



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 202337904 A

(43)公開日：中華民國 112 (2023) 年 10 月 01 日

(21)申請案號：112100522

(22)申請日：中華民國 112 (2023) 年 01 月 06 日

(51)Int. Cl.：

*C07K16/24 (2006.01)*

*A61K39/395 (2006.01)*

*A61P35/00 (2006.01)*

*C12N15/13 (2006.01)*

*C12N15/63 (2006.01)*

*C12N15/64 (2006.01)*

(30)優先權：2022/01/07

美國

63/297,436

(71)申請人：美商壯生和壯生企業創新公司 (美國) JOHNSON & JOHNSON ENTERPRISE INNOVATION INC. (US)

美國

(72)發明人：帕斯庫爾 加布里埃爾 PASCUAL, GABRIEL (US)；海恩帝 薩吉特 HINDI, SAGIT (US)；斯瓦米納坦 蘇雷斯 SWAMINATHAN, SURESH KUMAR (IN)；愛德華斯 馬修 EDWARDS, MATTHEW J. (GB)；史蒂文森 克利斯多夫 STEVENSON, CHRISTOPHER SCOTT (GB)

(74)代理人：何愛文；王仁君

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：47 項 圖式數：7 共 0 頁

(54)名稱

I L - 1  $\beta$  結合蛋白之材料及方法

(57)摘要

本文在某些態樣中提供結合至 IL-1 $\beta$  之抗體及包含該等抗體之組成物。亦提供製造及使用該等抗體之方法。

Provided herein, in certain aspects, are antibodies that bind to IL-1 $\beta$  and compositions comprising the antibodies. Methods of making and using the antibodies are also provided.



## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 IL-1 $\beta$ 結合蛋白之材料及方法

【英文發明名稱】 MATERIALS AND METHODS OF IL-1 $\beta$  BINDING

PROTEINS

【中文】

本文在某些態樣中提供結合至IL-1 $\beta$ 之抗體及包含該等抗體之組成物。亦提供製造及使用該等抗體之方法。

【英文】

Provided herein, in certain aspects, are antibodies that bind to IL-1 $\beta$  and compositions comprising the antibodies. Methods of making and using the antibodies are also provided.

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

## 【發明說明書】

【中文發明名稱】 IL-1 $\beta$ 結合蛋白之材料及方法

【英文發明名稱】 MATERIALS AND METHODS OF IL-1 $\beta$  BINDING

PROTEINS

【技術領域】

相關申請案之交互參照

【0001】 本申請案主張2022年1月7日申請之美國臨時專利申請案第63/297,436號之優先權，其揭露全文以引用方式併入本文中。

序列表

【0002】 本申請案含有與本申請案一起以XML檔案格式提交之電腦可讀取的序列表，其全部內容全文以引用方式併入本文中。與本申請案一起提交之序列表XML檔案名稱為「14620-563-228\_SEQ\_LISTING.xml」，建立於2022年12月1日，且檔案大小為123,349位元組。

【0003】 本揭露係關於抗IL-1 $\beta$ 抗體、編碼該等抗體之核酸及表現載體、含有該等載體之重組細胞、及包含該等抗體之組成物。亦提供製造該等抗體之方法及使用該等抗體治療包括癌症之疾病的方法。

【先前技術】

【0004】 IL-1 $\beta$ 係一種多效性(pleiotropic)細胞介素，在生理及病理狀態下皆具有許多作用。在癌症中，IL-1 $\beta$ 通過各種機制促進腫瘤支持性微環境。例如，已表明IL-1 $\beta$ 促進可導致腫瘤發展的誘變活性氧物種之生產。(Taniguchi K *et al*, Nat Rev Immunol. 2018;18(5):309-324)。此外，IL-1路徑促進血管內皮生長因子(VEGF)及纖維母細胞生長因子(FGF)之表現，其等係導致微血管新形成的兩個關鍵促血管生成因子，微血管新形成係腫瘤進展之標誌且對腫瘤侵襲及轉移而言係必要的。(Voronov E *et al*, Proc Natl Acad Sci U S A. 2003;100(5):2645-2650; Voronov E *et al*, Front Physiol. 2014;5:114)。IL-1 $\beta$ 亦在體外促進上皮細胞間質轉化(EMT)，此係轉移級聯(metastatic cascade)早期之關鍵步驟。(Li R *et al*, Sci Rep. 2020;10(1):377)。在TME內，IL-1 $\beta$ 可招募及重編程多種細胞類型；例如，IL-1 $\beta$ 已顯示促進巨噬細胞及嗜中性球浸潤、動員免疫抑制性骨髓細胞群（例如MDSC、TAM、及TAN）、及減弱抗腫瘤T細胞浸潤及活化(Bunt SK *et al*, J Immunol. 2006;176(1):284-290)。

【0005】 此外，臨床數據為IL-1路徑在癌症中之重要作用提供證據。(Ridker PM *et al*, Lancet. 2017;390(10105):1833-1842)。因此，所屬技術領域中需要能夠中和IL-1 $\beta$ 信號傳導路徑之高親和力且有效的抗IL-1 $\beta$ 抗體分子以用於癌症治療。

## 【發明內容】

【0006】 在一個態樣中，本文提供一種結合IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：

(1) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR

分別具有：具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH

第 2 頁，共 184 頁(發明說明書)

CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列；

(2) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列；或

(3) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列。

**【0007】** 在一些實施例中，(i) VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 Kabat 編號系統；(ii) VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 Chothia 編號系統；(iii) VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 AbM 編號系統；(iv) VH

CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據Contact編號系統；且/或(v) VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據IMGT編號系統。

【0008】 在另一態樣中，本文提供一種結合IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 67、及 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 68、及 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 69、及 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 70、及SEQ ID NO: 88之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 71、及SEQ ID NO: 89之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 72、及SEQ ID NO: 90之胺基酸序列的VL CDR3；
- (2) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 73、及 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 74、及 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ

- ID NO: 21、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 75、及 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 76、及SEQ ID NO: 94之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 77、及SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 78、及SEQ ID NO: 96之胺基酸序列的VL CDR3；或
- (3) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 80、及 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 81、及 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 82、及SEQ ID NO: 100之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 83、及SEQ ID NO: 101之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 84、及SEQ ID NO: 102之胺基酸序列的VL CDR3。

**【0009】** 在另一態樣中，本文提供一種結合IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 VH CDR3；及  
(ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的VL CDR3；
- (2) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列的 VH CDR3；及  
(ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的VL CDR3；
- (3) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列的 VH CDR3；及  
(ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 28之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 29之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 30之胺基酸序列的VL CDR3；
- (4) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 36之胺基酸序列的VL CDR3；
- (5) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 42之胺基酸序列的VL CDR3；
- (6) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的VL CDR3；
- (7) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 52之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的VL CDR3；

- (8) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 58之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的VL CDR3；
- (9) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 64之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 66之胺基酸序列的VL CDR3；
- (10) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 70之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 71之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 72之胺基酸序列的VL CDR3；
- (11) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 76之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 77之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 78之胺基酸序列的VL CDR3；
- (12) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 82之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 83之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 84之胺基酸序列的VL CDR3；
- (13) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 88之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 89之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 90之胺基酸序列的VL CDR3；
- (14) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 94之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 96之胺基酸序列的VL CDR3；或

(15) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

(ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 100 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 101 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 102 之胺基酸序列的 VL CDR3。

**【0010】** 在一些實施例中，本文提供之抗體進一步包含一或多個如 SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、及/或 SEQ ID NO: 12 中所示之骨架區。

**【0011】** 在一些實施例中，(i) 該抗體包含具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的 VL；(ii) 該抗體包含具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 VL；或(iii) 該抗體包含具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 VL。

**【0012】** 在一些實施例中，本文提供之抗體係人源化抗體。

**【0013】** 在一些實施例中，本文提供之抗體係 IgG 抗體。在一些實施例中，IgG 抗體係 IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 抗體。

**【0014】** 在一些實施例中，本文提供之抗體包含  $\kappa$  輕鏈。

**【0015】** 在一些實施例中，本文提供之抗體包含  $\lambda$  輕鏈。

**【0016】** 在一些實施例中，本文提供之抗體包含突變 Fc 區。在一些實施例中，突變 Fc 區包含 M252Y/S254T/T256E (YTE) 突變。

【0017】 在一些實施例中，本文提供之抗體係單株抗體。

【0018】 在一些實施例中，本文提供之抗體結合IL-1 $\beta$ 抗原。

【0019】 在一些實施例中，本文提供之抗體結合IL-1 $\beta$ 表位。

【0020】 在一些實施例中，本文提供之抗體特異性結合至IL-1 $\beta$ 。

【0021】 在一些實施例中，VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3形成針對IL-1 $\beta$ 之抗原的結合位點。

【0022】 在一些實施例中，VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3形成針對IL-1 $\beta$ 之表位的結合位點。

【0023】 在一些實施例中，本文提供之抗體係多特異性的。在一些實施例中，本文提供之抗體能夠結合至少兩種抗原。在一些實施例中，本文提供之抗體能夠結合至少三種抗原。在一些實施例中，本文提供之抗體能夠結合至少四種抗原。在一些實施例中，本文提供之抗體能夠結合至少五種抗原。

【0024】 在另一態樣中，本文提供一種結合分子，其包含本文提供之抗體。在一些實施例中，抗體經基因融合或化學接合至藥劑。

【0025】 在另一態樣中，本文提供一種核酸，其編碼本文提供之抗體。

【0026】 在另一態樣中，本文提供一種載體，其包含本文提供之核酸。

【0027】 在另一態樣中，本文提供一種宿主細胞，其包含本文提供之載體。

【0028】 在另一態樣中，本文提供一種套組，其包含本文提供之載體及該載體之包裝。

【0029】 在另一態樣中，本文提供一種套組，其包含本文提供之抗體及該抗體之包裝。

【0030】 在另一態樣中，本文提供一種醫藥組成物，其包含本文提供之抗體及一或多種醫藥上可接受之賦形劑。

【0031】 在另一態樣中，本文提供一種產生本文提供之醫藥組成物之方法，其包含將該抗體與一或多種醫藥上可接受之賦形劑組合，以獲得該醫藥組成物。

【0032】 在另一態樣中，本文提供一種抑制細胞中IL-1 $\beta$ 或IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導之方法，其包含使該細胞接觸本文提供之抗體。

【0033】 在另一態樣中，本文提供一種抑制細胞中IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及/或G-CSF之生產的方法，其包含使該細胞接觸本文提供之抗體。

【0034】 在另一態樣中，本文提供一種減少細胞中IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及/或G-CSF之生產的方法，其包含使該細胞接觸本文提供之抗體。

【0035】 在另一態樣中，本文提供一種抑制IL-1 $\beta$ 表現性細胞之生長或增生的方法，其包含使細胞接觸本文提供之抗體。

【0036】 在一些實施例中，該（等）細胞係在患有疾病或病症之對象中。

【0037】 在另一態樣中，本文提供一種在對象中抑制IL-1 $\beta$ 之方法，其包含向該對象投予本文提供之抗體。

【0038】 在另一態樣中，本文提供一種用於治療對象之疾病或病症的方法，其包含向該對象投予本文提供之抗體。

【0039】 在一些實施例中，疾病或病症係IL-1 $\beta$ 相關疾病或病症。在一些實施例中，IL-1 $\beta$ 相關疾病或病症係發炎性疾病或病症。在一些實施例中，IL-1 $\beta$ 相關疾病或病症係癌症。在一些實施例中，癌症係肺癌。在一些實施例中，肺癌係非小細胞肺癌。在一些實施例中，非小細胞肺癌已達到0期、1期、2期、3期、或4期。在一些實施例中，癌症係腎癌。在一些實施例中，腎癌係腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌已達到1期、2期、或3期。

#### 【圖式簡單說明】

##### 【0040】

〔圖 1〕使用基於氫氙交換之 LC-MS 的所選抗體在 IL-1 $\beta$  上之表位定位(mapping)。上圖所顯示之序列係 SEQ ID NO: 109 之片段(殘基 117 至 269)，其對應於成熟 IL-1 $\beta$  蛋白之序列(SEQ ID NO:110)。雙底線指示強表位(結合後  $\Delta\Delta G \leq -2$  kcal/mol)，且單底線指示弱表位( $-2 < \text{結合後 } \Delta\Delta G \leq -1$  kcal/mol)。下圖為重疊於 IL-1 $\beta$  (PDB ID 1I1B)之 X 射線晶體結構上的表位。黑色指示強表位，且灰色指示弱表位。

〔圖 2〕05H21A、08F17A、及 15N14A (在 Fc 區中皆具有 YTE 突變)在 NF- $\kappa$ B/AP-1 報導子系統中之效力。先導抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之中和活性係在 HEK-Blue 報導細胞中評估。顯示先導抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之劑量反應曲線及 IC<sub>50</sub> 值。

〔圖 3〕抗 IL-1 $\beta$  先導抗體小組之抑制活性係在 MRC5 人類肺纖維母細胞中評估。圖顯示先導抗 IL-1 $\beta$  mAb 小組之劑量反應曲線及對應的 IC50 測定值。

〔圖 4〕05H21A、08F17A、及 15N14A 在人類肺纖維母細胞中之效力。先導抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之中和活性係在正常人類肺纖維母細胞（NHLF 供體 34325 及 35234）中評估。圖顯示來自供體 34325 之劑量反應曲線，其係基於 IL-6 (A)及 CXCL5 (B)釋放測量值，並記述對應的 IC50 測定值。

〔圖 5〕05H21A、08F17A、及 15N14A 在人類供體 PBMC 樣本中之效力。先導抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之中和活性係在一位健康人類供體 PBMC（供體 TS235）中評估。(A)及(B)為測量先導小組之 IL-6 釋放的劑量反應曲線及所計算之 IC50 值。

〔圖 6〕05H21A、08F17A、及 15N14A 在人類血液檢定中之效力。先導抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之中和活性係在人類全血樣本（所測試之供體：CC00448、M3767、M5988、M7286、及 M7370）中評估。繪製的是藉由 MSD 之基於 IL-6、CXCL-5、及 G-CSF 釋放測量值的 IC50 值（以 nM 為單位）。

〔圖 7〕05H21A、08F17A、及 15N14A 在食蟹獼猴纖維母細胞樣本中之效力。先導抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之中和活性係在初代食蟹獼猴皮膚及肺纖維母細胞（分別為 CDF 及 CLF）中評估。(A)及(B)分別為測量先導小組在 CDF 及 CLF 中之 IL-6 釋放的劑量反應曲線。顯示的是抗 IL-1 $\beta$  抗體小組之所計算之 IC50 值。

**【實施方式】**

**【0041】** 本揭露係部分基於結合至IL-1 $\beta$ 之新穎抗體及其優越性質。

**5.1. 定義**

**【0042】** 本文所述或參照之技術及程序包括所屬技術領域中具有通常知識者通常熟知及/或經常使用習知方法採用者，諸如例如以下所述之廣泛利用的方法：Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3d ed. 2001)；*Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al. eds., 2003)；*Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (An ed. 2009)；*Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols* (Albitar ed. 2010)；及*Antibody Engineering Vols 1 and 2* (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)。除非在本文中另有定義，否則本說明書中所用之技術及科學用語具有所屬技術領域中具有通常知識者通常理解的含義。出於解釋本說明書之目的，用語之以下描述將適用，且於適當時，以單數使用之用語亦將包括複數，且反之亦然。若闡述之用語之任何描述與以引用方式併入本文中之任何文件衝突，則應以下文闡述之用語之描述為準。

**【0043】** 用語「抗體(antibody)」、「免疫球蛋白(immunoglobulin)」、或「Ig」在本文中可互換使用，且係以最廣泛的意義使用，並具體地涵蓋例如單株抗體（包括促效劑、拮抗劑、中和抗體、全長或完整單株抗體）、具有多表位或單表位特異性之抗體組成物、多株或單價抗體、多價抗體、如下所述由至少兩種完整抗體、單鏈抗體、及其片段（例如域抗體）形成之多特異性抗體

(例如雙特異性抗體，只要其展現所欲生物活性)。抗體可係人類抗體、人源化抗體、嵌合抗體、及/或親和力成熟抗體、以及來自其他物種(例如，小鼠、兔、駱馬等)之抗體。用語「抗體」意欲包括在多肽之免疫球蛋白類別內的B細胞之多肽產物，其能夠結合至具體分子抗原且由兩對同一的多肽鏈構成，其中各對具有一條重鏈(約50至70 kDa)及一條輕鏈(約25 kDa)，各鏈之各胺基端部分包括約100個至約130個或更多個胺基酸之可變區，且各鏈之各羧基端部分包括恆定區。參見例如Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed. 1995)；及Kuby, Immunology (3d ed. 1997)。抗體亦包括但不限於合成抗體、重組生產之抗體、包括來自駱駝科物種(例如，駱馬或羊駝)或其等之人源化變體之抗體、細胞內抗體(intrabody)、抗獨特型(抗Id)抗體、及上述任一者之功能性片段(例如，抗原結合片段)，該功能性片段係指抗體重鏈或輕鏈多肽的一部分，其保留該片段所衍生自之抗體的一些或所有結合活性。功能片段(例如，抗原結合片段)之非限制性實例包括單鏈Fv (single-chain Fv, scFv) (例如，包括單特異性、雙特異性等)、Fab片段、F(ab')片段、F(ab)<sub>2</sub>片段、F(ab')<sub>2</sub>片段、經雙硫鍵連接之Fv (disulfide-linked Fv, dsFv)、Fd片段、Fv片段、雙鏈抗體(diabody)、三鏈抗體(triabody)、四鏈抗體(tetrabody)、及微抗體(minibody)。具體而言，本文提供之抗體包括免疫球蛋白分子及免疫球蛋白分子之免疫活性部分，例如含有結合至抗原之抗原結合位點的抗原結合域或分子(例如抗體之一或多個CDR)。此類抗體片段可見於例如Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989)；Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995)；Huston *et al.*, 1993, Cell Biophysics 22:189-

224 ; Plückthun and Skerra, 1989, Meth.Enzymol.178:497-515 ; 及Day, Advanced Immunochemistry (2d ed. 1990)。本文提供之抗體可屬於免疫球蛋白分子之任何類別（例如，IgG、IgE、IgM、IgD、及IgA）或任何子類別（例如，IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及IgA2）。抗體可係促效性抗體或拮抗性抗體。抗體可係非促效性亦非拮抗性。

【0044】 「抗原(antigen)」係抗體可選擇性結合的結構。目標抗原可係多肽、碳水化合物、核酸、脂質、半抗原、或其他天然存在或合成之化合物。在一些實施例中，目標抗原係多肽。在某些實施例中，抗原與細胞相關聯，例如存在於細胞上或細胞中。

【0045】 「完整(intact)」抗體係包含抗原結合位點以及CL及至少重鏈恆定區CH1、CH2、及CH3之抗體。恆定區可包括人類恆定區或其胺基酸序列變體。在某些實施例中，完整抗體具有一或多種效應功能。

【0046】 用語「結合(binds)」或「結合(binding)」係指分子之間的交互作用，包括例如形成複合物。交互作用可係例如非共價交互作用，其包括氫鍵、離子鍵、疏水性交互作用、及/或凡得瓦交互作用。複合物亦可包括藉由共價或非共價鍵、交互作用、或力保持在一起的二或更多個分子之結合。在抗體上之單一抗原結合位點與目標分子（諸如抗原）之單一表位之間的總非共價交互作用之強度係抗體或功能片段對該表位之親和力。結合分子（例如，抗體）與單價抗原之解離速率( $k_{\text{off}}$ )與締合速率( $k_{\text{on}}$ )之比率( $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ )係解離常數 $K_D$ ，其與親和力逆相關。 $K_D$ 值越低，抗體之親和力越高。 $K_D$ 值因抗體與抗原之不同複合物而不同，且取決於 $k_{\text{on}}$ 及 $k_{\text{off}}$ 兩者。本文提供之抗體之解離常數 $K_D$ 可使用本

文提供之任何方法或所屬技術領域中具有通常知識者熟知之任何其他方法判定。在一個結合位點的親和力不總是反映抗體與抗原之間的交互作用之真實強度。當含有多個重複的抗原決定位之複合抗原（諸如多價抗原）接觸含有多個結合位點之抗體時，抗體與抗原在一個位點的交互作用將增加在第二位點發生反應的可能性。多價抗體與抗原之間的此類多種交互作用之強度稱為親合力 (avidity)。

【0047】 關於本文所述之結合分子，用語諸如「結合至(bind to)」、「特異性結合至(that specifically bind to)」、及類似用語在本文中亦可互換使用，且係指特異性結合至抗原的抗原結合域之結合分子，諸如多肽。結合至或特異性結合至抗原之結合分子或抗原結合域可例如藉由免疫檢定、Octet<sup>®</sup>、Biacore<sup>®</sup>、或所屬技術領域中具有通常知識者已知之其他技術識別。在一些實施例中，當使用實驗技術（諸如放射免疫檢定(RIA)及酶聯免疫吸附檢定(ELISA)）判定之結合分子或抗原結合域結合至抗原的親和力高於任何交叉反應性抗原時，該抗體或抗原結合域結合至或特異性結合至抗原。一般而言，特異性或選擇性反應將係背景信號或雜訊之至少兩倍，且可係背景之多於10倍。關於結合特異性之討論，參見例如Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989)。在某些實施例中，結合分子或抗原結合域與「非目標」蛋白的結合程度係小於約10%的結合分子或抗原結合域與其特定目標抗原的結合，例如，如螢光活化細胞分選(FACS)分析或RIA所判定。結合至抗原之結合分子或抗原結合域包括能夠以足夠親和力結合該抗原之結合分子或抗原結合域，使該結合分子可例如用作為靶向該抗原的治療及/或診斷劑。在某些實施例中，結合至抗

原之結合分子或抗原結合域具有小於或等於1  $\mu$ M、800 nM、600 nM、550 nM、500 nM、300 nM、250 nM、100 nM、50 nM、10 nM、5 nM、4 nM、3 nM、2 nM、1 nM、0.9 nM、0.8 nM、0.7 nM、0.6 nM、0.5 nM、0.4 nM、0.3 nM、0.2 nM、或0.1 nM之解離常數( $K_D$ )。在某些實施例中，結合分子或抗原結合域結合至抗原之表位，該抗原在來自不同物種的抗原之間係保守的。

**【0048】** 在某些實施例中，結合分子或抗原結合域可包含「嵌合(chimeric)」序列，其中重鏈及/或輕鏈之一部分係與衍生自特定物種或屬於特定抗體類別或子類別之抗體中的對應序列同一或同源，而（多個）鏈之其餘部分係與衍生自另一物種或屬於另一抗體類別或子類別之抗體以及此類抗體之片段中的對應序列同一或同源，只要其展現所欲生物活性（參見美國專利第4,816,567號；及Morrison *et al.*, 1984, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55）。嵌合序列可包括人源化序列。

**【0049】** 在某些實施例中，結合分子或抗原結合域可包含非人類（例如駱駝、鼠類、非人類靈長類）抗體的「人源化(humanized)」形式之部分，其包括來自人類免疫球蛋白（例如接受者抗體）之序列，其中天然CDR殘基被來自具有所欲特異性、親和力、及能力的非人類物種（諸如駱駝、小鼠、大鼠、兔、或非人類靈長類）之對應CDR（例如供體抗體）的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白序列之一或多個FR區殘基經對應的非人類殘基置換。此外，人源化抗體可包含在接受者抗體或供體抗體中未發現之殘基。進行此等修飾以進一步改善抗體性能。人源化抗體重鏈或輕鏈可包含實質上全部的至少一或多個可變區，其中全部或實質上全部的CDR對應於非人類免疫球蛋白之

CDR，且全部或實質上全部的FR係人類免疫球蛋白序列之FR。在某些實施例中，人源化抗體將包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分，一般為人類免疫球蛋白之該部分。關於進一步細節，參見Jones *et al.*, Nature 321:522-25 (1986)；Riechmann *et al.*, Nature 332:323-29 (1988)；Presta, Curr.Op.Struct.Biol. 2:593-96 (1992)；Carter *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89 (1992)；美國專利第6,800,738號；第6,719,971號；第6,639,055號；第6,407,213號；及第6,054,297號。

【0050】 在某些實施例中，結合分子或抗原結合域可包含「完全人類抗體(fully human antibody)」或「人類抗體(human antibody)」之部分，其中該等用語在本文中可互換使用，且係指包含人類可變區及例如人類恆定區之抗體。結合分子可包含抗體序列。在具體實施例中，該等用語係指包含人類來源之可變區及恆定區之抗體。在某些實施例中，「完全人類(fully human)」抗體亦可涵蓋結合多肽且由核酸序列編碼之抗體，該等核酸序列係人類生殖系免疫球蛋白核酸序列之天然存在之體細胞變體。用語「完全人類抗體(fully human antibody)」包括具有如Kabat等人所述之對應於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區的抗體（參見Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242）。「人類抗體(human antibody)」係具備對應於人類生產之抗體及/或使用任何用於製造人類抗體之技術所製造的胺基酸序列之抗體。人類抗體之此定義明確地排除包含非人類抗原結合殘基之人源化抗體。人類抗體可使用所屬技術領域中已知的各種技術生產，包括噬菌體展示庫(Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol. 227:381 (1991); Marks *et al.*, J. Mol.

