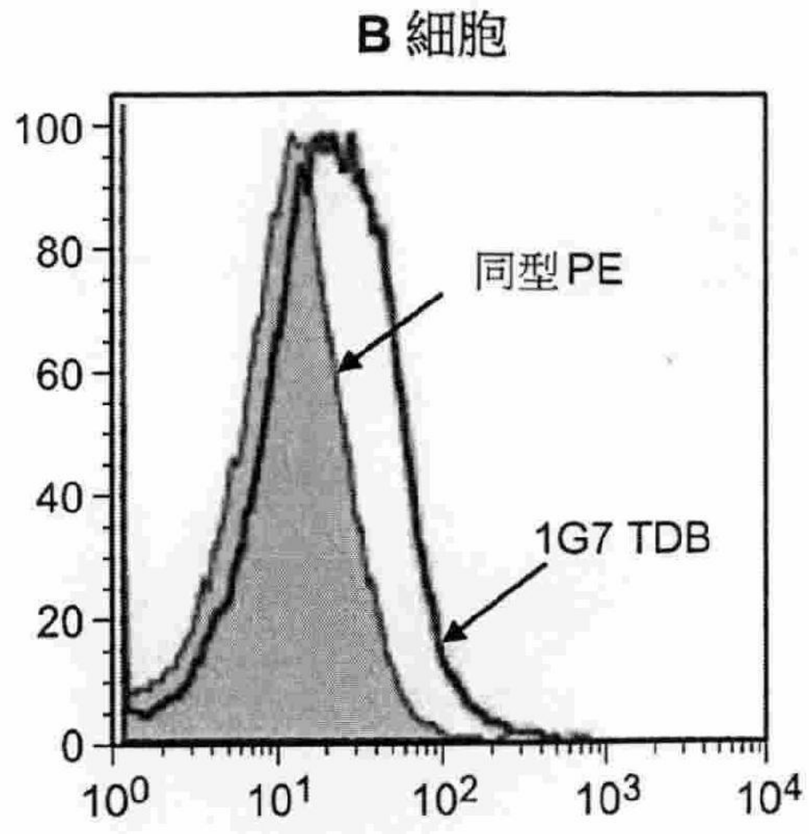


圖 26B

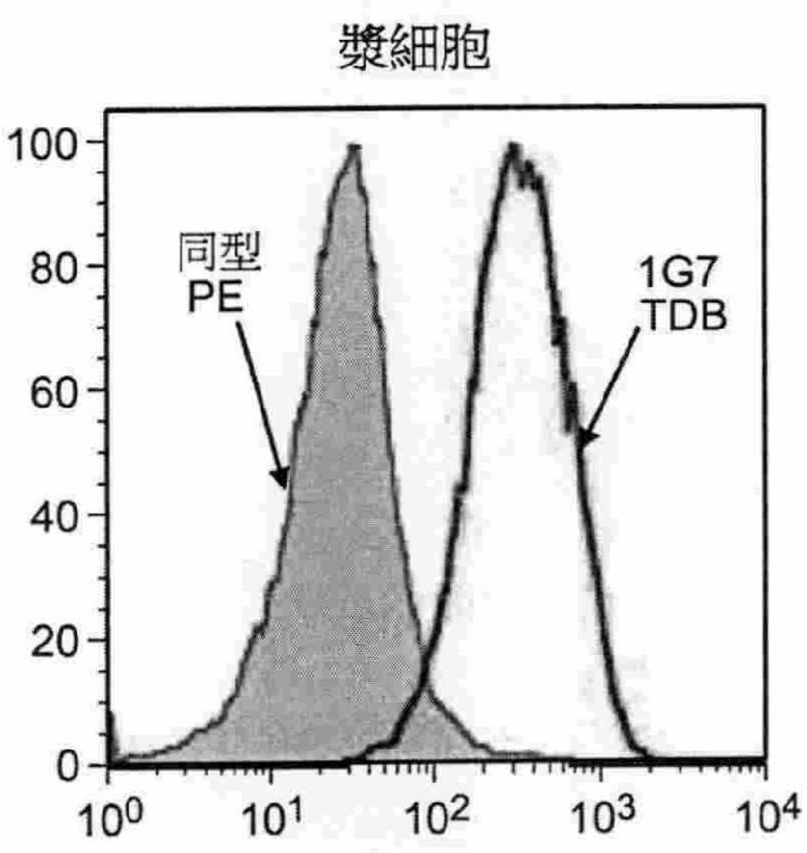


圖 26C

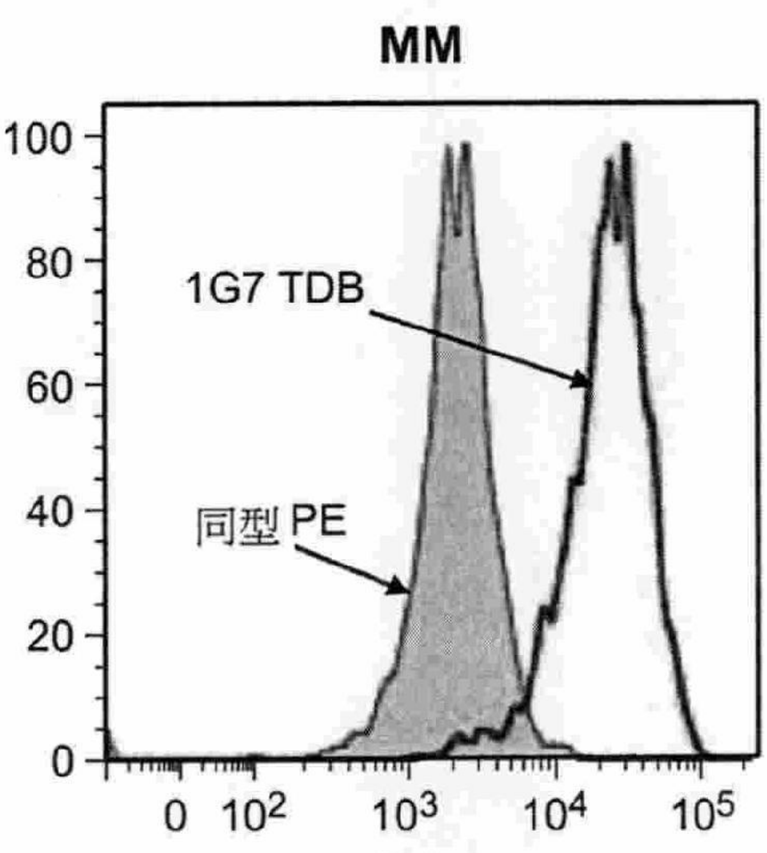


圖 26D

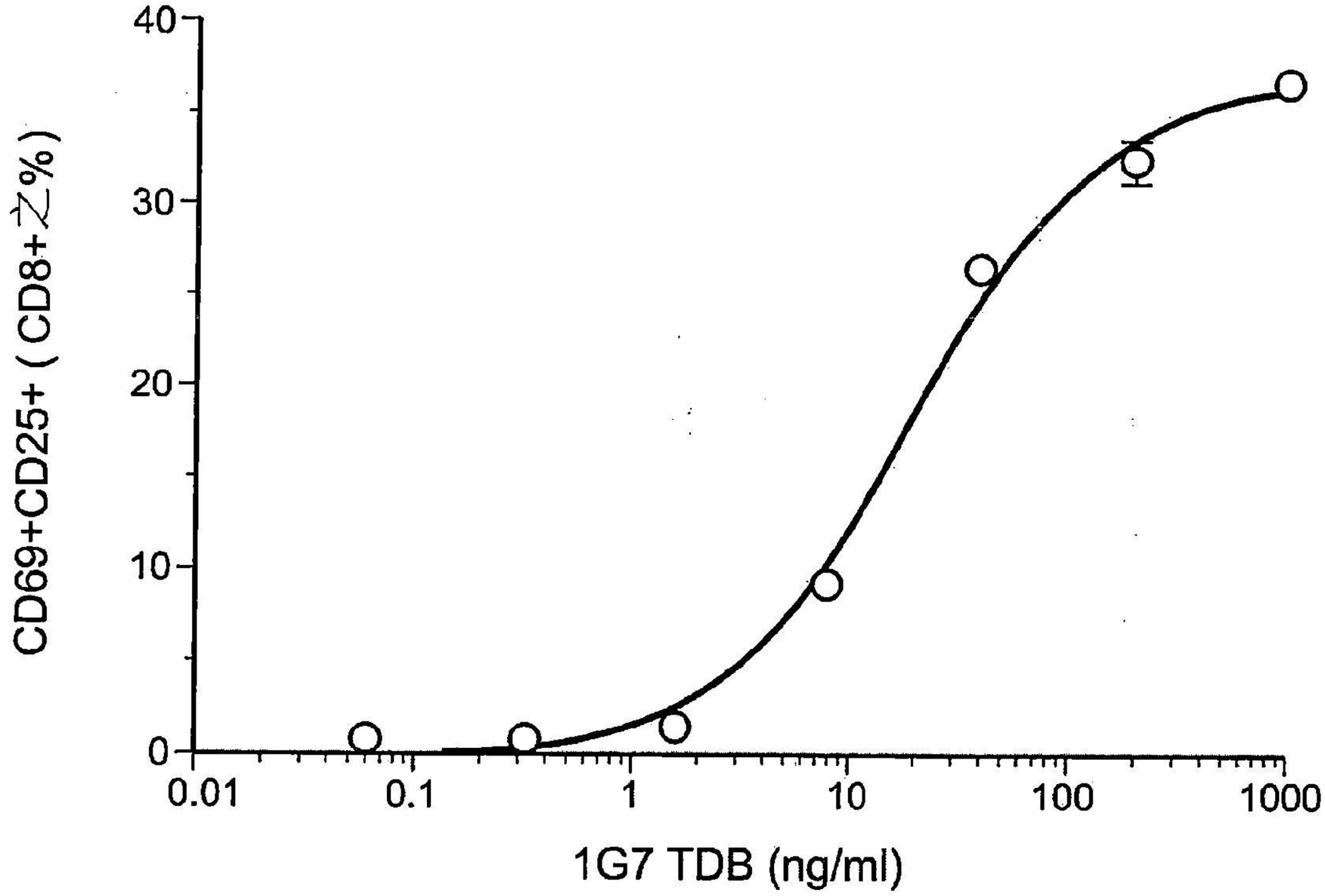

CD69+CD25+ (CD8+之%)
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
1G7 TDB (ng/ml)

圖 27A

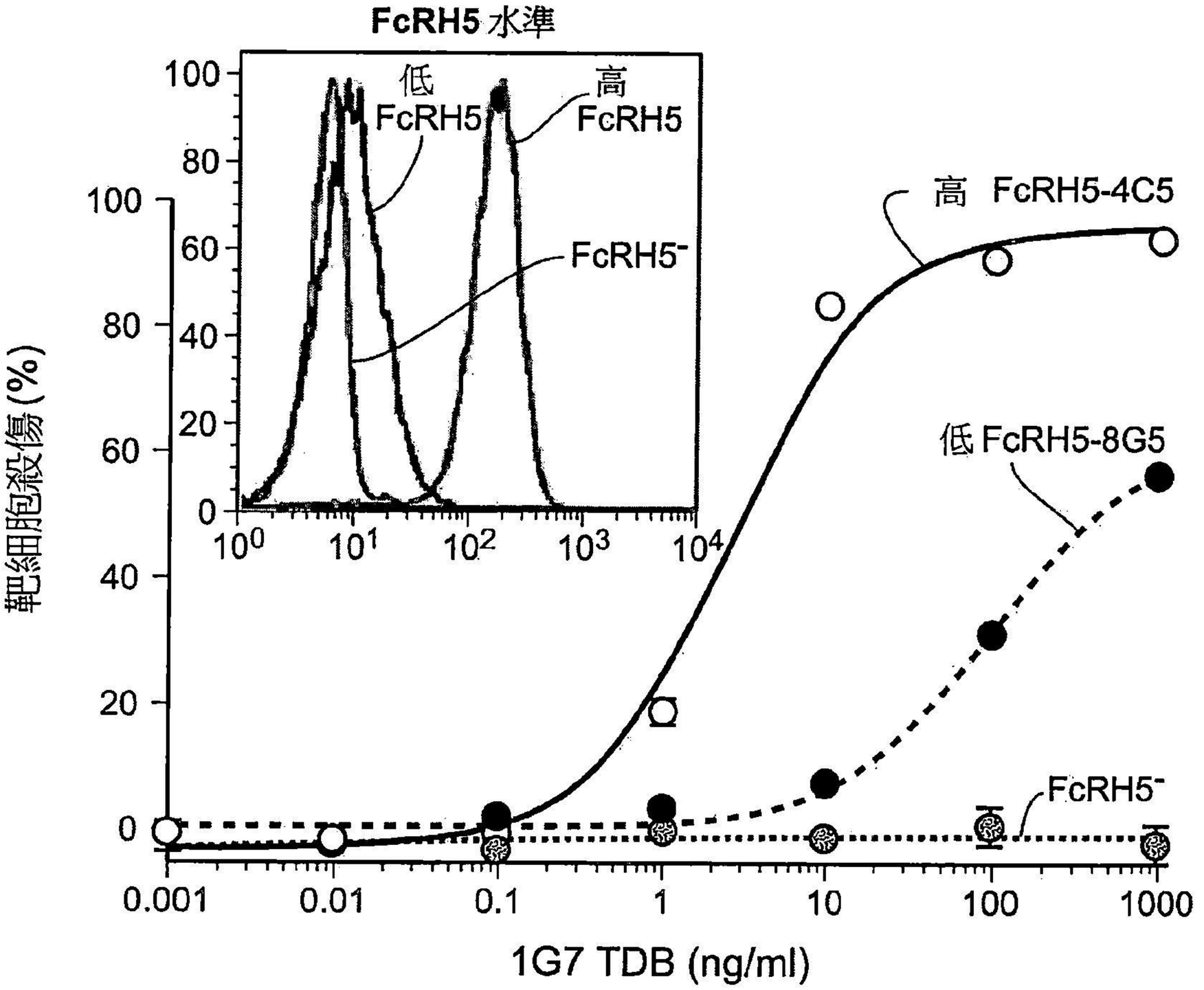

FcRH5 水準
低 FcRH5
高 FcRH5
FcRH5⁻
高 FcRH5-4C5
低 FcRH5-8G5
FcRH5⁻
靶細胞殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
1G7 TDB (ng/ml)

圖 27B

圖 27C

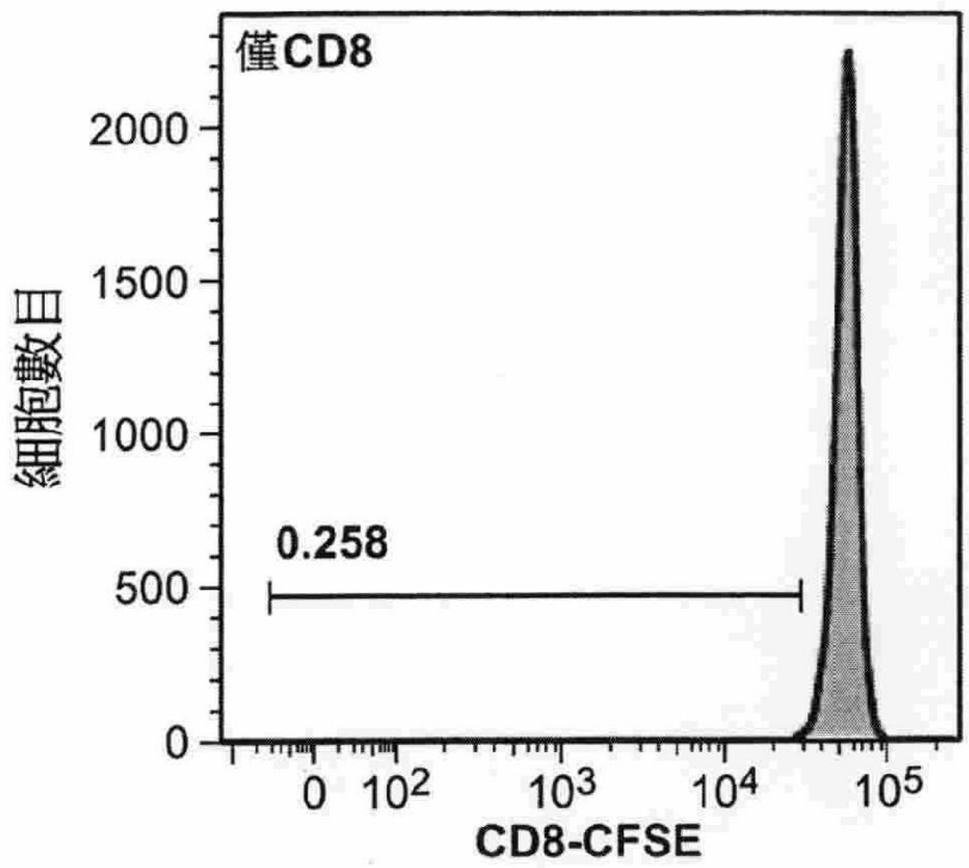
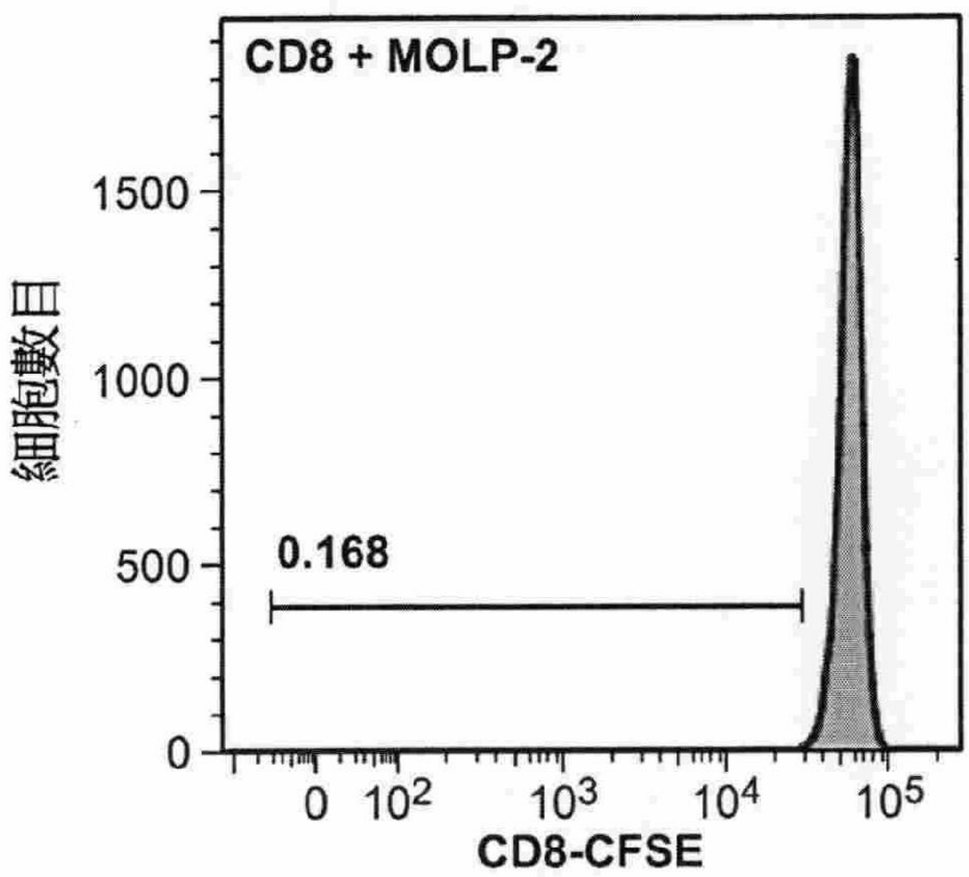


圖 27D



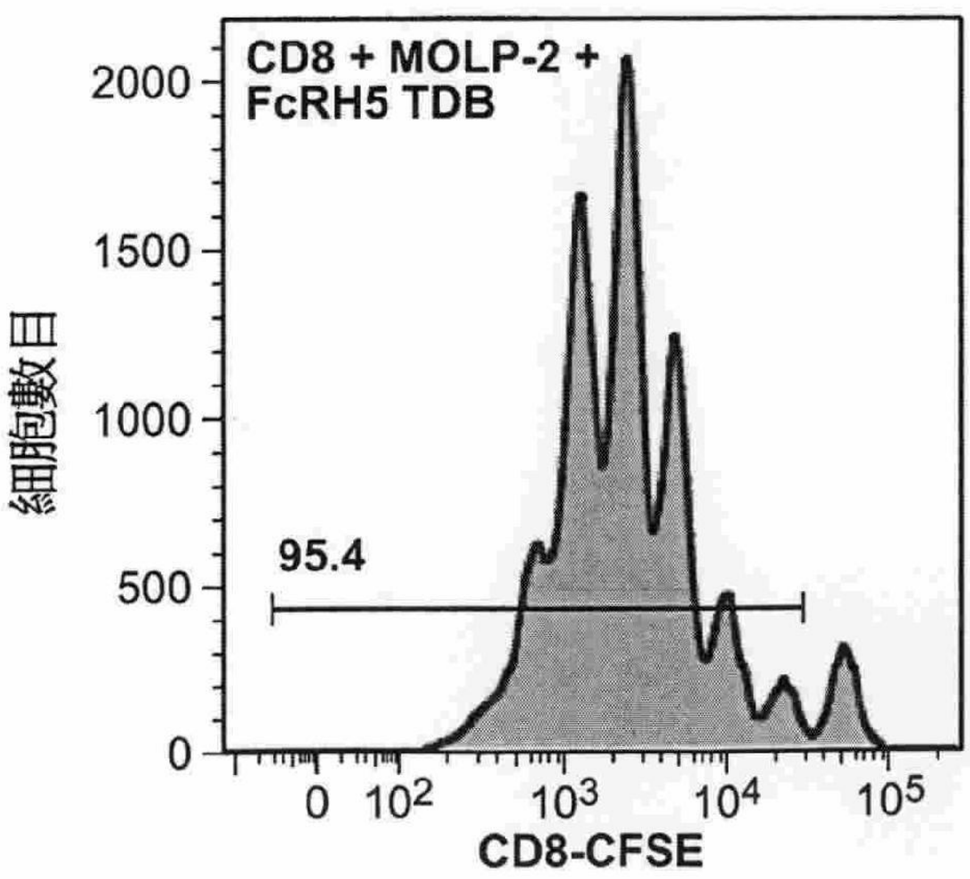


圖 27E

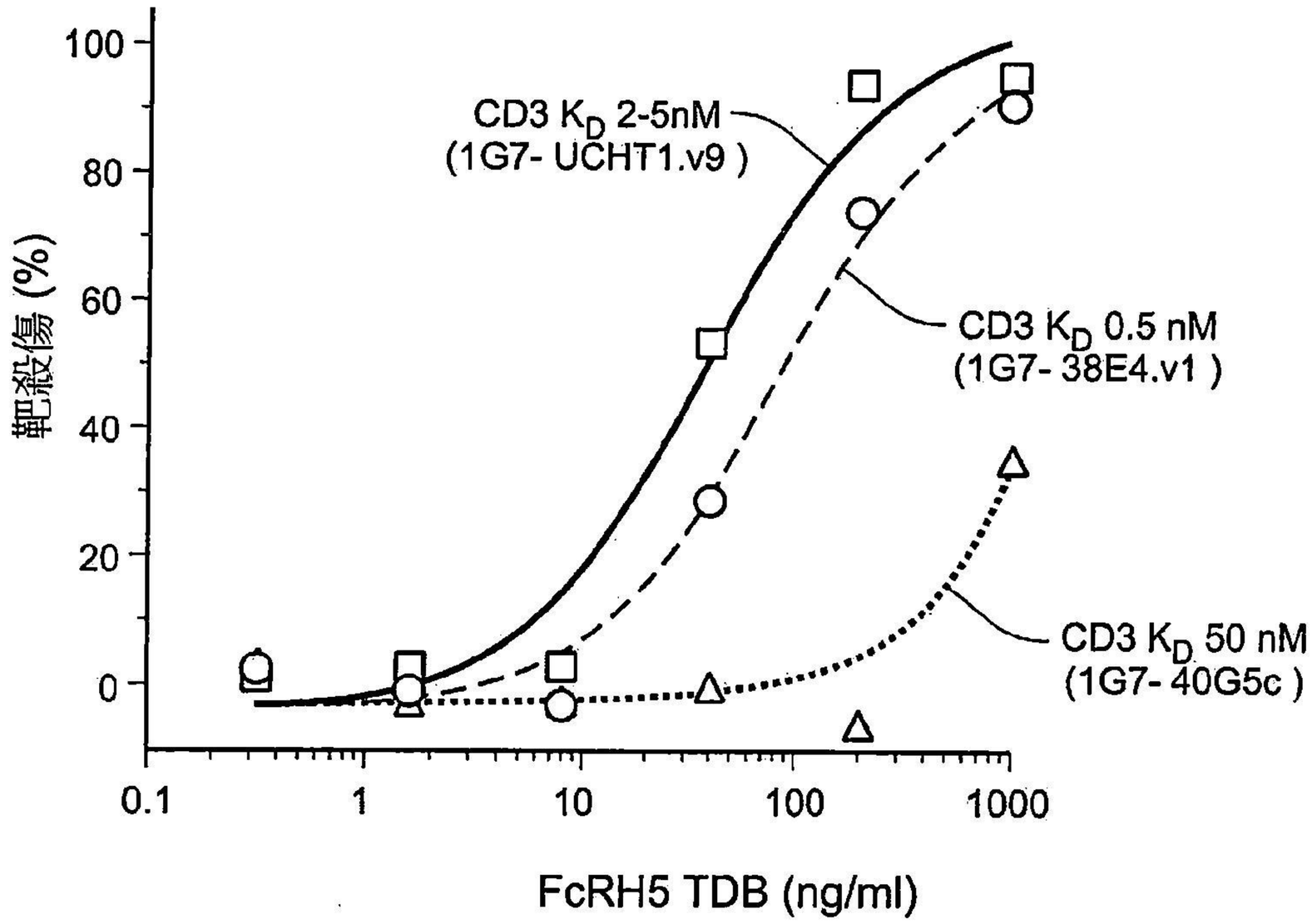

100
80
60
40
20
0
靶殺傷 (%)
0.1
1
10
100
1000
CD3 K_D 2-5nM
(1G7- UCHT1.v9)
CD3 K_D 0.5 nM
(1G7- 38E4.v1)
CD3 K_D 50 nM
(1G7- 40G5c)
FcRH5 TDB (ng/ml)