Biol. 222:581 (1991))及酵母展示庫(Chao *et al.*, Nature Protocols 1: 755-68 (2006))。亦可用於人類單株抗體之製備係描述於下列中之方法：Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985)；Boerner *et al.*, J. Immunol. 147(1):86-95 (1991)；及van Dijk and van de Winkel, Curr.Opin.Pharmacol.5: 368-74 (2001)。人類抗體可藉由向基因轉殖動物投予抗原來製備，該基因轉殖動物經修飾以回應於抗原挑戰而生產此類抗體，但其內源性基因座已失能，例如小鼠（請參見例如，Jakobovits, Curr.Opin.Biotechnol.6(5):561-66 (1995)；Brüggemann and Taussing, Curr.Opin.Biotechnol.8(4):455-58 (1997)；及關於XENOMOUSE™技術之美國專利第6,075,181號及第6,150,584號）。亦參見例如Li *et al.*, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-62 (2006)，其係關於經由人類B細胞融合瘤技術所產生之人類抗體。

**【0051】** 在某些實施例中，結合分子或抗原結合域可包含「重組人類抗體(recombinant human antibody)」之部分，其中該片語包括藉由重組手段製備、表現、建立、或單離之人類抗體，諸如使用轉染至宿主細胞中之重組表現載體表現的抗體、自重組組合人類抗體庫單離之抗體、自經人類免疫球蛋白基因轉殖及/或染色體轉殖之動物（例如小鼠或牛）單離之抗體（參見例如Taylor, L. D. *et al.*, Nucl.Acids Res.20:6287-6295 (1992)），或藉由涉及將人類免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列的任何其他手段製備、表現、建立、或單離之抗體。此類重組人類抗體可具有衍生自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區（參見Kabat, E. A. *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242）。然而，在某些實施例中，使此類重組

第 21 頁，共 184 頁(發明說明書)

人類抗體經受體外誘變（或，當使用經人類Ig序列基因轉殖之動物時，使其經受體內體細胞誘變），且因此重組抗體之VH區及VL區的胺基酸序列雖然係衍生自且與人類生殖系VH及VL序列相關，但可係不天然存在於體內人類抗體生殖系貯庫(repertoire)內的序列。

【0052】 在某些實施例中，結合分子或抗原結合域可包含「單株抗體(monoclonal antibody)」之一部分，其中如本文中所使用，該用語係指獲自實質上均質抗體群之抗體，例如構成該群之個別抗體除了可少量存在之可能自然發生的突變或習知的轉譯後修飾（諸如胺基酸異構化或脫醯胺化、甲硫胺酸氧化、或天冬醯胺酸或麩醯胺酸脫醯胺化）以外係相同的，各單株抗體一般將辨識抗原上之單一表位。在具體實施例中，如本文所用，「單株抗體」係由單一融合瘤或其他細胞生產之抗體。用語「單株(monoclonal)」不限於用於製備抗體之任何特定方法。例如，可用於本揭露之單株抗體可藉由首先由Kohler *et al.*, Nature 256:495 (1975)描述之融合瘤方法製備，或可在細菌或真核動物或植物細胞中使用重組DNA方法製造（參見例如美國專利第4,816,567號）。「單株抗體」亦可使用例如下列中所述之技術自噬菌體抗體庫單離：Clackson *et al.*, Nature 352:624-28 (1991)及Marks *et al.*, J. Mol. Biol. 222:581-97 (1991)。用於製備殖株細胞系及由此表現之單株抗體之其他方法係所屬技術領域中熟知的。參見例如Short Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al.* eds., 5th ed. 2002)。

【0053】 典型的4鏈抗體單元係由兩條同一的輕(L)鏈及兩條同一的重(H)鏈構成之異四聚體醣蛋白。在IgG之情況下，4鏈單元通常係約150,000道耳頓。各L鏈藉由一個共價雙硫鍵連接至H鏈，而兩條H鏈藉由一或多個雙硫鍵

(取決於H鏈同型)彼此連接。各H鏈及L鏈亦具有規則間隔的鏈內雙硫橋。各H鏈在N端具有可變域(VH)，接著是對於 $\alpha$ 及 $\gamma$ 鏈中之各者的三個恆定域(CH)及對於 $\mu$ 及 $\epsilon$ 同型的四個CH域。各L鏈在N端具有可變域(VL)，接著是在其另一端的恆定域(CL)。VL與VH對準，且CL與重鏈之第一恆定域(CH1)對準。咸信特定胺基酸殘基在輕鏈與重鏈可變域之間形成界面。VH及VL之配對一起形成單一抗原結合位點。關於不同類別的抗體之結構及性質，參見例如Basic and Clinical Immunology 71 (Stites *et al.* eds., 8th ed. 1994)；及Immunobiology (Janeway *et al.* eds., 5<sup>th</sup> ed. 2001)。

【0054】 用語「Fab」或「Fab區(Fab region)」係指結合至抗原的抗體區。習知IgG通常包含兩個Fab區，其各自位於Y形IgG結構之兩個臂中之一者上。各Fab區一般由重鏈及輕鏈中之各者之一個可變區及一個恆定區構成。更具體言之，Fab區中重鏈之可變區及恆定區係VH及CH1區，且Fab區中輕鏈之可變區及恆定區係VL及CL區。Fab區中之VH、CH1、VL、及CL可以各種方式配置以賦予根據本揭露之抗原結合能力。例如，VH及CH1區可在一個多肽上，且VL及CL區可在分開的多肽上，類似於習知IgG的Fab區。替代地，VH、CH1、VL、及CL區可全部在同一多肽上且以不同順序定向，如下文各節中更詳細地描述。

【0055】 用語「可變區(variable region)」、「可變域(variable domain)」、「V區(V region)」、或「V域(V domain)」係指抗體之輕鏈或重鏈之一部分，其通常位於輕鏈或重鏈之胺基端，且其重鏈長度係約120至130個胺基酸且輕鏈長度係約100至110個胺基酸，且用於各特定抗體對其特定抗原的結

合及特異性。重鏈之可變區可稱為「VH」。輕鏈之可變區可稱為「VL」。用語「可變(variable)」係指可變區之某些區段之序列於抗體之間廣泛不同。V區介導抗原結合且定義特定抗體對其特定抗原的特異性。然而，變異性未在可變區之110個胺基酸跨度內均勻地分佈。取而代之地，V區係由稱為骨架區(FR)之約15至30個胺基酸的較不可變（例如，相對不變異的）片段及分開該等片段之具有較高變異性（例如，極度變異性）且稱為「高度變異區(hypervariable region)」之較短區域所組成，該等較短區域各約9至12個胺基酸長。重鏈及輕鏈之可變區各自包含四個FR，其主要採用β褶板組態，由三個高度變異區連接，該等高度變異區形成連接β褶板結構之環且在一些情況下形成β褶板結構之一部分。各鏈中之高度變異區藉由FR緊密相鄰地保持在一起，且與另一鏈之高度變異區一起有助於形成抗體之抗原結合位點（參見例如Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)）。恆定區不直接涉及抗體與抗原的結合，但展現各種效應功能，諸如抗體參與抗體依賴性細胞性細胞毒性(antibody dependent cellular cytotoxicity, ADCC)及補體依賴性細胞毒性(complement dependent cytotoxicity, CDC)。可變區之序列於不同抗體之間廣泛不同。在具體實施例中，可變區係人類可變區。

【0056】 用語「根據Kabat之可變區殘基編號(variable region residue numbering according to Kabat)」或「如Kabat中之胺基酸位置編號(amino acid position numbering as in Kabat)」、及其變化型係指上述Kabat *et al.*中用於抗體彙編之重鏈可變區或輕鏈可變區的編號系統。使用此編號系統，實際線性胺基酸序列可含有較少或額外的對應於可變域之FR或CDR之縮短或插入的胺基酸。

例如，重鏈可變域可包括在殘基52之後的單一胺基酸插入（根據Kabat之殘基52a）及在殘基82之後的三個插入殘基（例如，根據Kabat之殘基82a、82b、及82c等）。給定抗體之Kabat殘基編號可藉由比對抗體序列與「標準(standard)」Kabat編號序列之同源性區來判定。當提及可變域中之殘基（大約為輕鏈之殘基1至107及重鏈之殘基1至113）時，通常使用Kabat編號系統（例如上述Kabat *et al.*）。當提及免疫球蛋白重鏈恆定區中之殘基時，通常使用「EU編號系統(EU numbering system)」或「EU索引(EU index)」（例如上述Kabat *et al.*中報導之EU索引）。「如Kabat中之EU索引(EU index as in Kabat)」係指人類IgG 1 EU抗體之殘基編號。其他編號系統已例如藉由AbM、Chothia、Contact、IMGT、及AHon描述。

【0057】 當用於提及抗體時，用語「重鏈(heavy chain)」係指約50至70 kDa之多肽鏈，其中胺基端部分包括約120至130個或更多個胺基酸之可變區，且羧基端部分包括恆定區。恆定區可係五種不同類型（例如，同型）中之一者，基於重鏈恆定區之胺基酸序列，該等類型被稱為 $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\gamma$ 、及 $\mu$ 。不同的重鏈大小不同： $\alpha$ 、 $\delta$ 、及 $\gamma$ 含有大約450個胺基酸，而 $\mu$ 及 $\epsilon$ 含有大約550個胺基酸。當與輕鏈組合時，此等不同類型的重鏈分別產生熟知的五種類別（例如，同型）的抗體IgA、IgD、IgE、IgG、及IgM，包括四種子類別的IgG，即IgG1、IgG2、IgG3、及IgG4。

【0058】 當用於提及抗體時，用語「輕鏈(light chain)」係指約25 kDa之多肽鏈，其中胺基端部分包括約100至約110個或更多個胺基酸之可變區，且羧

基端部分包括恆定區。輕鏈之大約長度係211至217個胺基酸。有兩種不同的類型，基於恆定域之胺基酸序列，該等類型被稱為 $\kappa$ 或 $\lambda$ 。

【0059】 如本文所用，用語「高度變異區」、「HVR」、「互補決定區」、及「CDR」可互換使用。「CDR」係指免疫球蛋白（Ig或抗體）VH  $\beta$ 褶板骨架之非骨架區內三個高度變異區（H1、H2、或H3）中之一者，或抗體VL  $\beta$ 褶板骨架之非骨架區內三個高度變異區（L1、L2、或L3）中之一者。VH域中之CDR1、CDR2、及CDR3分別稱為HCDR1、HCDR2、及HCDR3。VL域中之CDR1、CDR2、及CDR3分別稱為LCDR1、LCDR2、及LCDR3。因此，CDR係穿插在骨架區序列內的可變區序列。

【0060】 CDR區係所屬技術領域中具有通常知識者熟知的，且已藉由熟知的編號系統定義。例如，Kabat互補決定區(CDR)係基於序列變異性且係最常用的（參見例如上述Kabat *et al.*；Nick Deschacht *et al.*, J Immunol 2010; 184:5696-5704）。Chothia則係指結構環之位置（參見例如Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-17 (1987)）。當使用Kabat編號慣例編號時，Chothia CDR-H1環之末端取決於環之長度而於H32與H34之間變化（此係因為Kabat編號方案將插入放置於H35A及H35B處；若35A及35B均不存在，則環結束於32處；若僅35A存在，則環結束於33處；若35A及35B兩者均存在，則環結束於34處）。AbM高度變異區表示介於Kabat CDR與Chothia結構環之間的折衷，且藉由Oxford Molecular之AbM抗體模型化軟體使用（參見例如Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)）。「contact」高度變異區係基於對可用複合物晶體結構的分析。已開發並廣泛採納的另一通用編號系統係

ImMunoGeneTics (IMGT) Information System<sup>®</sup> (Lafranc *et al.*, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77 (2003))。IMGT係專門針對人類及其他脊椎動物之免疫球蛋白(IG)、T細胞受體(TCR)、及主要組織相容性複合體(major histocompatibility complex, MHC)的整合式資訊系統。在本文中，CDR依據胺基酸序列及在輕鏈或重鏈內的位置兩者進行指稱。由於免疫球蛋白可變域之結構內CDR之「位置」於物種之間係保守的，且存在於稱為環的結構中，因此藉由使用根據結構特徵比對可變域序列的編號系統，容易識別CDR及骨架殘基。此資訊可用於將來自一種物種之免疫球蛋白之CDR殘基移植及置換到一般來自人類抗體之受體骨架中。Honegger and Plückthun, J. Mol. Biol. 309: 657-70 (2001)已開發額外編號系統(AHon)。編號系統（包括例如Kabat編號及IMGT獨特編號系統）之間的對應性係所屬技術領域中具有通常知識者熟知的（參見例如上述Kabat；上述Chothia and Lesk；上述Martin；上述Lefranc *et al.*）。下表1例示來自此等高度變異區或CDR中之各者的殘基。

表1.根據各種編號系統之例示性CDR

| 環      | Kabat                    | AbM       | Chothia                | Contact   | IMGT       |
|--------|--------------------------|-----------|------------------------|-----------|------------|
| CDR L1 | L24--L34                 | L24--L34  | L26--L32 或<br>L24--L34 | L30--L36  | L27--L38   |
| CDR L2 | L50--L56                 | L50--L56  | L50--L52 或<br>L50--L56 | L46--L55  | L56--L65   |
| CDR L3 | L89--L97                 | L89--L97  | L91--L96 或<br>L89--L97 | L89--L96  | L105--L117 |
| CDR H1 | H31--H35B<br>(Kabat 編號)  | H26--H35B | H26--H32..34           | H30--H35B | H27--H38   |
| CDR H1 | H31--H35<br>(Chothia 編號) | H26--H35  | H26--H32               | H30--H35  |            |

| 環      | Kabat     | AbM       | Chothia                  | Contact   | IMGT      |
|--------|-----------|-----------|--------------------------|-----------|-----------|
| CDR H2 | H50--H65  | H50--H58  | H53--H55 或<br>H52--H56   | H47--H58  | H56--H65  |
| CDR H3 | H95--H102 | H95--H102 | H96--H101 或<br>H95--H102 | H93--H101 | H105-H117 |

【0061】 給定CDR之邊界可取決於用於識別之方案而變化。因此，除非另有說明，給定抗體或其區域（諸如可變區）之用語「CDR」及「互補決定區」以及該抗體或其區域之個別CDR（例如，CDR-H1、CDR-H2）應理解為涵蓋由如上文所述之任何已知方案所界定的互補決定區。在一些情況下，指定用於識別特定CDR或多個CDR之方案，諸如，如藉由IMGT、Kabat、Chothia、或Contact方法所定義之CDR。在其他情況下，給定CDR之特定胺基酸序列。應注意CDR區亦可藉由各種編號系統之組合定義，例如Kabat及Chothia編號系統之組合、或Kabat及IMGT編號系統之組合。因此，諸如「如特定VH中所示之CDR1」之用語包括藉由上述例示性CDR編號系統定義之任何CDR1，但不限於此。一旦給定可變區（例如，VH或VL），所屬技術領域中具有通常知識者將理解在該區內之CDR可藉由不同編號系統或其組合來定義。

【0062】 高度變異區可包含如下之「延伸高度變異區」：VL中之24至36或24至34 (L1)、46至56或50至56 (L2)、及89至97或89至96 (L3)；及VH中之26至35或26至35A (H1)、50至65或49至65 (H2)、及93至102、94至102、或95至102 (H3)。

【0063】 用語「恆定區(constant region)」或「恆定域(constant domain)」係指輕鏈及重鏈之羧基端部分，其未直接涉及抗體與抗原的結合，但展現各種效應功能（諸如與Fc受體的交互作用）。該用語係指免疫球蛋白分子之一部

分，其相對於免疫球蛋白之含有抗原結合位點之另一部分（可變域）具有更保守的胺基酸序列。恆定區可含有重鏈之CH1區、CH2區、及CH3區及輕鏈之CL區。

【0064】 用語「骨架(framework)」或「FR」係指側接CDR的可變區殘基。FR殘基存在於例如嵌合抗體、人源化抗體、人類抗體、域抗體、雙鏈抗體、線性抗體、及雙特異性抗體。FR殘基係高度變異區殘基或CDR殘基以外的可變域殘基。

【0065】 本文中之用語「Fc區(Fc region)」用於定義免疫球蛋白重鏈之C端區，包括例如天然序列Fc區、重組Fc區、及變體Fc區。儘管免疫球蛋白重鏈之Fc區之邊界可不同，但通常將人類IgG重鏈Fc區定義成從在位置Cys226處的胺基酸殘基或從Pro230伸長至其羧基端。Fc區之C端離胺酸（殘基447，根據EU編號系統）可例如在抗體之產生或純化期間，或藉由重組工程改造編碼抗體重鏈之核酸來移除。因此，完整抗體之組成可包含移除所有K447殘基的抗體群體、未移除K447殘基的抗體群體、及具有含及不含K447殘基之抗體之混合物的抗體群體。「功能性Fc區(functional Fc region)」具有天然序列Fc區之「效應功能(effector function)」。例示性「效應功能」包括：C1q結合；CDC；Fc受體結合；ADCC；吞噬作用；細胞表面受體（例如，B細胞受體）之下調等。此類效應功能通常需要Fc區與結合區或結合域（例如，抗體可變區或可變域）組合且可使用所屬技術領域中具有通常知識者已知的各種檢定評估。「變體Fc區(variant Fc region)」包含與天然序列Fc區有至少一個胺基酸修飾（例如，取代、添加、或缺失）之差異的胺基酸序列。在某些實施例中，相較於天然序列

Fc區或親本多肽之Fc區，變體Fc區具有至少一個胺基酸取代，例如在天然序列Fc區中或在親本多肽之Fc區中具有約一至約十個胺基酸取代或約一至約五個胺基酸取代。本文中之變體Fc區可與天然序列Fc區及/或與親本多肽之Fc區具有至少約80%同源性，或與其具有至少約90%同源性，例如與其具有至少約95%同源性。

【0066】 如本文中所使用，「表位(epitope)」係所屬技術領域中之用語，且係指結合分子（例如，抗體）可特異性結合之抗原的局部區。表位可係線性表位或構形、非線性、或不連續表位。例如，在多肽抗原的情況下，表位可係多肽之連續胺基酸（「線性」表位），或表位可包含來自多肽之二或更多個非連續區域的胺基酸（「構形(conformational)」、「非線性(non-linear)」、或「不連續(discontinuous)」表位）。所屬技術領域中具有通常知識者將理解，通常，線性表位可取決於或可不取決於二級、三級、或四級結構。例如，在一些實施例中，結合分子結合至胺基酸之群組，無論其等是否被摺疊成天然三維蛋白質結構。在其他實施例中，結合分子需要補足表位以展現特定構形（例如，彎曲、扭轉、轉彎、或摺疊）的胺基酸殘基，以辨識並結合表位。

【0067】 關於肽、多肽、或抗體序列的「胺基酸序列同一性百分比(%) (percent (%) amino acid sequence identity)」及「同源性(homology)」係定義為經下列步驟後與特定肽或多肽序列中之胺基酸殘基同一的候選序列中之胺基酸殘基的百分比：比對該等序列並引入缺口(gap)（若有需要），以達到最大序列同一性百分比，且不將任何保守性取代視為該序列同一性的一部分。可採用所屬技術領域中通常知識內的各種方式，例如使用公開可得電腦軟體（諸如

BLAST、BLAST-2、ALIGN、或MEGALIGN™ (DNASar, Inc.)軟體)來達成以判定胺基酸序列同一性百分比為目的之比對。所屬技術領域中具有通常知識者可判定用於測量比對的適當參數，包括為了在經比較序列全長上達到最大比對而需要的任何演算法。

【0068】 用語「特異性(specificity)」係指抗原結合蛋白對抗原之特定表位的選擇性辨識。例如自然抗體為單特異性。如本文中所使用，用語「多特異性(multispecific)」表示抗原結合蛋白具有二或更多個抗原結合位點，其中至少兩個結合不同抗原。如本文中所使用，「雙特異性(bispecific)」表示抗原結合蛋白具有二種不同抗原結合特異性。如本文中所使用，用語「單特異性(monospecific)」抗體表示具有一或多個結合位點之抗原結合蛋白，其等各者結合相同抗原。

【0069】 如本文中所使用，用語「價(valent)」表示在抗原結合蛋白中存在指定數目的結合位點。例如，天然抗體或全長抗體具有兩個結合位點且係二價的。因此，用語「三價(trivalent)」、「四價(tetravalent)」、「五價(pentavalent)」及「六價(hexavalent)」分別表示在抗原結合蛋白中存在兩個結合位點、三個結合位點、四個結合位點、五個結合位點、及六個結合位點。

【0070】 用語「多肽(polypeptide)」、及「肽(peptide)」、及「蛋白質(protein)」在本文中可互換使用且指代任何長度之胺基酸之聚合物。聚合物可係線性或分枝的，其可包含經修飾之胺基酸，且其可由非胺基酸中斷。該用語亦涵蓋具有經天然修飾或插入修飾的胺基酸聚合物；例如，雙硫鍵形成、醮基化、脂化、乙醮化、磷酸化、或任何其他操縱或修飾。定義內亦包括例如含有

胺基酸（包括但不限於非天然胺基酸）之一或多種類似物以及所屬技術領域中已知的其他修飾之多肽。應理解，因為本揭露之多肽可基於免疫球蛋白超家族之抗體或其他成員，所以在某些實施例中，「多肽」可呈單鏈或呈二或更多個經締合之鏈而存在。

**【0071】** 「多核苷酸(polynucleotide)」或「核酸(nucleic acid)」在本文中可互換使用，其係指任何長度之核苷酸的聚合物且包括DNA及RNA。核苷酸可係去氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、經修飾之核苷酸或鹼基、及/或其類似物、或任何可藉由DNA或RNA聚合酶或藉由合成反應併入聚合物中之受質。多核苷酸可包含經修飾之核苷酸，諸如經甲基化之核苷酸及類似物。如本文所用之「寡核苷酸(oligonucleotide)」係指短的、通常單股的合成多核苷酸，其長度通常但不一定小於約200個核苷酸。用語「寡核苷酸」及「多核苷酸」不互斥。上文對於多核苷酸的描述同等地且完全適用於寡核苷酸。生產本揭露之結合分子的細胞可包括親本融合瘤細胞，以及已引入編碼抗體之核酸的細菌及真核宿主細胞。除非另有指定，否則本文揭示之任何單股多核苷酸序列之左手端係5'端；雙股多核苷酸序列之左手方向稱為5'方向。5'至3'添加新生RNA轉錄本的方向稱為轉錄方向；DNA股上具有與RNA轉錄本相同的序列、在RNA轉錄本5'端的5'序列區稱為「上游序列(upstream sequence)」；DNA股上具有與RNA轉錄本相同的序列、在RNA轉錄本3'端的3'序列區稱為「下游序列(downstream sequence)」。

**【0072】** 「經單離之核酸(isolated nucleic acid)」係實質上與其他基因體DNA序列以及天然伴隨天然序列的蛋白質或複合物（諸如核糖體及聚合酶）分

離的核酸，例如RNA、DNA、或混合核酸。「經單離(isolated)」核酸分子係自核酸分子之天然來源中存在的其他核酸分子分離的核酸分子。此外，「經單離」核酸分子（諸如cDNA分子）當藉由重組技術生產時可實質上不含其他細胞材料或培養基，或當化學合成時可實質上不含化學前驅物或其他化學品。在一具體實施例中，編碼如本文所述之抗體之一或多個核酸分子經單離或純化。該用語包括已自其自然發生之環境移除的核酸序列，且包括重組或經選殖之DNA單離物及經化學合成之類似物或藉由異源系統生物合成的類似物。實質上純分子可包括分子的單離形式。具體而言，編碼本文所述之抗體之「經單離之」核酸分子係經識別且與在該核酸分子生產環境中通常與其締合之至少一個污染核酸分子分離的核酸分子。

**【0073】** 除非另有指定，否則「編碼胺基酸序列之核苷酸序列(nucleotide sequence encoding an amino acid sequence)」包括係為彼此之簡併版本且編碼相同胺基酸序列之所有核苷酸序列。編碼蛋白或RNA之片語核苷酸序列亦可包括內含子（倘若編碼該蛋白之該核苷酸序列可在一些版本中含有一或多個內含子）。

**【0074】** 用語「控制序列(control sequence)」係指在特定宿主生物體中表現可操作地連接之編碼序列所需的DNA序列。適用於原核生物之控制序列例如包括啟動子、視情況地操作子序列、及核糖體結合位點。已知真核細胞利用啟動子、多腺苷酸化信號、及增強子。

**【0075】** 如本文中所使用，用語「可操作地連接(operatively linked)」及類似詞組（例如，基因融合）當用以指涉核酸或胺基酸時，分別係指彼此處於

功能性關係的核酸序列或胺基酸序列之操作性鍵聯。例如，可操作地連接之啟動子、增強子元件、開讀框、5'及3' UTR、及終止子序列導致核酸分子（例如，RNA）的正確生產。在一些實施例中，可操作地連接之核酸元件導致開讀框的轉錄，而最終導致多肽的生產（即，開讀框的表現）。作為另一實例，可操作地連接之肽係其中功能域彼此以適當距離放置以賦予各域之意欲功能的肽。