圖 27F

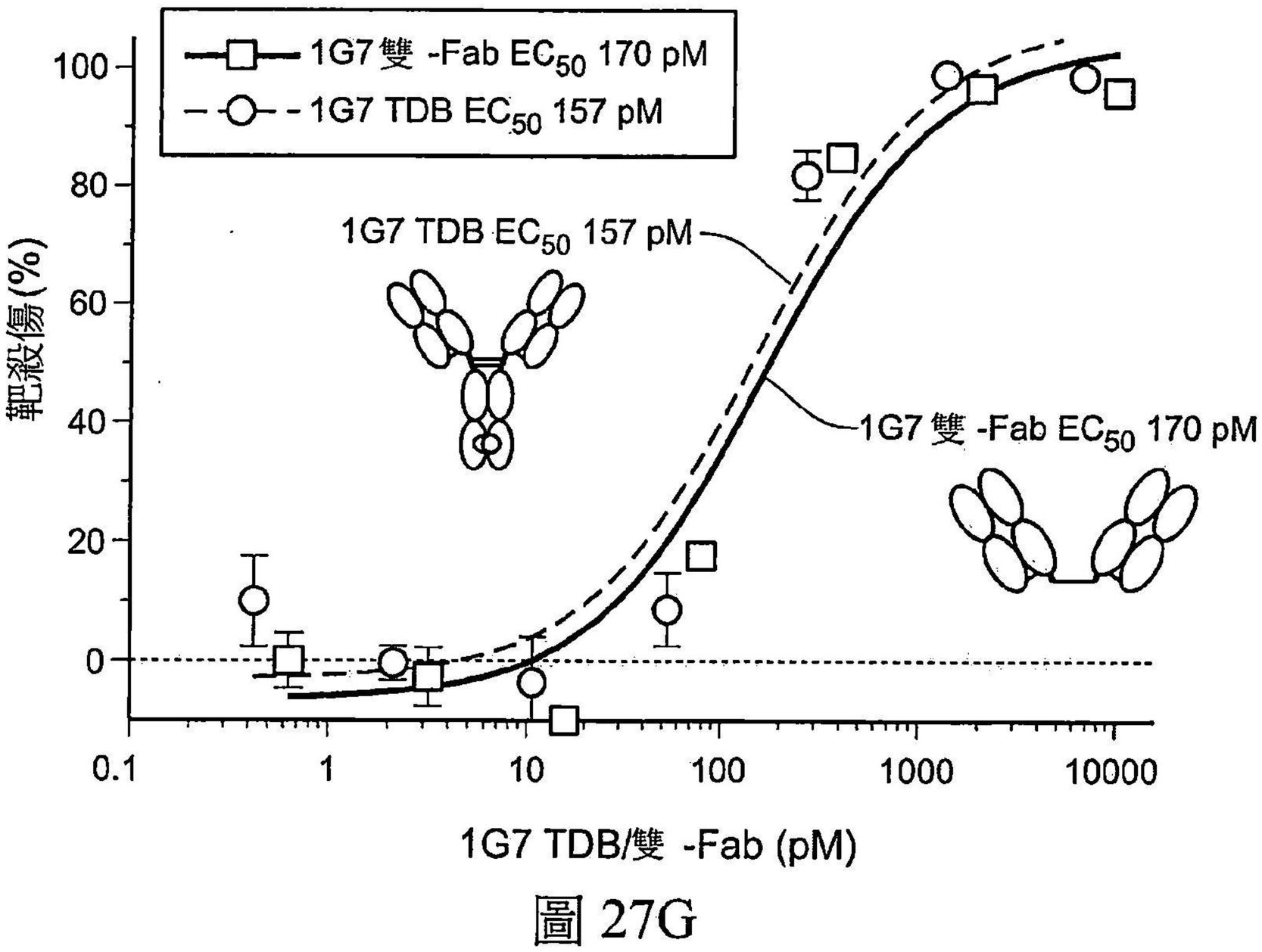

1G7雙 -Fab EC_{50} 170 pM
1G7 TDB EC_{50} 157 pM
100
80
60
40
20
0
靶殺傷 (%)
0.1
1
10
100
1000
10000
1G7 TDB EC_{50} 157 pM
1G7雙 -Fab EC_{50} 170 pM
1G7 TDB/雙 -Fab (pM)

圖 27G

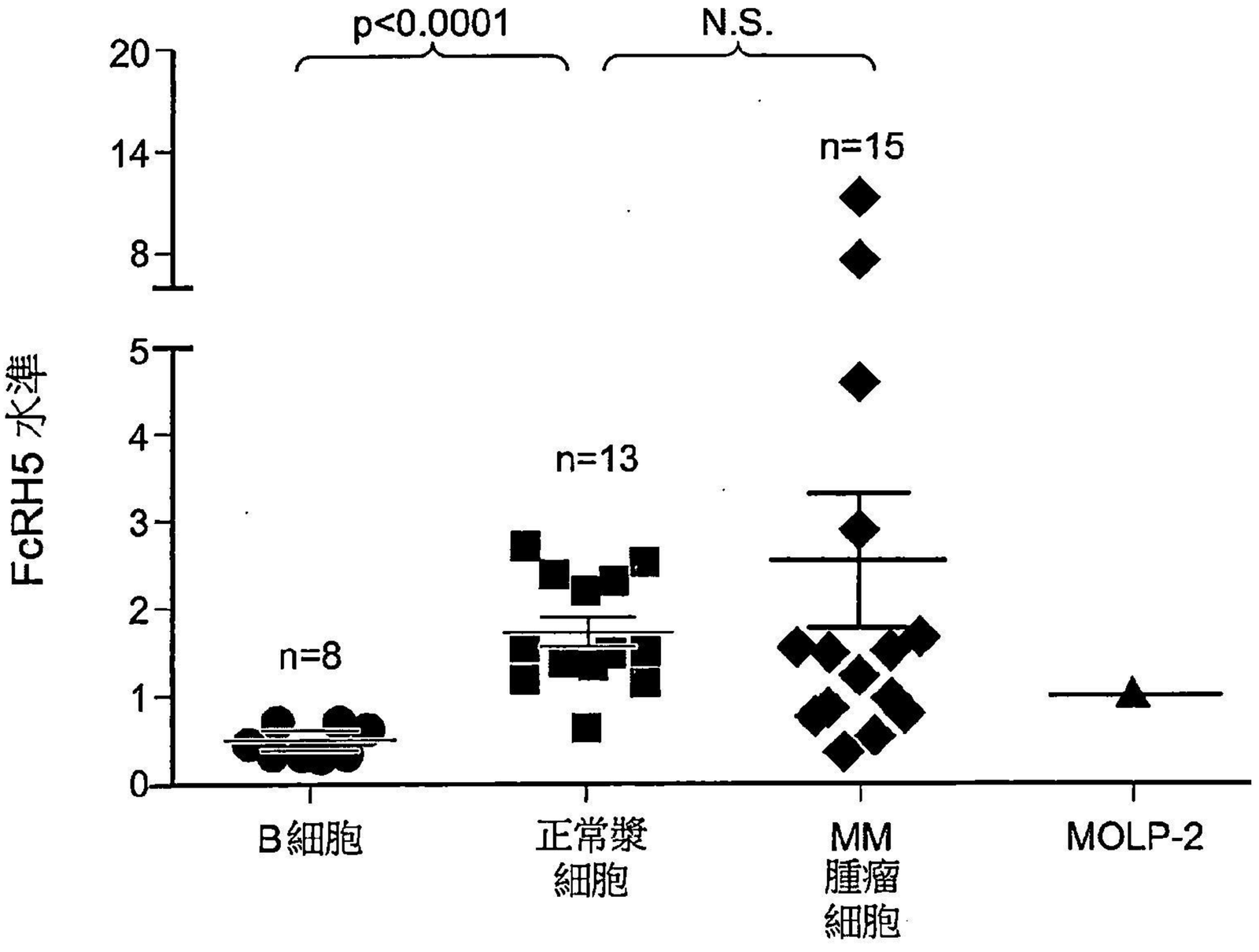

p<0.0001
N.S.
FcRH5 水準
20
14
8
5
4
3
2
1
0
n=8
n=13
n=15
B細胞
正常漿細胞
MM腫瘤細胞
MOLP-2

圖 28A

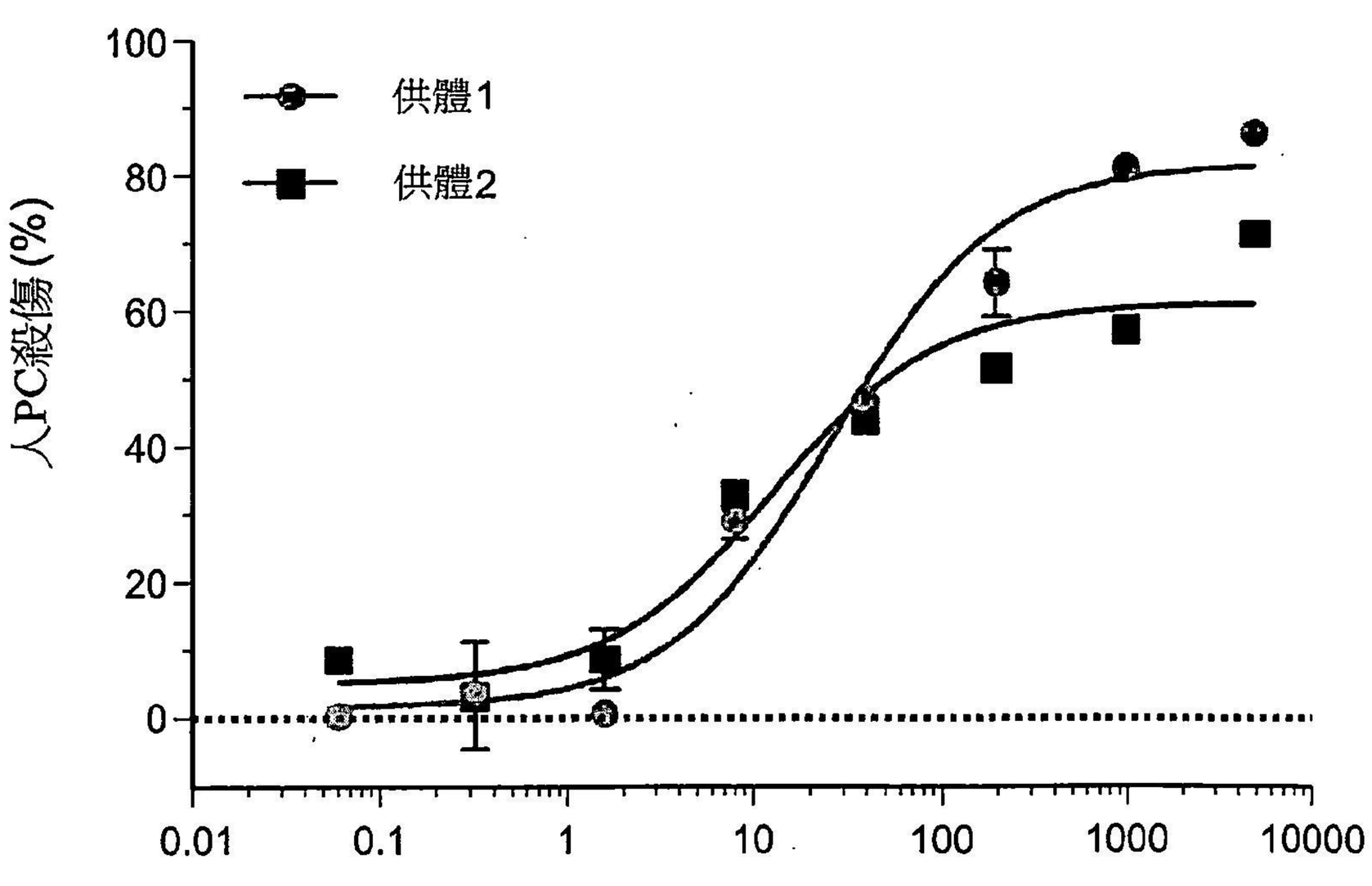

供體1
供體2
人PC殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 28B

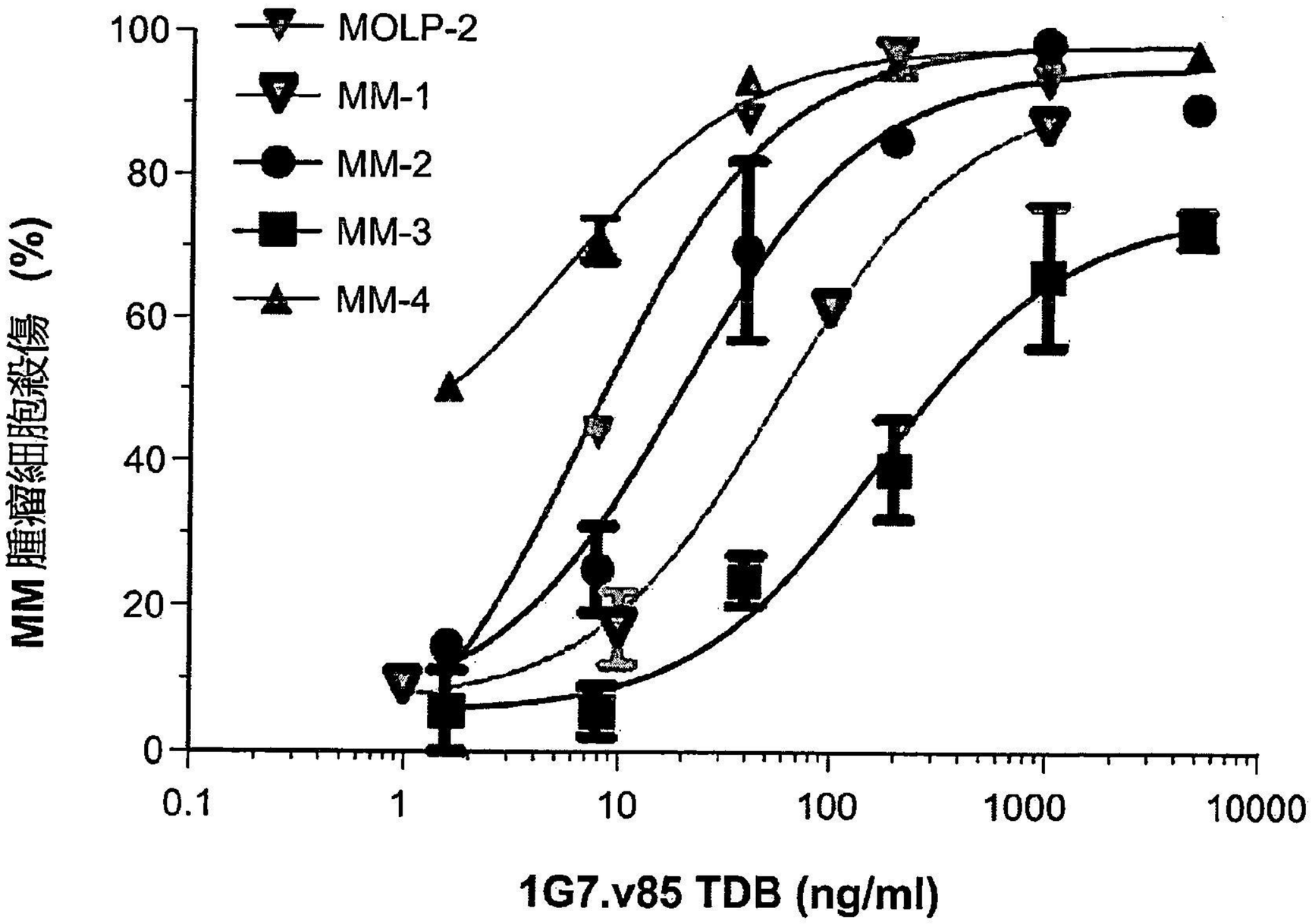

MOLP-2
MM-1
MM-2
MM-3
MM-4
MM 腫瘤細胞殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 28C

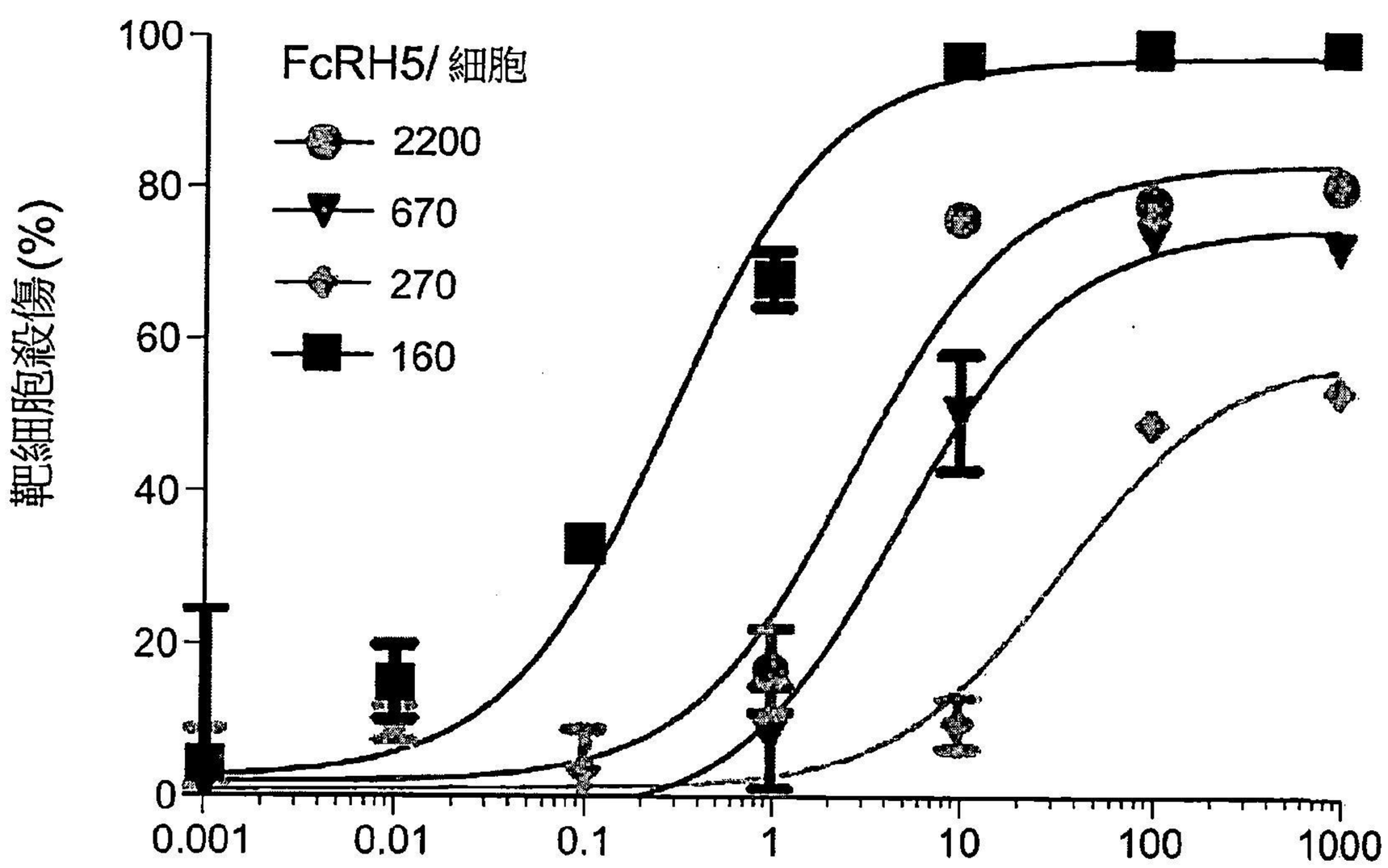

FcRH5/ 細胞
2200
670
270
160
靶細胞殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 28D

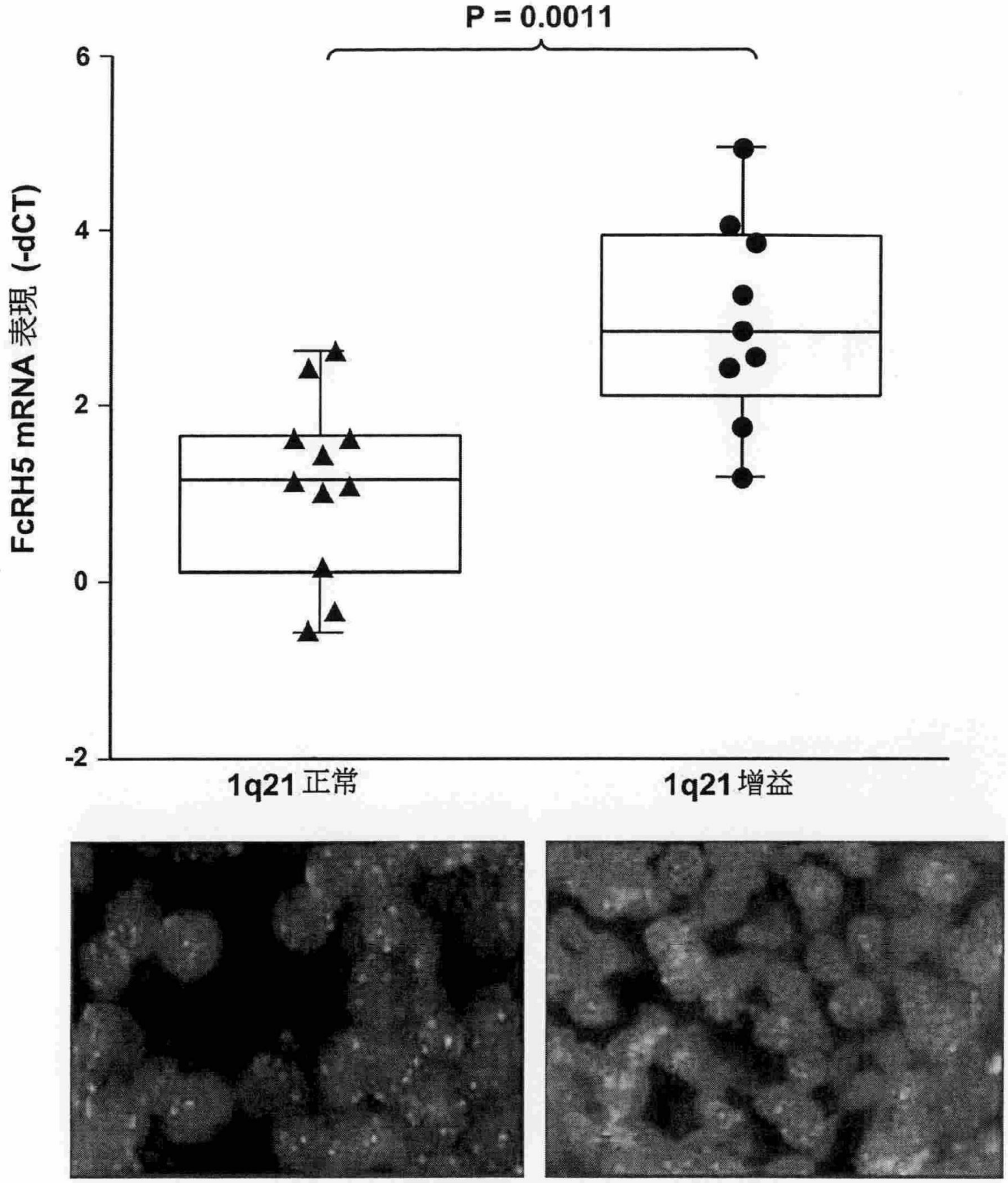


圖 28E

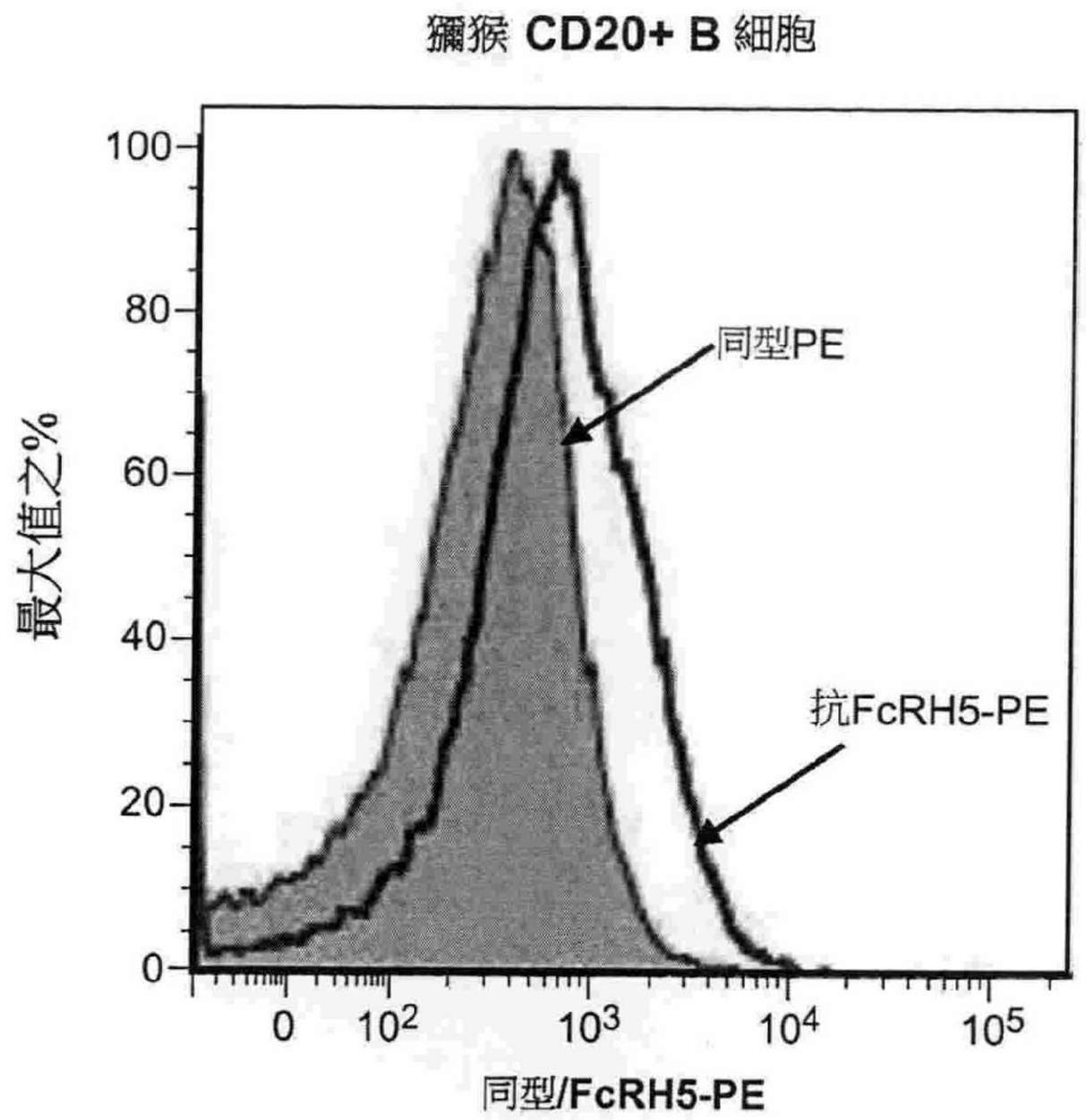

獼猴 CD20+ B 細胞
100
80
60
40
20
0
最大值之%
同型PE
抗FcRH5-PE
0
10^2
10^3
10^4
10^5
同型/FcRH5-PE