【0076】 用語「載體(vector)」係指用於攜帶或包括核酸序列之物質，包括例如編碼如本文所述之結合分子（例如，抗體）的核酸序列，以將核酸序列引入宿主細胞中。適於使用之載體包括例如表現載體、質體、噬菌體載體、病毒載體、游離基因體、及人工染色體，其可包括可操作用於穩定整合至宿主細胞染色體中的選擇序列或標記。此外，載體可包括一或多個可選擇標記基因及適當的表現控制序列。可包括的可選擇標記基因例如提供對抗生素或毒素的抗性，補充營養缺陷型缺陷，或供應不在培養基中的關鍵營養素。表現控制序列可包括組成型及誘導型啟動子、轉錄增強子、轉錄終止子、及類似者，其係所屬技術領域中熟知的。當欲共表現二或更多個核酸分子（例如，抗體重鏈及輕鏈或抗體VH及VL）時，可將兩個核酸分子插入至例如單一表現載體中或分開的表現載體中。對於單載體表現，可將編碼核酸可操作地連接至一個常見的表現控制序列或連接至不同的表現控制序列，諸如一個誘導型啟動子及一個組成型啟動子。核酸分子引入宿主細胞可使用所屬技術領域中熟知之方法來確認。該等方法包括例如核酸分析諸如北方墨點法或聚合酶連鎖反應(PCR)擴增 mRNA、針對基因產物表現的免疫墨點法、或其他適合的分析方法，以測試引

入核酸序列或其對應基因產物之表現。所屬技術領域中具有通常知識者應理解，核酸分子係以足以生產所欲產物的量表現，且應進一步理解，表現水平可使用所屬技術領域中熟知之方法最佳化以獲得足夠表現。

【0077】 如本文中所使用，用語「宿主(host)」係指動物，諸如哺乳動物（例如，人類）。

【0078】 如本文中所使用，用語「宿主細胞(host cell)」係指可用核酸分子轉染的特定對象細胞及該細胞之後代或潛在後代。該細胞之後代可能由於可能發生在後繼世代或核酸分子整合至宿主細胞基因體時發生的突變或環境影響，而不與經核酸分子轉染的親本細胞同一。

【0079】 如本文中所使用，用語「經轉染(transfected)」或「經轉形(transformed)」或「經轉導(transduced)」係指將外源性核酸轉移或引入至宿主細胞中之程序。「經轉染」或「經轉形」或「經轉導」之細胞係經外源性核酸轉染、轉形或轉導之細胞。該細胞包括初代對象細胞及其後代。

【0080】 如本文中所使用，用語「醫藥上可接受(pharmaceutically acceptable)」意謂經美國聯邦或州政府之管理機關批准，或列在美國藥典(United States Pharmacopeia)、歐洲藥典(European Pharmacopeia)、或其他公認的藥典中以用於動物及更特定地人類。

【0081】 「賦形劑(excipient)」意謂醫藥上可接受之材料、組成物、或媒劑，諸如液體或固體填料、稀釋劑、溶劑、或封裝材料。賦形劑包括例如封裝材料或添加劑，諸如吸收加速劑、抗氧化劑、黏合劑、緩衝劑、載劑、塗布劑、著色劑、稀釋劑、崩散劑、乳化劑、增效劑、填料、調味劑、保濕劑、潤

滑劑、香料、防腐劑、推進劑、釋放劑、滅菌劑、甜味劑、增溶劑、潤濕劑、及其混合物。用語「賦形劑」亦可指稀釋劑、佐劑（例如，弗氏佐劑(Freunds' adjuvant)（完全或不完全）、或媒劑。

**【0082】** 在一些實施例中，賦形劑係醫藥上可接受之賦形劑。醫藥上可接受之賦形劑之實例包括緩衝劑，諸如磷酸鹽、檸檬酸鹽、及其他有機酸；抗氧化劑；低分子量（例如，少於約10個胺基酸殘基）多肽；蛋白質；親水性聚合物；胺基酸；單醣、雙醣、及其它碳水化合物；螯合劑；糖醇；成鹽相對離子；及/或非離子界面活性劑。醫藥上可接受之賦形劑之非限制性實例係描述於 Remington and Gennaro, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1990)中。

**【0083】** 在一個實施例中，各組分在與醫藥配方之其他成分相容的意義上係「醫藥上可接受的」，且適合用於接觸人類及動物之組織或器官而沒有過量毒性、刺激、過敏反應、免疫原性、或其他問題或併發症，符合合理之效益/風險比。參見例如Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005；Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.; Rowe et al., Eds.；The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009；Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.；Gower Publishing Company: 2007；Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.；CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009。在一些實施例中，醫藥上可接受之賦形劑在採用之劑量及濃度下對暴露於其之細胞或哺乳動物無毒。在一些實施例中，醫藥上可接受之賦形劑係pH緩衝水溶液。

【0084】 在一些實施例中，賦形劑係無菌液體，諸如水及油（包括石油、動物、植物、或合成來源者）。當靜脈內投予組成物（例如，醫藥組成物）時，水係例示性賦形劑。鹽水溶液以及右旋糖及甘油水溶液亦可用作液體賦形劑，尤其用於可注射溶液。所欲時，組成物亦可含有少量濕潤劑、或乳化劑、或pH緩衝劑。組成物可採取溶液、懸浮液、乳液、錠劑、丸劑、膠囊、粉末、及類似者之形式。

【0085】 組成物（包括醫藥組成物）可含有例如呈單離或純化形式之結合分子（例如如本文所述之抗體）、連同合適量的賦形劑。

【0086】 如本文中所使用，用語「有效量(effective amount)」或「治療有效量(therapeutically effective amount)」係指足以導致所欲結果的本文提供之抗體或包含藥劑及抗體之治療劑分子或醫藥組成物之量。

【0087】 用語「對象(subject)」及「患者(patient)」可互換使用。如本文中所使用，在某些實施例中，對象係哺乳動物，諸如非靈長類或靈長類（例如人類）。在具體實施例中，對象係人類。在一個實施例中，對象係經診斷患有疾病或病症的哺乳動物，例如人類。在另一實施例中，對象係處於發展疾病或病症之風險中的哺乳動物，例如人類。

【0088】 「投予(administer/administration)」係指將存在於體外之物質注射或以其他物理方式遞送至患者中的動作，諸如經黏膜、皮內、靜脈內、肌內遞送、及/或本文所述或所屬技術領域中已知的任何其他物理遞送方法。

【0089】 如本文所用，用語「治療(treat/treatment/treating)」係指疾病或病況之進展、嚴重性及/或持續時間由於投予一或多種療法而減少或改善。治療

可藉由評估與潛在病症相關聯的一或多種症狀是否已減少、減輕、及/或緩解，使得觀察到患者之改善來判定，但是患者可能仍然受潛在病症折磨。用語「治療」包括管理及改善疾病兩者。用語「管理(manage/managing/management)」係指對象自療法獲得之有益效果，該療法不一定導致疾病治癒。

**【0090】** 用語「預防(prevent/preventing/prevention)」係指降低疾病、病症、病況、或（多種）相關症狀（例如糖尿病或癌症）之發作（或再發）的可能性。

**【0091】** 用語「攔截(intercept/intercepting/interception)」係指在疾病過程早期（例如有症狀前及/或惡變前疾病）投予療法，以預防、抑制、或延緩疾病進展（例如，以預防、抑制、或延緩進展至晚期癌症，諸如惡性癌症）。

**【0092】** 如本文中所使用，「延緩(delaying)」癌症之發展意指推遲、阻礙、減緩、減慢、穩定、及/或延遲疾病之發展。此延緩可具有不同時間長度，取決於所治療之疾病及/或個體之病史。如所屬技術領域中具有通常知識者顯而易見，充分或顯著的延緩可實際上涵蓋預防，因為個體不會發展疾病。「延緩」癌症發展之方法係當相較於未使用該方法時，在給定時間範圍內降低疾病發展之可能性及/或在給定時間範圍內減少疾病之程度的方法。此類比較一般係基於使用統計上顯著的個體數目之臨床研究。癌症發展可使用標準方法偵測，包括但不限於電腦軸向斷層掃描（CAT掃描）、磁共振造影(MRI)、腹部超音波、凝血測試、動脈攝影、或活體組織切片。發展亦可指最初可能無法偵測的癌症進展且包括發生、再發、及發作。

【0093】 如本文中所使用，「il-1 $\beta$ 相關疾病或病症(IL-1 $\beta$  associated disease or disorder)」係指包含其中表現或過度表現il-1 $\beta$ 之細胞或組織的疾病或病症。在一些實施例中，il-1 $\beta$ 相關疾病或病症包含在其上異常表現il-1 $\beta$ 之細胞。在其他實施例中，il-1 $\beta$ 相關疾病或病症包含在其中或其上il-1 $\beta$ 至少缺乏一種活性之細胞。

【0094】 用語「約(about)」及「大約(approximately)」意謂在給定值或範圍之20%內、15%內、10%內、9%內、8%內、7%內、6%內、5%內、4%內、3%內、2%內、1%內、或更少。

【0095】 如本揭露及申請專利範圍中所用，除非內文另有明確規定，否則單數形式「一(a/an)」及「該(the)」皆包括複數形式。

【0096】 應理解，每當在本文中以用語「包含(comprising)」描述實施例時，亦提供以用語「由...組成(consisting of)」及/或「基本上由...組成(consisting essentially of)」描述之其他類似實施例。亦應理解，每當在本文中以片語「基本上由...組成」描述實施例時，亦提供以用語「由...組成」描述之其他類似實施例。

【0097】 如在諸如「在A與B之間(between A and B)」或「在A至B之間(between A-B)」之片語中使用之用語「在...之間(between)」係指包括A及B兩者之範圍。

【0098】 如在諸如「A及/或B (A and/or B)」之片語中使用之用語「及/或(and/or)」意欲包括A及B兩者；A或B；A（單獨）；及B（單獨）。同樣地，如在諸如「A、B、及/或C (A, B, and/or C)」之片語中使用之用語「及/或

(and/or)」意欲涵蓋以下實施例中之各者：A、B、及C；A、B、或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A（單獨）；B（單獨）；及C（單獨）。

## 5.2. IL-1 $\beta$ 結合分子

### 5.2.1. 結合至IL-1 $\beta$ 之抗體

**【0099】** 在一個態樣中，本文提供能夠結合至IL-1 $\beta$ 之抗體。IL-1 $\beta$ 係一種多效性(pleiotropic)細胞介素，在生理及病理狀態下皆具有許多作用。在癌症中，IL-1 $\beta$ 通過各種機制促進腫瘤支持性微環境。此外，IL-1路徑促進血管內皮生長因子(VEGF)及纖維母細胞生長因子(FGF)之表現，其等係導致微血管新形成的兩個關鍵促血管生成因子，微血管新形成係腫瘤進展之標誌且對腫瘤侵襲及轉移而言係必要的。IL-1 $\beta$ 亦在體外促進上皮細胞間質轉化(EMT)，此係轉移級聯(metastatic cascade)早期之關鍵步驟。IL-1 $\beta$ 可招募及重編程多種細胞類型；例如，IL-1 $\beta$ 已顯示促進巨噬細胞及嗜中性球浸潤、動員免疫抑制性骨髓細胞群（例如MDSC）、增強嗜中性球浸潤、及減弱T細胞浸潤及活化。IL-1 $\beta$ 之核酸及胺基酸序列係已知的（參見GCID:GC02M112829、HGNC: 5992、NCBI Entrez Gene: 3553、Ensembl: ENSG00000125538、OMIM<sup>®</sup>: 147720、及 UniProtKB/Swiss-Prot: P01584）。在一些實施例中，本文提供之抗體結合至人類IL-1 $\beta$ 。在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體調節一或多種IL-1 $\beta$ 活性。在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體係拮抗抗體。

**【0100】** 在一個實施例中，根據本揭露之抗體係IL-1 $\beta$ 拮抗劑。在另一實施例中，包含抗原結合部分之抗體或功能片段結合目標蛋白質IL-1 $\beta$ 並將IL-1 $\beta$

與介白素1型受體(IL-1RI)之結合降低至基礎水平。在此實施例之一個態樣中，抗體或功能片段減少結合至IL-1RI之IL-1 $\beta$ 之量。在此實施例之一進一步態樣中，抗體或功能片段完全防止IL-1 $\beta$ 結合至IL-1RI。在一進一步實施例中，抗體或功能片段抑制IL-1信號傳導活化。如根據所屬技術領域已知及本文所述之方法判定的抑制一或多種此等IL-1 $\beta$ 功能性質（例如生化、免疫化學、細胞、生理、或其他生物活性、或類似者）之抗體將被理解為與相對於在抗體不存在下（例如，或當不相關特異性之對照抗體存在時）所見之特定活性的統計顯著降低相關。在一些實施例中，抑制IL-1 $\beta$ 活性之抗體影響此類統計顯著降低至少10%、至少50%、80%、或90%的測量參數，且在某些實施例中，本揭露之抗體可抑制大於95%、98%、或99%的IL-1 $\beta$ 功能活性。

**【0101】** 在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體以 $\leq 1 \mu\text{M}$ 、 $\leq 200 \text{ nM}$ 、 $\leq 100 \text{ nM}$ 、 $\leq 50 \text{ nM}$ 、 $\leq 20 \text{ nM}$ 、 $\leq 10 \text{ nM}$ 、 $\leq 1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.1 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.05 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.02 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.01 \text{ nM}$ 、 $\leq 0.001 \text{ nM}$ （例如20pM、22pM、64pM、70pM、180pM、或1.7nM，例如 $10^{-8} \text{ M}$ 或更少、例如 $10^{-8} \text{ M}$ 至 $10^{-13}$ ，例如 $10^{-9} \text{ M}$ 至 $10^{-13} \text{ M}$ ，例如 $10^{-10} \text{ M}$ 至 $10^{-13} \text{ M}$ ）之解離常數(KD)結合至IL-1 $\beta$ （例如人類IL-1 $\beta$ ）。各種測量結合親和力之方法係所屬技術領域已知的，其中任何方法皆可用於本揭露之目的，包括藉由例如用所關注抗體之Fab版本及其抗原執行RIA (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81)；使用例如Octet<sup>®</sup>Red96系統之Octet<sup>®</sup>或使用例如Biacore<sup>®</sup>TM-2000或Biacore<sup>®</sup>TM-3000之Biacore<sup>®</sup>所進行之生物層干涉術(BLI)或表面電漿共振(SPR)檢定。「締合速率(on-rate/rate of association/association rate)」或「kon」亦可用上述之相同的生物層干涉術(BLI)或表面電漿共振(SPR)

技術，使用例如Octet®Red96、Biacore®TM-2000、或Biacore®TM-3000系統判定。

【0102】 在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體係以下章節7中所述者。因此，在一些實施例中，本文提供之抗體包含SEQ ID NO: 13至102中任一者之一或多個CDR序列。CDR序列可根據眾所周知的編號系統來判定。在一些實施例中，CDR係根據IMGT編號。在一些實施例中，CDR係根據Kabat編號。在一些實施例中，CDR係根據AbM編號。在其他實施例中，CDR係根據Chothia編號。在其他實施例中，CDR係根據Contact編號。在一些實施例中，抗IL-1 $\beta$ 抗體經人源化。在一些實施例中，抗IL-1 $\beta$ 抗體包含受體人類骨架，例如人類免疫球蛋白骨架或人類共有骨架(human consensus framework)。

【0103】 在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包含如SEQ ID NO: 7中所示之HCDR1、HCDR2、及HCDR3。在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包含如SEQ ID NO: 9中所示之HCDR1、HCDR2、及HCDR3。在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包含如SEQ ID NO: 11中所示之HCDR1、HCDR2、及HCDR3。CDR序列可根據眾所周知的編號系統或其組合來判定。在一些實施例中，CDR係根據IMGT編號。在一些實施例中，CDR係根據Kabat編號。在一些實施例中，CDR係根據AbM編號。在其他實施例中，CDR係根據Chothia編號。在其他實施例中，CDR係根據Contact編號。

【0104】 在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包含如SEQ ID NO: 8中所示之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包含如SEQ ID NO: 10中所示之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一些實施

例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包含如SEQ ID NO: 12中所示之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。CDR序列可根據眾所周知的編號系統或其組合來判定。在一些實施例中，CDR係根據IMGT編號。在一些實施例中，CDR係根據Kabat編號。在一些實施例中，CDR係根據AbM編號。在其他實施例中，CDR係根據Chothia編號。在其他實施例中，CDR係根據Contact編號。

【0105】 在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含如SEQ ID NO: 7中所示之HCDR1、HCDR2、及HCDR3，及如SEQ ID NO: 8中所示之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含如SEQ ID NO: 9中所示之HCDR1、HCDR2、及HCDR3，及如SEQ ID NO: 10中所示之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含如SEQ ID NO: 11中所示之HCDR1、HCDR2、及HCDR3，及如SEQ ID NO: 12中所示之LCDR1、LCDR2、及LCDR3。CDR序列可根據眾所周知的編號系統或其組合來判定。在一些實施例中，CDR係根據IMGT編號。在一些實施例中，CDR係根據Kabat編號。在一些實施例中，CDR係根據AbM編號。在其他實施例中，CDR係根據Chothia編號。在其他實施例中，CDR係根據Contact編號。

【0106】 在其他實施例中，本文提供一種結合至IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：HCDR1，其包含與SEQ ID NO: 13、19、25、31、37、43、49、55、61、67、73、79、85、91、及97中任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性之胺基酸序列；(ii) HCDR2，其包含與SEQ ID NO: 14、

20、26、32、38、44、50、56、62、68、74、80、86、92、及98中任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性之胺基酸序列；(iii) HCDR3，其包含與SEQ ID NO: 15、21、27、33、39、45、51、57、63、69、75、81、87、93、及99中任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性之胺基酸序列；(iv) LCDR1，其包含與SEQ ID NO: 16、22、28、34、40、46、52、58、64、70、76、82、88、94、及100中任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性之胺基酸序列；(v) LCDR2，其包含與SEQ ID NO: 17、23、29、35、41、47、53、59、65、71、77、83、89、95、及101中任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或100%序列同一性之胺基酸序列；及/或(vi) LCDR3，其包含與SEQ ID NO: 18、24、30、36、42、48、54、60、66、72、78、84、90、96、及102中任一者具有至少75%、80%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、100%序列同一性之胺基酸序列。

在一些實施例中，抗IL-1 $\beta$ 抗體經人源化。在一些實施例中，抗IL-1 $\beta$ 抗體包含受體人類骨架，例如人類免疫球蛋白骨架或人類共有骨架(human consensus framework)。

【0107】 在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 13之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 14之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 15之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 16之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 17之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 18之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 31之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 32之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 33之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 34之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 35之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 36之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 49之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 50之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 51之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 52之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 53之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 67之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 68之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 69之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 70之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 71之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 72之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 85之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 86之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 87之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 88之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 89之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 90之胺基酸序列。

【0108】 在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 19之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 20之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 21之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 22之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 23之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 24之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 37之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 38之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 39之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 40之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 41之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 42之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 55之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 56之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 57之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 58之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 59之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 60之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 73之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 74之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 75之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 76之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 77之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 78之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 91之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 92之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 93之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 94之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 95之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 96之胺基酸序列。

【0109】 在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 25之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 26之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 27之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 28之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 29之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 30之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 43之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 44之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 45之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 46之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 47之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 48之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 61之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 62之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 63之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 64之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 65之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 66之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 79之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 80之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 81之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 82之胺基酸序列，LCDR2包含SEQ ID NO: 83之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 84之胺基酸序列。在一些具體實施例中，在本文提供之抗體或抗原結合片段中，HCDR1包含SEQ ID NO: 97之胺基酸序列，HCDR2包含SEQ ID NO: 98之胺基酸序列，HCDR3包含SEQ ID NO: 99之胺基酸序列，LCDR1包含SEQ ID NO: 100之胺基酸序列，LCDR2

包含SEQ ID NO: 101之胺基酸序列，且LCDR3包含SEQ ID NO: 102之胺基酸序列。

**【0110】** 在一些實施例中，抗體進一步包含SEQ ID NO: 13至102之一或多個骨架區。在一些實施例中，本文提供之抗體係人源化抗體。本文所述之骨架區係基於CDR編號系統之邊界判定。換言之，若CDR係藉由例如Kabat、IMGT、或Chothia判定，則骨架區自N端至C端係呈以下形式之可變區中圍繞CDR的胺基酸殘基：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4。例如，FR1係定義為於CDR1胺基酸殘基N端的胺基酸殘基，如藉由例如Kabat編號系統、IMGT編號系統、或Chothia編號系統所定義，FR2定義係為在CDR1與CDR2胺基酸殘基之間的胺基酸殘基，如藉由例如Kabat編號系統、IMGT編號系統、或Chothia編號系統所定義，FR3係定義為在CDR2與CDR3胺基酸殘基之間的胺基酸殘基，如藉由例如Kabat編號系統、IMGT編號系統、或Chothia編號系統所定義，且FR4係定義為於CDR3胺基酸殘基C端的胺基酸殘基，如藉由例如Kabat編號系統、IMGT編號系統、或Chothia編號系統所定義。

**【0111】** 在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的VL。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含：包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的VL。

【0112】 在某些實施例中，本文所述之抗體或其抗原結合片段包含相對於本文提供之任何抗體（例如以下章節6中所述者）具有一定同一性百分比之胺基酸序列。

【0113】 兩個序列（例如，胺基酸序列或核酸序列）之間的同一性百分比之判定可使用數學演算法完成。用於比較兩個序列的數學演算法之非限制性實例係以下之演算法：Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264-2268 (1990)，修飾如Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877 (1993)。將此演算法併入Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403 (1990)之NBLAST及XBLAST程式中。可執行BLAST核苷酸搜索，其中NBLAST核苷酸程式參數設定為例如評分=100，字長=12以獲得與本文所述之核酸分子同源的核苷酸序列。可執行BLAST蛋白質搜索，其中XBLAST程式參數設定為例如評分50，字長=3以獲得與本文所述之蛋白質分子同源的胺基酸序列。為獲得用於比較目的之缺口比對(gapped alignment)，可利用Gapped BLAST，如描述於Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25:3389-3402 (1997)。替代地，可使用PSI-BLAST執行迭代搜索，其偵測分子之間的距離關係(Id.)。當利用BLAST、Gapped BLAST、及PSI Blast程式時，可使用各別程式（例如，XBLAST及NBLAST）的預設參數（參見例如，全球資訊網上之美國國家生物技術資料中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)，ncbi.nlm.nih.gov）。用於比較序列之數學演算法之另一非限制性實例係Myers and Miller, CABIOS 4:11-17 (1998)之演算法。此一演算法合併至ALIGN程式（2.0版）中，其係GCG序列比對軟體套件之部分。當利用ALIGN程式來比較胺基酸序列時，可使

用PAM120加權殘基表、缺口長度罰分12、及缺口罰分4。兩個序列之間的同一性百分比可使用與上文所述之技術類似的技術，在允許或不允許缺口的情況下判定。在計算同一性百分比時，一般僅計數精確匹配。

**【0114】** 在一些實施例中，本文提供之抗體相對於參考序列含有取代（例如保守性取代）、插入、或缺失，但包含該序列之抗IL-1 $\beta$ 抗體保留結合至IL-1 $\beta$ 之能力。在一些實施例中，已經取代、插入、及/或缺失參考胺基酸序列中總計1至10個胺基酸。在一些實施例中，取代、插入、或缺失發生在CDR外的區域中（亦即，FR中）。在一些實施例中，本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體包括參考序列之轉譯後修飾。

**【0115】** 在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 7之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性之VH域，及與SEQ ID NO: 8之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性之VL域。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 9之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性之VH域，及與SEQ ID NO: 10之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性之VL域。

在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段包含與SEQ ID NO: 11之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性之VH域，及與SEQ ID NO: 12之胺基酸序列具有至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、或至少99%序列同一性之VL域。在上述所有實施例中，抗體結合至IL-1 $\beta$ 。

**【0116】** 在一些實施例中，功能表位可藉由例如組合丙胺酸掃描定位，以識別在IL-1 $\beta$ 蛋白中與本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體交互作用所需之胺基酸。在一些實施例中，可採用結合至IL-1 $\beta$ 之抗IL-1 $\beta$ 抗體的構形及晶體結構以識別表位。在一些實施例中，本揭露提供一種抗體，其特異性結合至與本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體中任一者相同的表位。例如，在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段結合至與包含下列之抗IL-1 $\beta$ 抗體相同的表位：包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段結合至與包含下列之抗IL-1 $\beta$ 抗體相同的表位：包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的VL。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段結合至與包含下列之抗IL-1 $\beta$ 抗體相同的表位：包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的VL。