圖 29A

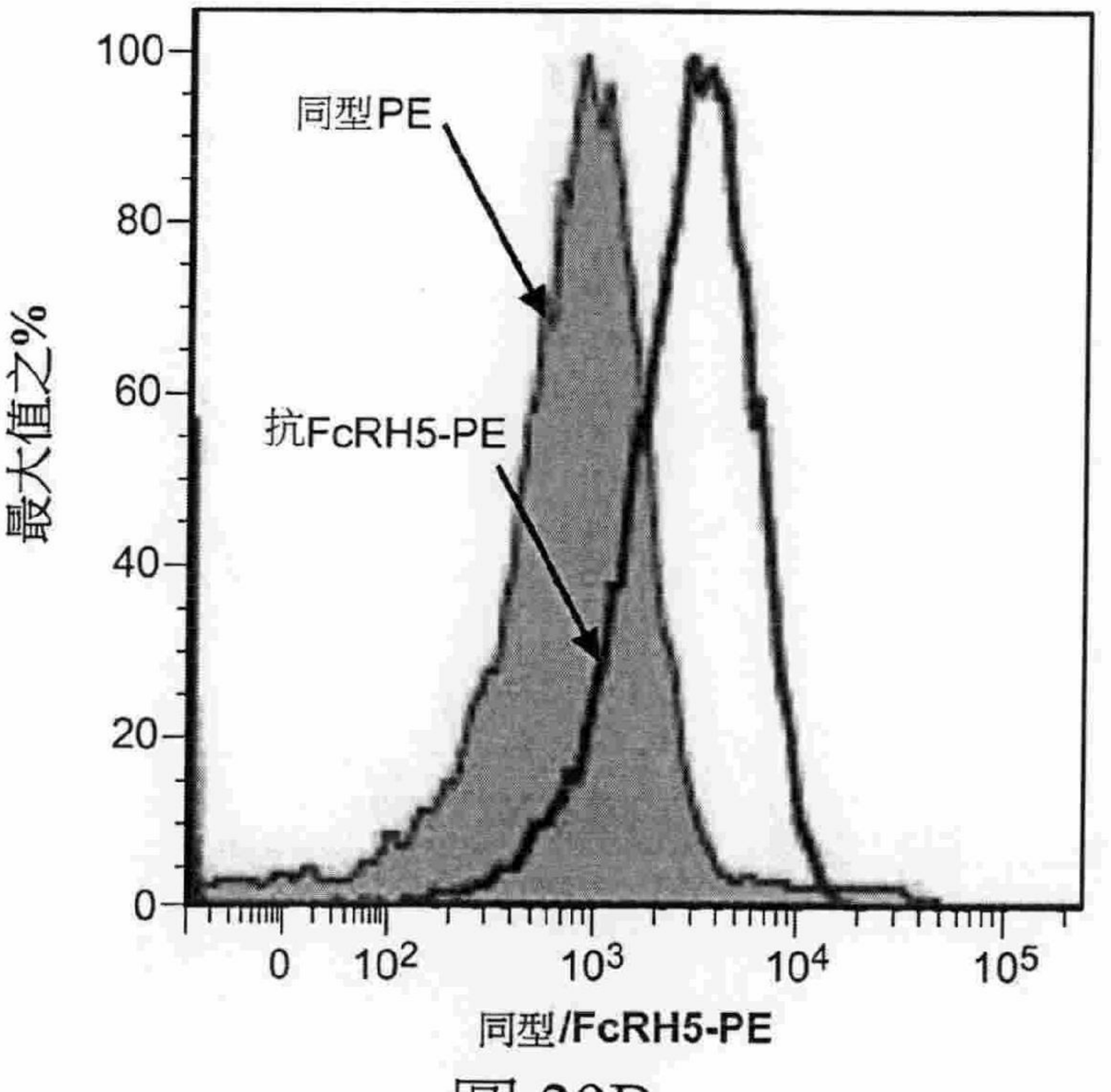

獼猴漿細胞
100
80
60
40
20
0
最大值之%
同型PE
抗FcRH5-PE
0
10^2
10^3
10^4
10^5
同型/FcRH5-PE

圖 29B

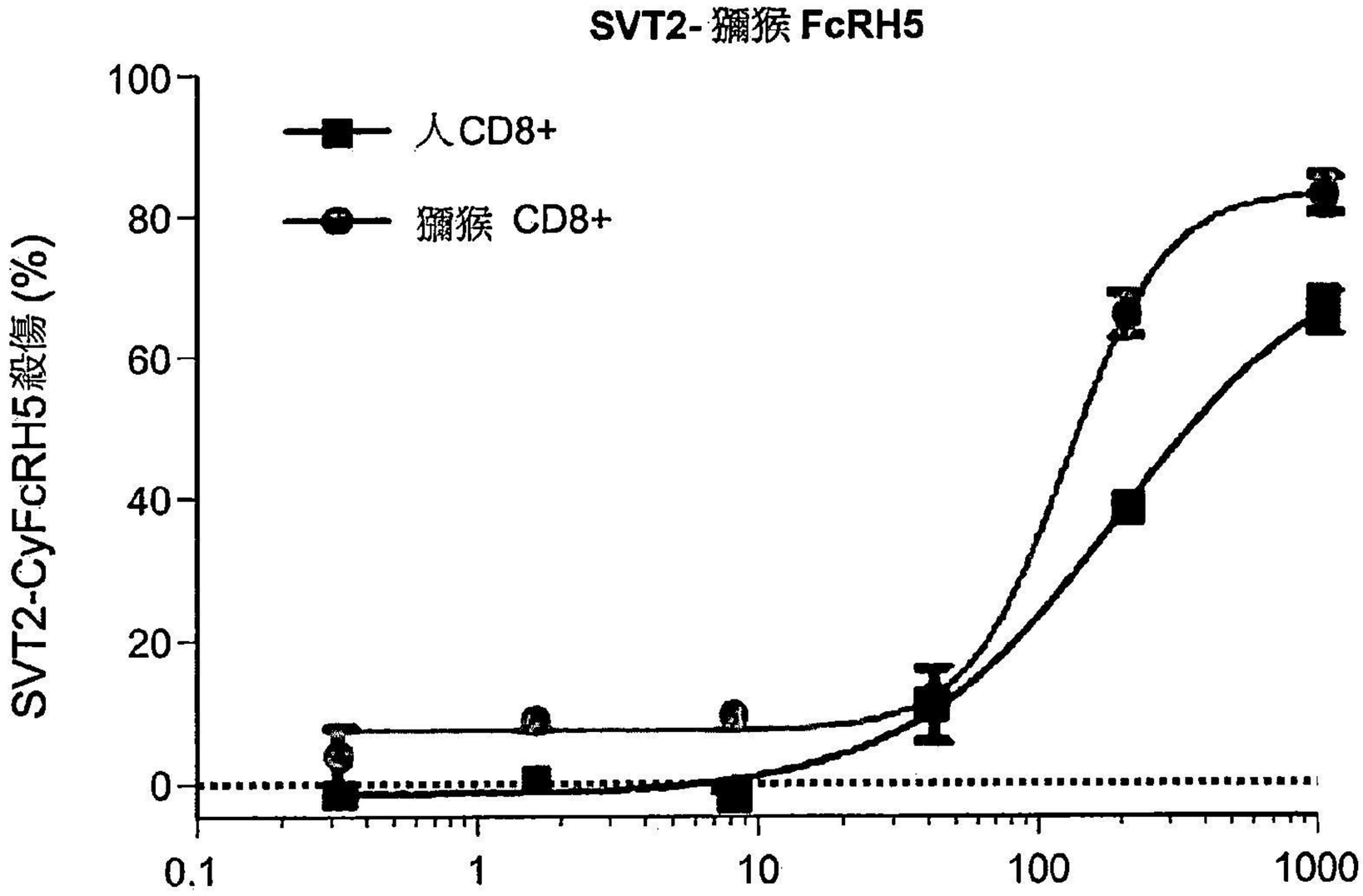

SVT2- 獼猴 FcRH5
人CD8+
獼猴 CD8+
SVT2-CyFcRH5殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 29C

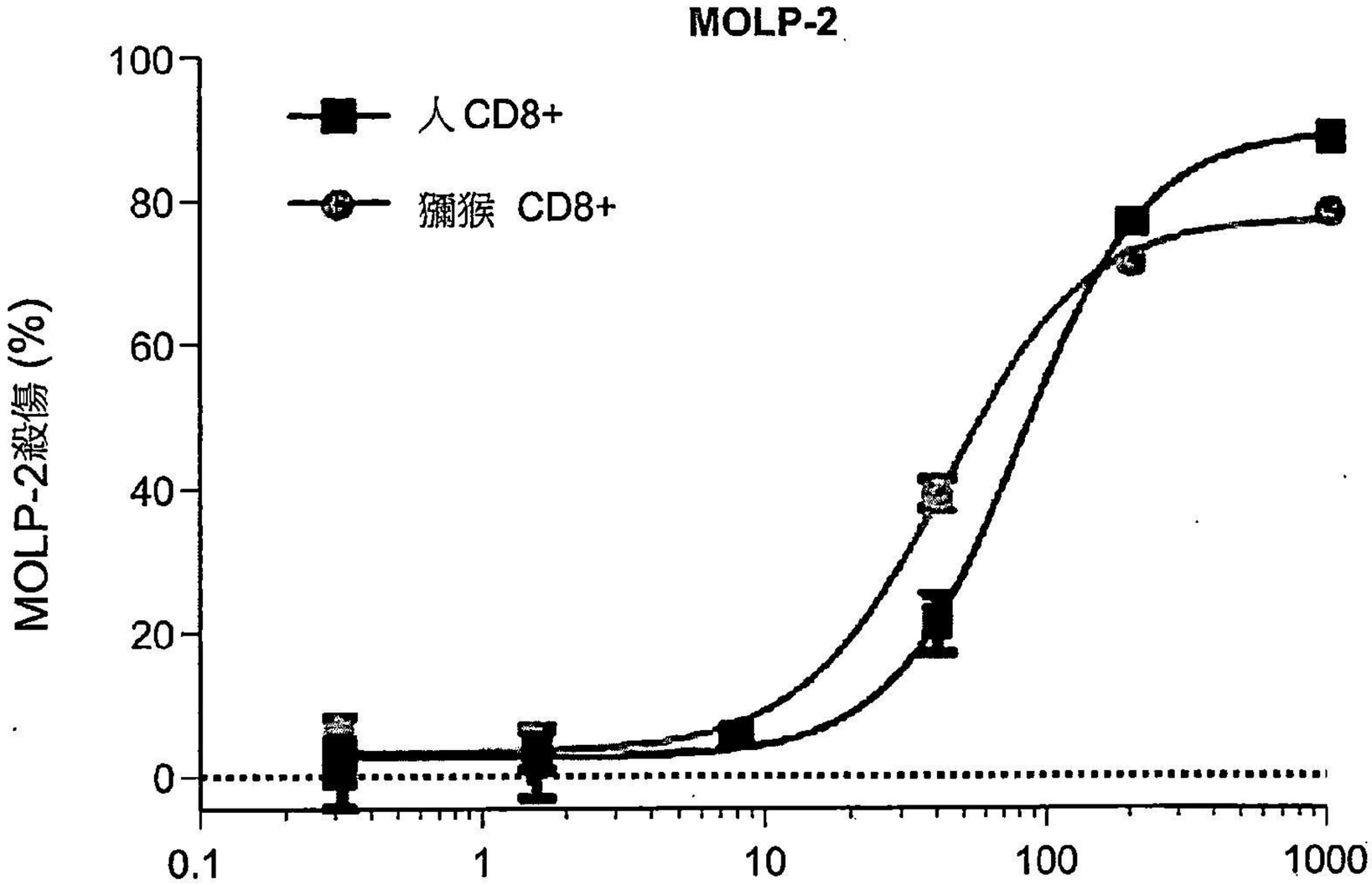

MOLP-2
人CD8+
獼猴 CD8+
MOLP-2殺傷 (%)
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 29D

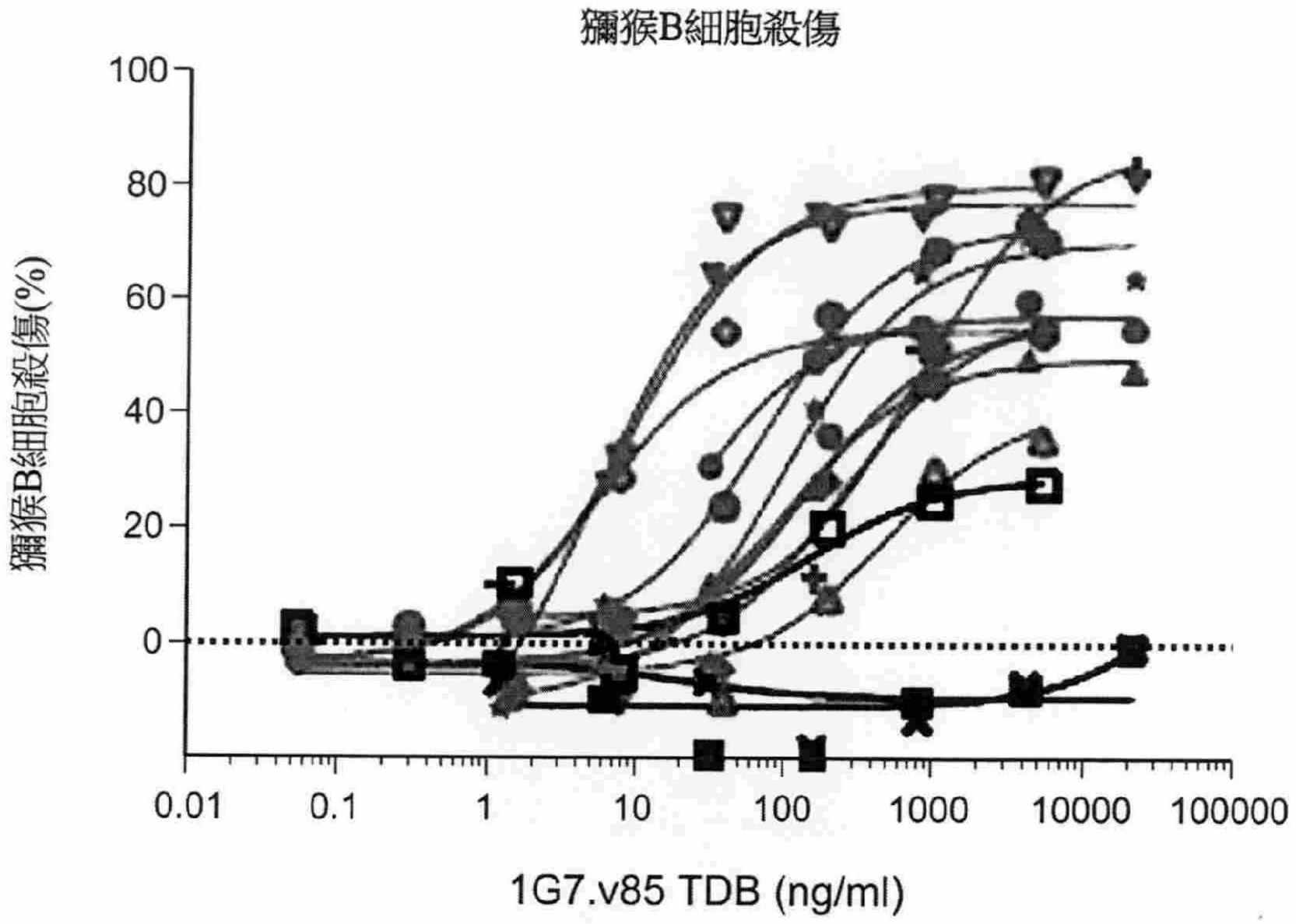

獼猴B細胞殺傷
獼猴B細胞殺傷(%)
100
80
60
40
20
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
100000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 29E

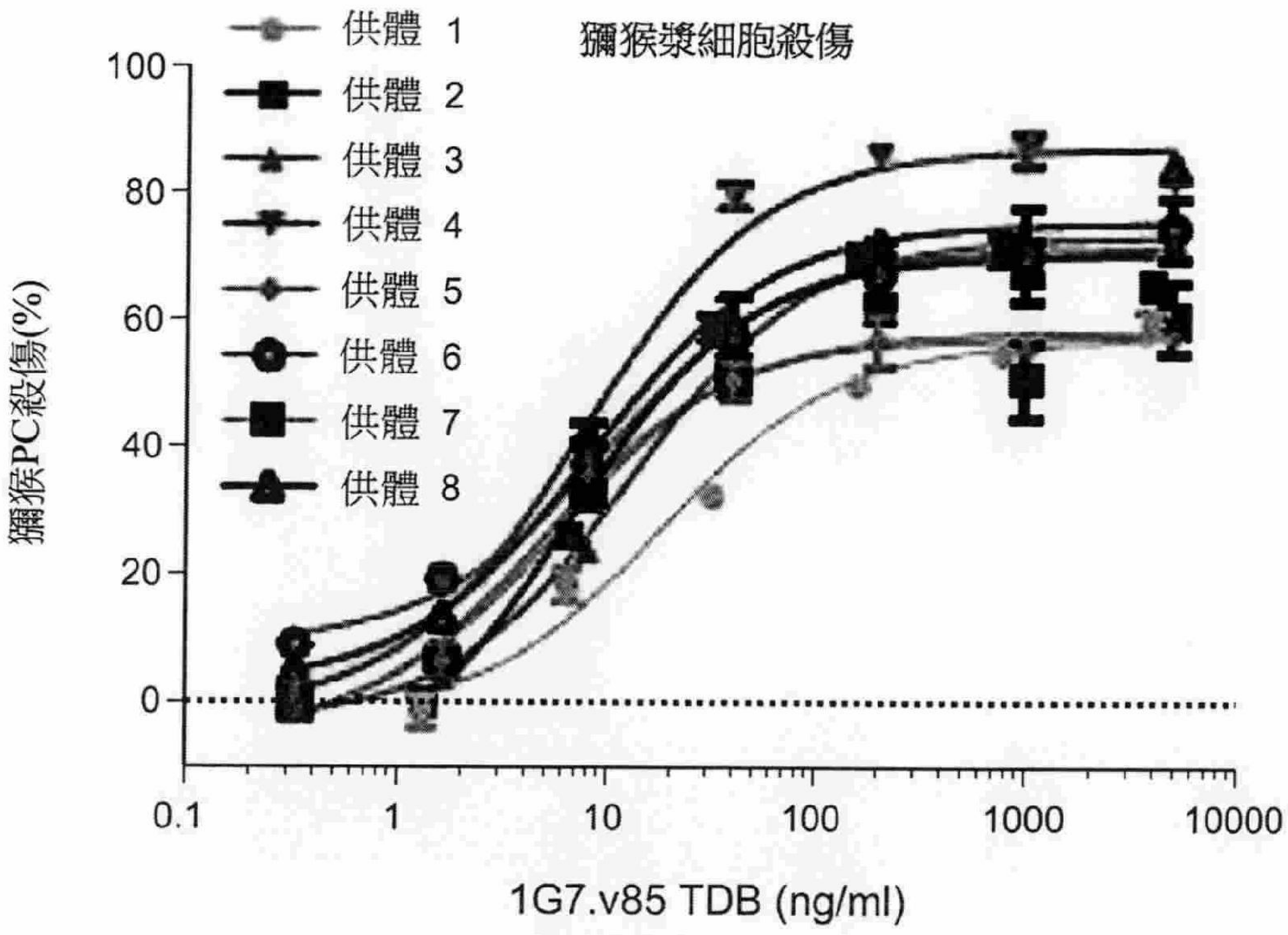

供體 1
供體 2
供體 3
供體 4
供體 5
供體 6
供體 7
供體 8
獼猴漿細胞殺傷
獼猴PC殺傷(%)
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
10000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 29F

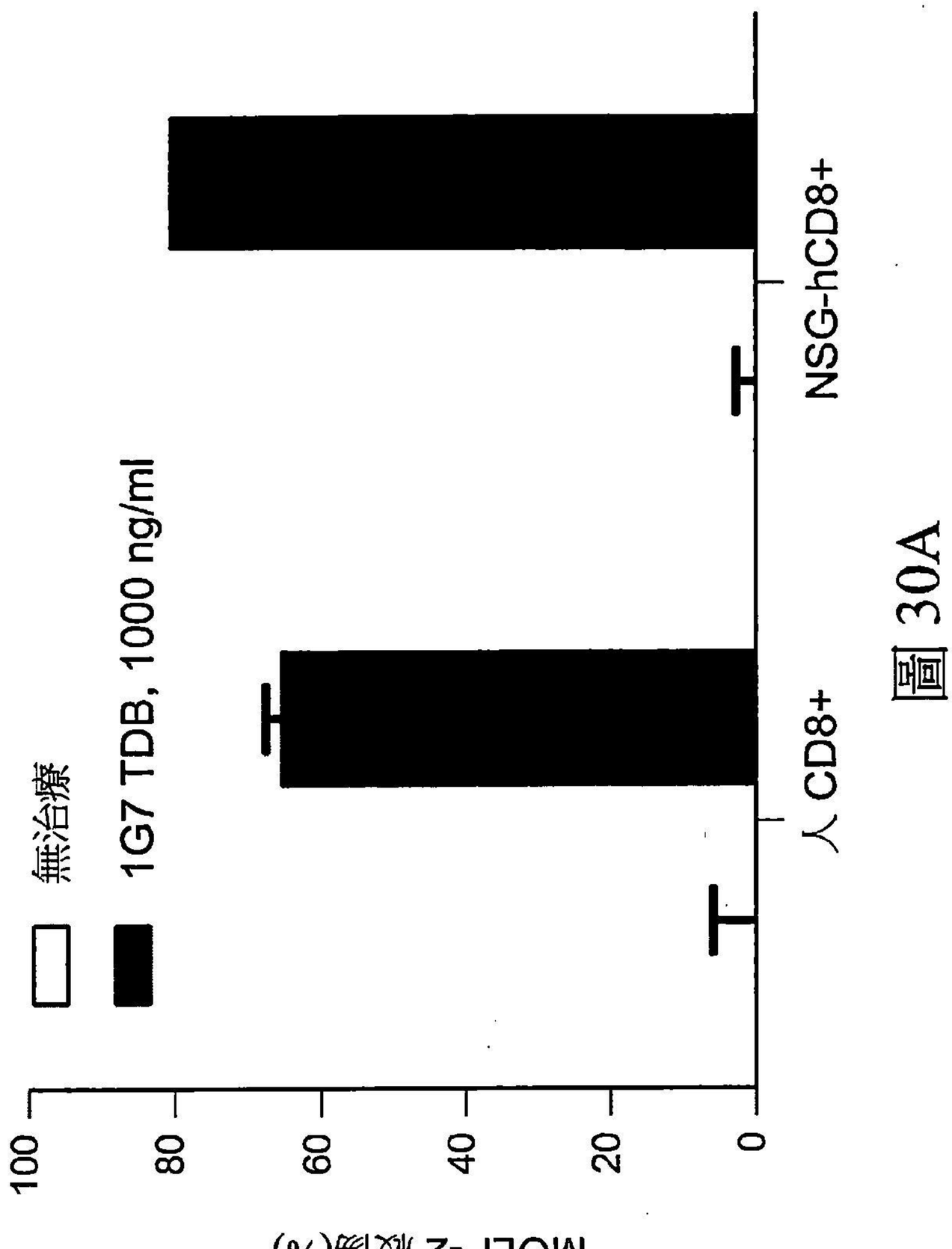


圖 30A

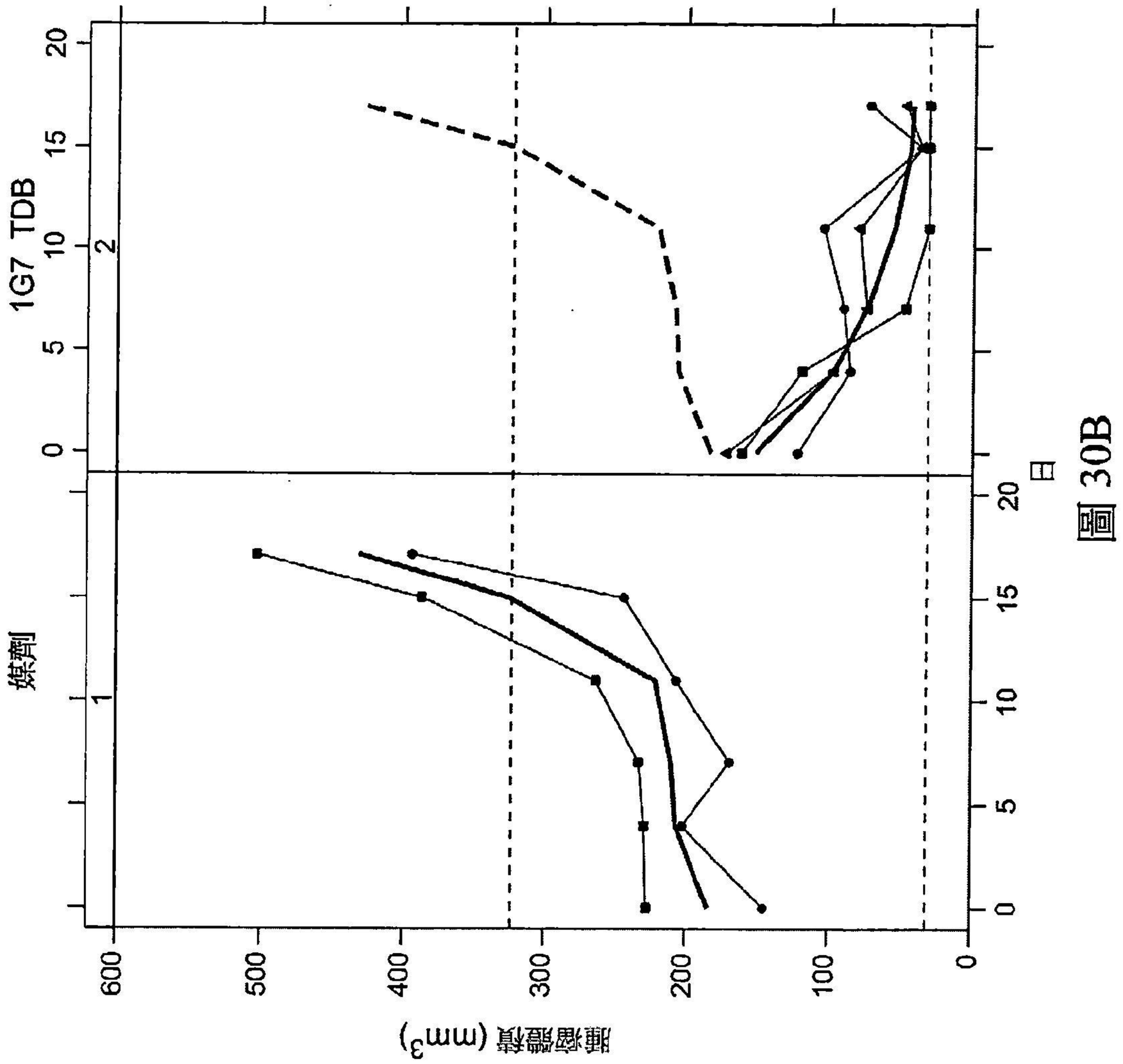
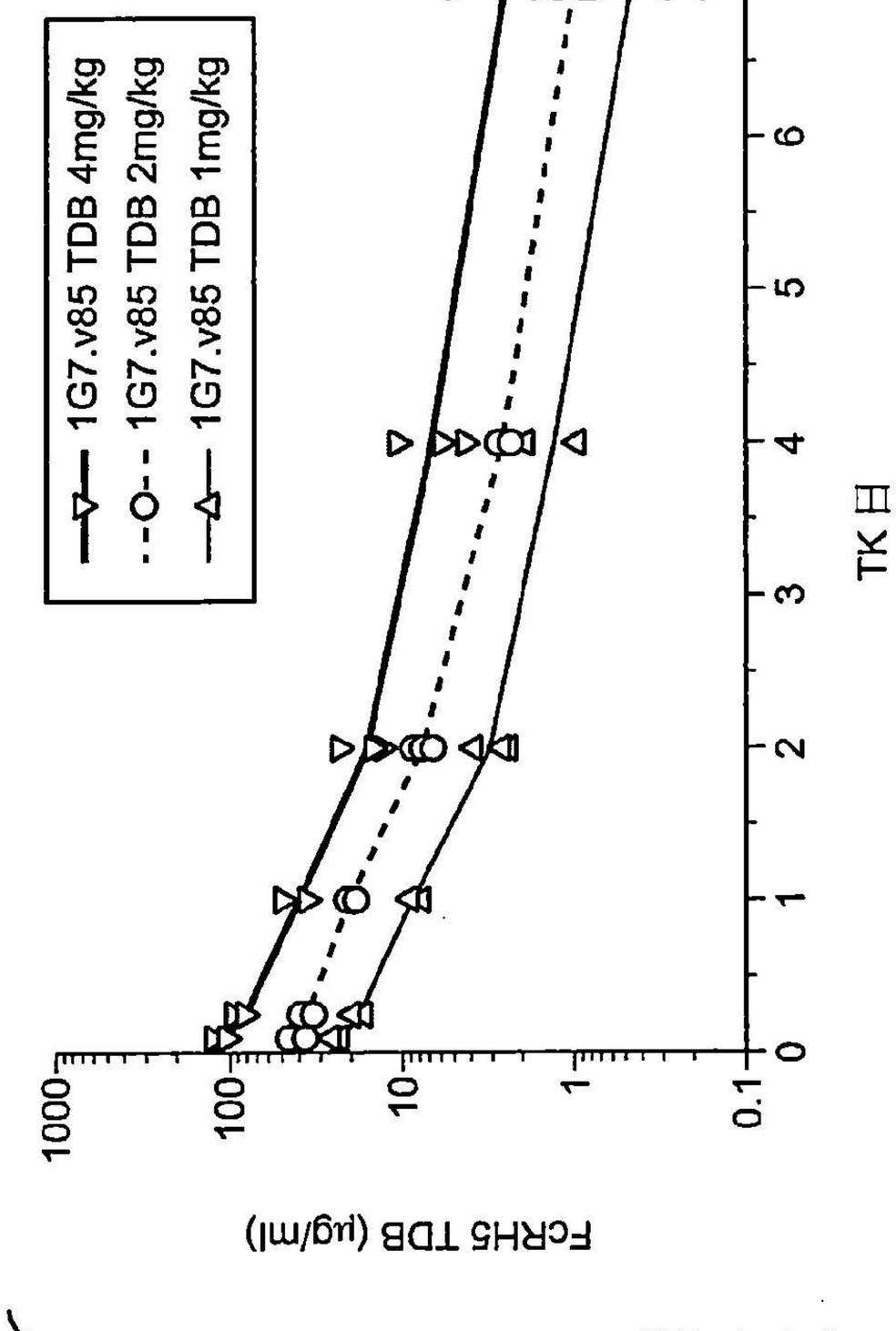
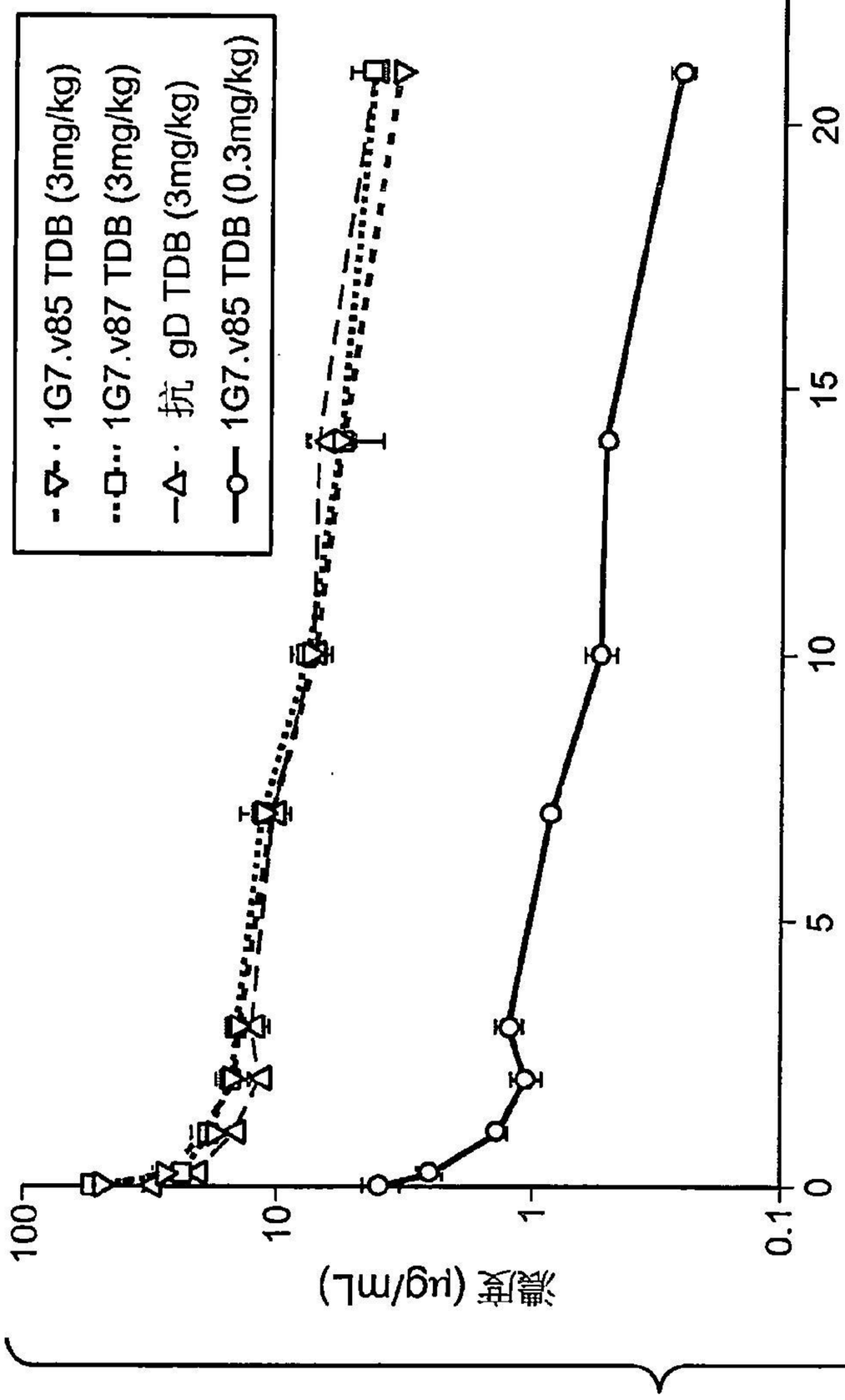