**【0117】** 在一些實施例中，本文提供一種抗IL-1 $\beta$ 抗體、或其抗原結合片段，其與本文所述之抗IL-1 $\beta$ 抗體中任一者競爭性地特異性結合至IL-1 $\beta$ 。在一

些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段與包含下列之抗IL-1 $\beta$ 抗體競爭性地特異性結合至IL-1 $\beta$ ：包含SEQ ID NO: 7之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 8之胺基酸序列的VL。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段與包含下列之抗IL-1 $\beta$ 抗體競爭性地特異性結合至IL-1 $\beta$ ：包含SEQ ID NO: 9之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 10之胺基酸序列的VL。在一些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段與包含下列之抗IL-1 $\beta$ 抗體競爭性地特異性結合至IL-1 $\beta$ ：包含SEQ ID NO: 11之胺基酸序列的VH、及包含SEQ ID NO: 12之胺基酸序列的VL。

**【0118】** 在一些實施例中，本文提供一種IL-1 $\beta$ 結合蛋白，其包含上述抗IL-1 $\beta$ 抗體中之任一者。在一些實施例中，IL-1 $\beta$ 結合蛋白係單株抗體，其包括小鼠、嵌合、人源化、或人類抗體。在一些實施例中，抗IL-1 $\beta$ 抗體係抗體片段，例如scFv。在一些實施例中，IL-1 $\beta$ 結合蛋白係包含本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體的融合蛋白。在其他實施例中，IL-1 $\beta$ 結合蛋白係包含本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體的多特異性抗體。其他例示性IL-1 $\beta$ 結合分子係在以下章節中更詳細描述。

**【0119】** 在一些實施例中，根據以上實施例中任一者之抗IL-1 $\beta$ 抗體或抗原結合蛋白可如以下章節5.2.2至章節5.2.7中所述單獨或組合併入特徵中之任一者。

**5.2.2. 抗體片段**

**【0120】** 如本文中所使用，用語「抗體」亦包括其多種抗體片段。本文提供之抗體包括但不限於免疫球蛋白分子及免疫球蛋白分子之免疫活性部分。本文提供之免疫球蛋白分子可屬於免疫球蛋白分子之任何類別（例如IgG、

IgE、IgM、IgD、及IgA)或任何子類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及IgA2)。在一些實施例中，抗體係IgG抗體。在一些實施例中，IgG抗體係IgG1抗體。在一些實施例中，IgG抗體係IgG2、IgG3、或IgG4抗體。

**【0121】** 抗體之變體及衍生物包括保留結合至抗原之能力的抗體功能片段。例示性功能片段包括Fab片段(例如含有抗原結合域且包含由雙硫鍵橋聯之輕鏈及重鏈之一部分的抗體片段)；Fab'(例如含有單一抗原結合域之抗體片段，其包含Fab及通過鉸鏈區的重鏈之額外部分)；F(ab')<sub>2</sub>(例如在重鏈之鉸鏈區中由鏈內雙硫鍵連接之兩個Fab'分子；Fab'分子可導向朝向相同或不同表位)；雙特異性Fab(例如具有兩個抗原結合域之Fab分子，其等各者可導向不同表位)；包含可變區之單鏈，亦稱為scFv(例如藉由例如10至25個胺基酸之鏈連接在一起的抗體之單一輕鏈及重鏈之可變抗原結合決定區)；經雙硫鍵連接之Fv或dsFv(例如藉由雙硫鍵連接在一起的抗體之單一輕鏈及重鏈之可變抗原結合決定區)；駱駝化(camelized) VH(例如抗體之單一重鏈之可變抗原結合決定區，其中在VH界面的一些胺基酸係可見於天然存在的駱駝抗體之重鏈中之胺基酸)；雙特異性scFv(例如具有兩個抗原結合域之scFv或dsFv分子，其等各者可導向不同表位)；雙鏈抗體(例如當第一scFv之VH域與第二scFv之VL域組裝，且第一scFv之VL域與第二scFv之VH域組裝時，所形成之二聚化scFv；雙鏈抗體之兩個抗原結合區可導向朝向相同或不同表位)；三鏈抗體(例如三聚化scFv，以類似於雙鏈抗體之方式形成，但其中在單一複合物中建立三個抗原結合域；三個抗原結合域可導向朝向相同或不同表位)；及四鏈

抗體（例如四聚化scFv，以類似於雙鏈抗體之方式形成，但其中在單一複合物中建立四個抗原結合域；四個抗原結合域可導向朝向相同或不同表位）。

【0122】 已針對抗體片段之生產開發出各種技術。傳統上，此等片段係經由完整抗體之蛋白水解消化衍生（參見例如Morimoto et al., 1992, J. Biochem.Biophys.Methods 24:107-17；及Brennan et al., 1985, Science 229:81-83）。然而，這些片段現在可直接由重組宿主細胞生產。例如，Fab、Fv、及scFv抗體片段皆可在大腸桿菌或酵母細胞中表現且自其分泌，因此允許容易地生產大量的此等片段。抗體片段可自上文所討論之抗體噬菌體庫單離。替代地，Fab'-SH片段可直接自大腸桿菌回收並經化學偶合，以形成F(ab')<sub>2</sub>片段（Carter et al., 1992, Bio/Technology 10:163-67）。根據另一方法，F(ab')<sub>2</sub>片段可直接自重組宿主細胞培養物中單離出來。包含補救受體(salvage receptor)結合表位殘基之體內半衰期增加的Fab及F(ab')<sub>2</sub>片段係描述於例如美國專利第5,869,046號中。熟習本技術領域者將清楚明白其他用於生產抗體片段之技術。在某些實施例中，抗體係單鏈Fv片段(scFv)（參見例如WO 93/16185；美國專利第5,571,894號及第5,587,458號）。Fv及scFv具有缺乏恆定區之完整結合部位；因此，其可適用於在體內使用期間之減少非特異性結合。可構築scFv融合蛋白以在scFv之胺基或羧基端產出效應蛋白之融合（參見例如上述Borrebaeck ed.）。抗體片段亦可係「線性抗體(linear antibody)」，如上文引用之參考文獻中所述。此類線性抗體可以是單特異性或多特異性的，諸如雙特異性的。

### 5.2.3. 人源化抗體

【0123】 本文所述之抗體包括人源化抗體。人源化抗體（諸如本文中所揭示之人源化抗體）可使用所屬技術領域中已知的各種技術來生產，該等技術包括但不限於：CDR移植（歐洲專利第EP 239,400號；國際公開案第WO 91/09967號；及美國專利第5,225,539號、第5,530,101號、及第5,585,089號）、鑲飾(veneering)或表面重塑(resurfacing)（歐洲專利第EP 592,106號及第EP 519,596號；Padlan, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498 (1991)；Studnicka et al., *Protein Engineering* 7(6):805-814 (1994)；及Roguska et al., *PNAS* 91:969-973 (1994)）、鏈改組(chain shuffling)（美國專利第5,565,332號）、及揭示於例如下列中之技術：美國專利第6,407,213號、美國專利第5,766,886號、WO 9317105、Tan et al., *J. Immunol.* 169:1119-1125 (2002)、Caldas et al., *Protein Eng.* 13(5):353-60 (2000)、Morea et al., *Methods* 20(3):267-79 (2000)、Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272(16):10678-84 (1997)、Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895-904 (1996)、Couto et al., *Cancer Res.* 55 (23 Supp):5973s-5977s (1995)、Couto et al., *Cancer Res.* 55(8):1717-22 (1995)、Sandhu JS, *Gene* 150(2):409-10 (1994)、及 Pedersen et al., *J. Mol. Biol.* 235(3):959-73 (1994)。亦參見美國專利公開案第US 2005/0042664 A1號（2005年2月24日），其等各者之全文以引用方式併入本文中。

【0124】 在一些實施例中，本文提供之抗體可係結合至IL-1 $\beta$ （包括人類IL-1 $\beta$ ）之人源化抗體。例如，本揭露之人源化抗體可包含SEQ ID NO: 13至102中所示之一或多個CDR。各種用於人源化非人類抗體的方法在此項技術中為已知。舉例而言，人源化抗體可具有自非人類來源引入之一或多個胺基酸殘基。

這些非人類胺基酸殘基通常稱為「輸入(import)」殘基，其一般係取自「輸入」可變域。人源化可依循例如以下之方法執行：Jones et al., *Nature* 321:522-25 (1986)；Riechmann et al., *Nature* 332:323-27 (1988)；及Verhoeyen et al., *Science* 239:1534-36 (1988)，其藉由以高度變異區序列取代人類抗體之對應序列。在一具體實施例中，本文提供之抗體之人源化係如以下章節6中所述執行。

【0125】 在一些情況下，人源化抗體係藉由CDR移植構築，其中將親本非人類抗體之CDR之胺基酸序列移植至人類抗體骨架上。例如，Padlan等人判定，CDR中僅約三分之一的殘基實際接觸抗原，並將此等稱為「特異性決定殘基(specificity determining residue)」或SDR (Padlan et al., *FASEB J.* 9:133-39 (1995))。在SDR移植之技術中，僅將SDR殘基移植至人類抗體骨架上（參見例如Kashmiri et al., *Methods* 36:25-34 (2005)）。

【0126】 用於製造人源化抗體之人類可變域的選擇對於減少抗原性而言可係重要的。例如，根據所謂的「最適(best-fit)」方法，非人類抗體之可變域的序列係針對整個已知人類可變域序列庫進行篩選。可選擇與非人類抗體最接近的人類序列作為人源化抗體之人類骨架（Sims et al., *J. Immunol.* 151:2296-308 (1993)；及Chothia et al., *J. Mol. Biol.* 196:901-17 (1987)）。另一種方法使用自屬於輕鏈或重鏈特定子群之所有人類抗體之共有序列衍生的特定骨架。相同骨架可用於數種不同人源化抗體（Carter et al., *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 89:4285-89 (1992)；及Presta et al., *J. Immunol.* 151:2623-32 (1993)）。在一些情況下，骨架係衍生自最豐富人類子類別之共有序列，該等人類子類別為V<sub>L</sub>6子群I (V<sub>L</sub>6I)

及V<sub>H</sub>子群III (V<sub>H</sub>III)。在另一種方法中，使用人類生殖系基因作為骨架區的來源。

【0127】 在基於稱為超人源化(superhumanization)之CDR比較的替代範例中，FR同源性係不相關的。該方法係由非人類序列與功能性人類生殖系基因貯庫(repertoire)的比較所組成。接著，選擇編碼與鼠類序列相同或密切相關的正則結構(canonical structure)之基因。接下來，在與非人類抗體共有正则結構的基因內，選擇在CDR內具有最高同源性者作為FR供體。最後，將非人類CDR移植至此等FR上（參見例如Tan et al., J. Immunol.169:1119-25 (2002)）。

【0128】 通常進一步所欲的是，抗體在保留其對於抗原的親和力及其他有利生物性質之情況下經人源化。為達成此目的，根據一種方法，藉由使用親本及人源化序列之三維模型對親本序列及各種概念性人源化產物進行分析的程序來製備人源化抗體。三維免疫球蛋白模型係普遍可取得的且係所屬技術領域中具有通常知識者所熟悉的。電腦程式可用來說明及展示所選候選免疫球蛋白序列之可能的三維構型結構。此等包括例如WAM (Whitelegg and Rees, Protein Eng. 13:819-24 (2002))、Modeller (Sali and Blundell, J. Mol. Biol. 234:779-815 (1993))、及Swiss PDB Viewer (Guex and Peitsch, Electrophoresis 18:2714-23 (1997))。檢測此等展示允許分析殘基在候選免疫球蛋白序列之功能中的可能作用，例如分析影響候選免疫球蛋白結合其抗原之能力的殘基。以此方式，可從接受者及輸入序列選擇並組合FR殘基，以達到所欲抗體特性，諸如對（多種）目標抗原的親和力增加。一般而言，高度變異區殘基係直接且最實質涉及影響抗原結合。

【0129】 另一種用於抗體人源化之方法係基於抗體人性(humanness)度量，其稱為人類序列含量(Human String Content, HSC)。此方法比較小鼠序列與人類生殖系基因之貯庫，且差異評分為HSC。接著，將目標序列藉由最大化其HSC（而不是使用整體同一性指標(global identity measure)）人源化，以產生多種不同人源化變體(Lazar et al., Mol. Immunol.44:1986-98 (2007))。

【0130】 除了上述方法之外，可使用實驗方法來產生並選擇人源化抗體。此等方法包括基於下列之方法：使用富集技術或高通量篩選技術來產生大型人源化變體庫並選擇最佳殖株。可自噬菌體、核糖體、及酵母菌展示庫並藉由細菌菌落篩選，將抗體變體單離（參見例如Hoogenboom, Nat. Biotechnol.23:1105-16 (2005)；Dufner et al., Trends Biotechnol. 24:523-29 (2006)；Feldhaus et al., Nat. Biotechnol. 21:163-70 (2003)；及Schlapschy et al., Protein Eng. Des.Sel.17:847-60 (2004)）。

【0131】 在FR庫方法中，在FR中的特定位置處引入殘基變體集合，接著進行庫篩選，以選擇以最佳程度支持經移植CDR的FR。待取代之殘基可包括一些或所有「游標(Vernier)」殘基，其等經識別為可能促成CDR結構（參見例如Foote and Winter, J. Mol. Biol. 224:487-99 (1992)）、或來自由下列識別之更有限的目標殘基組：Baca et al. J. Biol. Chem.272:10678-84 (1997)。

【0132】 在FR改組(FR shuffling)中，整體FR係與非人類CDR組合，而不是建立所選殘基變體之組合庫（參見例如Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005)）。可使用單步驟FR改組程序。由於所得抗體展現出改善的生物化學及

物理化學性質（包括表現增強、親和力增加、及熱穩定性），此程序已顯示為有效（參見例如Damschroder et al., Mol. Immunol.44:3049-60 (2007)）。

【0133】 「人類工程改造(humaneering)」方法係基於基本最短特異性決定位(minimum specificity determinant, MSD)的實驗識別，且係基於非人類片段進入人類FR庫的序列置換及結合的評估。此方法一般導致來自多個子類別而具有不同人類V區段CDR之抗體的表位保留及識別。

【0134】 「人類工程改造」方法涉及藉由對抗體之胺基酸序列進行特定變化來改變非人類抗體或抗體片段，以在人類中產生免疫原性降低的經修飾抗體，該經修飾抗體仍保留原始非人類抗體的所欲結合性質。通常而言，該技術涉及將非人類抗體之胺基酸殘基分類為「低風險(low risk)」、「中度風險(moderate risk)」、或「高風險(high risk)」殘基。分類係使用整體風險/獎勵計算來執行，整體風險/獎勵計算評估進行特定取代的預期效益（例如，就在人類中的免疫原性而言），其係相對於取代將影響所得抗體摺疊的風險。可藉由比對來自非人類抗體之可變區之胺基酸序列與特定或共有人類抗體序列之對應區，以選擇待在非人類抗體序列之給定位置（例如低或中度風險）處取代的具體人類胺基酸殘基。非人類序列中之低或中度風險位置處之胺基酸殘基可根據比對來取代人類抗體序列中之對應殘基。用於製造經人類工程改造之蛋白質的技術係更詳細描述於Studnicka et al., Protein Engineering 7:805-14 (1994)；美國專利第5,766,886號；第5,770,196號；第5,821,123號；及第5,869,619號；及PCT公開案WO 93/11794。

【0135】 可使用例如Composite Human Antibody™技術(Antitope Ltd., Cambridge, United Kingdom)來產生複合人類抗體。為了產生複合人類抗體，可變區序列係以避免T細胞表位之方式，自多個人類抗體可變區序列之片段設計出來，從而最小化所得抗體的免疫原性。

【0136】 去免疫抗體(deimmunized antibody)係其中T細胞表位已被移除的抗體。用於製造去免疫化抗體之方法已經過描述。參見例如Jones et al., Methods Mol Biol. 525:405-23 (2009), xiv及De Groot et al., Cell.Immunol.244:148-153(2006))。去免疫抗體包含經T細胞表位除盡之可變區及人類恆定區。簡言之，抗體之可變區經選殖，且T細胞表位隨後係藉由在T細胞增生檢定中測試衍生自抗體之可變區的重疊肽來識別。T細胞表位係經由電腦模擬(in silico)方法識別，以識別結合至人類MHC第II型結合之肽。在可變區中引入突變以使與人類MHC第II型的結合無效化。突變的可變區接著用以產生去免疫抗體。

#### 5.2.4. 抗體變體

【0137】 在一些實施例中，設想本文所述之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體的（多個）胺基酸序列修飾。例如，可係所欲的是最佳化抗體之結合親和力及/或其他生物性質，包括但不限於特異性、熱穩定性、表現水平、效應功能、醣基化、減少的免疫原性、或溶解度。因此，除了本文所述之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體之外，設想出可製備本文所述之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體的變體。例如，抗體變體可藉由將適當核苷酸變化引入編碼DNA、及/或藉由合成所欲抗體或多肽來製備。所屬技術領域中具有通常知識者理解胺基酸變化可改變抗體的轉譯後程序。

## 化學修飾

【0138】 在一些實施例中，本文提供之抗體經化學修飾，例如藉由任何類型的分子共價附接至抗體。抗體衍生物可包括經化學修飾的抗體，例如藉由醣基化、乙醯化、聚乙二醇化、磷酸化、醯胺化、用已知保護/阻斷基的衍生化、蛋白酶裂解、鍵聯至細胞配體或其他蛋白質、或接合至一或多個免疫球蛋白域（例如，Fc或Fc之一部分）。許多化學修飾之任一者可藉由已知技術進行，包括但不限於特定化學裂解、乙醯化、調配、衣黴素(tunicamycin)之代謝合成等。此外，抗體可含有一或多個非典型胺基酸。

【0139】 在一些實施例中，本文提供之抗體係經改變以增加或降低抗體醣基化的程度。抗體醣基化位點之添加或缺失可方便地藉由改變胺基酸序列完成，使得建立或移除一或多個醣基化位點。

【0140】 當本文提供之抗體融合至Fc區時，可改變其所附接之碳水化合物。由哺乳動物細胞生產之天然抗體一般包含分支、雙觸角寡醣，其通常藉由N-鍵聯附接至Fc區之CH2域的Asn297。參見例如Wright et al. *TIBTECH* 15:26-32 (1997)。寡醣可包括多種碳水化合物，例如甘露糖、N-乙醯基葡萄糖胺(GlcNAc)、半乳糖、及唾液酸、以及附接至雙觸角寡醣結構之「主幹」中的GlcNAc之岩藻糖。在一些實施例中，可對本文提供之結合分子的寡醣進行修飾以產生具有某些改善性質之變體。

【0141】 在其他實施例中，當本文提供之抗體融合至Fc區時，本文提供之抗體變體可具有缺乏（直接或間接）附接至該Fc區之岩藻糖的碳水化合物結構。舉例而言，此類抗體中岩藻糖的量可為1%至80%、1%至65%、5%至

65%、或20%至40%。岩藻糖的量係藉由計算糖鏈內Asn297處之岩藻糖相對於例如WO 2008/077546所述之藉由MALDI-TOF質譜法所測量之附接至Asn 297之所有醣結構（例如，複合、雜交、及高甘露糖結構）之總和的平均量來判定。Asn297係指位於Fc區約位置297處之天冬醯胺酸殘基（Fc區殘基之EU編號）；然而，Asn297亦可因為抗體中之次要序列變異而位於位置297之上游或下游約±3個胺基酸處，即介於位置294與300之間。此類岩藻糖基化變體可具有改善之ADCC功能。參見例如，美國專利公開案第US 2003/0157108號及第US 2004/0093621號。關於「去岩藻糖基化(defucosylated)」或「缺乏岩藻糖(fucose-deficient)」抗體變體之出版物之實例包括：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 et al. *J. Mol. Biol.* 336:1239-1249 (2004)；Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)。能夠生產去岩藻糖基化抗體之細胞系之實例包括缺乏蛋白質岩藻糖基化之Lec13 CHO細胞(Ripka et al. *Arch. Biochem. Biophys.* 249:533-545 (1986)；美國專利申請案第US 2003/0157108號；及WO 2004/056312；及基因剔除細胞系，諸如 $\alpha$ -1,6-岩藻糖基轉移酶基因FUT8剔除CHO細胞（參見例如Yamane-Ohnuki et al. *Biotech. Bioeng.* 87: 614 (2004)；Kanda, Y. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 94(4):680-688 (2006)；及WO2003/085107）。

【0142】 進一步提供具有平分型寡醣之包含本文提供之抗體之結合分子，例如其中附接至Fc區之雙觸角寡醣係經GlcNAc平分。此類變體可具有減少岩藻糖基化及/或改善的ADCC功能。此類變體之實例係描述於例如WO 2003/011878 (Jean-Mairet et al.)；美國專利第6,602,684號(Umana et al.)；及US 2005/0123546 (Umana et al.)。亦提供附接至Fc區之寡醣中具有至少一個半乳糖殘基之變體。此類變體可具有改善之CDC功能。此類變體係描述於例如WO 1997/30087；WO 1998/58964；及WO 1999/22764。

【0143】 在包含本抗體及Fc區之分子中，可在Fc區中引入一或多個胺基酸修飾，藉此產生Fc區變體。Fc區變體可包含人類Fc區序列（例如人類IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4 Fc區），其在一或多個胺基酸位置處包含胺基酸修飾（例如取代）。

【0144】 在一些實施例中，本申請案設想具有一些但非所有效應功能之變體，這使該變體成為其中結合分子之體內半衰期係重要至但某些效應功能（諸如補體及ADCC）係非必須或有害之應用中所欲之候選物。可進行體外及/或體內細胞毒性檢定以證實減少/除盡CDC及/或ADCC活性。例如，可進行Fc受體(FcR)結合檢定，以確保結合分子缺乏FcγR結合（因此可能缺乏ADCC活性），但保留FcRn結合能力。評估所關注分子之ADCC活性的體外檢定之非限制性實例係描述於美國專利第5,500,362號（參見例如Hellstrom, I. et al. *Proc.Nat'l Acad. Sci. USA* 83:7059-7063 (1986)）及Hellstrom, I et al., *Proc.Nat'l Acad. Sci. USA* 82:1499-1502 (1985)；第5,821,337號（參見Bruggemann, M. et al., *J. Exp.Med.* 166:1351-1361 (1987)）。替代地，可採用非放射性檢定方法（參見

例如，流式細胞術之ACTI™非放射性細胞毒性檢定(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA；及CytoTox 96®非放射性細胞毒性檢定(Promega, Madison, WI)。用於該等檢定之有用效應細胞包括周邊血液單核細胞(PBMC)及自然殺手(NK)細胞。替代地或額外地，所關注分子之ADCC活性可在體內評估，例如在動物模型中，諸如揭示於Clynes et al. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95:652-656 (1998)。亦可進行C1q結合檢定以證實抗體無法結合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。為了評估補體活化，可執行CDC檢定（參見例如，Gazzano-Santoro et al., *J. Immunol. Methods* 202:163 (1996)；Cragg, M.S. et al., *Blood* 101:1045-1052 (2003)；及Cragg, M.S. and M.J. Glennie, *Blood* 103:2738-2743 (2004)）。亦可使用所屬技術領域中已知的方法執行FcRn結合及體內清除/半衰期判定（參見例如Petkova, S.B. et al., *Int'l. Immunol.* 18(12):1759-1769 (2006)）。

【0145】 具有減少效應功能之結合分子包括該些具有Fc區殘基238、265、269、270、297、327、及329之一或多者之取代者（美國專利第6,737,056號）。此類Fc突變體包括在胺基酸位置265、269、270、297、及327之二或更多者具有取代之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號）。

【0146】 描述具有改善或減弱FcR結合之某些變體。（參見例如，美國專利第6,737,056號；WO 2004/056312、及Shields et al., *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)。)

【0147】 在一些實施例中，變體包含具有改善ADCC之一或多個胺基酸取代之Fc區，例如，Fc區之位置298、333、及/或334的取代（殘基之EU編號）。在一些實施例中，在Fc區中進行改變，其導致C1q結合及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)改變（亦即改善或減弱），例如如描述於美國專利第6,194,551號、WO 99/51642、及Idusogie et al. *J. Immunol.*164: 4178-4184 (2000)。

【0148】 具有增加半衰期及改善新生兒Fc受體(FcRn)（負責將母體IgG轉移至胎兒）結合之結合分子（Guyer et al., *J. Immunol.*117:587 (1976)及Kim et al., *J. Immunol.*24:249 (1994)）係描述於US2005/0014934A1 (Hinton et al.)。該些分子包含其中具有改善Fc區與FcRn之結合的一或多個取代之Fc區。此類Fc變體包括該些在Fc區殘基：238、256、265、272、286、303、305、307、311、312、317、340、356、360、362、376、378、380、382、413、424、或434之一或多者處具有取代者，例如Fc區殘基434之取代（美國專利第7,371,826號）。亦參見Duncan & Winter, *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有關Fc區變體之其他實例。