1G7 TDB
0
5
10
15
20
2
媒劑
1
0
100
200
300
400
500
600
0
5
10
15
20
日
腫瘤體積 (mm^3)

圖 30B



劑量 (mg/kg)	C最大值 (μg/mL)	AUC_{inf} (日*μg/mL)	AUC_{0-7} (日*μg/mL)	CL (mL/日/kg)
1	26.5±0.4	30.1±4	28.7±2	33.6±4
2	47.9±2	62.4±2	60.3±2	32.0±1
4	129±21	139±35	133±28	29.8±7

圖 31A



組	AUC 持續 (d*μg/mL)	C最大值 (μg/mL)	CL (mL/kg/d)
0.3 mg/kg	15.8	3.9	15.7
3 mg/kg	190.5	50.2	12.4
抗gD 3 mg/kg	186	31.9	11.4

圖 31B

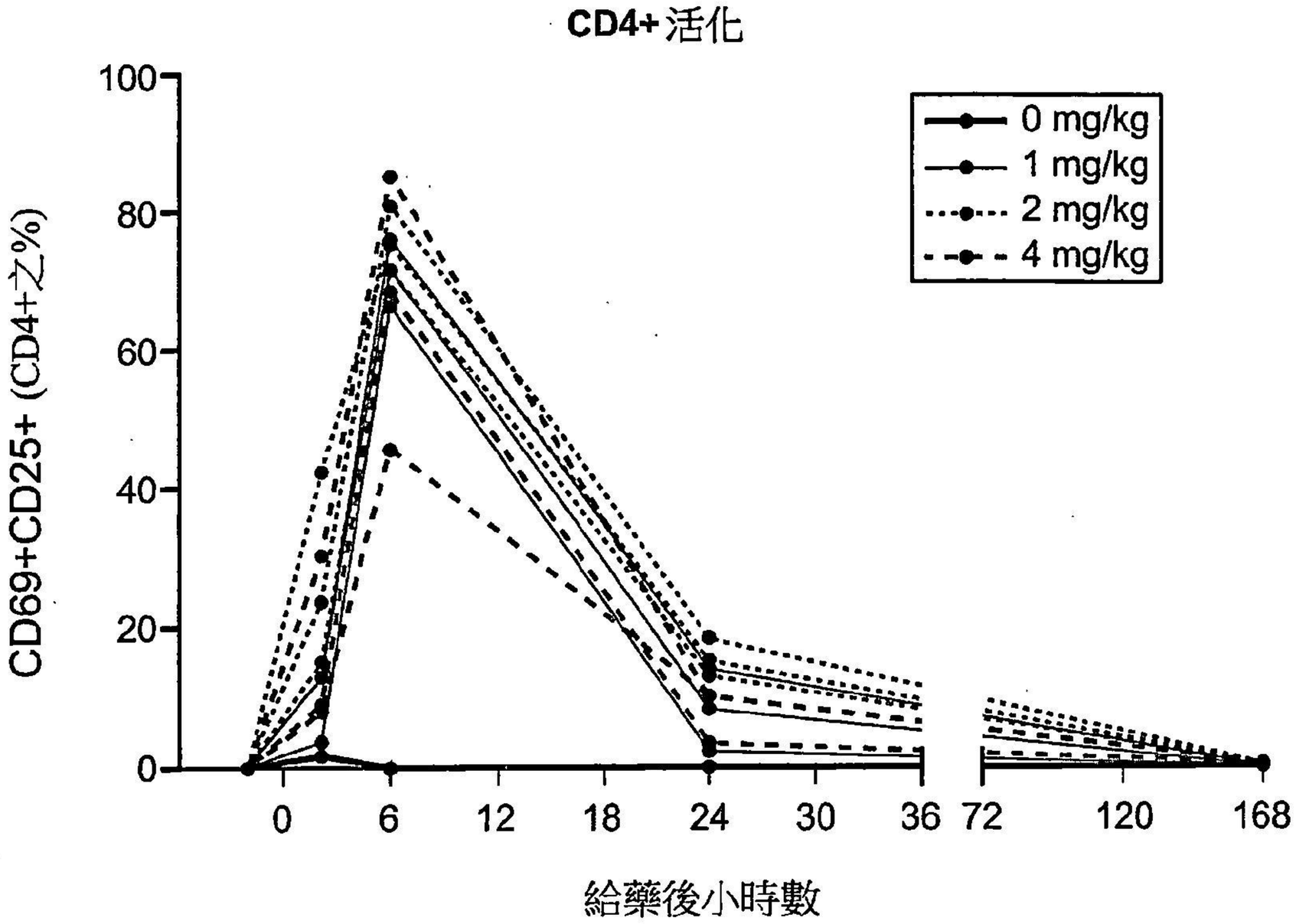

CD4+活化
CD69+CD25+ (CD4+之%)
100
80
60
40
20
0
0 6 12 18 24 30 36 72 120 168
給藥後小時數
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg

圖 31C

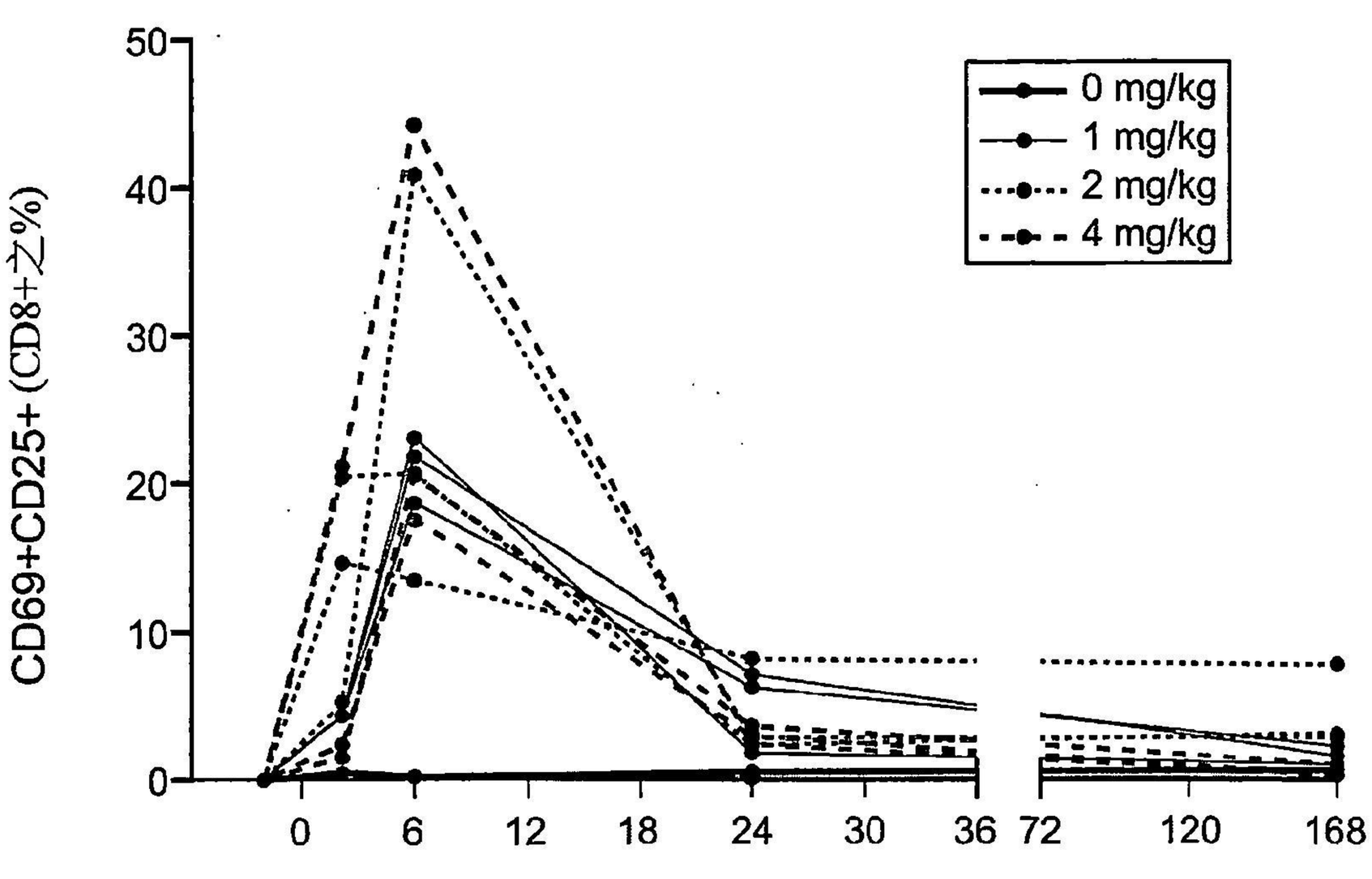

CD8+活化
CD69+CD25+ (CD8+之%)
50
40
30
20
10
0
0 6 12 18 24 30 36 72 120 168
給藥後小時數
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg

圖 31D

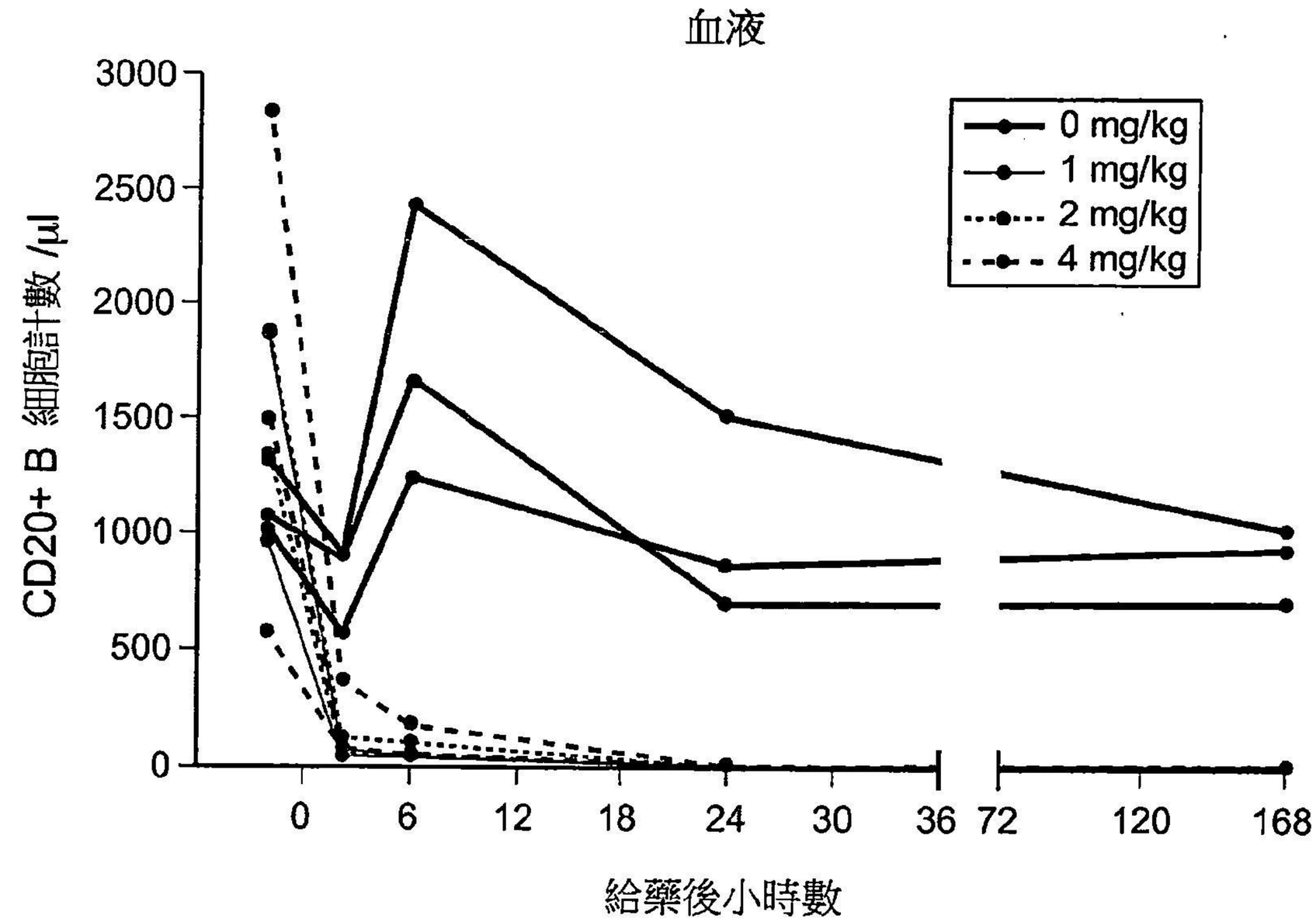
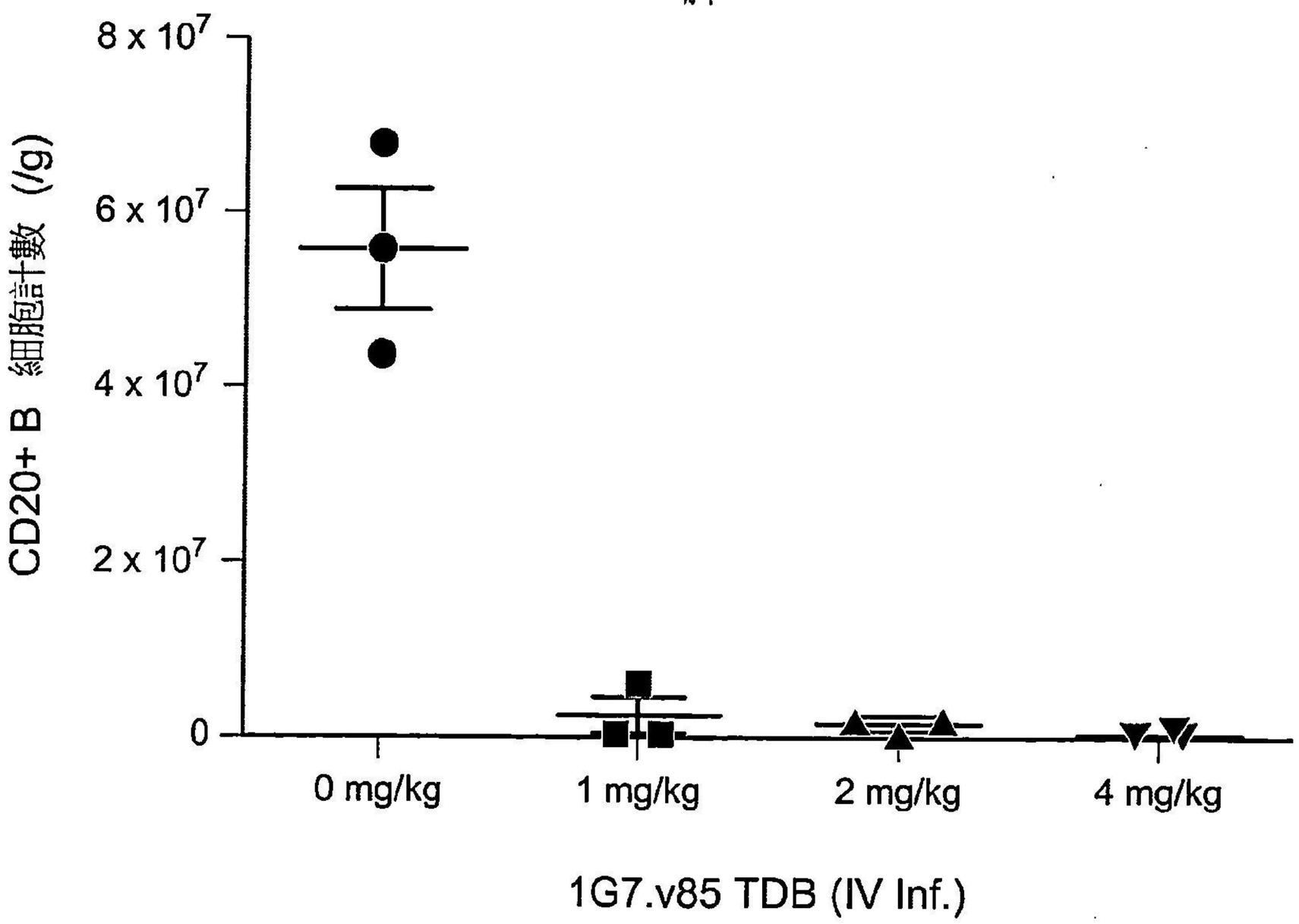


圖 31E



1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 31F

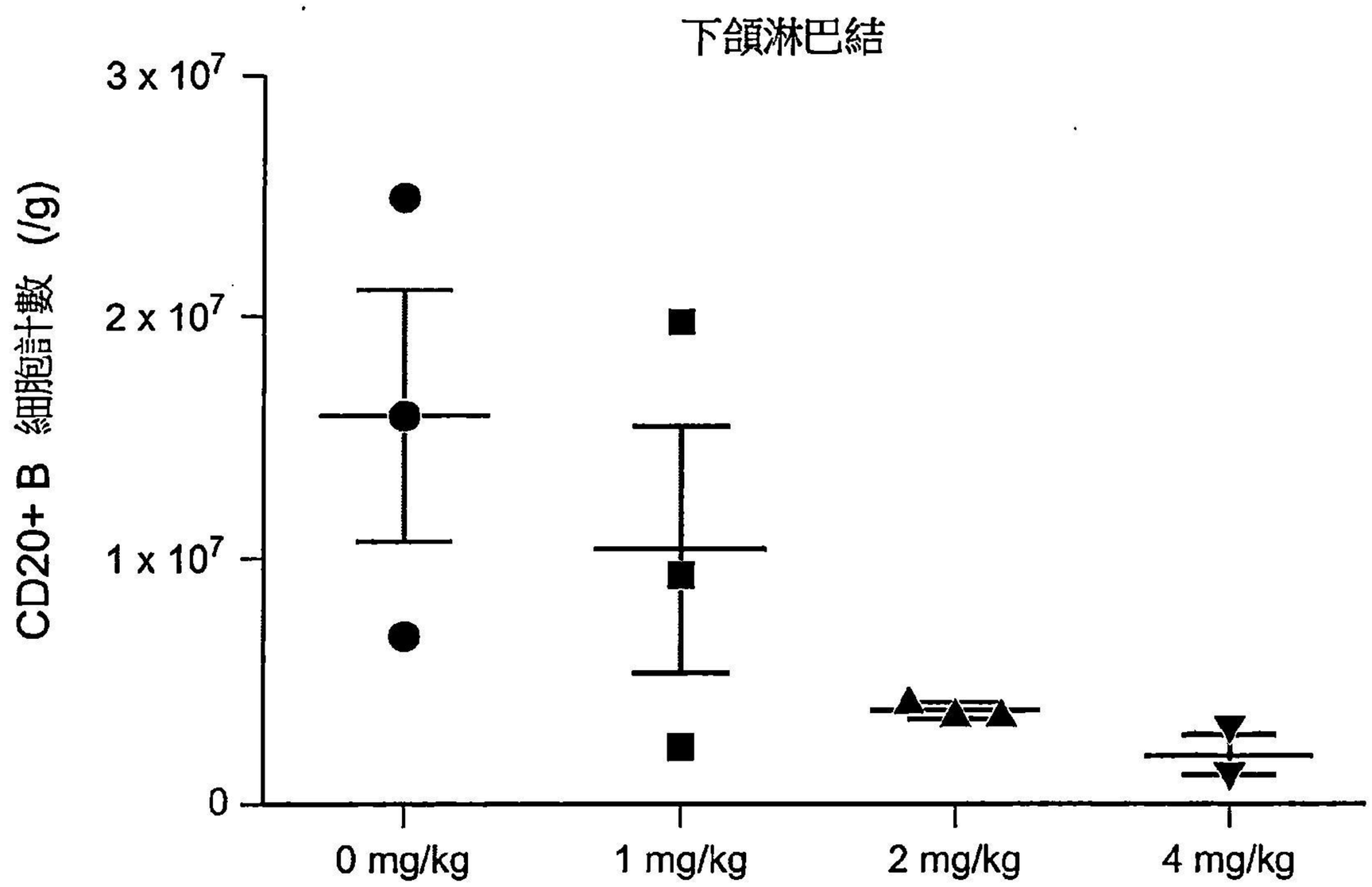

下頜淋巴結
CD20+ B 細胞計數 (/g)
3 x 10^7
2 x 10^7
1 x 10^7
0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 31G

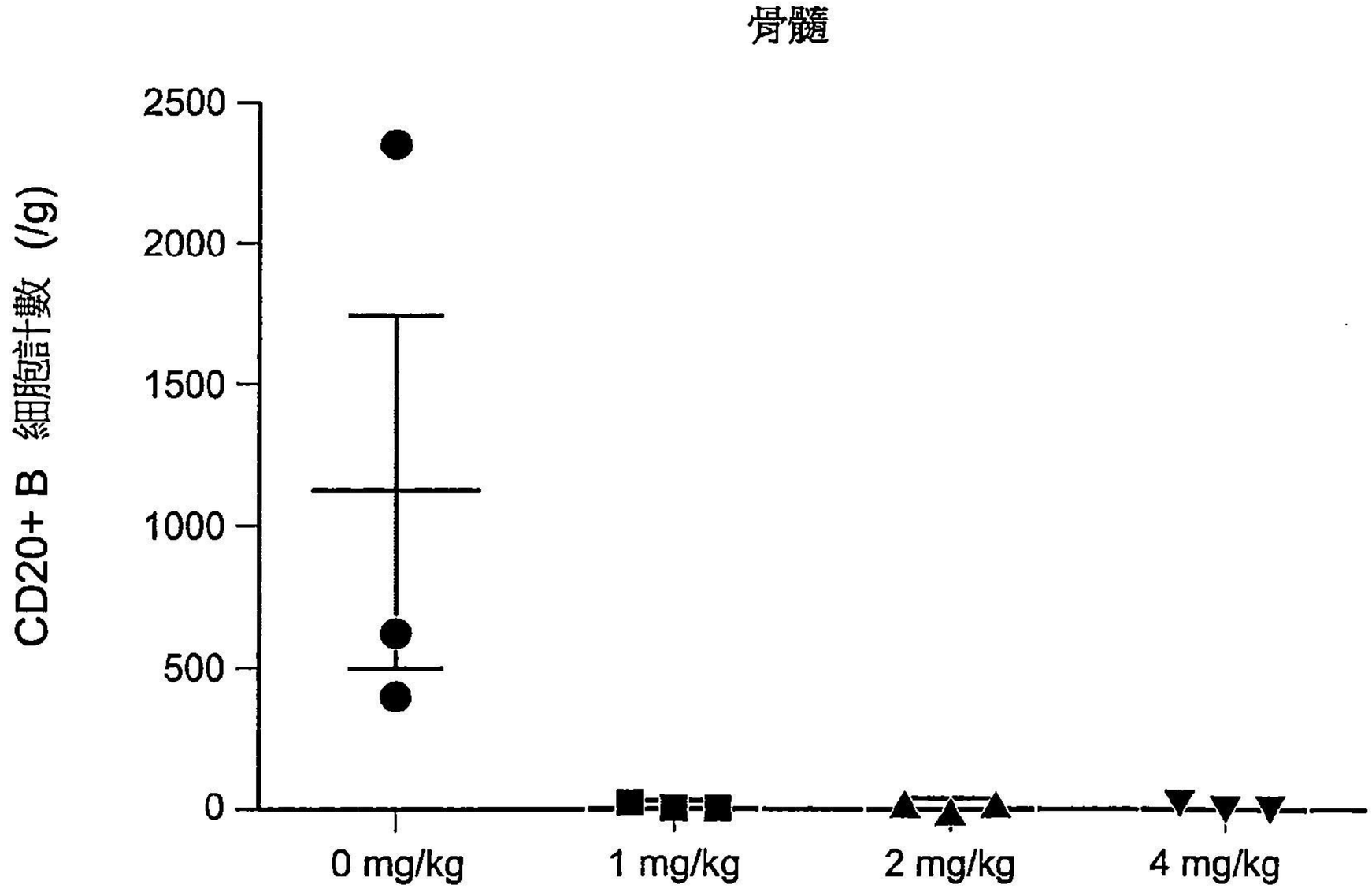

骨髓
CD20+ B 細胞計數 (/g)
2500
2000
1500
1000
500
0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 31H

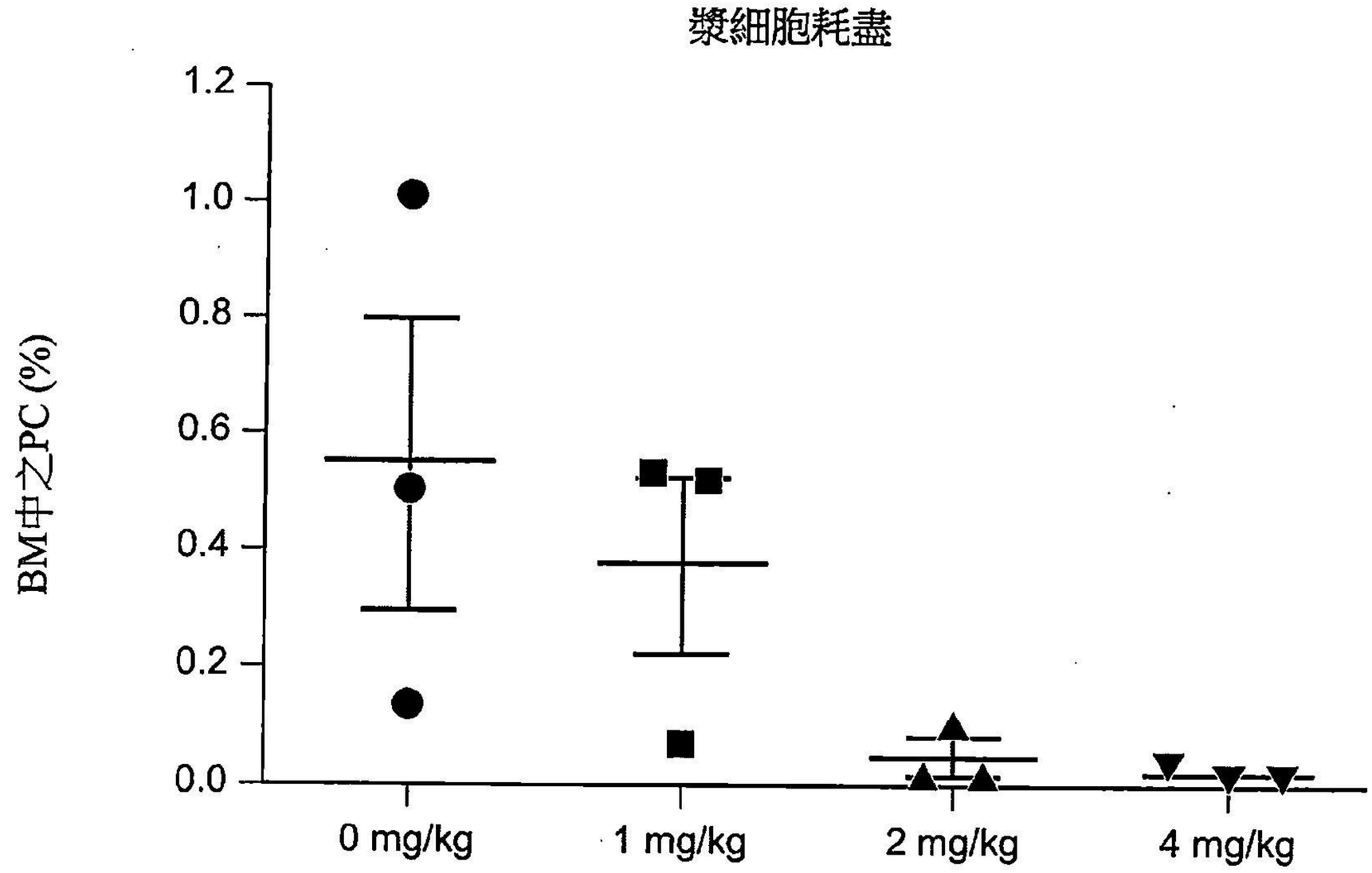

漿細胞耗盡
BM中之PC (%)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 31I

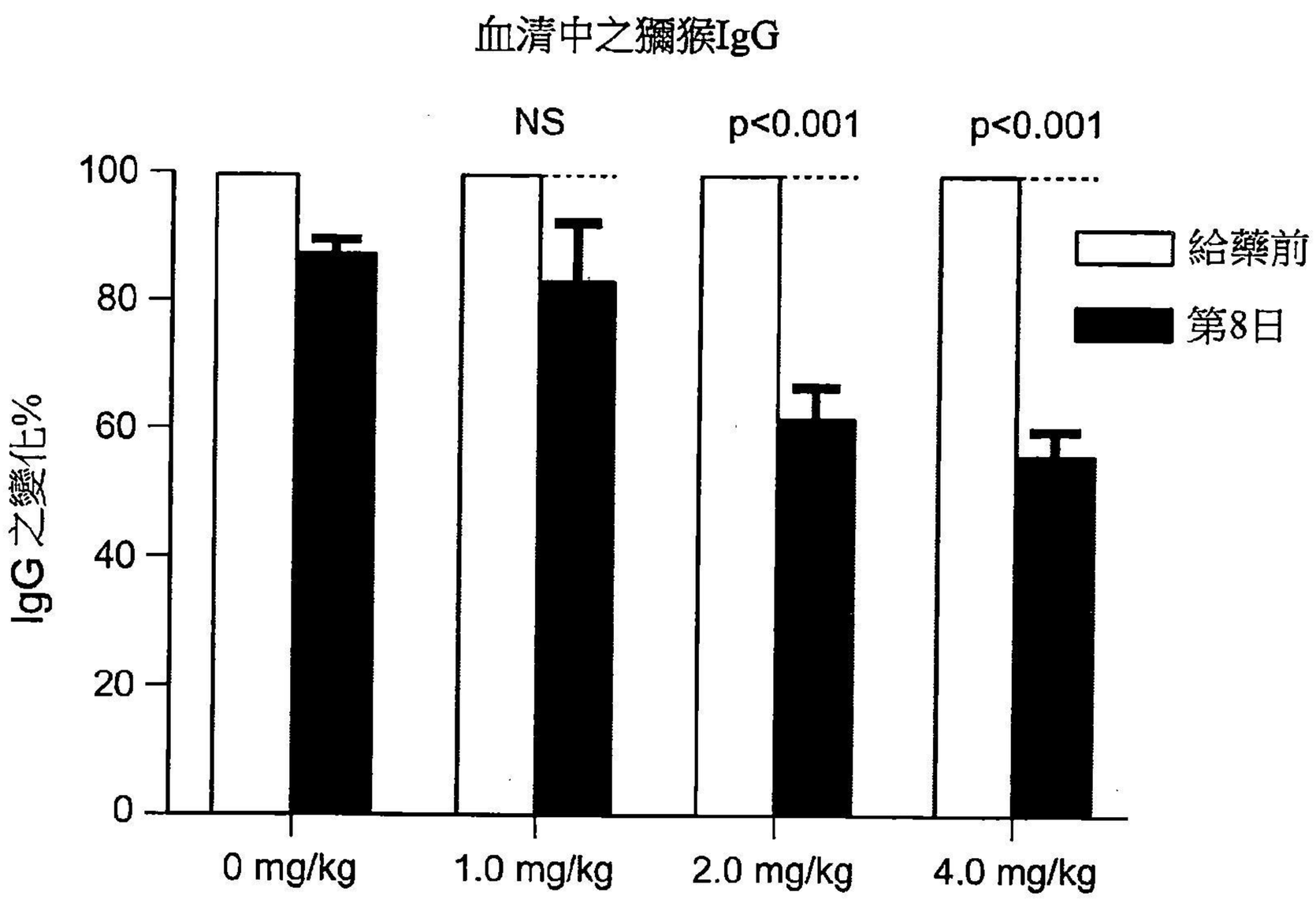

血清中之獼猴IgG
NS
p<0.001
p<0.001
IgG之變化%
100
80
60
40
20
0
給藥前
第8日
0 mg/kg
1.0 mg/kg
2.0 mg/kg
4.0 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 31J

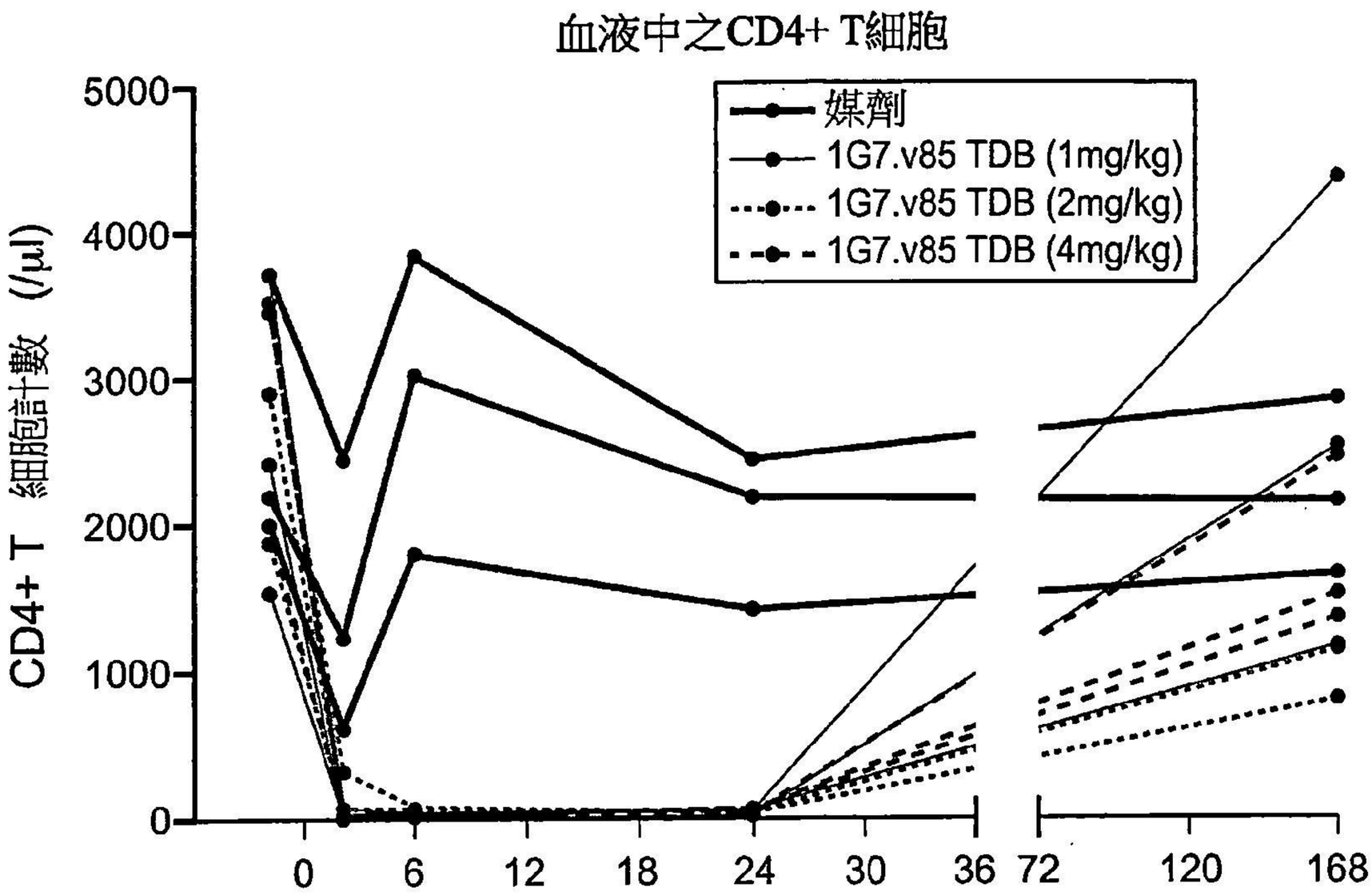

血液中之CD4+ T細胞
媒劑
1G7.v85 TDB (1mg/kg)
1G7.v85 TDB (2mg/kg)
1G7.v85 TDB (4mg/kg)
CD4+ T 細胞計數 (/μl)
5000
4000
3000
2000
1000
0
0
6
12
18
24
30
36
72
120
168
給藥後小時數

圖 32A

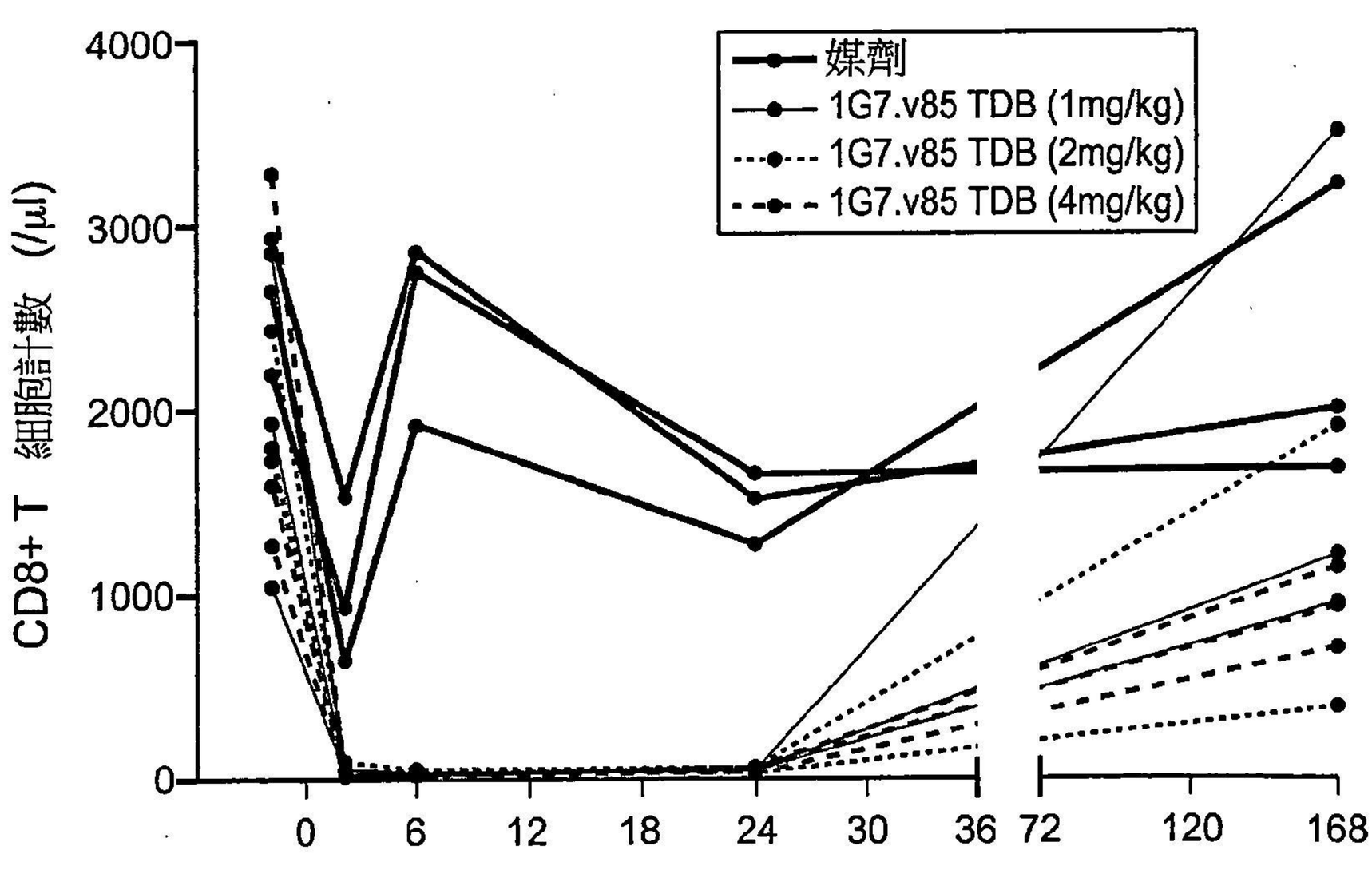

血液中之CD8+ T細胞
媒劑
1G7.v85 TDB (1mg/kg)
1G7.v85 TDB (2mg/kg)
1G7.v85 TDB (4mg/kg)
CD8+ T 細胞計數 (/μl)
4000
3000
2000
1000
0
0
6
12
18
24
30
36
72
120
168
第1次給藥後之小時數

圖 32B

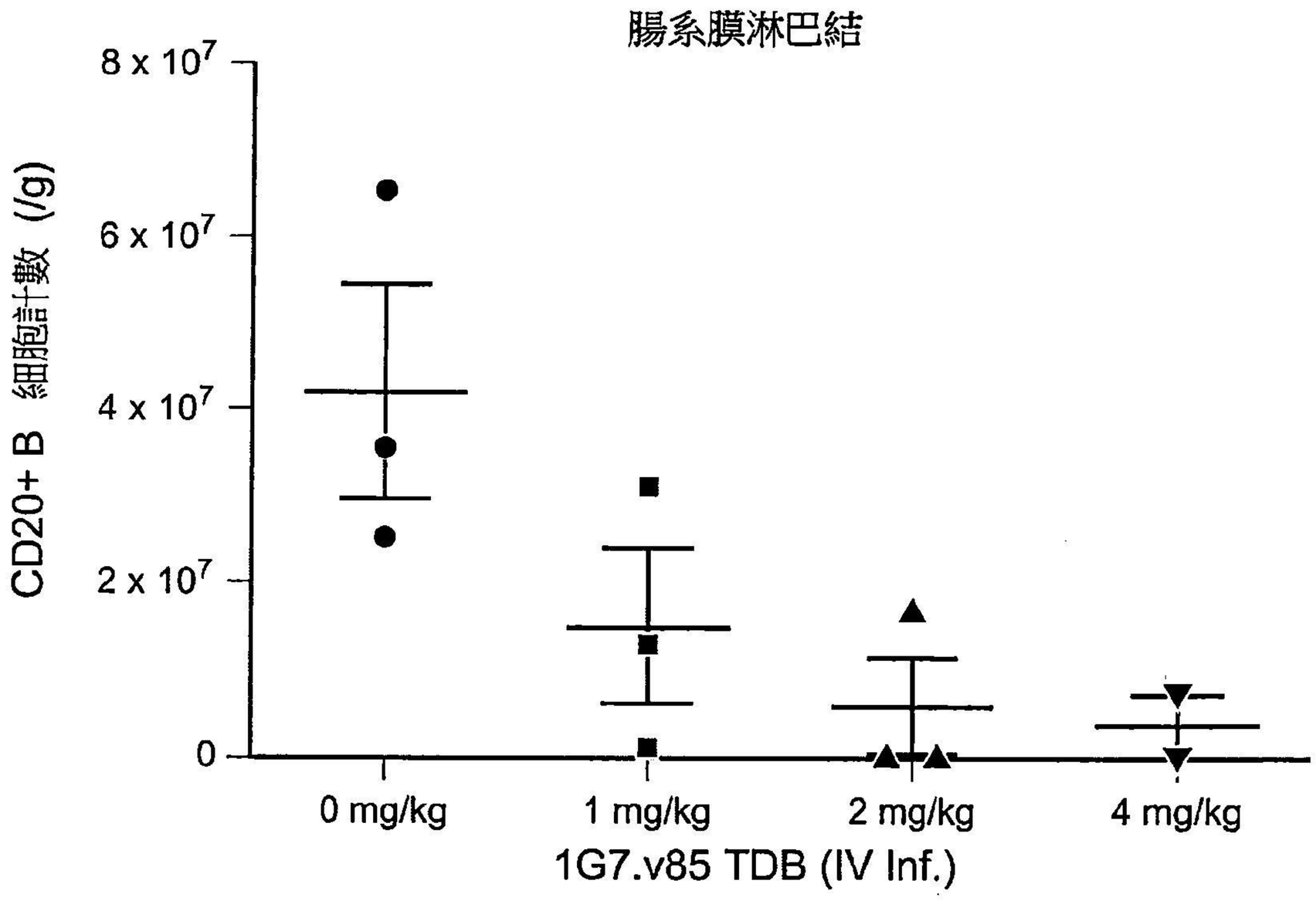

腸系膜淋巴結
8 x 10^7
6 x 10^7
4 x 10^7
2 x 10^7
0
CD20+ B 細胞計數 (/g)
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 32C

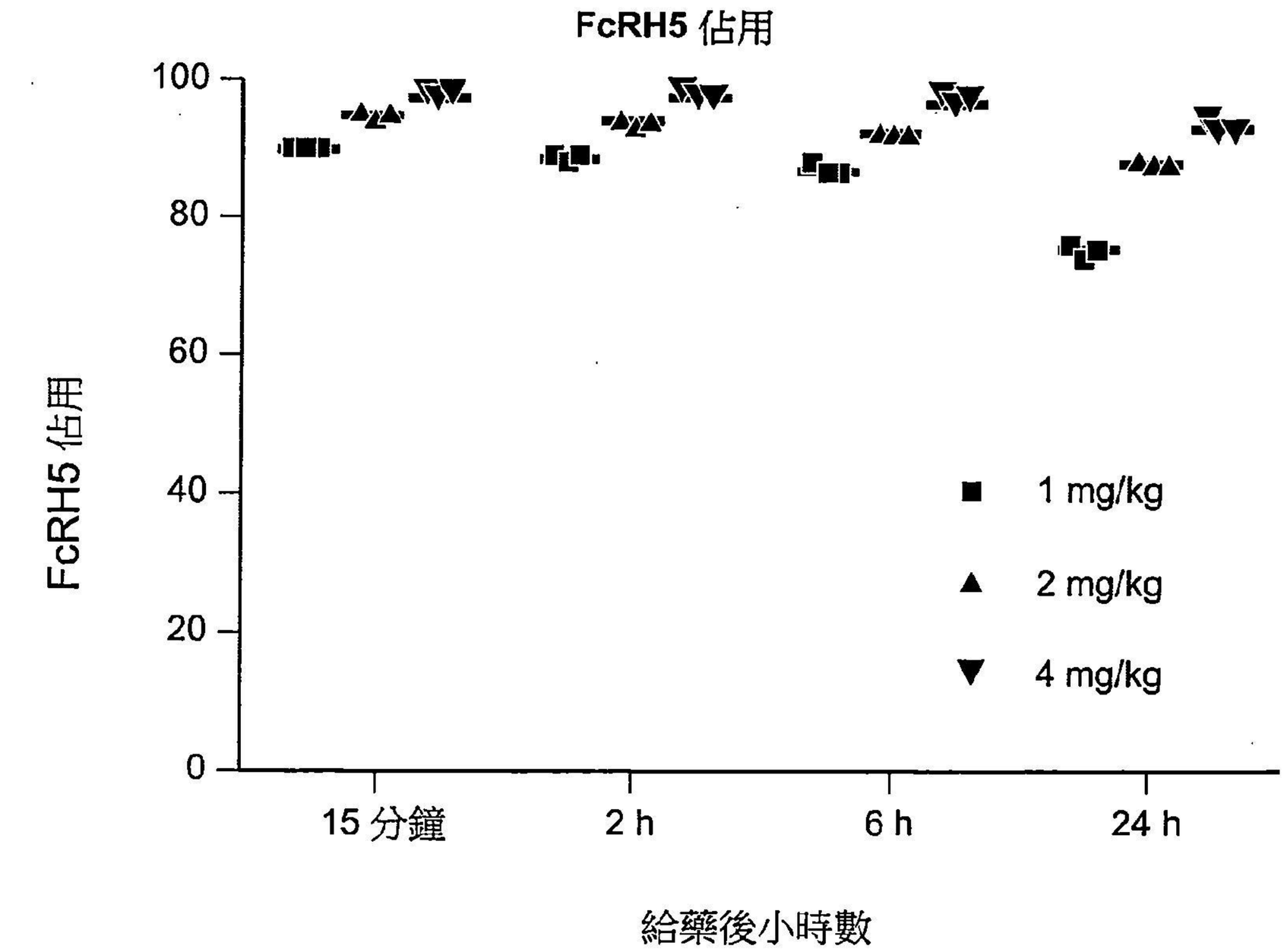

FcRH5 佔用
100
80
60
40
20
0
FcRH5 佔用
15 分鐘
2 h
6 h
24 h
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
給藥後小時數