【0149】 在一些實施例中，所欲的是產生經半胱胺酸工程改造之抗體，其中抗體之一或多個殘基係經半胱胺酸殘基取代。在一些實施例中，經取代之殘基發生在抗體之可接近位點。藉由以半胱胺酸取代該些殘基，反應性氫硫基藉此被定位在抗體之可接近位點且可用於將抗體接合至其他部份，諸如藥物部份或連接子-藥物部份，以產生免疫接合物，如本文中進一步描述。

取代、缺失、或插入

【0150】 變異可係編碼抗體或多肽之一或多個密碼子的取代、缺失、或插入，導致胺基酸序列相較於原始抗體或多肽的變化。取代誘變之所關注位點包括CDR及FR。

【0151】 胺基酸取代可係用具有類似結構及/或化學性質之另一個胺基酸置換一個胺基酸的結果，諸如用絲胺酸置換白胺酸，例如，保守性胺基酸置換。所屬技術領域中具有通常知識者已知的標準技術可用於將突變引入編碼本文提供之分子的核苷酸序列中，包括例如導致胺基酸取代之定點誘變及PCR介導之誘變。插入或缺失視情況地可在約1至5個胺基酸之範圍內。在某些實施例中，相對於原始分子，取代、缺失、或插入包括少於25個胺基酸取代、少於20個胺基酸取代、少於15個胺基酸取代、少於10個胺基酸取代、少於5個胺基酸取代、少於4個胺基酸取代、少於3個胺基酸取代、或少於2個胺基酸取代。在一具體實施例中，取代係在一或多個預期非必需胺基酸殘基處所進行的保守性胺基酸取代。允許的變異可藉由在序列中系統性進行胺基酸的插入、缺失、或取代，並針對親本抗體所展現之活性測試所得變體來判定。

【0152】 胺基酸序列插入包括長度自一個殘基至包含多個殘基之多肽不等的胺基端及/或羧基端融合，也包括序列內插入單一或多個胺基酸殘基。末端插入之實例包括具有N端甲硫胺醯基殘基之抗體。

【0153】 本揭露中包括藉由保守性胺基酸取代所產生的抗體。在保守性胺基酸取代中，胺基酸殘基被側鏈具有類似電荷之胺基酸殘基置換。如上所述，已在下列中定義具有帶類似電荷之側鏈的胺基酸殘基家族：酸性側鏈（例如天冬胺酸、麩胺酸）、未帶電極性側鏈（例如甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺

酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸）、非極性側鏈（例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸、色胺酸）、β支鏈側鏈（例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸）、及芳族側鏈（例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸）。替代地，突變可沿著編碼序列的全部或部分隨機引入，諸如藉由飽和誘變，且可針對生物活性篩選所得突變體以識別保留活性的突變體。誘變後，可表現經編碼之蛋白質，且可判定蛋白質之活性。可進行保守性（例如，在具有類似性質及/或側鏈之胺基酸基團內）取代，以維持或不顯著改變性質。例示性取代係顯示於下表2中。

表2.胺基酸取代

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

【0154】 胺基酸可根據其側鏈性質之類似性分組（參見例如Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed. 1975)）：(1)非極性：Ala (A)、Val (V)、Leu (L)、Ile

(I)、Pro (P)、Phe (F)、Trp (W)、Met (M)；(2)未帶電極性：Gly (G)、Ser (S)、Thr (T)、Cys (C)、Tyr (Y)、Asn (N)、Gln (Q)；(3)酸性：Asp (D)、Glu (E)；及(4)鹼性：Lys (K)、Arg (R)、His(H)。替代地，天然存在的殘基可基於常見側鏈性質分組：(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；及(6)芳族：Trp、Tyr、Phe。例如，不涉及維持抗體之適當構形的任何半胱胺酸殘基亦可經取代，例如用另一胺基酸（諸如丙胺酸或絲胺酸）取代，以改善分子的氧化穩定性並防止異常交聯。非保守性取代必須將這些類別中之一者的成員交換為另一類別。

**【0155】** 一種類型的取代變體涉及取代親本抗體（例如人源化或人類抗體）之一或多個高度變異區殘基。通常，經選擇用於進一步研究之所得（多個）變體相對於親本抗體將具有在某些生物性質（例如增加親和力、減少免疫原性）上之修飾（例如改善）及/或將具有實質上保留親本抗體之某些生物性質。例示性取代變體係親和力成熟抗體，其可例如使用基於噬菌體展示之親和力成熟技術諸如該些本文所述者方便地產生。簡言之，使一或多個CDR殘基突變且在噬菌體上展示變體抗體並篩選特定生物活性（例如結合親和力）。

**【0156】** 可在CDR中製造改變（例如取代）以例如改善抗體親和力。此類改變可在CDR「熱點(hotspot)」進行，亦即由在體細胞成熟過程期間以高頻率經歷突變的密碼子編碼之殘基（參見例如Chowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)）、及/或SDR (a-CDR)，其中測試所得變體抗體或其片段之結合親和力。藉由構築及自二級庫再選擇之親和性成熟已描述於例如

Hoogenboom等人之*Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))中。在親和力成熟之一些實施例中，將多樣性引入經選擇用於成熟之可變基因中，其藉由各種方法（例如易錯PCR、鏈改組、或寡核苷酸定向誘變）中之任一者。接著產生二級庫。接著篩選庫以識別任何具有所欲親和力的抗體變體。另一引入多樣性之方法涉及CDR定點方案，其中將數個CDR殘基（例如，一次4至6個殘基）隨機分組。涉及抗原結合之CDR殘基可例如使用丙胺酸掃描誘變或建模特異性識別。關於親和力成熟之更詳細說明係提供於以下章節中。

【0157】 在一些實施例中，取代、插入、或缺失可發生在一或多個CDR內，只要此類改變不實質減少抗體結合抗原之能力即可。例如，可在CDR中製造不實質減少結合親和力之保守性改變（例如，本文提供之保守性取代）。在本文提供之變體抗體序列之一些實施例中，各CDR係未經改變、或含有不超過一、二、或三個胺基酸取代。

【0158】 一種用於識別可經靶向用於誘變之抗體之殘基或區域的有用方法稱為「丙胺酸掃描誘變(alanine scanning mutagenesis)」，如由Cunningham and Wells, *Science*, 244:1081-1085 (1989)所述。在此方法中，識別殘基或目標殘基之群組（例如，帶電殘基諸如Arg、Asp、His、Lys、及Glu）並由中性或帶負電胺基酸（例如，丙胺酸或聚丙胺酸）置換以判定抗體與抗原的交互作用是否受到影響。可在對初始取代顯示功能敏感度之胺基酸位置引入進一步取代。替代地或額外地，抗原-抗體複合物之晶體結構以識別抗體與抗原之間的接觸

點。此類接觸殘基及鄰近殘基可作為取代之候選物被經靶向或消除。可篩選變體以判定其等是否含有所欲性質。

【0159】 胺基酸序列插入包括長度範圍在一個殘基至含有一百或更多個殘基之多肽內的胺基端及/或羧基端融合、以及單一或多個胺基酸殘基的序列內插入。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體包括抗體之N或C端與酶的融合（例如，用於ADEPT）或增加抗體之血清半衰期的多肽。

【0160】 變異可使用所屬技術領域中已知的方法進行，諸如寡核苷酸介導之（定點）誘變、丙胺酸掃描、及PCR誘變。定點誘變（參見例如Carter, Biochem J. 237:1-7 (1986)；及Zoller *et al.*, Nucl. Acids Res. 10:6487-500 (1982)）、卡匣誘變（參見例如Wells *et al.*, Gene 34:315-23 (1985)）、或其他已知技術可對經選殖之DNA執行以生產抗體變體DNA。

## Fc突變

【0161】 為了促進在兩個重鏈（例如，一個具有抗IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段之融合且一個不具有融合，或一個含有抗IL-1 $\beta$ 臂之Fc且一個含有組織目標臂之Fc）之間形成異二聚體，將異二聚體突變引入該兩個重鏈之Fc中。此類Fc突變之實例包括但不限於Zymework突變（參見例如US 10,457,742）及「鈕扣(knob in hole)」突變（參見例如Ridgway *et al.*, Protein Eng., 9(7): 617-621, 1996）。其他異二聚體突變亦可用於本揭露中。在一些實施例中，如本文所述之經修飾之CH3係用以促進在兩個重鏈之間形成異二聚體。

【0162】 在一具體實施例中，抗體之兩個重鏈之各者包含一或多個異二聚體突變或一或多個鈕扣(knob and hole)突變。在一具體實施例中，一或多個異二聚體突變係在CH3域中。

【0163】 在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區含有改變抗體或其抗原結合片段與新生兒Fc受體(FcRn)之結合的取代。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區含有增強抗體或其抗原結合片段與新生兒Fc受體(FcRn)之結合的取代。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區含有增強抗體或其抗原結合片段與新生兒Fc受體(FcRn)在pH ~ 6下之結合的取代。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區含有增強抗體或其抗原結合片段與新生兒Fc受體(FcRn)在pH ~ 6下之結合的取代，藉以增強FcRn介導之胞內體再循環。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區含有增強抗體或其抗原結合片段與新生兒Fc受體(FcRn)在pH ~ 6下之結合的取代，藉以導致更長的血清暴露。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區含有增強在酸性pH下之結合的取代。在某些實施例中，抗體或其抗原結合片段之Fc區具有M252Y/S254T/T256E (YTE)突變，其中胺基酸殘基之編號係根據EU索引。

### 5.2.5. 體外親和力成熟

【0164】 在一些實施例中，相較於親本抗體具有改善性質（諸如親和力、穩定性、或表現水平）的抗體變體可藉由體外親和力成熟製備。如同天然的原型，體外親和力成熟係基於突變及選擇之原理。抗體庫係展示在生物體（例如，噬菌體、細菌、酵母菌、或哺乳動物細胞）之表面上或與其編碼mRNA或DNA締合（例如，共價或非共價）。所顯示之抗體之親和力選擇允許

單離攜帶編碼抗體的遺傳資訊的生物體或複合物。使用展示方法（諸如噬菌體展示）之二或三輪突變及選擇通常導致親和力在低奈莫耳範圍內之抗體片段。親和力成熟抗體可對目標抗原具有奈莫耳或甚至皮莫耳的親和力。

【0165】 噬菌體展示係廣泛用於展示及選擇抗體的方法。抗體係以噬菌體外殼蛋白融合之形式展示在Fd或M13噬菌體之表面上。選擇涉及暴露於抗原以允許經噬菌體展示之抗體結合其等之目標，此程序稱為「淘選(panning)」。回收與抗原結合之噬菌體並用以感染細菌，以產生用於進一步選擇輪次之噬菌體。關於綜述，參見例如Hoogenboom, *Methods.Mol. Biol.* 178:1-37 (2002)；及Bradbury and Marks, *J. Immunol.Methods* 290:29-49 (2004)。

【0166】 在酵母菌展示系統中（參見例如Boder *et al.*, *Nat. Biotech.*15:553-57 (1997)；及Chao *et al.*, *Nat. Protocols* 1:755-68 (2006)），可將抗體融合至酵母菌凝集素蛋白之黏附次單元Aga2p，其通過與Aga1p之雙硫鍵附接至酵母菌細胞壁。經由Aga2p展示蛋白質使該蛋白質突起遠離細胞表面，最小化與酵母菌細胞壁上其他分子的潛在交互作用。使用磁分離及流式細胞術來篩選庫以選擇具有改善的親和力或穩定性的抗體。與所關注可溶性抗原之結合係藉由以生物素化抗原及二級試劑（諸如接合至螢光團的鏈黴親和素）標示酵母菌來判定。抗體的表面表現之變異可透過側接單鏈抗體（例如，scFv）之血球凝集素或c-Myc表位標籤的免疫螢光標示來測量。表現已顯示與所展示之蛋白質的穩定性相關，且因此可針對改善之穩定性以及親和力選擇抗體（參見例如Shusta *et al.*, *J. Mol. Biol.* 292:949-56 (1999)）。酵母菌展示之一額外優點在於，經展示之蛋白質係在真核酵母菌細胞之內質網中摺疊，從而善用內質網

伴護子及品管機轉。一旦成熟完全，則可在展示在酵母菌表面上的同時方便地「滴定」抗體親和力，消除對表現及純化各植株的需要。酵母菌表面展示的理論限制在於，功能性庫的大小潛在地小於其他展示方法；然而，最近的方法使用酵母菌細胞的交配系統以建立大小估計為 $10^{14}$ 的組合多樣性（參見例如美國專利公開案2003/0186374；及Blaise *et al.*, Gene 342:211–18 (2004)）。

【0167】 在核糖體展示中，產生抗體-核糖體-mRNA (ARM)複合物以在無細胞系統中進行選擇。將編碼特定抗體庫之DNA庫基因融合至缺乏終止密碼子之間隔序列。此間隔序列在轉譯時仍附接至肽基tRNA並且佔據核糖基通道，且因此允許所關注蛋白質從核糖體突出並摺疊。所得之mRNA、核糖體、及蛋白質之複合物可結合至表面結合配體，允許透過配體的親和力捕捉來同時單離抗體及其編碼mRNA。接著，將核糖體結合mRNA反轉錄回cDNA，cDNA接著可經歷誘變且用於下一輪選擇中（參見例如Fukuda *et al.*, Nucleic Acids Res.34:e127 (2006)）。在mRNA展示中，使用嘌呤黴素作為轉接分子建立抗體與mRNA之間的共價鍵(Wilson *et al.*, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 98:3750-55 (2001))。

【0168】 由於這些方法完全在體外執行，其相較於其他選擇技術提供兩個主要優點。第一，庫的多樣性並未受限於細菌細胞的轉形效率，但僅受限於存在於試管中的核糖體及不同mRNA分子之數量。第二，隨機突變可在各選擇輪次之後藉由例如非校正聚合酶(non-proofreading polymerase)容易地引入，因為在任何多樣化步驟之後無需將庫轉形。

【0169】 在一些實施例中，可使用哺乳動物展示系統。

【0170】 多樣性亦可以靶向方式或經由隨機引入來引入至抗體庫之CDR中。先前方法包括經由高或低水平的誘變依序靶向抗體之所有CDR或靶向經單離之體細胞超突變熱點（參見例如Ho *et al.*, J. Biol. Chem.280:607-17 (2005)）或在實驗基礎上或出於結構原因疑似影響親和力之殘基。多樣性亦可藉由DNA改組或類似技術置換天然多樣化的區域來引入（參見例如Lu *et al.*, J. Biol. Chem.278:43496-507 (2003)；美國專利第5,565,332號及第6,989,250號）。替代技術靶向延伸至骨架區殘基中之高度變異環（參見例如Bond *et al.*, J. Mol. Biol. 348:699-709 (2005)），採用CDR中之環缺失及插入，或使用基於雜交之多樣化（參見例如美國專利公開案第2004/0005709號）。在CDR中產生多樣性之額外方法係揭示於例如美國專利第7,985,840號。可用於產生抗體庫及/或抗體親和力成熟之進一步方法揭示於例如美國專利第8,685,897號及第8,603,930號、以及美國公開案第2014/0170705號、第2014/0094392號、第2012/0028301號、第2011/0183855號、及第2009/0075378號中，其各自以引用方式併入本文中。

【0171】 可藉由所屬技術領域中已知的各種技術完成庫的篩選。例如，抗體可固定在多種固體支持物、管柱、銷、或纖維素/聚(二氟亞乙烯)膜/其他過濾器上，在附著至吸附盤之宿主細胞上表現或用於細胞分選中，或與生物素接合以利用經鏈黴親和素塗佈之珠捕捉，或用於任何其他用於淘選展示庫之方法中。

【0172】 關於體外親和力成熟方法之綜述，請參見例如，Hoogenboom, Nature Biotechnology 23:1105-16 (2005)；Quiroz and Sinclair, Revista Ingeneria Biomedica 4:39-51 (2010)；以及其中的參考文獻。

### 5.2.6. 抗體之修飾

【0173】 抗體之共價修飾係包括在本揭露之範疇內。共價修飾包括使抗體的靶向胺基酸殘基與有機衍生劑反應，該有機衍生劑能夠與抗體之所選側鏈或N端或C端殘基反應。其他修飾包括麩氨醯基及天冬氨醯基殘基分別脫氨醯化成對應的麩胺醯基及天冬胺醯基殘基；脯胺酸及離胺酸的羥化；絲胺醯基或蘇胺醯基殘基之羥基的磷酸化；離胺酸、精胺酸、及組胺酸側鏈之 $\alpha$ -胺基的甲基化（參見例如Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties* 79-86 (1983)）；N端胺的乙醯化；及任何C端羧基的氨醯化。

【0174】 本揭露之範疇內所包括之抗體的其他類型共價修飾包括如上所述之改變抗體或多肽之天然醮基化模式（參見例如Beck *et al.*, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9:482-501 (2008)；及Walsh, *Drug Discov. Today* 15:773-80 (2010)）、及以例如下列所闡述之方式將抗體連接至各種非蛋白質聚合物中之一者（例如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇、或聚氧化烯）：美國專利第4,640,835號；第4,496,689號；第4,301,144號；第4,670,417號；第4,791,192號；或第4,179,337號。本揭露之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體亦可經基因融合或接合至一或多個免疫球蛋白恆定區或其部分（例如Fc），以延長半衰期及/或賦予已知的Fc介導之效應功能。

【0175】 本揭露之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體亦可經修飾以形成嵌合分子，其包含結合至IL-1 $\beta$ 之抗體，該抗體經融合至另一異源多肽或胺基酸序列（例如表位標籤）（參見例如Terpe, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60:523-33 (2003)）或IgG分

子之Fc區（參見例如Aruffo, Antibody Fusion Proteins 221-42 (Chamow and Ashkenazi eds., 1999)）。

【0176】 本文亦提供融合蛋白，其包含本揭露之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體及異源多肽。在一些實施例中，與抗體基因融合或化學接合之異源多肽可用於將抗體靶向具有細胞表面表現IL-1 $\beta$ 之細胞。

【0177】 本文亦提供結合至IL-1 $\beta$ 抗原之抗體小組。在具體實施例中，抗體小組對IL-1 $\beta$ 抗原具有不同的締合速率、不同的解離速率、不同的親和力、及/或對IL-1 $\beta$ 抗原具有不同的特異性。在一些實施例中，小組包含下列或由下列所組成：約10至約1000個或更多個抗體。抗體小組可用於例如96孔或384孔盤中，以用於諸如ELISA之檢定。

#### 5.2.7. 包含抗體之其他結合分子

【0178】 在另一態樣中，本文提供一種結合分子，其包含本文提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體。在一些實施例中，本文提供之針對IL-1 $\beta$ 之抗體係其他結合分子之一部分。本文描述本揭露之例示性結合分子。

#### 融合蛋白

【0179】 在各種實施例中，本文提供之抗體可經基因融合或化學接合至另一藥劑，例如基於蛋白質之實體。抗體可經化學接合至藥劑，或以其他方式非共價接合至藥劑。藥劑可為肽或抗體（或其片段）。

【0180】 因此，在一些實施例中，本文提供重組融合或化學接合（共價或非共價接合）至異源蛋白質或多肽（或其片段，例如約10個、約20個、約30

個、約40個、約50個、約60個、約70個、約80個、約90個、約100個、約150個、約200個、約250個、約300個、約350個、約400個、約450個、或約500個胺基酸、或超過500個胺基酸之多肽）以產生融合蛋白的抗體以及其用途。特定而言，本文提供了包含本文提供之抗體的抗原結合片段（例如，CDR1、CDR2、及/或CDR3）及異源蛋白質、多肽、或肽之融合蛋白。

【0181】 此外，本文提供之抗體可融合至標記或「標籤(tag)」序列（諸如肽），以促進純化。在具體實施例中，標記或標籤胺基酸序列係六組胺酸肽、血球凝集素（「HA」）標籤、及「FLAG」標籤。

【0182】 用於將部份（包括多肽）融合或接合至抗體之方法係已知的（參見例如Arnon et al., Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 243-56 (Reisfeld et al. eds., 1985)；Hellstrom et al., Antibodies for Drug Delivery, in Controlled Drug Delivery 623-53 (Robinson et al. eds., 2d ed. 1987)；Thorpe, Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review, in Monoclonal Antibodies: Biological and Clinical Applications 475-506 (Pinchera et al. eds., 1985)；Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy, in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy 303-16 (Baldwin et al. eds., 1985)；Thorpe et al., Immunol. Rev. 62:119-58 (1982)；美國專利第5,336,603號；第5,622,929號；第5,359,046號；第5,349,053號；第5,447,851號；第5,723,125號；第5,783,181號；第5,908,626號；第5,844,095號；及第5,112,946號；EP 307,434；EP 367,166；EP 394,827；PCT公開案WO 91/06570、WO 96/04388、WO 96/22024、WO 97/34631、及WO 99/04813；

Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88: 10535-39 (1991) ; Traunecker et al., Nature, 331:84-86 (1988) ; Zheng et al., J. Immunol. 154:5590-600 (1995) ; 及 Vil et al., Proc.Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-41 (1992)) 。

**【0183】** 融合蛋白可經由，例如，基因改組、模體改組、外顯子改組、及/或密碼子改組（統稱為「DNA改組(DNA shuffling)」）之技術產生。可採用DNA改組以改變如本文所提供之抗體之活性，包括例如具有較高親和力及較低解離速率之抗體（參見例如美國專利第5,605,793號；第5,811,238號；第5,830,721號；第5,834,252號；及第5,837,458號；Patten et al., Curr. Opinion Biotechnol.8:724-33 (1997) ; Harayama, Trends Biotechnol.16(2):76-82 (1998) ; Hansson et al., J. Mol. Biol. 287:265-76 (1999) ; 及Lorenzo and Blasco, Biotechniques 24(2):308-13 (1998)) 。抗體或經編碼抗體可藉由在重組前藉由易錯PCR、隨機核苷酸插入、或其他方法經受隨機誘變而改變。編碼本文提供之抗體的多核苷酸可與一或多個異源分子的一或多個組分、模體、區段、部分、域、片段等重組。

**【0184】** 在一些實施例中，本文提供之抗體經接合至第二抗體以形成抗體異源接合物。

**【0185】** 在各種實施例中，抗體經基因融合至藥劑。基因融合可藉由將連接子（例如，多肽）置於抗體與藥劑之間來達成。連接子可為可撓性連接子。

**【0186】** 在各種實施例中，抗體經基因接合至治療分子，其中鉸鏈區將抗體連接至治療分子。

【0187】 本文亦提供用於製造本文提供之各種融合蛋白的方法。章節5.4中描述之多種方法亦可用以製造本文提供之融合蛋白。

【0188】 在一具體實施例中，本文提供之融合蛋白係經重組表現。本文提供之融合蛋白之重組表現可能需要構築表現載體，其含有編碼該蛋白質或其片段之多核苷酸。一旦獲得編碼本文提供之蛋白質或其片段的多核苷酸，可藉由重組DNA技術使用所屬技術領域中熟知的技術來生產用於分子之生產的載體。因此，本文中描述用於藉由表現含有編碼核苷酸序列之多核苷酸來製備蛋白質之方法。所屬技術領域中具有通常知識者熟知的方法可用以構築含有編碼序列及適當轉錄及轉譯控制信號之表現載體。此等方法包括例如體外重組DNA技術、合成技術、及體內基因重組。亦提供可複製載體，其包含可操作地連接至啟動子的編碼本文提供之融合蛋白的核苷酸序列、或其片段、或CDR。

【0189】 藉由習知技術可將表現載體轉移至宿主細胞，然後藉由習知技術培養經轉染細胞以生產本文提供之融合蛋白。因此，本文亦提供宿主細胞，其含有可操作地連接至異源啟動子之編碼本文提供之融合蛋白的多核苷酸、或其片段。

【0190】 各種宿主表現載體系統可用以表現本文提供之融合蛋白。此類宿主表現系統不僅代表可藉以產生並隨後純化所關注編碼序列之媒劑，亦代表當經適當核苷酸編碼序列轉形或轉染時可原位表現本文提供之融合蛋白的細胞。此等包括但不限於微生物，諸如經含有編碼序列之重組噬菌體DNA、質體DNA、或黏質體DNA表現載體轉形的細菌（例如，大腸桿菌及枯草桿菌(*B. subtilis*)）；酵母（例如，酵母菌屬、畢赤酵母菌屬），其用含有編碼序列之重

組酵母表現載體轉形；昆蟲細胞系統，其用含有編碼序列之重組病毒表現載體（例如，桿狀病毒）感染；經含有編碼序列之重組病毒表現載體（例如，花椰菜嵌紋病毒(cauliflower mosaic virus, CaMV)、菸草鑲嵌病毒(tobacco mosaic virus, TMV)）感染或經含有編碼抗體之序列之重組質體表現載體（例如，Ti質體）轉形的植物細胞系統；或哺乳動物細胞系統（例如COS、CHO、BHK、293、NS0、及3T3細胞），其帶有重組表現構築體，該構築體含有衍生自哺乳動物細胞之基因體之啟動子（例如金屬硫蛋白啟動子）或衍生自哺乳動物病毒之啟動子（例如腺病毒晚期啟動子；牛痘病毒7.5K啟動子）。細菌細胞（諸如大腸桿菌）、或真核細胞（特別是用於表現全重組抗體分子者）可用於表現重組融合蛋白。例如，哺乳動物細胞（諸如中國倉鼠卵巢細胞(CHO)）結合載體（諸如來自人類巨細胞病毒之主要中間早期基因啟動子元件）係用於抗體或其變體之有效表現系統。在一特定實施例中，編碼本文提供之融合蛋白的核苷酸序列之表現係由持續性啟動子、誘導性啟動子、或組織特異性啟動子調節。