圖 32D

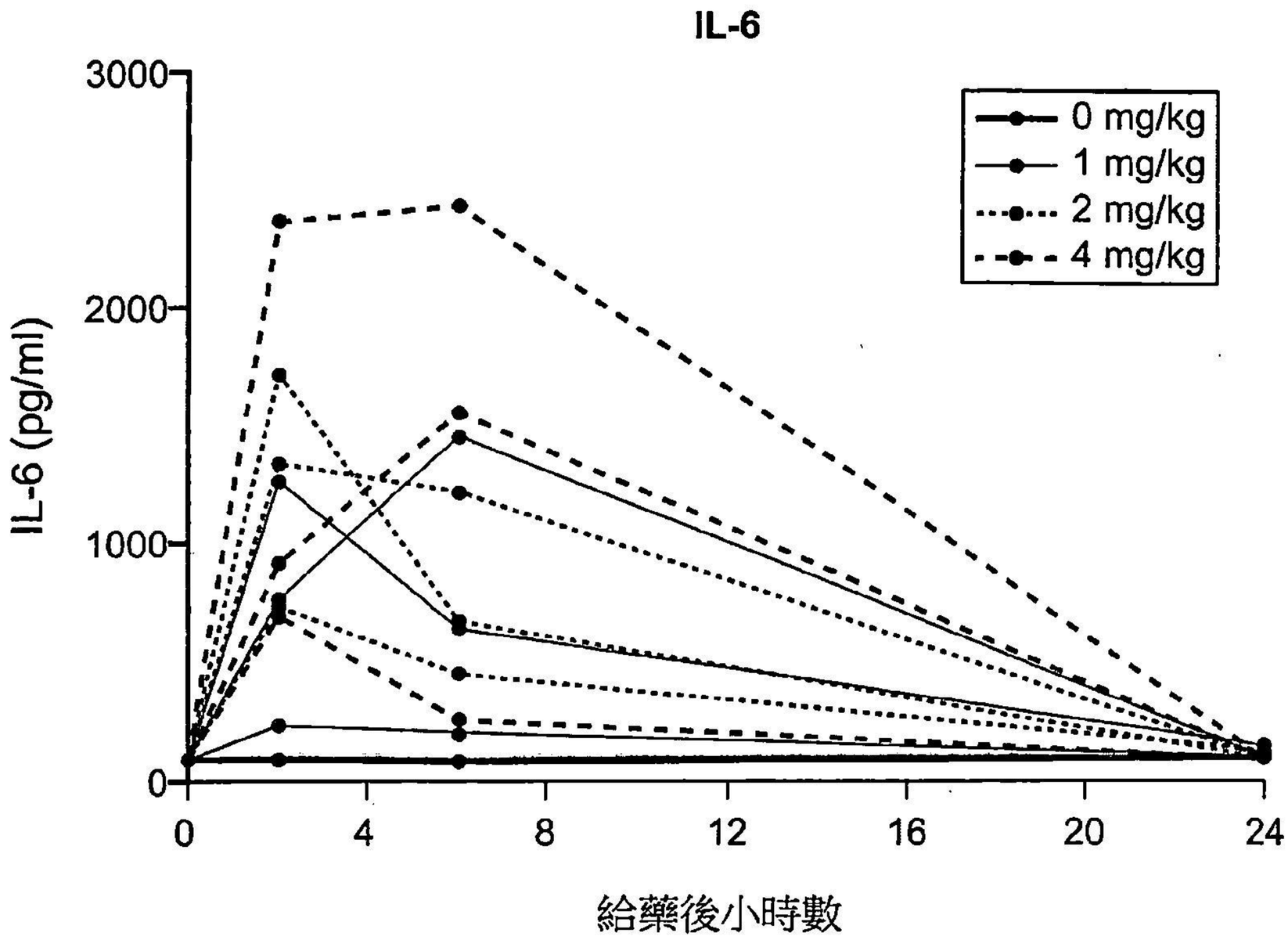

IL-6
3000
2000
1000
0
IL-6 (pg/ml)
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
0
4
8
12
16
20
24
給藥後小時數

圖 33A

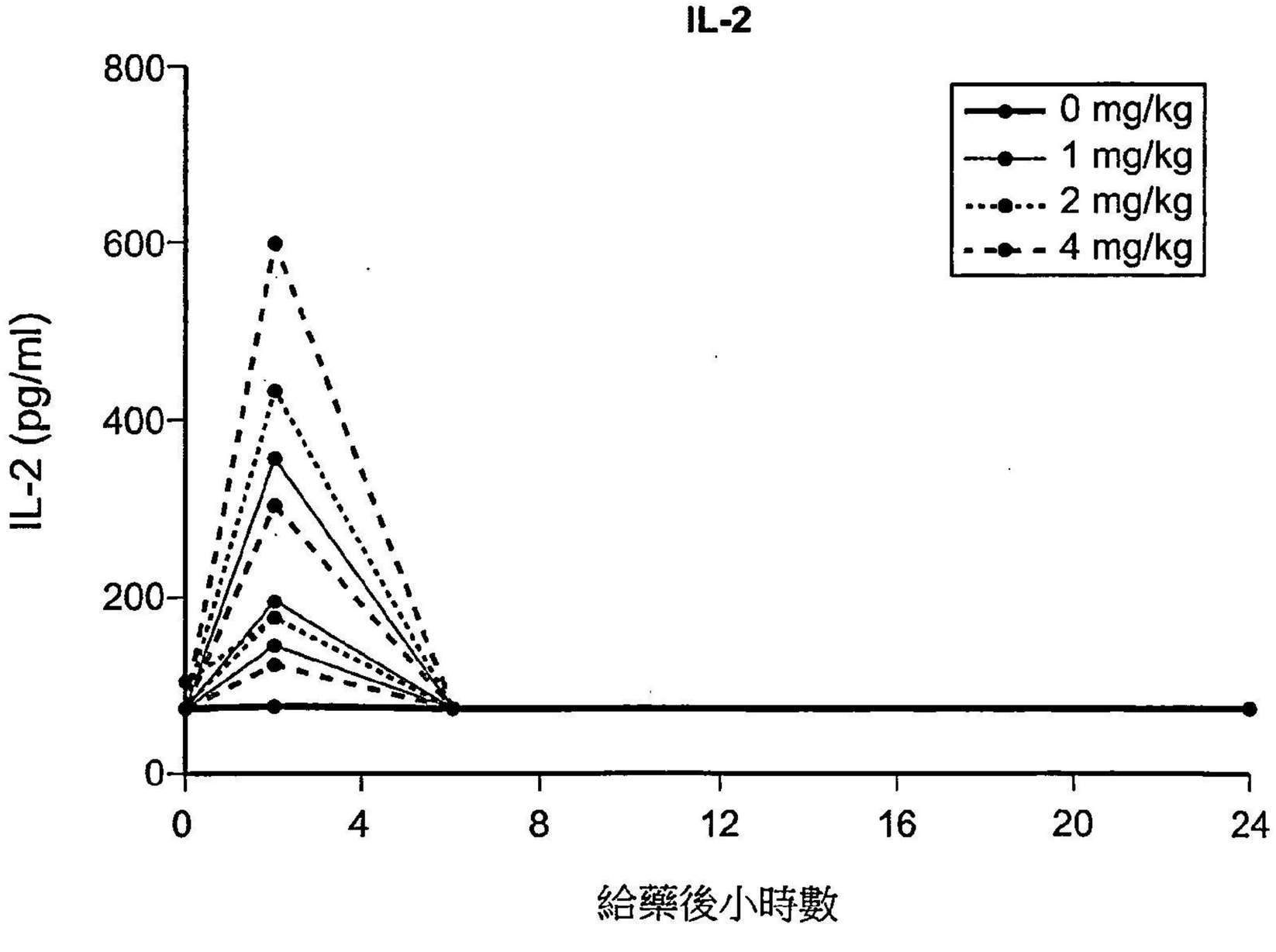

IL-2
800
600
400
200
0
IL-2 (pg/ml)
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
0
4
8
12
16
20
24
給藥後小時數

圖 33B

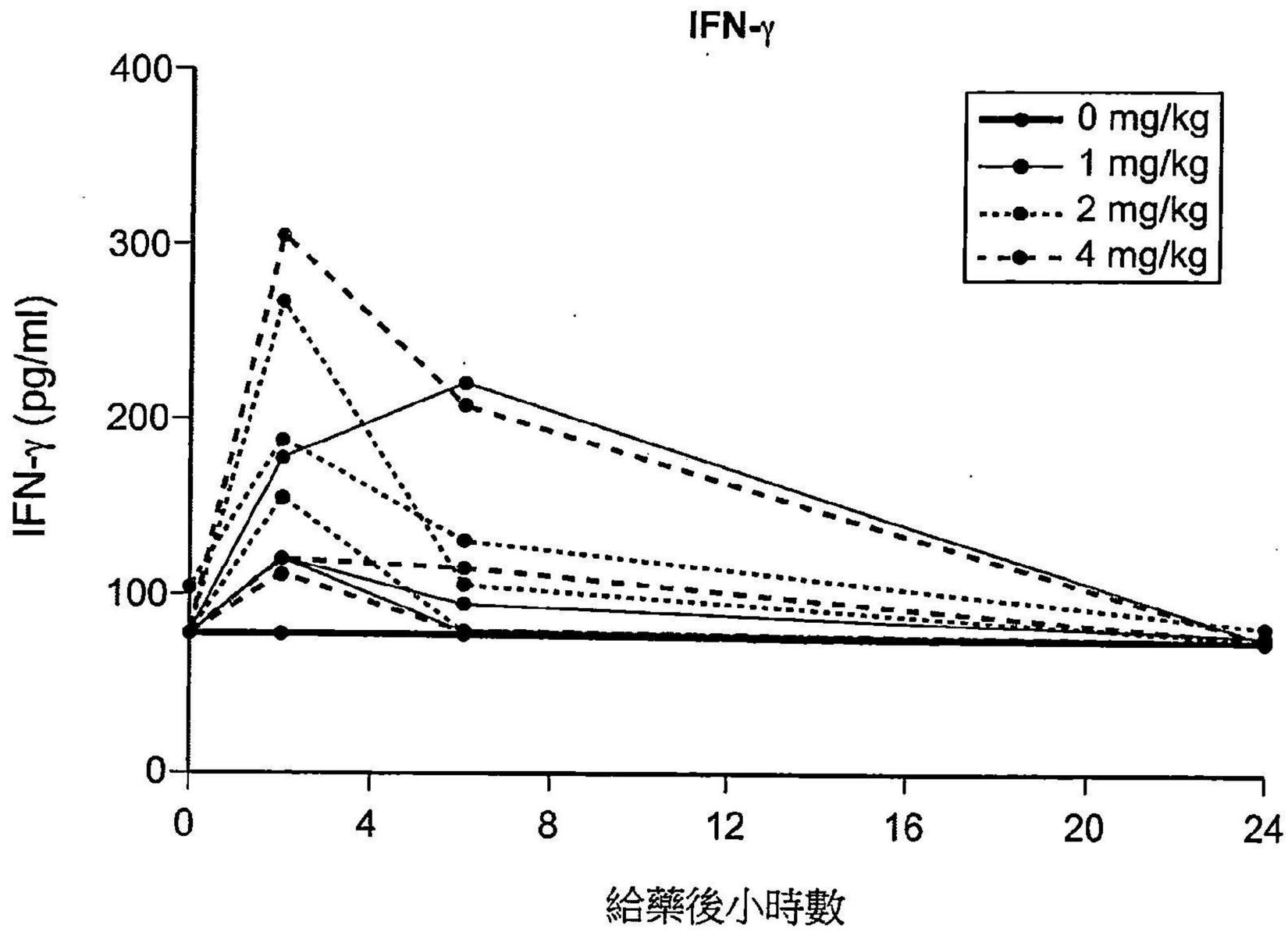

IFN-γ
400
300
200
100
0
IFN-γ (pg/ml)
0
4
8
12
16
20
24
給藥後小時數
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg

圖 33C

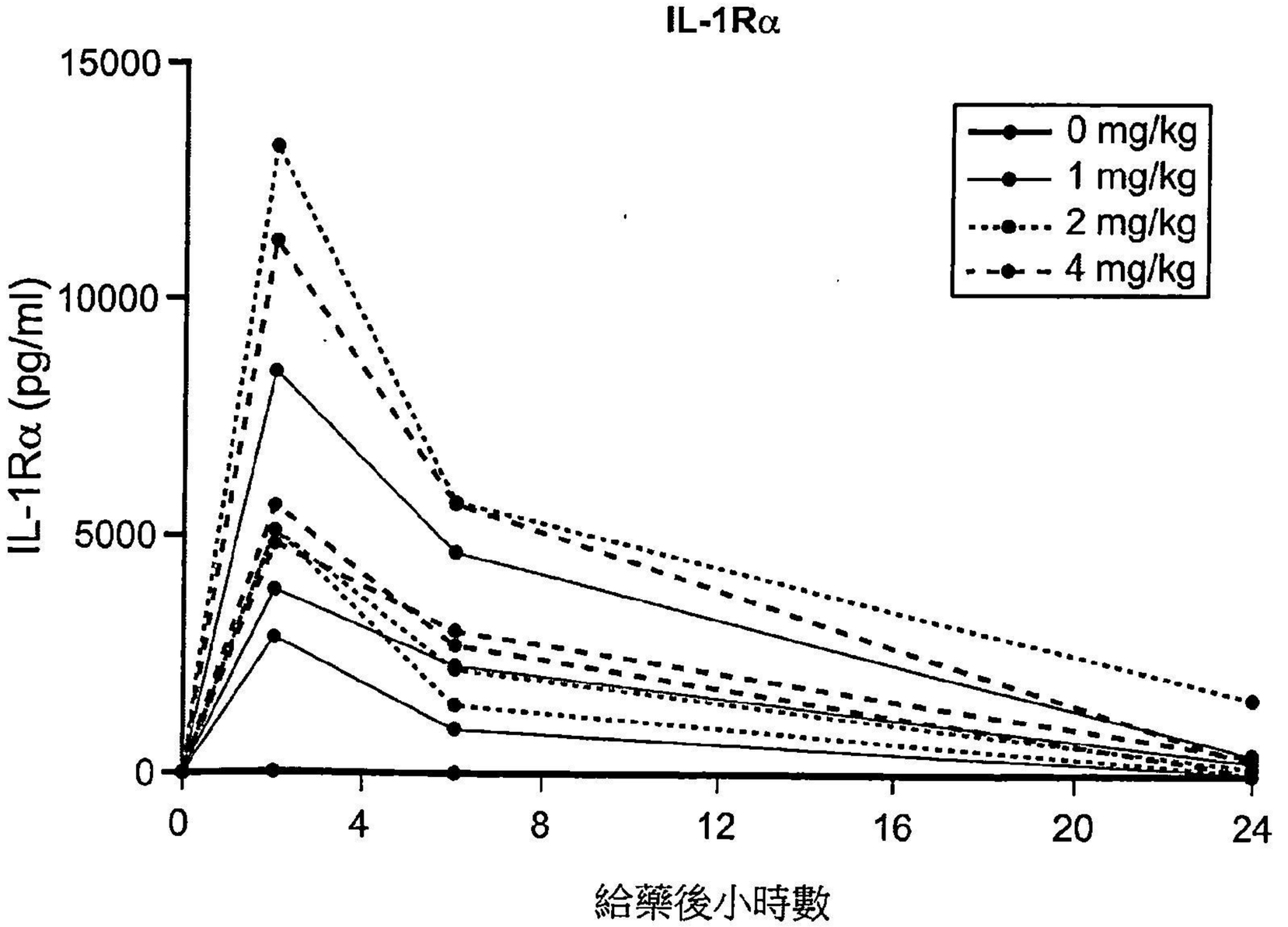

IL-1Rα
15000
10000
5000
0
IL-1Rα (pg/ml)
0
4
8
12
16
20
24
給藥後小時數
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg

圖 33D

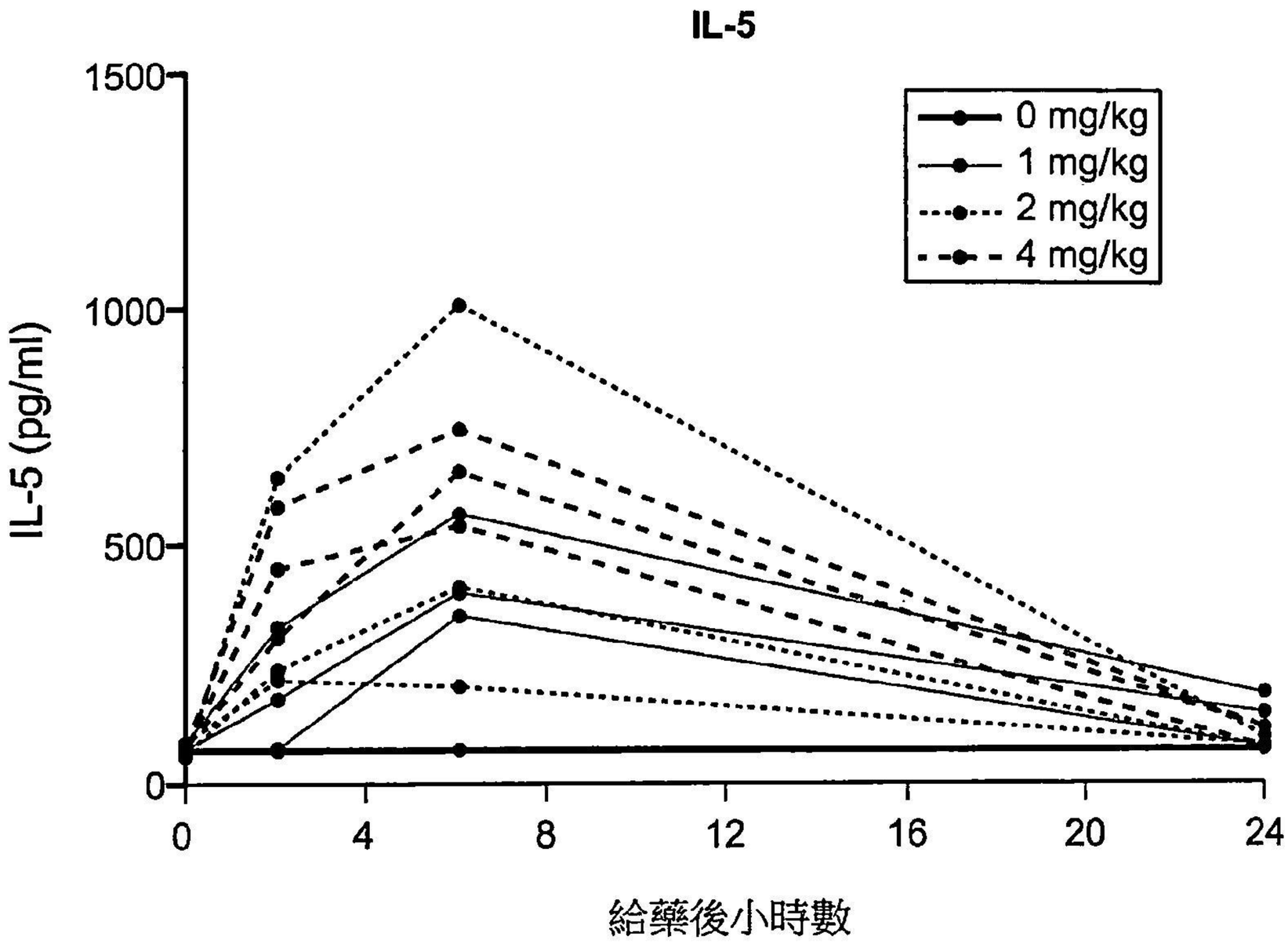

IL-5
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
IL-5 (pg/ml)
1500
1000
500
0
0
4
8
12
16
20
24
給藥後小時數

圖 33E

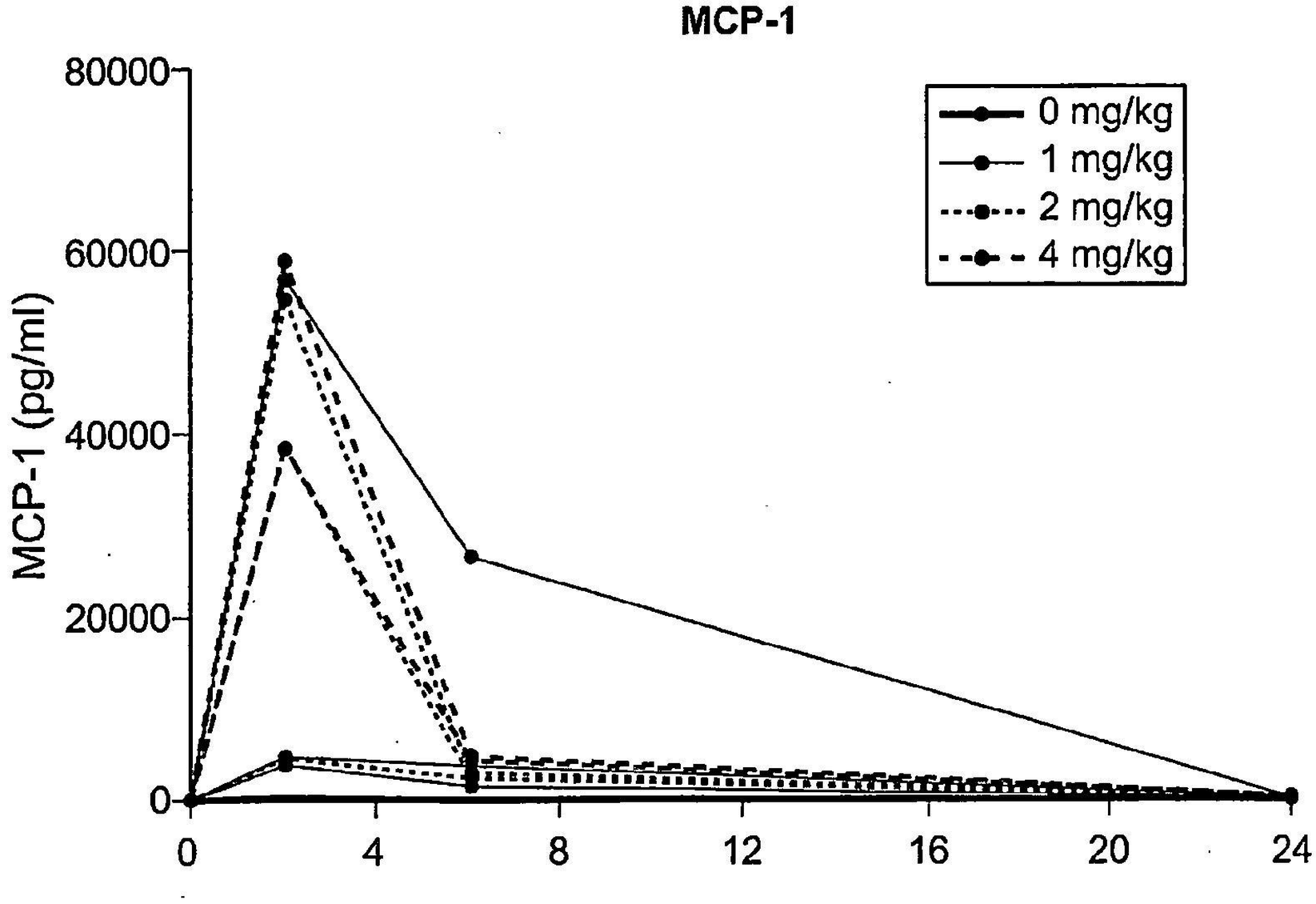

MCP-1
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
MCP-1 (pg/ml)
80000
60000
40000
20000
0
0
4
8
12
16
20
24
給藥後小時數

圖 33F

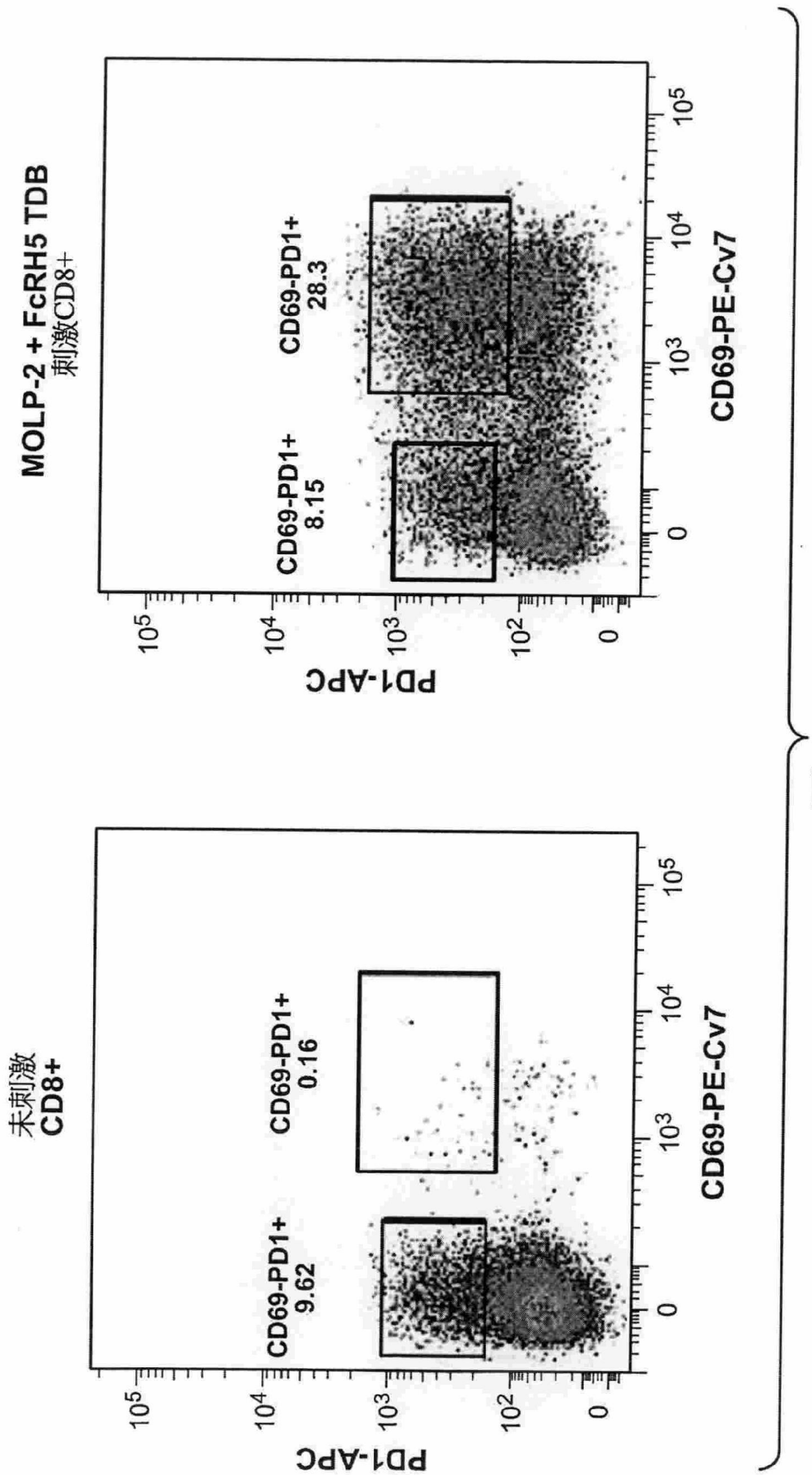

MOLP-2 + FcRH5 TDB
刺激CD8+
CD69-PD1+
28.3
CD69-PD1+
8.15
PD1-APC
CD69-PE-Cv7
未刺激
CD8+
CD69-PD1+
9.62
CD69-PD1+
0.16
PD1-APC
CD69-PE-Cv7