【0191】 在細菌系統中，取決於所表現之融合蛋白之預期用途，可有利地選擇數種表現載體。例如，當欲生產大量此類融合蛋白以用於產生融合蛋白之醫藥組成物時，引導易於純化之融合蛋白產物的高水平表現的載體可為所欲的。此類載體包括但不限於大腸桿菌表現載體pUR278 (Ruther *et al.*, EMBO 12:1791 (1983))，其中可將編碼序列個別地與lac Z編碼區框內(in frame)連接至載體中，以生產融合蛋白；pIN載體(Inouye & Inouye, Nucleic Acids Res.13:3101-3109 (1985); Van Heeke & Schuster, J. Biol. Chem. 24:5503-5509 (1989))；及類似物。亦可使用pGEX載體將外來多肽表現為具有麩胱甘肽5-轉移酶(GST)之融合蛋白。通常而言，此類融合蛋白係可溶的，且可藉由吸附及

第 80 頁，共 184 頁(發明說明書)

結合至基質麩胱甘肽瓊脂糖珠，接著在游離麩胱甘肽存在下洗提而容易地自裂解細胞純化。pGEX載體係設計成包括凝血酶或因子Xa蛋白酶裂解位點，使得經選殖之目標基因產物可自GST部份釋放。

【0192】 在哺乳動物宿主細胞中，可利用多種基於病毒之表現系統。在使用腺病毒作為表現載體之情況下，可將所關注編碼序列連接至腺病毒轉錄/轉譯控制複合物，例如晚期啟動子及三聯前導序列(tripartite leader sequence)。此嵌合基因可接著藉由體外或體內重組插入腺病毒基因體中。插入病毒基因體之非必需區域（例如，EI或E3區域）將導致可在受感染之宿主中存活且能夠表現融合蛋白的重組病毒（例如參見Logan & Shenk, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359 (1984)）。為了有效率的轉譯經插入之編碼序列，亦可能需要特定起始信號。這些信號包括ATG起始密碼子及相鄰序列。此外，起始密碼子必需與所欲之編碼序列之閱讀框同相，以確保整個插入物之轉譯。此等外源轉譯控制信號及起始密碼子可具有天然或合成兩者之各種來源。表現效率可藉由包括適當轉錄增強子元件、轉錄終止子等增強。（參見例如Bittner *et al.*, Methods in Enzymol.153:51-544 (1987)）。

【0193】 此外，可選擇宿主細胞菌株，其調節插入序列之表現或以所欲之特定方式修飾及加工基因產物。蛋白產物之此類修飾（例如，醣基化）及加工（例如，裂解）可能對蛋白之功能係重要的。不同宿主細胞對於蛋白質及基因產物之轉譯後加工及修飾具有特徵及特定機制。可選擇適當的細胞系或宿主系統以確保所表現之外來蛋白質之正確修飾及加工。為此，可使用真核宿主細胞，其具有初級轉錄本之適當加工、基因產物之醣基化、及磷酸化的細胞機

制。此類哺乳動物宿主細胞包括但不限於CHO、VERY、BHK、Hela、COS、MDCK、293、3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT2O及T47D、NS0（鼠類骨髓瘤細胞系，其不內源性生產任何免疫球蛋白鏈）、CRL7030、及HsS78Bst細胞。

**【0194】** 為了使重組蛋白長期、高產率的生產，可利用穩定的表現。例如，可工程改造出穩定表現融合蛋白之細胞系。不使用含有病毒複製起點之表現載體，而是可將宿主細胞用由適當表現控制元件（例如，啟動子、增強子、序列、轉錄終止子、多腺核苷酸化部位等）控制之DNA及可選擇之標記轉形。在引入外來DNA之後，可允許經工程改造之細胞生長於濃化培養基中達1至2天，且隨後切換至選擇性培養基。重組質體中之可選擇的標記賦予選擇抗性，且允許細胞將質體穩定整合至其染色體中並生長以形成細胞群落(foci)，其轉而可經選殖且擴增成細胞系。此方法可有利地用以工程化表現融合蛋白之細胞系。此類經工程改造的細胞系可特別適用於篩選及評估與結合分子直接或間接交互作用之組成物。

**【0195】** 可使用數種選擇系統，包括但不限於單純疱疹病毒胸苷激酶(Wigler *et al.*, Cell 11:223 (1977))、次黃嘌呤鳥嘌呤磷酸核糖基轉移酶(Szybalska & Szybalski, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 48:202 (1992))、及腺嘌呤磷酸核糖基轉移酶(Lowy *et al.*, Cell 22:8-17 (1980))基因，其等可分別用於tk-、hgp<sup>r</sup>t-、或ap<sup>r</sup>t-細胞中。此外，抗代謝物抗性可用作以下基因之選擇基礎：*dhfr*，其賦予對胺甲喋呤之抗性(Wigler *et al.*, Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980); O'Hare *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527 (1981))；*gpt*，其賦予對黴酚酸之抗性

(Mulligan & Berg, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 78:2072 (1981))；neo，其賦予對胺基糖苷G-418之抗性（Wu and Wu, Biotherapy 3:87-95 (1991)；Tolstoshev, Ann.Rev. Pharmacol.Toxicol.32:573-596 (1993)；Mulligan, Science 260:926-932 (1993)；及Morgan and Anderson, Ann.Rev. Biochem. 62:191-217 (1993); May, TIB TECH 11(5):155-2 15 (1993)）；及hygro，其賦予對潮黴素之抗性(Santerre *et al.*, Gene 30:147 (1984))。在重組DNA技術領域中普遍已知的方法可例行應用於選擇所欲之重組殖株，且此類方法係描述於例如Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)；及Dracopoli *et al.* (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)之第12及13章；Colberre-Garapin *et al.*, J. Mol. Biol. 150:1 (1981)，其等全文以引用方式併入本文中。

【0196】 融合蛋白之表現水平可藉由載體擴增增加（關於綜述，參見Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)）。當表現融合蛋白的載體系統中的標記係可擴增時，在宿主細胞培養物中存在的抑制劑水平增加將增加標記基因之拷貝數。由於擴增區與融合蛋白基因相關聯，因此融合蛋白之生產亦將增加(Crouse *et al.*, Mol. Cell.Biol. 3:257 (1983))。

【0197】 宿主細胞可與本文中提供之多種表現載體共轉染。載體可含有相同的可選擇標記，使各別編碼多肽能夠相等表現。替代地，可使用單一載體，其編碼且能夠表現多個多肽。編碼序列可包含cDNA或基因體DNA。

**【0198】** 一旦本文提供之融合蛋白已藉由重組表現生產，即可藉由所屬技術領域中已知用於純化多肽（例如，免疫球蛋白分子）之任何方法純化，例如藉由層析法（例如，離子交換、親和力（特別是在蛋白質A後藉由對特定抗原之親和力）、粒徑篩析管柱層析法、及κ選擇親和力層析法）、離心、差異溶解度、或藉由任何其他用於純化蛋白質之標準技術。此外，本文提供之融合蛋白分子可融合至本文所述或本領域中其他已知之異源多肽序列以促進純化。

### 免疫接合物

**【0199】** 在一些實施例中，本揭露亦提供免疫接合物，其包含接合至下列之本文所述之任何抗IL-1 $\beta$ 抗體：一或多種細胞毒性劑（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。

**【0200】** 在一些實施例中，免疫接合物係抗體藥物接合物(ADC)，其中抗體接合至一或多種藥物，該一或多種藥物包括但不限於類美坦素（參見美國專利第5,208,020號、第5,416,064號、及歐洲專利第EP 0 425 235 B1號）；耳抑素，諸如單甲基耳抑素藥物部份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）；海兔毒素(dolastatin)；卡利奇黴素(calicheamicin)或其衍生物（參見美國專利第5,712,374號、第5,714,586號、第5,739,116號、第5,767,285號、第5,770,701號、第5,770,710號、第5,773,001號、及第5,877,296號；Hinman et al., *Cancer Res.* 53:3336-3342 (1993)；及Lode et al., *Cancer Res.* 58:2925-2928 (1998)）；蒽環類藥物(anthracycline)，諸如道諾黴素(daunomycin)或阿黴素(doxorubicin)（參見Kratz  
第 84 頁，共 184 頁(發明說明書)

et al., *Current Med.Chem.*13:477-523 (2006) ; Jeffrey et al., *Bioorganic & Med. Chem.Letters* 16:358-362 (2006) ; Torgov et al., *Bioconj. Chem.*16:717-721 (2005) ; Nagy et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:829-834 (2000) ; Dubowchik et al., *Bioorg. & Med.Chem.Letters* 12:1529-1532 (2002) ; King et al., *J. Med. Chem.*45:4336-4343 (2002) ; 及美國專利第6,630,579號) ; 胺甲蝶呤(methotrexate) ; 長春地辛(vindesine) ; 紫杉烷，諸如多西紫杉醇(docetaxel)、太平洋紫杉醇(paclitaxel)、拉洛他賽(larotaxel)、替司他賽(tesetaxel)、及奧他賽(ortataxel) ; 新月毒素(trichothecene) ; 及CC1065。

【0201】 在一些實施例中，免疫接合物包含接合至酶活性毒素或其片段之本文所述之抗體，該酶活性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（來自綠膿桿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)）、蓖麻毒素A鏈、雞母珠毒蛋白A鏈、莫迪素(modeccin) A鏈、 $\alpha$ -帚曲霉素(alpha-sarcin)、油桐(*Aleurites fordii*)蛋白、石竹(dianthin)蛋白、美洲商陸(*Phytolacca americana*)蛋白（PAPI、PAPII、及PAP-S）、苦瓜(*Momordica charantia*)抑制劑、麻瘋樹毒蛋白(curcin)、巴豆毒素(crotonin)、肥皂草(*Saponaire officinalis*)抑制劑、多花白樹毒蛋白(gelonin)、絲林黴素(mitogellin)、局限曲菌素(restrictocin)、酚黴素(phenomycin)、伊諾黴素(enomycin)、及新月毒素(tricothecene)。

【0202】 在一些實施例中，免疫接合物包含接合至放射性原子之本文所述之抗體以形成放射性接合物。多種放射性同位素可用於生產放射性接合物。實例包括 $\text{At}^{211}$ 、 $\text{I}^{131}$ 、 $\text{I}^{125}$ 、 $\text{Y}^{90}$ 、 $\text{Re}^{186}$ 、 $\text{Re}^{188}$ 、 $\text{Sm}^{153}$ 、 $\text{Bi}^{212}$ 、 $\text{P}^{32}$ 、 $\text{Pb}^{212}$ 、及Lu

之放射性同位素。當放射性接合物用於偵測時，其可包含用於閃爍圖術研究的放射性原子，例如<sup>99m</sup>Tc或<sup>123</sup>I，或者包含用於核磁共振(NMR)成像（亦稱為磁共振成像(mri)）的自旋標示，諸如同樣的碘-123、碘-131、銥-111、氟-19、碳-13、氮-15、氧-17、釷、錳、或鐵。

【0203】 抗體與細胞毒性劑的接合物可使用各種雙功能蛋白偶合劑來製造，諸如N-琥珀醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)、琥珀醯亞胺基-4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-羧酸酯(SMCC)、亞胺基硫烷鹽(iminothiolane) (IT)、亞胺酯(imidoester)的雙官能衍生物（諸如己亞胺酸二甲酯(dimethyl adipimidate) HCl）、活性酯(active ester)（諸如雙琥珀醯亞胺辛二酸酯(disuccinimidyl suberate)）、醛類(aldehyde)（諸如戊二醛）、雙疊氮化合物（諸如雙(對疊氮苯甲醯基)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）。例如，蓖麻毒素(ricin)免疫毒素可如Vitetta et al., *Science* 238:1098 (1987)中所述製備。經碳-14標示之1-異硫氰酸苄基-3-甲基二亞乙基三胺五乙酸(MX-DTPA)係用於將放射性核苷酸接合至抗體之示範性螯合劑。參見WO94/11026。

【0204】 連接子可為促進經接合之藥劑在細胞中釋放之「可裂解連接子(cleavable linker)」，但在本文中亦設想不可裂解連接子。用於本揭露之接合物中的連接子包括但不限於酸不穩定連接子（例如脲連接子）、含二硫化物連接子、肽酶敏感性連接子（例如包含胺基酸（例如纈胺酸及/或瓜胺酸）之肽連接

子，諸如瓜胺酸-纈胺酸或苯丙胺酸-離胺酸）、光不穩定連接子、二甲基連接子、硫醚連接子、或經設計以逃避多藥物轉運蛋白介導抗性之親水性連接子。

【0205】 本文之免疫接合物或ADC設想但不限於用交聯劑試劑製備之此類接合物，該交聯劑試劑包括但不限於BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、硫代(sulfo)-EMCS、硫代-GMBS、硫代-KMUS、硫代-MBS、硫代-SIAB、硫代-SMCC、及硫代-SMPB、及SVSB（琥珀醯亞胺基-(4-乙烯基)苯甲酸酯），其係市售可得（例如來自Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A）。

【0206】 在其他實施例中，本文提供之抗體係接合或重組融合至例如診斷分子。此類診斷及偵測可例如藉由將抗體偶合至下列來完成：可偵測物質，包括但不限於各種酶，諸如但不限於辣根過氧化酶、鹼性磷酸酶、 $\beta$ -半乳糖苷酶、或乙醯膽鹼酯酶；輔基，諸如但不限於鏈黴親和素/生物素或卵白素/生物素；螢光材料，諸如但不限於繖形酮、螢光素、螢光異硫氰酸鹽、玫瑰紅、二氯三吡基胺螢光素、丹磺醯氯、或藻紅素；發光材料，諸如但不限於魯米諾；生物發光材料，諸如但不限於螢光素酶、蟲螢光素、或水母素；化學發光材料，諸如 $^{225}\text{Ac}$ 發射性、鄂惹發射性(Auger-emitting)、 $\beta$ 發射性、 $\alpha$ 發射性、或正電子發射性放射性同位素。

### 5.3. 多核苷酸

【0207】 在某些實施例中，本揭露提供編碼結合至IL-1 $\beta$ 之本抗體的多核苷酸及包含本文所述之結合至IL-1 $\beta$ 之抗體的融合蛋白。本揭露之多核苷酸可呈RNA之形式或呈DNA之形式。DNA包括cDNA、基因體DNA、及合成DNA；

第 87 頁，共 184 頁(發明說明書)

且可為雙股或單股，且若為單股可為編碼股或非編碼（反義）股。在一些實施例中，多核苷酸係呈cDNA之形式。在一些實施例中，多核苷酸係合成的多核苷酸。

**【0208】** 本揭露進一步關於本文所述之多核苷酸的變體，其中該變體編碼例如本揭露之結合IL-1 $\beta$ 之抗體的片段、類似物、及/或衍生物。在某些實施例中，本揭露提供一種多核苷酸，其包含具有與下列至少約75%同一、至少約80%同一、至少約85%同一、至少約90%同一、至少約95%同一、且在一些實施例中至少約96%、97%、98%、或99%同一的核苷酸序列之多核苷酸：編碼本揭露之結合IL-1 $\beta$ 之抗體的多核苷酸。如本文中所使用，片語「具有與參考核苷酸序列至少例如95%「同一」的核苷酸序列之多核苷酸」意欲意指除了多核苷酸序列可包括以參考核苷酸序列每100個核苷酸計至多五個點突變以外，多核苷酸之核苷酸序列與參考序列同一。換言之，為了獲得具有與參考核苷酸序列至少95%同一的核苷酸序列之多核苷酸，可缺失或以另一核苷酸取代參考序列中至多5%的核苷酸，或可將參考序列中至多5%總核苷酸之核苷酸數目插入參考序列中。參考序列的這些突變可發生在參考核苷酸序列的5'或3'末端位置處或介於該等末端位置之間的任一處，且個別穿插於參考序列的核苷酸之間或在參考序列內呈一或多個相連的群組。

**【0209】** 多核苷酸變體可含有在編碼區、非編碼區、或兩者中的改變。在一些實施例中，多核苷酸變體含有產生靜默取代、添加、或缺失但不改變編碼多肽之性質或活性的改變。在一些實施例中，多核苷酸變體包含靜默取代，其導致多肽胺基酸序列之無變化（因為基因密碼簡併性）。可出於各種原因生

產多核苷酸變體，例如為特定宿主最佳化密碼子表現（即，將人類mRNA中之密碼子改變成細菌宿主（諸如大腸桿菌）所偏好之密碼子）。在一些實施例中，多核苷酸變體在序列之非編碼區或編碼區包含至少一個靜默突變。

**【0210】** 在一些實施例中，生產多核苷酸變體以調節或改變編碼多肽之表現（或表現水平）。在一些實施例中，生產多核苷酸變體以增加編碼多肽之表現。在一些實施例中，生產多核苷酸變體以降低編碼多肽之表現。在一些實施例中，相較於親本多核苷酸序列，多核苷酸變體具有增加的編碼多肽表現。在一些實施例中，相較於親本多核苷酸序列，多核苷酸變體具有降低的編碼多肽表現。

**【0211】** 亦提供包含本文所述之核酸分子的載體。在一實施例中，核酸分子可併入重組表現載體中。本揭露提供包含本揭露之核酸中任一者的重組表現載體。如本文中所使用，用語「重組表現載體(recombinant expression vector)」意指經基因修飾之寡核苷酸或多核苷酸構築體，當構築體包含編碼mRNA、蛋白質、多肽、或肽之核苷酸序列，且載體係在足以使mRNA、蛋白質、多肽、或肽在細胞內表現之條件下接觸細胞時，其允許宿主細胞表現mRNA、蛋白質、多肽、或肽。本文所述之載體並非整體天然存在；然而，載體之部分可為天然存在。所述之重組表現載體可包含任何類型的核苷酸，包括但不限於DNA及RNA，其可為單股或雙股、合成或部分獲自天然來源，且其可含有天然、非天然、或經改變之核苷酸。重組表現載體可包含天然存在或非天然存在的核苷間鍵聯、或兩種類型的鍵聯。非天然存在或經改變之核苷酸或核苷間鍵聯不會阻礙載體之轉錄或複製。

【0212】 在一實施例中，本揭露之重組表現載體可係任何適合的重組表現載體，且可用於轉形或轉染任何適合的宿主。合適載體包括經設計用於增殖及擴增或用於表現或兩者之載體，諸如質體及病毒。載體可選自由下列所組成之群組：pUC系列(Fermentas Life Sciences, Glen Burnie, Md.)、pBluescript系列(Stratagene, LaJolla, Calif.)、pET系列(Novagen, Madison, Wis.)、pGEX系列(Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)、及pEX系列(Clontech, Palo Alto, Calif.)。可使用噬菌體載體，諸如 $\lambda$ GT10、 $\lambda$ GT11、 $\lambda$ EMBL4、及 $\lambda$ NM1149、 $\lambda$ ZapII(Stratagene)。植物表現載體之實例包括pBI01、pBI01.2、pBI121、pBI101.3、及pBIN19(Clontech)。動物表現載體之實例包括pEUK-C1、pMAM、及pMAMneo(Clontech)。重組表現載體可係病毒載體，例如反轉錄病毒載體，例如 $\gamma$ 反轉錄病毒載體。

【0213】 在一實施例中，重組表現載體係使用例如上述Sambrook et al.及上述Ausubel et al.中所述之標準重組DNA技術製備。可製備呈環狀或線性之表現載體之構築體，以含有在原核或真核宿主細胞中具功能性之複製系統。複製系統可衍生自例如ColE1、SV40、2  $\mu$ 質體、 $\lambda$ 、牛乳頭狀瘤病毒、及類似者。

【0214】 重組表現載體可視情況包含調節序列，諸如即將引入載體之宿主的類型（例如，細菌、植物、真菌、或動物）所特有之轉錄及轉譯起始及終止密碼子，且考慮載體係基於DNA或基於RNA。

【0215】 重組表現載體可包括一或多個標記基因，其允許選擇經轉形或轉染之宿主。標記基因包括殺生物劑抗性（例如對抗生素、重金屬等具有抗性）、在營養缺陷型宿主(auxotrophic host)有互補作用以提供原養型

(prototrophy)、及類似者。用於所述表現載體之合適標記基因包括例如，新黴素/G418抗性基因、組胺醇x抗性基因、組胺醇抗性基因、四環素抗性基因、及安比西林抗性基因。

**【0216】** 重組表現載體可包含天然(native)或標準(normative)啟動子，其可操作地連接至本揭露之核苷酸序列。啟動子之選擇，例如強烈、微弱、組織特異性、誘導性、及發展特異性係所屬技術領域中之通常知識。類似地，組合核苷酸序列與啟動子亦為所屬技術領域中之通常知識。啟動子可為非病毒啟動子或病毒啟動子，例如巨細胞病毒(CMV)啟動子、RSV啟動子、SV40啟動子、或在鼠類幹細胞病毒之長末端重複中發現之啟動子。

**【0217】** 重組表現載體可經設計以用於暫時表現、或用於穩定表現、或用於兩者。同樣，重組表現載體可經製造以用於持續性表現(constitutive expression)或誘導性表現(inducible expression)。

**【0218】** 此外，重組表現載體可製造為包括自殺基因。如本文中所使用，用語「自殺基因(suicide gene)」係指造成表現自殺基因之細胞死亡的基因。自殺基因可係賦予表現該基因之細胞對藥劑（例如藥物）之敏感性、且當該細胞接觸該藥劑或暴露於該藥劑時造成該細胞死亡之基因。自殺基因在所屬技術領域係已知的，並包括例如單純疱疹病毒(Herpes Simplex Virus, HSV)胸苷激酶(TK)基因、胞嘧啶去胺酶、嘌呤核苷磷酸化酶、及硝基還原酶。

**【0219】** 在某些實施例中，多核苷酸係經單離。在某些實施例中，多核苷酸係實質上純的。

**【0220】** 亦提供包含本文所述之核酸分子的宿主細胞。宿主細胞可為含有異源核酸之任何細胞。異源核酸可係載體（例如，表現載體）。例如，宿主細胞可係來自任何生物體之細胞，其以任何方式經選擇、修飾、轉形、生長、使用、或操縱以用於藉由細胞生產物質，例如藉由細胞表現基因、DNA或RNA序列、蛋白質、或酶。可判定適當宿主。例如，可基於載體骨架及所欲結果選擇宿主細胞。舉例來說，可將質體或黏質體引入原核生物宿主細胞中，以用於複製數種類型之載體。細菌細胞（諸如但不限於DH5 $\alpha$ 、JM109、及KCB、SURE<sup>®</sup>勝任細胞、及SOLOPACK Gold細胞）可用來作為用於載體複製及/或表現之宿主細胞。此外，細菌細胞（諸如大腸桿菌LE392）可用來作為噬菌體病毒之宿主細胞。可用來作為宿主細胞之真核細胞包括但不限於酵母菌（例如，YPH499、YPH500、及YPH501）、昆蟲、及哺乳動物。用於載體複製及/或表現之哺乳動物真核宿主細胞的實例包括但不限於HeLa、NIH3T3、Jurkat、293、COS、Saos、PC12、SP2/0（美國菌種保存中心(ATCC)，Manassas, VA，CRL-1581）、NS0（歐洲細胞保存中心(ECACC)，Salisbury, Wiltshire, UK，ECACC第85110503號）、FO (ATCC CRL-1646)、及Ag653 (ATCC CRL-1580)鼠類細胞系。例示性人類骨髓瘤細胞系為U266 (ATCC CRL-TIB-196)。其他有用之細胞系包括衍生自中國倉鼠卵巢(Chinese Hamster Ovary, CHO)細胞者，諸如CHO-K1SV (Lonza Biologics, Walkersville, MD)、CHO-K1 (ATCC CRL-61)或DG44。

#### 5.4. 製備抗體及製造方法

【0221】 已描述製備抗體之方法。參見例如Els Pardon et al, *Nature Protocol*, 9(3): 674 (2014)。抗體（諸如scFv片段）可使用所屬技術領域中已知之方法獲得，諸如藉由免疫駱駝物種（諸如駱駝或駱馬）且自其獲得融合瘤，或藉由使用所屬技術領域中已知之分子生物學技術選殖抗體庫及後續藉由ELISA選擇未選擇庫之個別植株或藉由使用噬菌體展示選擇。

【0222】 本文提供之抗體可藉由培養用含有抗體編碼核酸之載體轉形或轉染的細胞來生產。可使用標準重組技術獲得編碼本揭露之抗體之多肽組分之多核苷酸序列。所欲之多核苷酸序列可自抗體生產細胞（諸如，融合瘤細胞或B細胞）單離及定序。替代地，多核苷酸可使用核苷酸合成器或PCR技術合成。一旦獲得，將編碼多肽之序列插入至能夠在宿主細胞中複製及表現異源多核苷酸的重組載體中。許多為所屬技術領域中可用及已知之載體可用於本揭露之目的。適當載體的選擇將主要取決於待插入載體之核酸的大小，以及將被載體轉形之特定宿主細胞。適用於表現本揭露之抗體的宿主細胞包括原核生物（諸如古細菌(Archaeobacteria)及真細菌(Eubacteria)，包括革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體）、真核微生物（諸如絲狀真菌或酵母菌）、無脊椎動物細胞（諸如昆蟲或植物細胞）、及脊椎動物細胞（諸如哺乳動物宿主細胞系）。宿主細胞係經上述表現載體轉形並於習知之營養培養基中培養，該營養培養基經調整以適合誘導啟動子、選擇轉形物或擴增編碼所欲序列之基因。由宿主細胞生產的抗體係使用所屬技術領域中已知的標準蛋白質純化方法純化。

【0223】 抗體生產之方法（包括載體構築、表現、及純化）係進一步描述於Plückthun *et al.*, *Antibody Engineering: Producing antibodies in Escherichia*

coli: From PCR to fermentation 203-52 (McCafferty *et al.* eds., 1996) ; Kwong and Rader, *E. coli Expression and Purification of Fab Antibody Fragments*, in Current Protocols in Protein Science (2009) ; Tachibana and Takekoshi, *Production of Antibody Fab Fragments in Escherichia coli*, in Antibody Expression and Production (Al-Rubeai ed., 2011) ; 及 Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic (An ed., 2009) 。

【0224】 當然，已設想到可採用所屬技術領域中熟知的替代方法製備抗 IL-1 $\beta$  抗體。例如，適當的胺基酸序列或其部分可藉由直接肽合成使用固相技術生產（參見例如 Stewart *et al.*, Solid-Phase Peptide Synthesis (1969) ; 及 Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-54 (1963)）。體外蛋白質合成可使用手動技術或藉由自動化執行。抗 IL-1 $\beta$  抗體之各種部分可分開地化學合成並使用化學或酶方法組合，以生產所欲之抗 IL-1 $\beta$  抗體。替代地，可自經工程改造以表現抗體之基因轉殖動物的細胞或體液（諸如乳汁）純化抗體，如揭示於例如美國專利第 5,545,807 號及第 5,827,690 號。

## 多株抗體

【0225】 動物體內之多株抗體通常藉由多次皮下(sc)或腹膜內(ip)注射相關抗原及佐劑來提高。使用雙官能性或衍生劑，例如順丁烯二醯亞胺基苄醯氧基磺基琥珀醯亞胺酯（透過半胱胺酸殘基接合）、N-羥基琥珀醯亞胺（透過胺酸殘基）、戊二醛、琥珀酸酐、SOCl<sub>2</sub>、或 R<sup>1</sup>N=C=NR（其中 R 及 R<sup>1</sup> 獨立地係低級烷基），將相關抗原接合至在待免疫之物種中具免疫原性之蛋白質，例如鑰孔狀帽貝血藍素(KLH)、血清白蛋白、牛甲狀腺球蛋白、或黃豆胰蛋白酶

抑制劑可能有用。可採用之佐劑的實例包括弗氏完全佐劑及MPL-TDM佐劑（單磷醯脂A、合成的海藻糖二桿菌分枝菌酸酯(trehalose dicorynomycolate)）。所屬技術領域中具有通常知識者可在無需過度實驗下選擇免疫規程。

【0226】 例如，藉由組合例如100 µg或5 µg之蛋白質或接合物（分別用於兔或小鼠）與3體積之弗氏完全佐劑且在多個部位皮內注射溶液來使動物對抗原、免疫原性接合物、或衍生物免疫。一個月之後，以1/5至1/10原始量的弗氏完全佐劑中之肽或接合物在多個部位皮下注射來加強動物。七至十四天之後，對動物抽血且檢定血清之抗體力價。加強動物直到力價到達高原。接合物亦可在重組細胞培養物中作為蛋白融合製成。此外，凝集劑諸如明礬適合增強免疫反應。

## 單株抗體

【0227】 單株抗體係獲自實質上均質抗體群，亦即構成該群之個別抗體除了可少量存在之可能自然發生的突變及/或轉譯後修飾（例如異構化、醯胺化）以外係相同的。因此，修飾語「單株」指示抗體不為離散抗體之混合物的特徵。

【0228】 例如，單株抗體可使用首先由Kohler *et al.*, *Nature*, 256:495 (1975)描述之融合瘤方法製造，或可藉由重組DNA方法製造（美國專利第4,816,567號）。

【0229】 在融合瘤方法中，適當宿主動物經免疫以誘發淋巴球，該淋巴球生產或能夠生產將特異性結合用於免疫的蛋白質之抗體。替代地，淋巴球可

在體外免疫。接著將淋巴球使用合適的融合劑（諸如聚乙二醇）與骨髓瘤細胞融合，以形成融合瘤細胞(Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)。

【0230】 免疫劑一般將包括抗原性蛋白質或其融合變體。Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press (1986), pp. 59-103。永生化細胞系通常係經轉形之哺乳動物細胞。接種如此製備之融合瘤細胞並使之生長於較佳地含有一或多種抑制未融合、親本骨髓瘤細胞生長或存活的物質的合適培養基中。較佳永生化骨髓瘤細胞為有效融合、支持所選抗體生產細胞穩定大量生產抗體、且對諸如HAT培養基之培養基敏感的骨髓瘤細胞。

【0231】 檢定在融合瘤細胞生長之培養基中所生產之針對抗原之單株抗體。可檢定在培養融合瘤細胞之培養基中針對所欲抗原之單株抗體的存在。此類技術及檢定為本領域中已知的。例如，結合親和力可藉由Scatchard分析判定 (Munson *et al.*, *Anal. Biochem.*, 107:220 (1980))。

【0232】 在識別出生產具有所欲特異性、親和力、及/或活性之抗體的融合瘤細胞之後，即可藉由限制稀釋程序將殖株次選殖並藉由標準方法生長（上述Goding）。適用此目的之合適培養基包括例如D-MEM或RPMI-1640培養基。此外，融合瘤細胞可在哺乳動物體內生長為腫瘤。

【0233】 由次殖株分泌之單株抗體適合藉由習知免疫球蛋白純化程序（諸如例如蛋白質A-瓊脂糖、羥磷灰石層析法、凝膠電泳、透析、或親和力層析法）自培養基、腹水、或血清分離。

【0234】 單株抗體亦可藉由重組DNA方法製造，諸如美國專利第4,816,567號中所述者，且如上所述。編碼單株抗體的DNA係使用習知程序（例  
第 96 頁，共 184 頁(發明說明書)

如，藉由使用能夠特異性結合至編碼鼠類抗體的重鏈與輕鏈的基因的寡核苷酸探針）容易地單離及定序。融合瘤細胞作為此類DNA之較佳來源。一旦經單離，可將DNA置於表現載體中，接著將其轉染至宿主細胞中，諸如大腸桿菌細胞、猴COS細胞、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞、或不另外生產免疫球蛋白蛋白質的骨髓瘤細胞，以在此類重組宿主細胞中合成單株抗體。關於編碼抗體的DNA在細菌中重組表現的綜述文章包括Skerra *et al.*, *Curr.Opinion in Immunol.*, 5:256-262 (1993)及Pliickthun, *Immunol.Revs.*130:151-188 (1992)。

【0235】 在一進一步實施例中，抗體可自使用以下描述之技術所產生之抗體噬菌體庫單離：McCafferty *et al.*, *Nature*, 348:552-554 (1990)。Clackson *et al.*, *Nature*, 352:624-628 (1991)及Marks *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991)。後續出版物描述藉由鏈改組生產高親和力（nM範圍）的人類抗體(Marks *et al.*, *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992))、以及組合感染及體內重組作為用於構築非常大型噬菌體庫之策略(Waterhouse *et al.*, *Nucl.Acids Res.*, 21:2265-2266 (1993))。因此，這些技術係用於單離單株抗體之傳統單株抗體融合瘤技術的可行替代技術。

【0236】 DNA亦可例如藉由下列修飾：取代編碼序列（美國專利第4,816,567號；Morrison, *et al.*, *Proc.Natl Acad. Sci. USA*, 81:6851 (1984))、或將非免疫球蛋白多肽之所有或部分編碼序列共價連接至編碼序列。此類非免疫球蛋白多肽可經取代以產生嵌合雙價抗體，其包含對一抗原具有特異性之一個抗原結合部位及對不同抗原具有特異性之另一個抗原結合部位。

【0237】 亦可使用合成蛋白質化學中之已知方法（包括涉及交聯劑之方法）於體外製備嵌合或雜交抗體。例如，可使用雙硫鍵交換反應或藉由形成硫醚鍵來構築免疫毒素。為達此目的之適當試劑實例包括亞胺基硫醇鹽及甲基-4-巯基丁亞胺酸酯。

### 原核細胞中之重組生產

【0238】 可使用標準重組技術獲得編碼本揭露之抗體之多核酸序列。所欲之多核酸序列可自抗體生產細胞（諸如，融合瘤細胞）單離且定序。替代地，多核苷酸可使用核苷酸合成器或PCR技術合成。一旦獲得，將編碼多肽之序列插入至能夠在原核宿主中複製及表現異源多核苷酸的重組載體中。許多為所屬技術領域中可用及已知之載體可用於本揭露之目的。適當載體的選擇將主要取決於待插入載體之核酸的大小，以及將被載體轉形之特定宿主細胞。各載體取決於其功能（異源多核苷酸之擴增或表現或兩者）及其與其所在特定宿主細胞之相容性而含有多種組分。載體組分通常包括但不限於複製起點、選擇標記基因、啟動子、核糖體結合位點(RBS)、信號序列、異源核酸插入物、及轉錄終止序列。

【0239】 一般而言，含有衍生自與宿主細胞相容之物種的複製子及控制序列之質體載體係搭配這些宿主使用。載體平常攜帶複製位點以及能夠在經轉形之細胞中提供表型選擇之標記序列。例如，大腸桿菌一般使用pBR322（衍生自大腸桿菌物種之質體）轉形。用於表現特定抗體之pBR322衍生物之實例係詳細描述於Carter等人之美國專利第5,648,237號。

【0240】 此外，含有與宿主微生物相容之複製子及控制序列之噬菌體載體可搭配這些宿主用來作為轉形載體。例如，可利用噬菌體（諸如GEM™-11）製成可用於轉形易感宿主細胞（諸如大腸桿菌LE392）之重組載體。

【0241】 本申請案之表現載體可包含編碼各多肽組分之二或更多個啟動子-順反子對。啟動子係位於順反子上游(5')以調節其表現之非轉譯調節序列。原核啟動子一般分成兩類：誘導性及組成性。誘導性啟動子係一種啟動子，其回應於培養條件之變化（例如營養之存在或不存在或溫度之變化）而起始在其控制下之順反子的轉錄水平增加。

【0242】 眾所周知由多種潛在宿主細胞辨識之大量啟動子。可藉由自來源DNA經由限制酶消化移除啟動子且將該單離啟動子序列插入至本申請案之載體中而將所選啟動子可操作地連接至編碼本抗體之順反子DNA。天然啟動子序列及許多異源啟動子皆可用於引導目標基因之擴增及/或表現。在一些實施例中，利用異源啟動子，因為相較於天然目標多肽啟動子，其通常允許經表現目標基因之較高轉錄及較高產率。

【0243】 適用於原核宿主之啟動子包括PhoA啟動子、半乳糖苷酶及乳糖啟動子系統、色胺酸(trp)啟動子系統、及雜交啟動子（諸如tac或trc啟動子）。然而，在細菌中具功能性之其他啟動子（諸如其他已知細菌或噬菌體啟動子）亦適合。已公開其核酸序列，藉以使所屬技術領域中具有通常知識者能夠使用連接子或轉接子將其可操作地連接至編碼目標肽之順反子(Siebenlist *et al. Cell* 20: 269 (1980))，以供應任何所需之限制位點。

【0244】 在一態樣中，在重組載體內之各順反子包含引導表現多肽跨膜轉位之分泌信號序列組分。一般而言，信號序列可為載體之組分，或其可為插入載體中之目標多肽DNA之一部分。出於本發明之目的所選擇之信號序列應為由宿主細胞辨識及處理（亦即藉由信號肽酶切割）之信號序列。以不辨識及處理異源多肽之天然信號序列的原核宿主細胞而言，信號序列可由例如選自由下列所組成之群組的原核信號序列取代：鹼性磷酸酶、青黴素酶、Ipp、或熱穩定腸毒素II (STII)前導序列、LamB、PhoE、PelB、OmpA、及MBP。

【0245】 在一些實施例中，根據本揭露之抗體之生產可發生在宿主細胞之細胞質中，且因此各順反子內不需要存在分泌信號序列。某些宿主菌株（例如，大腸桿菌trxB<sup>-</sup>菌株）提供有利雙硫鍵形成之細胞質條件，藉此允許適當折疊及組裝經表現之蛋白質次單元。

【0246】 適用於表現本揭露之抗體的原核宿主細胞包括古細菌(Archaeobacteria)及真細菌(Eubacteria)，諸如革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體。可用細菌之實例包括埃希氏菌屬(*Escherichia*)（例如大腸桿菌）、芽孢桿菌屬(*Bacilli*)（例如枯草桿菌(*B. subtilis*)）、腸細菌(*Enterobacteria*)、假單胞菌屬(*Pseudomonas*)物種（例如綠膿桿菌(*P. aeruginosa*)）、鼠傷寒沙門氏菌(*Salmonella typhimurium*)、黏質沙雷氏菌(*Serratia marcescans*)、克雷伯氏菌屬(*Klebsiella*)、變形桿菌屬(*Proteus*)、志賀桿菌屬(*Shigella*)、根瘤菌(*Rhizobia*)、透明顫菌屬(*Vitreoscilla*)、或副球菌屬(*Paracoccus*)。在一些實施例中，使用革蘭氏陰性細胞。在一個實施例中，使用大腸桿菌細胞作為宿主。大腸桿菌菌株之實例包括菌株W3110（Bachmann, *Cellular and Molecular Biology*, vol. 2

(Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219 ; ATCC寄存號27,325) 及其衍生物，包括具有基因型W3110 AfluA (AtonA) ptr3 lac Iq lacL8 AompT A(nmpc-fepE) degP41 kan<sup>R</sup>之菌株33D3 (美國專利第 5,639,635號)。其他菌株及其衍生物，諸如大腸桿菌294 (ATCC 31,446)、大腸桿菌B、大腸桿菌1776 (ATCC 31,537)、及大腸桿菌RV308 (ATCC 31,608)亦為適合。這些實例係說明性而非限制性的。用於構築具有所定義基因型之任何上述細菌的衍生物之方法係所屬技術領域中已知的且係描述於例如Bass *et al.*, *Proteins*, 8:309-314 (1990)中。通常需要考量複製子在細菌之細胞中的複製性來選擇適當細菌。例如，當使用廣為周知之質體(諸如pBR322、pBR325、pACYC177、或pKN410)來供應複製子時，大腸桿菌、沙雷氏菌、或沙門氏菌物種可合適地用來作為宿主。

**【0247】** 宿主細胞一般應分泌最小量的蛋白水解酶，且可將額外蛋白酶抑制劑所欲地併入細胞培養物中。

**【0248】** 宿主細胞係經上述表現載體轉形並於習知之營養培養基中培養，該營養培養基經調整以適合誘導啟動子、選擇轉形物或擴增編碼所欲序列之基因。轉形是指將DNA引入原核宿主中，以使DNA可作為染色體外元件或藉由染色體整合子(integrand)複製。取決於所使用之宿主細胞，使用適用於此類細胞之標準技術進行轉形。對於含有實質細胞壁屏障之細菌細胞而言，通常使用採用氯化鈣之鈣處理。另一種轉形方法採用聚乙二醇/DMSO。使用的另一技術係電穿孔。

【0249】 用於生產本申請案之抗體的原核細胞係生長在所屬技術領域中已知且適用於培養所選宿主細胞之培養基中。合適培養基之實例包括Luria肉汁(LB)加上必要營養補充劑。在一些實施例中，培養基亦含有基於表現載體構築選擇之選擇劑，以選擇性允許含有表現載體之原核細胞的生長。例如，將安比西林添加至培養基以使表現安比西林抗性基因之細胞生長。

【0250】 亦可包括除了碳、氮、及無機磷酸鹽來源以外之任何必要補充劑，其可以適當濃度單獨引入或作為與另一補充劑或培養基（諸如複合物氮來源）之混合物。視情況地，培養基可含有一或多種選自由以下所組成之群組的還原劑：麩胱甘肽、半胱胺酸、胱胺、硫乙醇酸鹽、二硫赤藻糖醇、及二硫蘇糖醇。在合適的溫度及pH下培養原核宿主細胞。

【0251】 若本申請案之表現載體使用誘導性啟動子，則在適合活化啟動子之條件下誘導蛋白質表現。在本申請案之一個態樣中，PhoA啟動子係用於控制多肽之轉錄。因此，在磷酸鹽限制培養基中培養經轉形之宿主細胞以誘導。較佳地，磷酸鹽限制培養基係C.R.A.P培養基（參見例如Simmons *et al.*, *J. Immunol.Methods* 263:133-147 (2002)）。如所屬技術領域中已知，可根據所採用之載體構築體使用各種其他誘導物。

【0252】 本揭露之經表現抗體係分泌至宿主細胞之周質中且自其中回收。蛋白質回收一般涉及通常藉由諸如滲透壓衝擊、音波處理、或裂解之手段來破壞微生物。一旦細胞經破壞，即可藉由離心或過濾移除細胞殘渣或整個細胞。蛋白質可進一步例如藉由親和力樹脂層析法來純化。替代地，可將蛋白質運輸至培養基中且在其中單離。可將細胞移出培養物且將培養上清液過濾並濃

縮以進一步純化所生產之蛋白質。可使用公知方法（諸如聚丙烯醯胺凝膠電泳 (PAGE) 及西方墨點轉漬法檢定）進一步單離且識別經表現之多肽。

【0253】 替代地，蛋白質生產係藉由發酵程序大量進行。多種大規模饋料批式發酵程序可用於生產重組蛋白質。為了改善本揭露之抗體之生產產率及品質，可修改多種發酵條件。例如，伴護子蛋白已顯示促進在細菌宿主細胞中生產之異源蛋白質的適當折疊及溶解度。Chen *et al.* *J Bio Chem* 274:19601-19605 (1999)；美國專利第6,083,715號；美國專利第6,027,888號；Bothmann and Pluckthun, *J. Biol. Chem.* 275:17100-17105 (2000)；Ramm and Pluckthun, *J. Biol. Chem.* 275:17106-17113 (2000)；Arie *et al.*, *Mol. Microbiol.* 39:199-210 (2001)。

【0254】 為了最小化經表現之異源蛋白質（尤其是具蛋白水解敏感性之蛋白質）的蛋白水解，本發明可使用某些缺乏蛋白水解酶之宿主菌株，如描述於例如美國專利第5,264,365號；美國專利第5,508,192號；Hara *et al.*, *Microbial Drug Resistance*, 2:63-72 (1996)。可使用缺乏蛋白水解酶且經過度表現一或多種伴護子蛋白質之質體轉形的大腸桿菌菌株作為編碼本申請案之抗體的表現系統中之宿主細胞。

【0255】 本文中所生產之抗體可經進一步純化以獲得實質上均質之製劑以進行進一步檢定及使用。可採用所屬技術領域中已知之標準蛋白質純化方法。以下程序係例示性合適的純化程序：在免疫親和或離子交換管柱上之分餾、乙醇沉澱、逆相HPLC、二氧化矽或陽離子交換樹脂（諸如DEAE）層析法、色層聚焦(chromatofocusing)、SDS-PAGE、硫酸銨沉澱、及使用例如

Sephadex G-75之凝膠過濾。可在一些實施例中使用例如固定在固相上之蛋白質A以進行本揭露之結合分子的免疫親和純化。固定蛋白質A之固相較佳地係包含玻璃或二氧化矽表面之管柱，更佳地係可控孔隙玻璃管柱或矽酸管柱。在一些實施例中，管柱已用試劑（諸如甘油）塗佈，企圖預防污染物之非特異性黏附。接著洗滌固相以移除非特異性結合至固相之污染物。最後，藉由洗提自固相回收所關注抗體。

真核細胞中之重組生產

【0256】 以真核表現而言，載體組分通常包括但不限於下列之一或多者：信號序列、複製起點、一或多個標誌基因、及增強子元件、啟動子及轉錄終止序列。

【0257】 用於真核宿主中之載體亦可含有編碼信號序列或在成熟蛋白質或多肽之N端具有特定切割位點之其他多肽的插入物。所選擇之異源信號序列較佳地係為由宿主細胞辨識及處理（亦即藉由信號肽酶切割）之信號序列。在哺乳動物細胞表現中，可使用哺乳動物信號序列以及病毒分泌前導序列（例如單純疱疹gD信號）。該前驅區之DNA可在讀框中接合至編碼本申請案之抗體的DNA。

【0258】 通常，哺乳動物表現載體不需要複製起點組分（一般僅使用SV40來源，因為其含有早期啟動子）。

【0259】 表現及選殖載體可含有亦稱為可選標記之選擇基因。選擇基因可編碼蛋白質，其授予對抗生素或其他毒素（例如，安比西林、新黴素、甲胺

喋呤、或四環素）之抗性；補充營養缺陷型缺陷；或供應無法得自複雜培養基的關鍵營養素。

**【0260】** 選擇方案的一個實例利用藥物來遏制宿主細胞生長。該些經異源基因成功轉形之細胞生產授予抗藥性之蛋白質且因此在該選擇方案下存活。此類顯性選擇之實例使用藥物新黴素、黴酚酸、及潮黴素。

**【0261】** 用於哺乳動物細胞之合適可選標記的另一實例係該些使識別能夠攝取編碼本申請案抗體之核酸之細胞得以進行之標記。例如，首先藉由培養在含有甲胺喋呤(Mtx)（DHFR之競爭性拮抗劑）之培養基中之所有轉形物來識別經DHFR選擇基因轉形之細胞。當採用野生型DHFR時，例示性適當宿主細胞係缺乏DHFR活性之中國倉鼠卵巢(CHO)細胞系。替代地，可藉由使細胞在含有可選標記之選擇劑（諸如胺基糖苷抗生素）的培養基中生長來選擇經編碼多肽之DNA序列、野生型DHFR蛋白、及另一可選標記（諸如胺基糖苷3'-磷酸轉移酶(APH)）轉形或共轉形之宿主細胞（尤其是含有內源性DHFR之野生型宿主）。

**【0262】** 表現及選殖載體通常含有被宿主生物體辨識且可操作地連接至編碼所欲多肽序列之核酸的啟動子。真核細胞基因在距離轉錄起始之位點上游約25至30個鹼基處具有富含AT之區。可包括在許多基因之轉錄起點上游70至80個鹼基處發現之另一序列。大部分真核之3'端可為添加聚腺苷酸尾至編碼序列之3'端的信號。所有這些序列可被插入真核表現載體中。

**【0263】** 在哺乳動物宿主細胞中之載體的多肽轉錄可受到例如下列啟動子控制，只要該等啟動子能與宿主細胞系統相容：自病毒（諸如多瘤病毒、鳥

痘病毒、腺病毒（諸如腺病毒2）、牛乳頭狀瘤病毒、禽肉瘤病毒、巨細胞病毒、反轉錄病毒、B型肝炎病毒、及猿猴病毒40 (SV40)）之基因組獲得之啟動子、異源哺乳動物啟動子（例如，肌動蛋白啟動子或免疫球蛋白啟動子）、熱休克啟動子。

【0264】 由高級真核細胞轉錄編碼本揭露抗體之DNA通常藉由將增強子序列插入至載體中來增加。現已知之許多增強子序列來自哺乳動物基因（球蛋白、彈性酶、白蛋白、 $\alpha$ -胎兒蛋白、及胰島素）。實例包括在複製起點晚期側之SV40增強子（鹼基對100至270）、巨細胞病毒早期啟動子增強子、在複製起點晚期側之多瘤病毒增強子、及腺病毒增強子。有關活化真核啟動子之增強元件亦參見Yaniv, *Nature* 297:17-18 (1982)。增強子可經剪接至載體中之多肽編碼序列之5'或3'側位置，但較佳位點係位於啟動子之5'側。

【0265】 在真核宿主細胞（酵母菌、真菌、昆蟲、植物、動物、人類、或來自其他多細胞生物體之有核細胞）中使用之表現載體亦含有終止轉錄及穩定mRNA所需之序列。此類序列通常可得自真核或病毒DNA或cDNA之5'及偶而3'之非轉譯區。這些區域含有經轉錄為在編碼多肽之mRNA之非轉譯部分的多腺苷酸化片段之核苷酸區段。一種有用之轉錄終止組分係牛生長荷爾蒙多腺苷酸化區。