圖 34

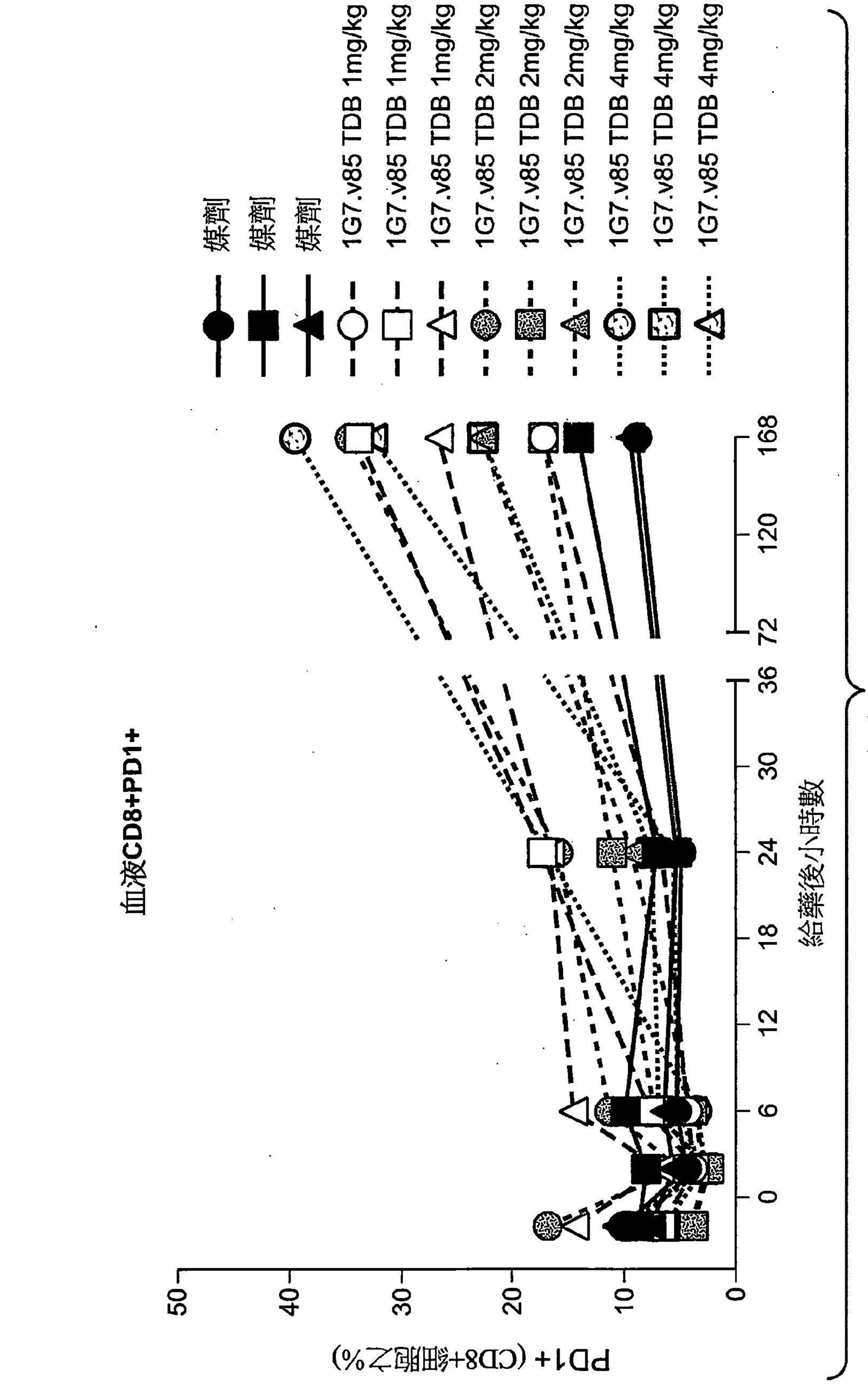

媒劑
媒劑
媒劑
1G7.v85 TDB 1mg/kg
1G7.v85 TDB 1mg/kg
1G7.v85 TDB 1mg/kg
1G7.v85 TDB 2mg/kg
1G7.v85 TDB 2mg/kg
1G7.v85 TDB 2mg/kg
1G7.v85 TDB 4mg/kg
1G7.v85 TDB 4mg/kg
1G7.v85 TDB 4mg/kg
血液CD8+PD1+
PD1+ (CD8+細胞之%)
給藥後小時數
0
6
12
18
24
30
36
72
120
168
0
10
20
30
40
50
1
2
3
4
5

圖 35A

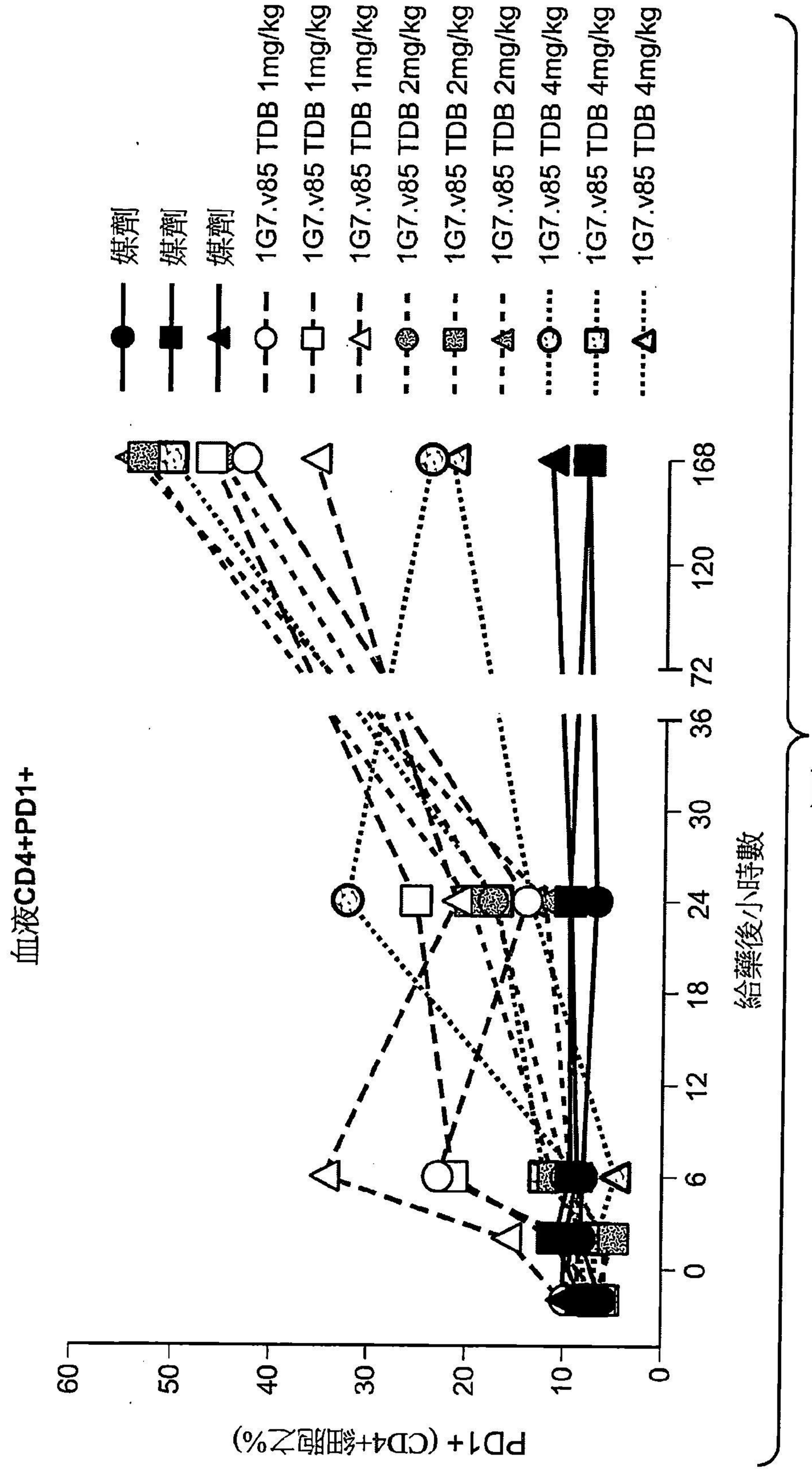

媒劑
媒劑
媒劑
1G7.v85 TDB 1mg/kg
1G7.v85 TDB 1mg/kg
1G7.v85 TDB 1mg/kg
1G7.v85 TDB 2mg/kg
1G7.v85 TDB 2mg/kg
1G7.v85 TDB 2mg/kg
1G7.v85 TDB 4mg/kg
1G7.v85 TDB 4mg/kg
1G7.v85 TDB 4mg/kg
血液CD4+PD1+
PD1+ (CD4+細胞之%)
給藥後小時數
0
6
12
18
24
30
36
72
120
168
0
10
20
30
40
50
60

圖 35B

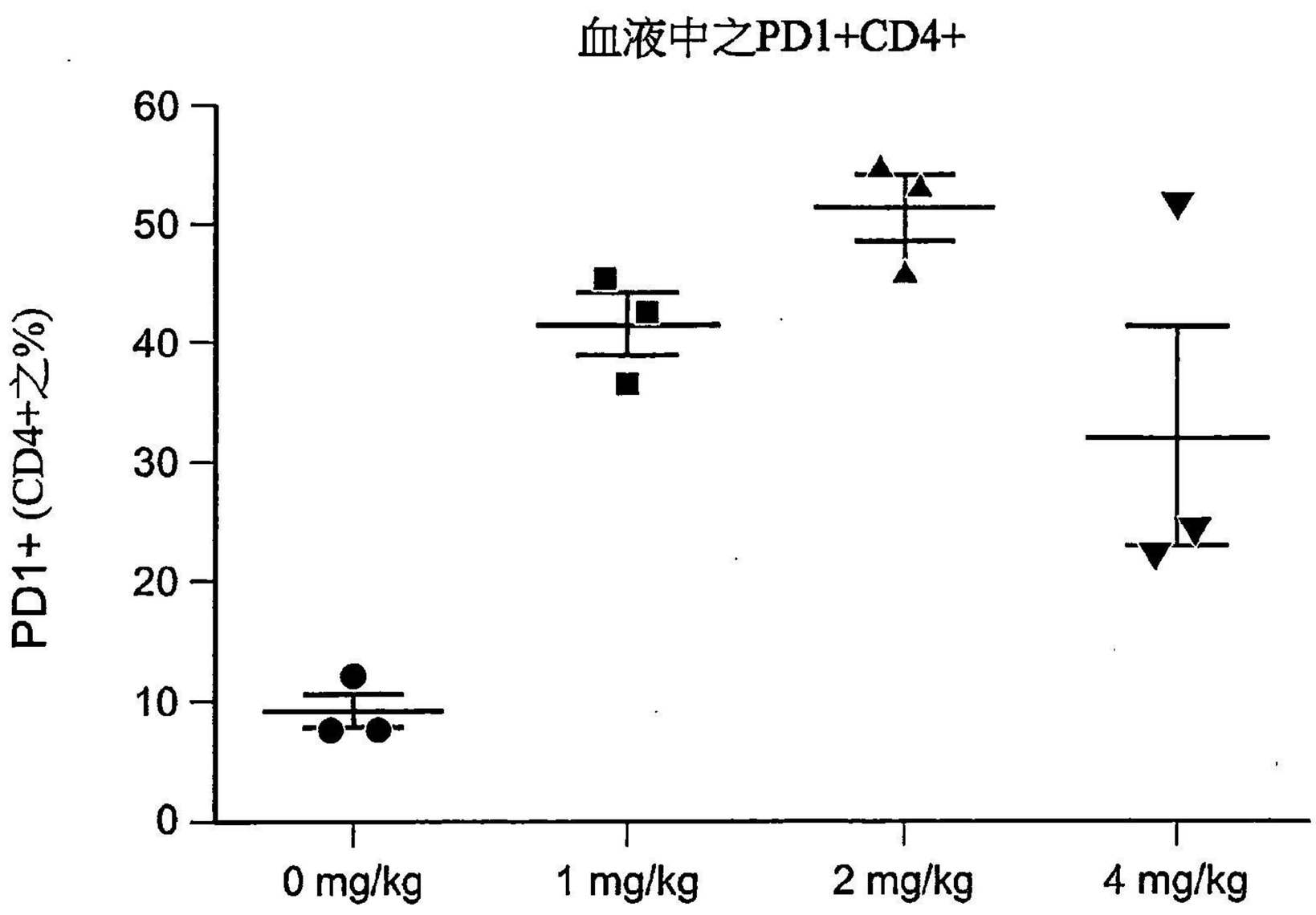

血液中之PD1+CD4+
PD1+ (CD4+之%)
60
50
40
30
20
10
0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 36A

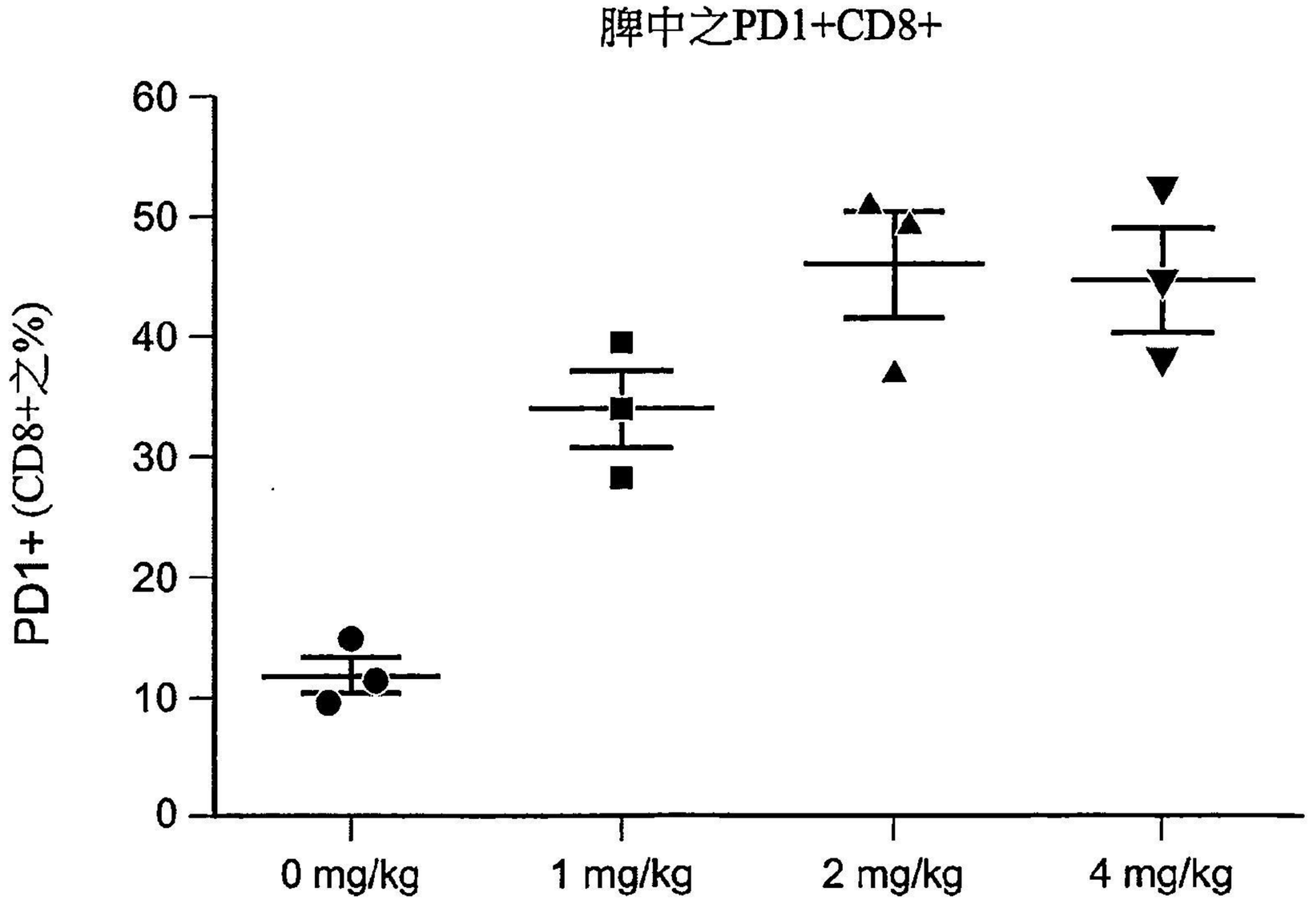

脾中之PD1+CD8+
PD1+ (CD8+之%)
60
50
40
30
20
10
0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 36B

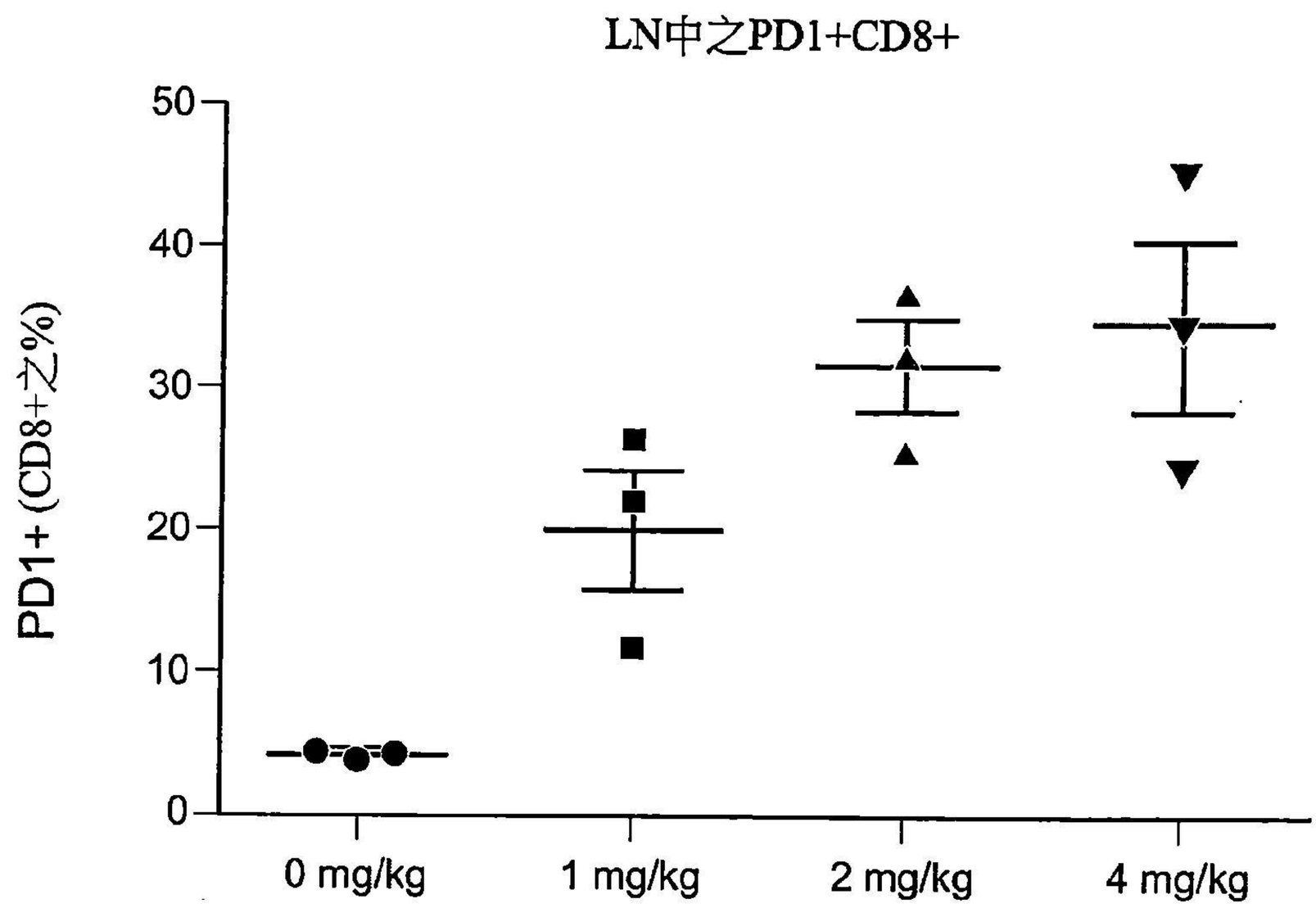

LN中之PD1+CD8+
PD1+ (CD8+之%)
50
40
30
20
10
0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 36C

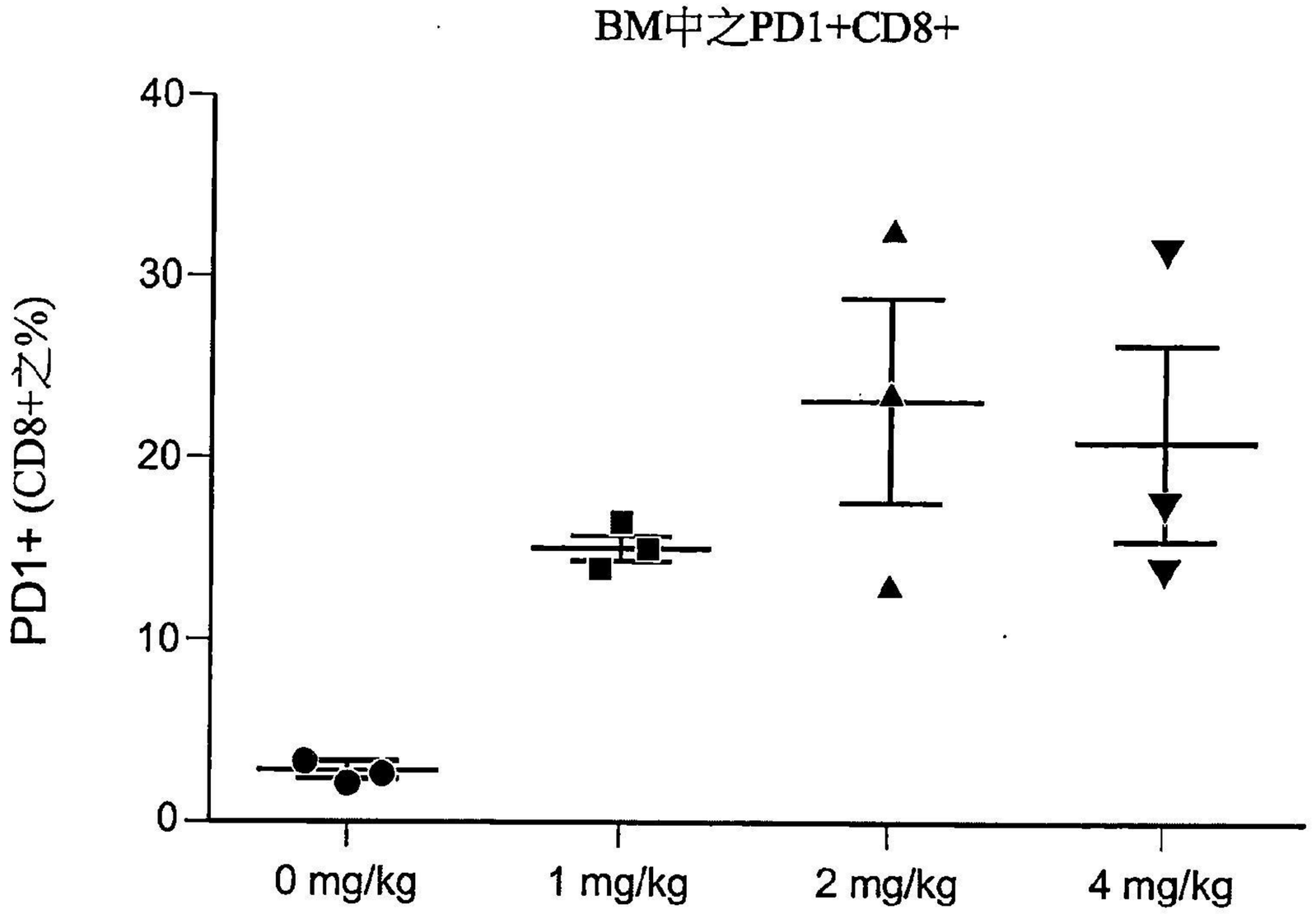

BM中之PD1+CD8+
PD1+ (CD8+之%)
40
30
20
10
0
0 mg/kg
1 mg/kg
2 mg/kg
4 mg/kg
1G7.v85 TDB (IV Inf.)

圖 36D

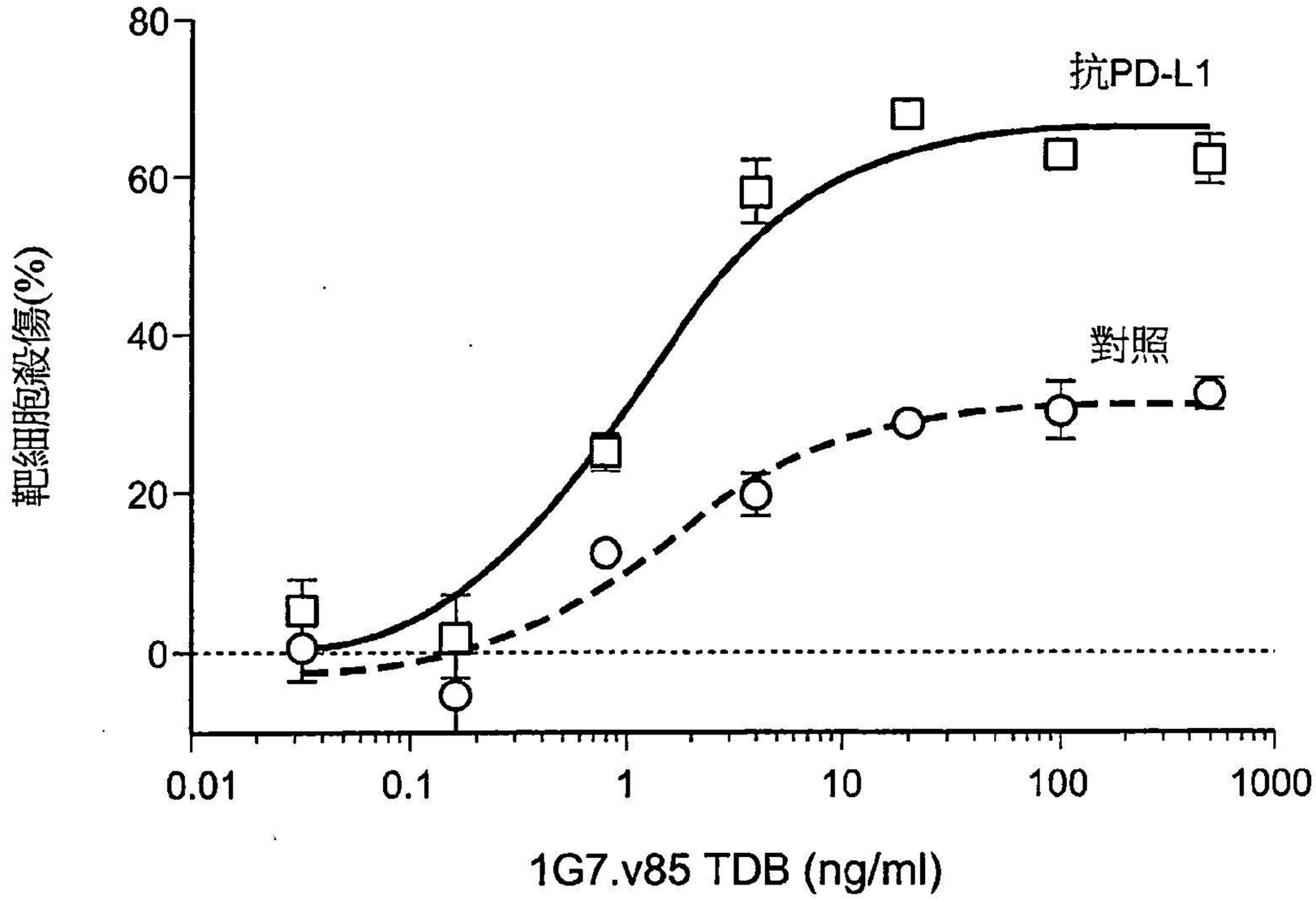

80
60
40
20
0
靶細胞殺傷(%)
抗PD-L1
對照
0.01
0.1
1
10
100
1000
1G7.v85 TDB (ng/ml)

圖 37A

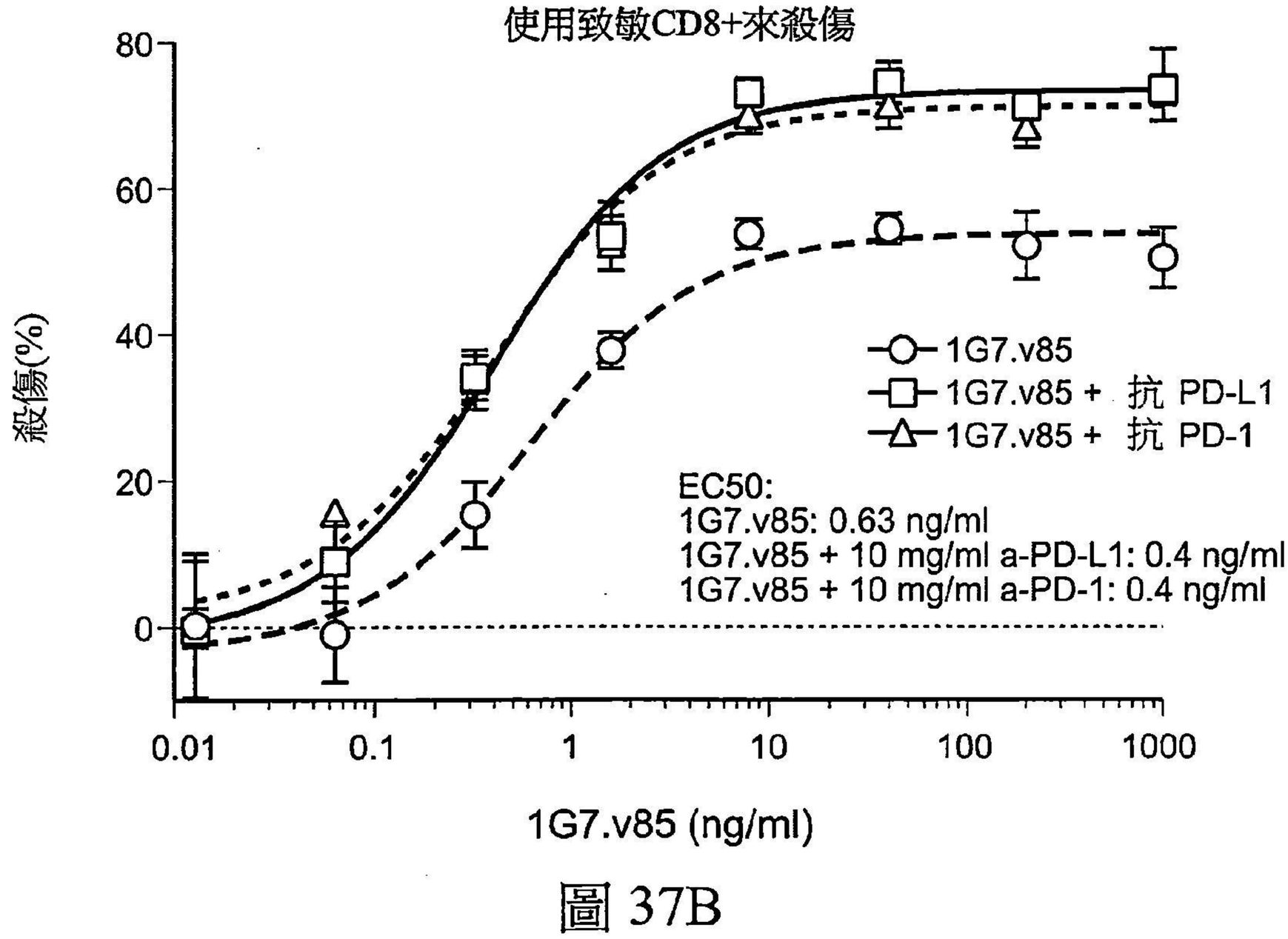

使用致敏CD8+來殺傷
80
60
40
20
0
殺傷(%)
1G7.v85
1G7.v85 + 抗 PD-L1
1G7.v85 + 抗 PD-1
EC50:
1G7.v85: 0.63 ng/ml
1G7.v85 + 10 mg/ml a-PD-L1: 0.4 ng/ml
1G7.v85 + 10 mg/ml a-PD-1: 0.4 ng/ml
0.01
0.1
1
10
100
1000
1G7.v85 (ng/ml)

圖 37B

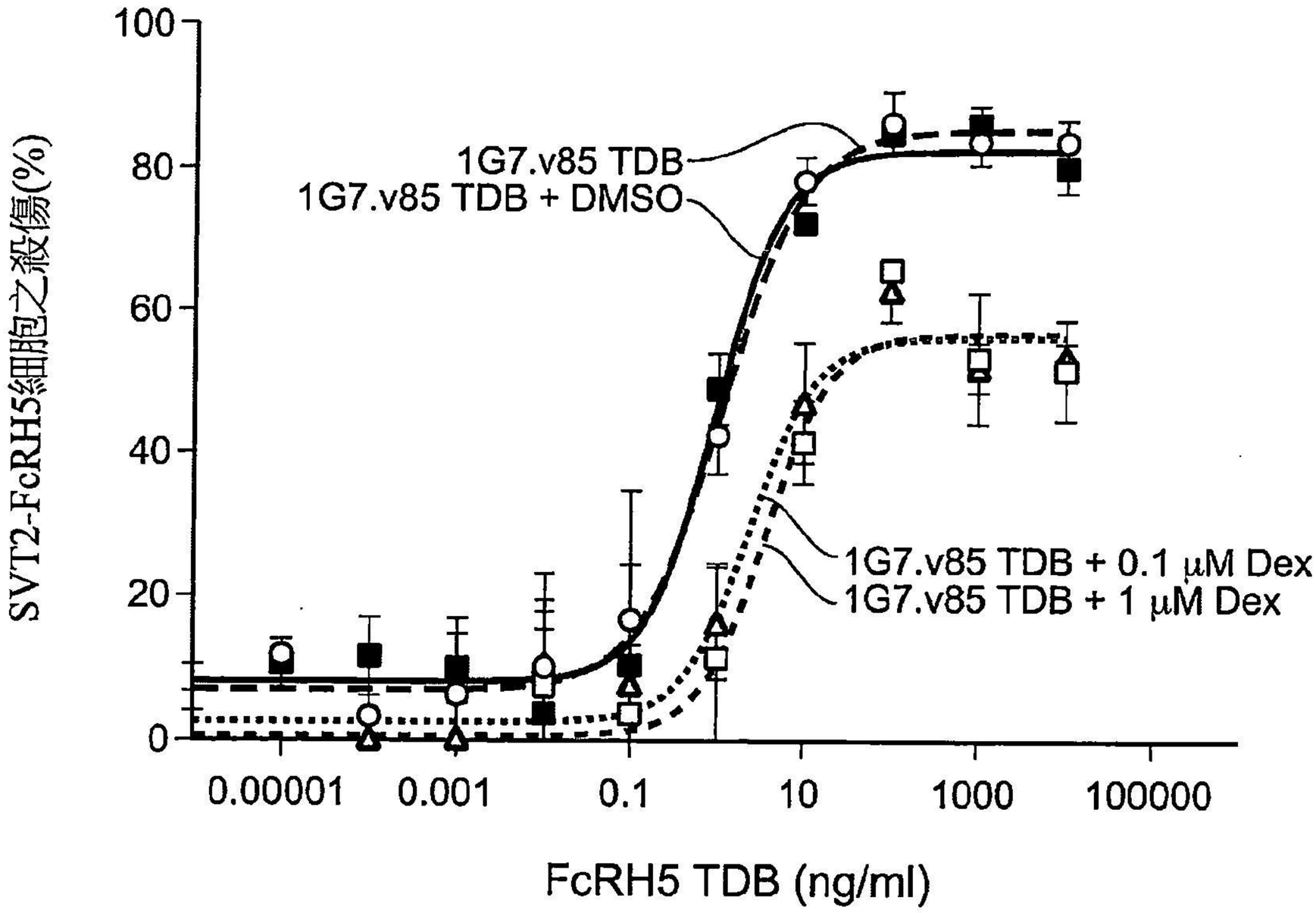

SVT2-FcRH5細胞之殺傷(%)
100
80
60
40
20
0
0.00001
0.001
0.1
10
1000
100000
FcRH5 TDB (ng/ml)
1G7.v85 TDB
1G7.v85 TDB + DMSO
1G7.v85 TDB + 0.1 μM Dex
1G7.v85 TDB + 1 μM Dex

圖 38A

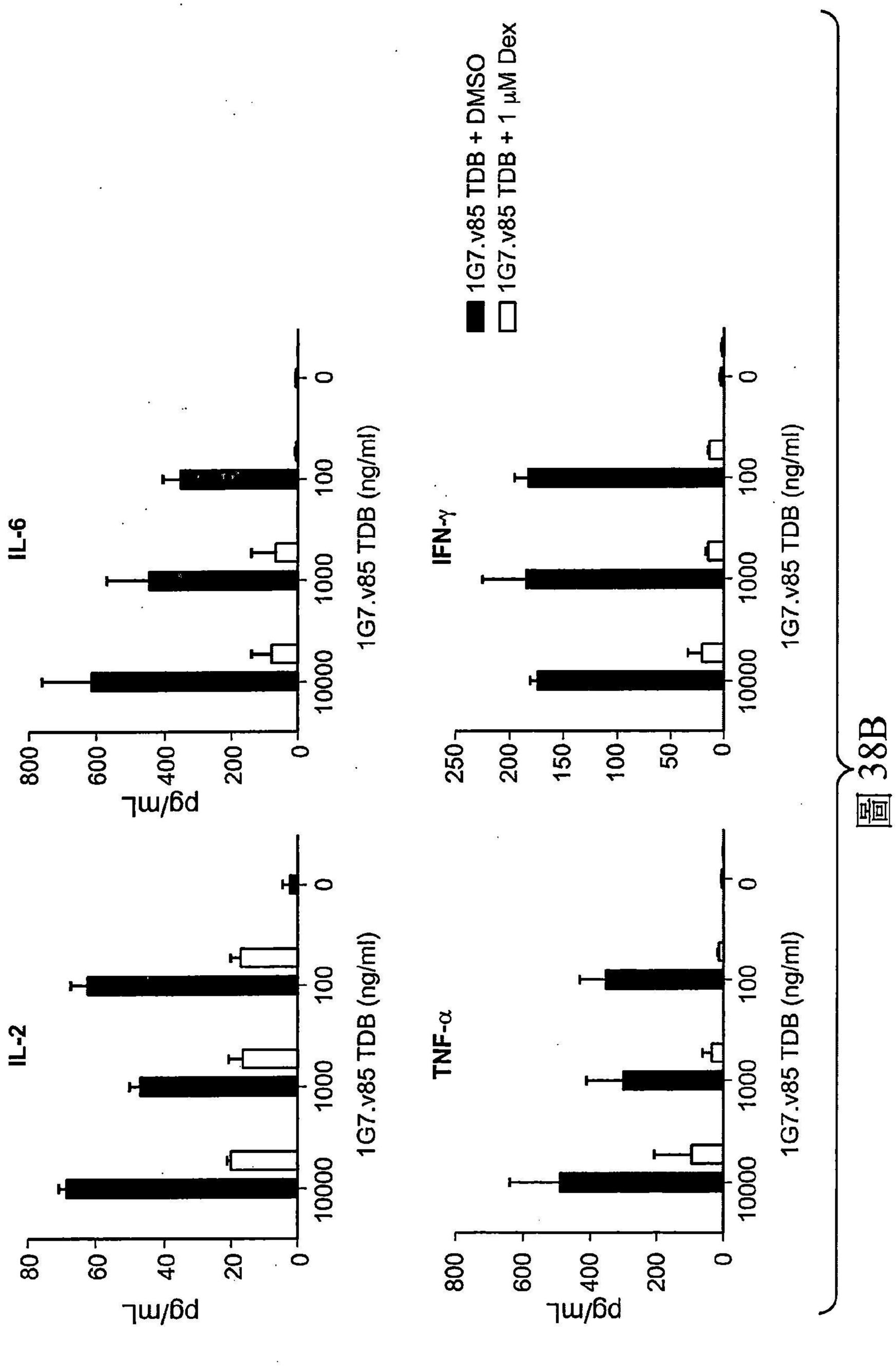

1G7.v85 TDB + DMSO
1G7.v85 TDB + 1 μM Dex
IL-6
IL-2
IFN-γ
TNF-α
pg/mL
1G7.v85 TDB (ng/ml)
0
200
400
600
800
20
40
60
80
50
100
150
200
250
10000
1000
100

圖 38B

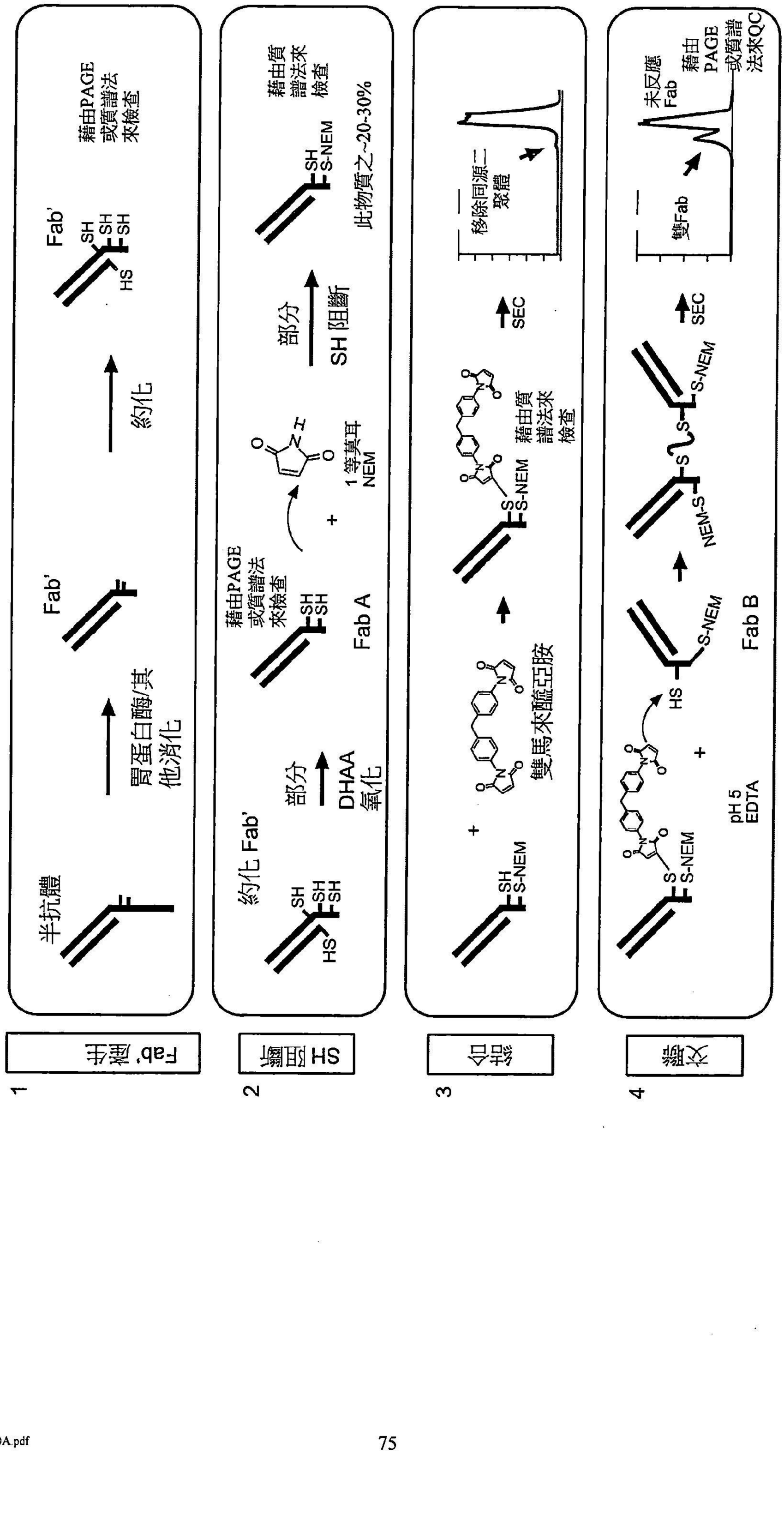

來自人 IgG1之雙Fab
Fab' 產生
胃蛋白酶/其他消化
半抗體
約化
Fab'
藉由PAGE或質譜法來檢查
SH
SH
SH
HS
SH 阻斷
部分 DHAA 氧化
約化 Fab'
SH
SH
SH
HS
藉由PAGE或質譜法來檢查
SH
SH
Fab A
1等莫耳 NEM
+
藉由質譜法來檢查
SH
S-NEM
此物質之~20-30%
結合
SH
S-NEM
+
雙馬來醯亞胺
藉由質譜法來檢查
SH
S-NEM
移除同源二聚體
SEC
交聯
HS
S-NEM
Fab B
NEM-S
S-NEM
pH 5
EDTA
+
S
S-NEM
SEC
雙Fab
未反應 Fab
藉由 PAGE 或質譜法來QC
1
Fab' 產生
2
SH 阻斷
3
結合
4
交聯

圖 39

藉由ELISA之結合至FcRH5

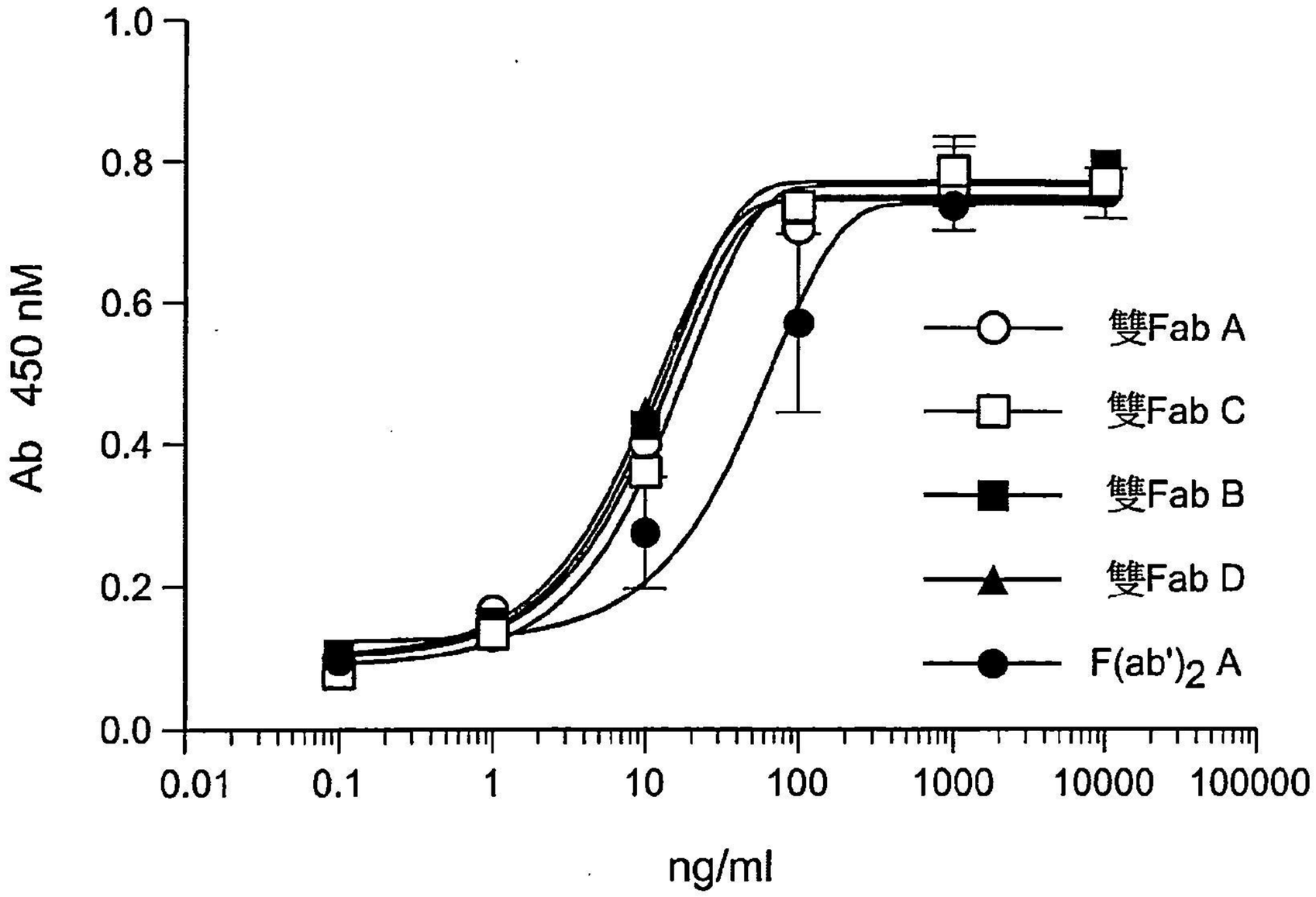


圖 40A

藉由ELISA之結合至CD3

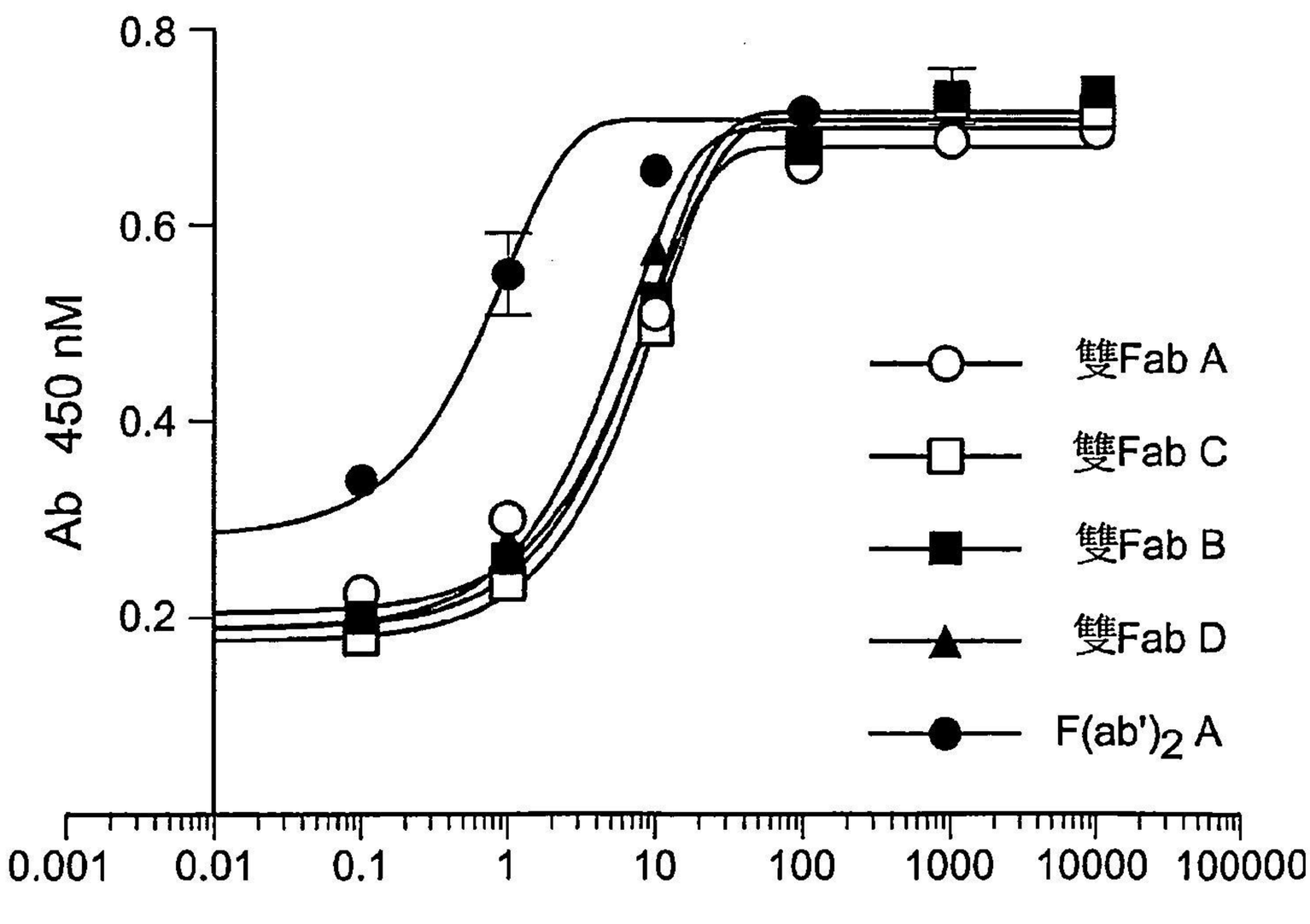


圖 40B

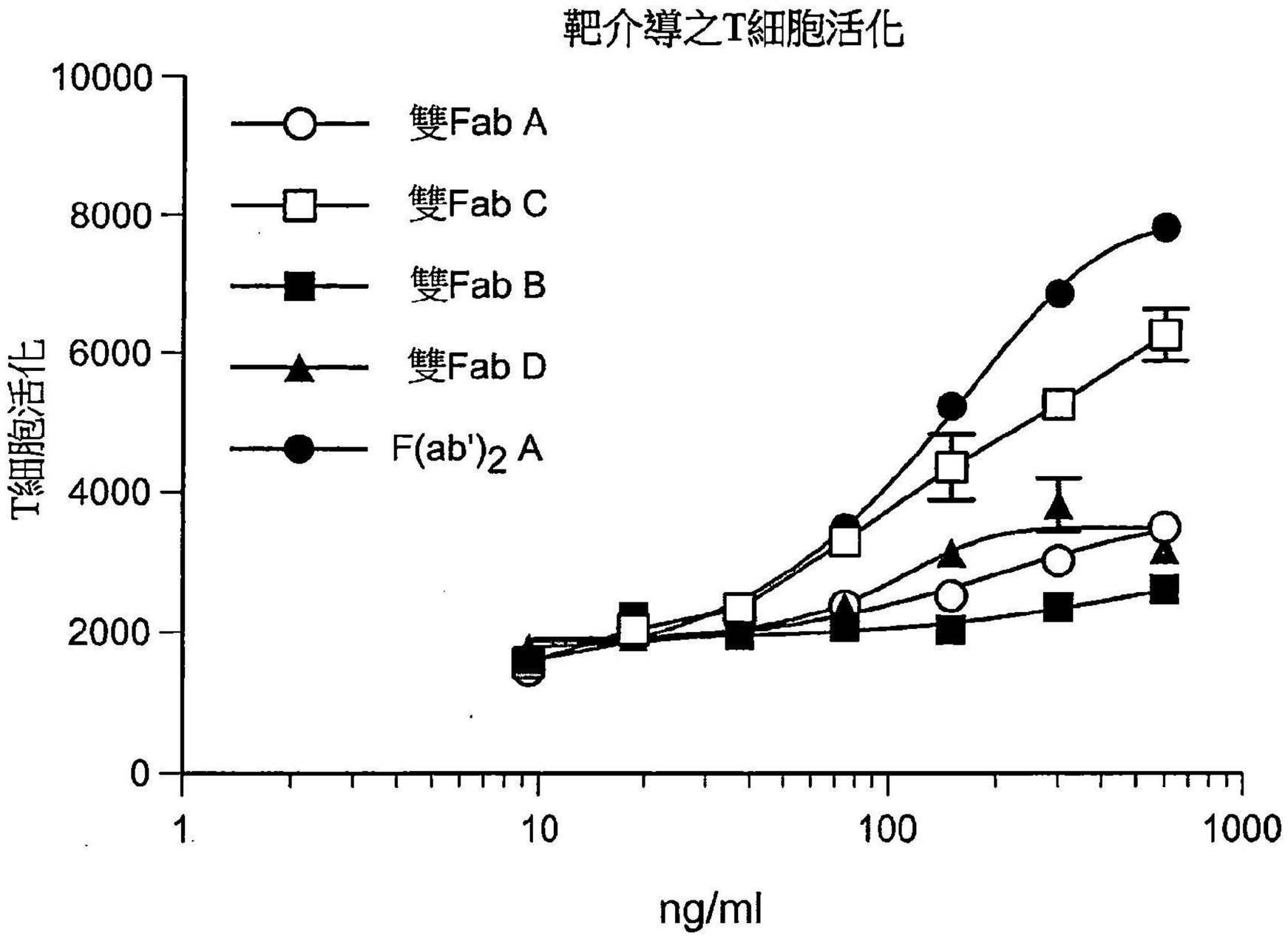

靶介導之T細胞活化
10000
8000
6000
4000
2000
0
T細胞活化
雙Fab A
雙Fab C
雙Fab B
雙Fab D
F(ab')2 A
1
10
100
1000
ng/ml

圖 41