【0266】 用於選殖或表現本文載體中之DNA之合適宿主細胞包括本文所述之高級真核細胞，包括脊椎動物宿主細胞。在培養（組織培養）中增殖脊椎動物細胞已成為例行程序。有用哺乳動物宿主細胞系之實例係經SV40轉形之猴腎CV1細胞系(COS-7, ATCC CRL 1651)；人類胚胎腎細胞系（經次選殖以在懸

浮液培養中生長之293或293細胞，Graham *et al.*, *J. Gen Virol.*36:59 (1977)) ；  
 幼倉鼠腎細胞(BHK, ATCC CCL 10)；中國倉鼠卵巢細胞/-DHFR (CHO, Urlaub  
*et al.*, *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216 (1980))；小鼠塞托利細胞(mouse sertoli  
 cell) (TM4, Mather, *Biol. Reprod.*23:243-251 (1980))；猴腎細胞(CV1 ATCC CCL  
 70)；非洲綠猴腎細胞(VERO-76, ATCC CRL-1587)；人類子宮頸癌細胞(HELA,  
 ATCC CCL 2)；犬腎細胞(MDCK, ATCC CCL 34)；水牛鼠肝臟細胞(BRL 3A,  
 ATCC CRL 1442)；人類肺細胞(W138, ATCC CCL 75)；人類肝臟細胞(Hep G2,  
 HB 8065)；小鼠乳腺腫瘤(MMT 060562, ATCC CCL51)；TR1細胞(Mather *et al.*,  
*Annals N.Y.Acad. Sci.* 383:44-68 (1982))；MRC 5細胞；FS4細胞；及人類肝腫瘤  
 細胞系(Hep G2)。

【0267】 宿主細胞可經上述用於抗體生產之表現或選殖載體轉形並於習  
 知之營養培養基中培養，該營養培養基經調整以適合誘導啟動子、選擇轉形物  
 或擴增編碼所欲序列之基因。

【0268】 用於生產本申請案之抗體之宿主細胞可在多種培養基中培養。  
 市售培養基諸如Ham's F10 (Sigma)、最低必需培養基(MEM, Sigma)、RPMI-  
 1640 (Sigma)、及Dulbecco氏改良伊格爾氏培養基(DMEM, Sigma)適合用於培養  
 宿主細胞。此外，任何描述於Ham *et al.*, *Meth.Enz.*58:44 (1979)、Barnes *et al.*,  
*Anal.Biochem.*102:255 (1980)、美國專利第4,767,704號；第4,657,866號；第  
 4,927,762號；第4,560,655號；或第5,122,469號；WO 90/03430；WO  
 87/00195；或美國專利Re.30,985中之培養基可用來作為宿主細胞之培養基。必  
 要時任何這些培養基皆可補充荷爾蒙及/或其他生長因子（諸如胰島素、轉鐵蛋

白、或表皮生長因子）、鹽（諸如氯化鈉、鈣、鎂及磷酸鹽）、緩衝劑（諸如HEPES）、核苷酸（諸如腺苷及胸苷）、抗生素（諸如GENTAMYCIN™藥物）、微量元素（定義為通常以微莫耳範圍之最終濃度存在的無機化合物）、及葡萄糖或等效能量來源。亦可包括將為所屬技術領域中具有通常知識者所知之適當濃度的任何其他必要補充劑。培養條件（諸如溫度、pH、及類似條件）係選用來表現之宿主細胞先前所使用之條件，且將為所屬技術領域中具有通常知識者所顯而易知。

【0269】 使用重組技術時，抗體可生產於細胞內、週漿間隙(periplasmic space)中、或直接分泌至培養基中。如果在細胞內生產抗體作為第一步驟，則藉由例如離心或超過濾移除顆粒殘渣（不論是宿主細胞或經裂解之片段）。抗體經分泌至培養基中時，首先使用商用蛋白質濃縮過濾器（例如Amicon或Millipore Pellicon超過濾單元）大致上濃縮來自該表現系統之上清液。任何前述步驟可包括蛋白酶抑制劑（諸如PMSF）以抑制蛋白水解且可包括抗生素以預防伺機污染物生長。

【0270】 自細胞製備之蛋白質組成物可使用例如羧基磷灰石層析法、凝膠電泳、透析、及親和力層析法純化。在一些實施例中，自細胞製備之蛋白質組成物可使用AKTA層析法系統純化。親和力配體附接之基質最常為瓊脂糖，但亦可用其他基質。機械穩定基質（諸如可控孔隙玻璃或聚(苯乙烯-二乙烯)苯）允許較瓊脂糖可達到更快流速及更短處理時間。取決於待回收之抗體，亦可用其他蛋白質純化技術，諸如離子交換管柱上之分餾、乙醇沉澱、逆相HPLC、二氧化矽層析法、肝素SEPHAROSE™層析法、陰離子或陽離子交換樹脂層析

法（諸如聚天冬胺酸管柱）、色層集焦、SDS-PAGE、及硫酸銨沉澱。在任何（多個）初步純化步驟後，可使包含所關注抗體及汙染物之混合物經受低pH疏水性交互作用層析法。

## 5.5. 醫藥組成物

【0271】 在一個態樣中，本揭露進一步提供醫藥組成物，其包含至少一種本揭露之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，醫藥組成物包含治療有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段及醫藥上可接受之賦形劑。

【0272】 藉由將具有所欲純度之融合蛋白與可選的生理學上可接受之賦形劑（參見例如Remington, Remington's Pharmaceutical Sciences (18th ed. 1980)）混合，製備包含抗體或其抗原結合片段的醫藥組成物，以供以水溶液或凍乾形式或其他乾燥形式儲存。

【0273】 可將本揭露之抗體或其抗原結合片段調配成任何適用於遞送至目標細胞/組織之形式，例如作為微膠囊或巨乳液（上述Remington；Park *et al.*, 2005, Molecules 10:146-61；Malik *et al.*, 2007, Curr. Drug.Deliv.4:141-51）、持續釋放配方(Putney and Burke, 1998, Nature Biotechnol.16:153-57)、或微脂體(Maclean *et al.*, 1997, Int. J. Oncol. 11:325-32; Kontermann, 2006, Curr.Opin. Mol. Ther. 8:39-45)。

【0274】 亦可將本文提供之抗體或其抗原結合片段包埋於例如藉由凝聚技術或藉由界面聚合製備之微膠囊（例如，分別為羥甲基纖維素或明膠微膠囊及聚-(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊）、膠體藥物遞送系統（例如微脂體、白蛋白微

球、微乳液、奈米粒子、及奈米膠囊）、或巨乳液中。此類技術揭示於例如上述Remington中。

【0275】 各種組成物及遞送系統係已知的，且可與如本文所述之抗體或其抗原結合片段一起使用，包括但不限於封裝於微脂體、微粒、微膠囊中、能夠表現抗體或其抗原結合片段之重組細胞、受體介導之胞吞作用（參見例如 Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem.262:4429-32）、構築核酸作為反轉錄病毒或其他載體之一部分等。在另一實施例中，組成物可以控制釋放或持續釋放系統提供。在一個實施例中，可使用泵達成控制或持續釋放（參見例如上述Langer； Sefton, 1987, Crit.Ref. Biomed.Eng. 14:201-40； Buchwald *et al.*, 1980, Surgery 88:507-16；及Saudek *et al.*, 1989, N. Engl. J. Med.321:569-74）。在另一實施例中，可使用聚合材料來達成疾病預防劑或治療劑（例如，如本文所述之抗體或其抗原結合片段）或本文提供之組成物的控制或持續釋放（請參見例如Medical Applications of Controlled Release (Langer and Wise, eds., 1974)； Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen and Ball eds., 1984)； Ranger and Peppas, 1983, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.23:61-126； Levy *et al.*, 1985, Science 228:190-92； During *et al.*, 1989, Ann. Neurol.25:351-56； Howard *et al.*, 1989, J. Neurosurg. 71:105-12；美國專利第 5,679,377號；第5,916,597號；第5,912,015號；第5,989,463號；及第5,128,326號；PCT公開案WO 99/15154及WO 99/20253）。用於持續釋放配方之聚合物實例包括但不限於聚(2-羥基乙基甲基丙烯酸酯)、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(丙烯酸)、聚(乙烯-共-乙酸乙烯酯)、聚(甲基丙烯酸)、聚乙交酯(PLG)、聚酞、聚(N-乙基吡咯啉酮)、聚(乙烯醇)、聚丙醯胺、聚(乙二醇)、聚乳酸(PLA)、聚(乳

第 110 頁，共 184 頁(發明說明書)

交酯-共-乙交酯) (PLGA)、及聚原酸酯。在一個實施例中，用於持續釋放配方中之聚合物係惰性、無可滲出(leachable)雜質、儲存穩定、無菌、且可生物降解的。

【0276】 在又另一實施例中，可將控制或持續釋放系統放在靠近特定目標組織，例如鼻道或肺部，因此僅需要一小部分的系統劑量（參見例如，Goodson, Medical Applications of Controlled Release Vol. 2, 115-38 (1984)）。控制釋放系統係討論於例如Langer, 1990, Science 249:1527-33。可使用所屬技術領域中具有通常知識者已知的任何技術生產包含如本文所述之一或多種抗體或其抗原結合片段的持續釋放配方（參見例如美國專利第4,526,938號、PCT公開案第WO 91/05548號及第WO 96/20698號、Ning *et al.*, 1996, Radiotherapy & Oncology 39:179-89；Song *et al.*, 1995, PDA J. of Pharma. Sci. & Tech. 50:372-97；Cleek *et al.*, 1997, Pro. Int'l.Symp.Control.Rel.Bioact.Mater.24:853-54；及Lam *et al.*, 1997, Proc.Int'l.Symp.Control Rel.Bioact.Mater.24:759-60）。

## 5.6 使用抗體之方法

【0277】 在一個態樣中，本文提供一種減弱細胞中IL-1 $\beta$ 之活性的方法，其包含使細胞暴露於有效量的本文提供之抗體。

【0278】 在一些實施例中，本文提供之抗體抑制IL-1 $\beta$ 信號傳導路徑。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制IL-1 $\beta$ 生物活性。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制IL-6生產。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制CXCL5生產。在一些實施例中，本文提供之抗體係抑制G-CSF生產。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制IL-6、CXCL5、及G-CSF生產。在一些實施例中，本文提供之

第 111 頁，共 184 頁(發明說明書)

抗體抑制人類纖維母細胞中之IL-1 $\beta$ 生物活性。在一些實施例中，本文提供之抗體係抑制人類纖維母細胞中之IL-6、CXCL5、及G-CSF生產。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制人類纖維母細胞中之IL-1 $\beta$ 生物活性。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制人類周邊血液單核細胞(PBMC)樣本中之IL-1 $\beta$ 生物活性。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制人類全血樣本中之IL-1 $\beta$ 生物活性。

【0279】 在一些實施例中，本文提供之抗體與食蟹獼猴IL-1 $\beta$ 交叉反應。在一些實施例中，本文提供之抗體抑制食蟹獼猴纖維母細胞中之IL-1 $\beta$ 生物活性。

【0280】 。

【0281】 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 活性減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 活性減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-

1 $\beta$ 活性減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 活性減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0282】** IL-1 $\beta$ 活性之一個非限制性實例係IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導。因此，在某些實施例中，本文提供一種減弱（例如，部分地減弱）細胞中IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導的方法，其包含使細胞暴露於有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。

**【0283】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某

些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0284】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0285】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產

減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之CXCL5生產減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0286】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減

弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 誘導之G-CSF生產減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0287】** 在一些實施例中，本文提供之抗體減弱IL-1 $\beta$ 與其受體中之至少一者之結合。

**【0288】** IL-1 $\beta$ 活性之另一非限制性實例係與IL-1R1之結合。因此，在某些實施例中，本文提供一種減弱（例如，部分地減弱）IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合的方法，其包含使細胞暴露於有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。

**【0289】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約

50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1 $\beta$ 與IL-1R1之結合減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0290】** IL-1 $\beta$ 活性之又另一非限制性實例係由IL-1R1介導之信號傳導。因此，在某些實施例中，本文提供一種減弱（例如，部分地減弱）細胞中IL-1R1介導之信號傳導的方法，其包含使細胞暴露於有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。

**【0291】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減

弱至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約80%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約90%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1R1介導之信號傳導減弱約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1R1介導之信號傳導減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1R1介導之信號傳導減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1R1介導之信號傳導減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0292】** 在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約10%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約20%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約30%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約40%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約50%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約60%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約70%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約80%。在一些

實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約90%。

在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約95%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制至少約98%。在一些實施例中，本文提供之抗體將IL-1信號傳導路徑起始及進展抑制約100%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1信號傳導路徑起始及進展減弱（例如，部分地減弱）至少約15%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1信號傳導路徑起始及進展減弱（例如，部分地減弱）至少約20%至約65%。在某些實施例中，本文所述之抗體可將IL-1信號傳導路徑起始及進展減弱（例如，部分地減弱）至少約30%至約65%。

**【0293】** 在另一態樣中，本文提供一種治療對象的疾病或病症之方法，其包含向對象投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，疾病或病症係IL-1 $\beta$ 介導之疾病或病症。在一個實施例中，疾病或病症係IL-1R1介導之疾病或病症。本文亦提供一種治療疾病或病症之方法，其中向對象投予與本文提供之抗體或其抗原結合片段組合的一或多種治療劑。

**【0294】** 本揭露亦關於使用本文提供之抗體抑制（亦即拮抗）IL-1 $\beta$ 之功能的方法，以抑制IL-1信號傳導路徑活化，藉以調控發炎，導致病理病症（諸如癌症）之治療。在一些實施例中，癌症係肺癌。在一些實施例中，癌症係腎細胞癌。

**【0295】** 在一些實施例中，本文提供一種用於治療有需要之對象之IL-1 $\beta$ 介導之疾病或病症的方法，其包含向對象投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，本文提供一種用於治療有需要之

對象之發炎性疾病或病症的方法，其包含向對象投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，IL-1 $\beta$ 介導之疾病或病症係癌症，諸如肺癌或腎癌。

**【0296】** 在一些實施例中，本文提供一種治療對象之肺癌的方法，其包含向對象投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。投予可包含例如全身或局部遞送。

**【0297】** 在一些實施例中，對象已經診斷患有肺癌（例如非小細胞肺癌）。在一些實施例中，對象已經診斷患有0期非小細胞肺癌(NSCLC)。在一些實施例中，對象已經診斷患有1期NSCLC。在一些實施例中，對象已經診斷患有2期NSCLC。在一些實施例中，對象已經診斷患有2期NSCLC且已經歷手術。在一些實施例中，對象已經診斷患有3期NSCLC。在一些實施例中，對象已經診斷患有3期NSCLC且經歷手術。在一些實施例中，對象已經診斷患有4期NSCLC。

**【0298】** 在一些實施例中，本文提供一種治療對象之腎癌的方法，其包含向對象投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。

**【0299】** 在一些實施例中，對象已經診斷患有腎癌，例如腎細胞癌(RCC)。在一些實施例中，對象已經診斷患有1期。在一些實施例中，對象已經診斷患有2期RCC。在一些實施例中，對象已經診斷患有3期RCC。

**【0300】** 在一些實施例中，本文提供之抗體係用於肺癌之攔截。在一些實施例中，對象已經識別為處於發展肺癌之風險中。在一些實施例中，本文提

供一種降低對象之肺癌風險的方法，其包含向對象投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。

【0301】 可藉由所屬技術領域中已知的各種因素識別處於發展肺癌之風險中的對象。在一些實施例中，對象已經判定具有一或多個肺結節，諸如癌前肺結節（例如，如藉由電腦斷層成像所識別）。在一些實施例中，一或多個肺結節係癌前的。在一些實施例中，對象介於年齡約50歲至約80歲之間，且/或對象具有吸菸史，例如20包年的吸菸史。在一些實施例中，對象具有升高的C反應蛋白(C-reactive protein, CRP)水平。

【0302】 根據額外實施例，根據WO2021/146516（「SYSTEM AND METHOD FOR PREDICTING THE RISK OF FUTURE LUNG CANCER」，其以引用方式併入本文中）中所述之方法識別處於發展肺癌之風險中的對象，且向處於風險中的對象投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。例如，方法可包含藉由獲得自患者捕捉之一或多個影像（例如CT掃描）識別處於發展肺癌之風險中的對象；自一或多個所獲得之影像提取特徵（例如，所提取之特徵至少包含非結節特異性特徵，其中非結節特異性特徵包含肺實質特徵或身體組成特徵中之一或兩者）；藉由應用一或多個經訓練之風險預測模型分析自一或多個所獲得之影像提取的特徵，預測對象之一或多種未來肺癌風險；及若患者經識別為處於發展肺癌之風險中（例如，處於1年、3年、5年、或10年內發展肺癌之風險中），則向患者投予有效量的如本文所述之經單離IL-1 $\beta$ 抗體或其抗原結合片段。

【0303】 在一些實施例中，本文提供之抗體係用於肺癌之預防。預防可以係完全的，例如完全不存在IL-1 $\beta$ 相關之病況或病症。預防亦可以係部分的，使得對象發生IL-1 $\beta$ 相關之病況或代謝病症的可能性較未接受本揭露之抗體的對象更不太可能發生。

【0304】 以下章節5.7中更詳細描述投予及給藥之方法。

【0305】 在另一態樣中，本文提供一種本文提供之抗體或其抗原結合片段在製造用於治療對象的疾病或病症之藥劑中的用途。

【0306】 在另一態樣中，本文提供一種本文提供之醫藥組成物在製造用於治療對象的疾病或病症之藥劑中的用途。

【0307】 在另一態樣中，本文提供一種本文提供之抗體或其抗原結合片段在製造藥劑中的用途，其中該藥劑係用於偵測生物樣本中IL-1 $\beta$ 之存在的方法中，該方法包含使生物樣本在允許抗體與IL-1 $\beta$ 蛋白結合的條件下接觸抗體、及偵測抗體與IL-1 $\beta$ 蛋白之間是否形成複合物。

【0308】 在其他態樣中，本揭露之抗體及其片段可用於偵測生物樣本中IL-1 $\beta$ 之存在。如本文中所使用，用語「偵測(detecting)」涵蓋定量或定性偵測。在某些實施例中，生物樣本包含體液、細胞、或組織。以下章節5.9中更詳細描述診斷檢定及方法。

## 5.7 投予及給藥之方法

【0309】 在一具體實施例中，本文提供一種用於預防及/或治療疾病或病況之組成物，其包含本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種用於預防疾病或病況之組成物，其中組成物包含本文提供之抗體或

其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種用於治療疾病或病況之組成物，其中組成物包含本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1R1介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係發炎性疾病或病症。在一些實施例中，疾病或病症係癌症。在一些實施例中，癌症係肺癌。在一些實施例中，肺癌係非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係0期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係1期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係2期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係3期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係4期非小細胞肺癌。在一些實施例中，癌症係腎癌。在一些實施例中，腎癌係腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係1期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係2期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係3期腎細胞癌。在一些實施例中，對象係有需要之對象。在一些實施例中，對象患有疾病或病況。在其他實施例中，對象係處於患有疾病或病況之風險中。在一些實施例中，投予導致預防、管理、治療、或改善疾病或病況。

**【0310】** 在一個實施例中，本文提供一種用於預防及/或治療疾病或病況的症狀之組成物，其中組成物包含本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種用於預防疾病或病況的症狀之組成物，其中組成物包含本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種用於治療疾病或病況的症狀之組成物，其中組成物包含本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在一些實施例中，疾

病或病況係IL-1R1介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係發炎性疾病或病症。在一些實施例中，疾病或病症係癌症。在一些實施例中，癌症係肺癌。在一些實施例中，肺癌係非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係0期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係1期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係2期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係3期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係4期非小細胞肺癌。在一些實施例中，癌症係腎癌。在一些實施例中，腎癌係腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係1期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係2期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係3期腎細胞癌。在某些實施例中，對象係有需要之對象。在一些實施例中，對象患有疾病或病況。在其他實施例中，對象係處於患有疾病或病況之風險中。在一些實施例中，投予導致預防或治療疾病或病況之症狀。

**【0311】** 在另一實施例中，本文提供一種預防及/或治療對象的疾病或病況之方法，其包含投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種預防對象的疾病或病況之方法，其包含投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種治療對象的疾病或病況之方法，其包含投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1R1介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係發炎性疾病或病症。在一些實施例中，疾病或病症係癌症。在一些實施例中，癌症係

肺癌。在一些實施例中，肺癌係非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係0期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係1期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係2期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係3期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係4期非小細胞肺癌。在一些實施例中，癌症係腎癌。在一些實施例中，腎癌係腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係1期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係2期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係3期腎細胞癌。在某些實施例中，對象係有需要之對象。在一些實施例中，對象患有疾病或病況。在其他實施例中，對象係處於患有疾病或病況之風險中。在一些實施例中，投予導致預防或治療疾病或病況。

**【0312】** 在另一實施例中，本文提供一種預防及/或治療對象之疾病或病況之症狀的方法，其包含投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種預防對象之疾病或病況之症狀之方法，其包含投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一個實施例中，本文提供一種治療對象之疾病或病況之症狀之方法，其包含投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病況係IL-1R1介導之疾病。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係與IL-1 $\beta$ 相關。在一些實施例中，疾病或病症係發炎性疾病或病症。在一些實施例中，疾病或病症係癌症。在一些實施例中，癌症係肺癌。在一些實施例中，肺癌係非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係0期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係1期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係2期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係3

期非小細胞肺癌。在一些實施例中，肺癌係4期非小細胞肺癌。在一些實施例中，癌症係腎癌。在一些實施例中，腎癌係腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係1期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係2期腎細胞癌。在一些實施例中，腎細胞癌係3期腎細胞癌。在某些實施例中，對象係有需要之對象。在一些實施例中，對象患有疾病或病況。在其他實施例中，對象係處於患有疾病或病況之風險中。在一些實施例中，投予導致預防或治療疾病或病況之症狀。

**【0313】** 本文亦提供預防及/或治療疾病或病況之方法，其係藉向對象投予有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段、或包含本文提供之抗體或其抗原結合片段的醫藥組成物。在一個態樣中，抗體或其抗原結合片段實質上經純化（即，實質上不含限制其效應或產生非所欲副作用之物質）。療法所投予之對象可係哺乳動物，諸如非靈長類（例如牛、豬、馬、貓、犬、大鼠等）或靈長類（例如猴（諸如食蟹獼猴）或人類）。在一個實施例中，該對象為人類。在另一實施例中，對象係患有疾病或病況之人類。

**【0314】** 已知各種遞送系統且可用以投予疾病預防劑或治療劑（例如本文提供之抗體或其抗原結合片段）。投予疾病預防劑或治療劑（例如本文提供之抗體或其抗原結合片段）、或醫藥組成物之方法包括但不限於腸胃外投予（例如皮內、肌內、腹膜內、靜脈內、及皮下）、硬膜外、及黏膜（例如鼻內及口服途徑）。在一具體實施例中，疾病預防劑或治療劑（例如本文提供之抗體或其抗原結合片段）、或醫藥組成物經鼻內、肌內、靜脈內、或皮下投予。

**【0315】** 在一具體實施例中，可為所欲的是向需要治療之區域局部投予本文提供之疾病預防劑或治療劑、或醫藥組成物。此可藉由例如但不限於下列

方式達成：局部(local)輸注、局部(topical)投予（例如藉由鼻內噴霧）、注射、或藉由植入物之手段。

【0316】 在一具體實施例中，本文提供之組成物包含一種、二或更多種本文提供之抗體或其抗原結合片段。在另一實施例中，本文提供之組成物包含一、二、或更多種本文提供之抗體或其抗原結合片段及除本文提供之抗體或其抗原結合片段以外的疾病預防劑或治療劑。在一個實施例中，已知藥劑用於或已經用於或目前用於預防、管理、治療、及/或改善疾病或病況。除了疾病預防劑或治療劑之外，本文提供之組成物亦可包含一或多種賦形劑。

【0317】 本文提供之組成物包括適用於製造醫藥組成物（例如，適用於向個體或患者投予之組成物）之散裝藥物組成物，其可用於製備單位劑型。在一實施例中，本文提供之組成物為醫藥組成物。此類組成物包含疾病預防或治療有效量的一或多種疾病預防劑或治療劑（例如本文提供之抗體或其抗原結合片段或其他疾病預防劑或治療劑）、及一或多種醫藥上可接受之賦形劑。醫藥組成物可經調配為適用於對象的投予途徑。

【0318】 在一具體實施例中，用語「賦形劑」亦可指稀釋劑、佐劑（例如，弗氏佐劑(Freunds' adjuvant)（完全或不完全）、或媒劑。醫藥賦形劑可係無菌液體，諸如水及油（包括石油、動物、植物、或合成來源者）。當靜脈內投予醫藥組成物時，水係例示性賦形劑。鹽水溶液以及右旋糖及甘油水溶液亦可用作液體賦形劑，尤其用於可注射溶液。所欲時，組成物亦可含有少量濕潤劑、或乳化劑、或pH緩衝劑。這些組成物可採用溶液、懸浮液、乳液、錠劑、丸劑、膠囊、粉末、持續釋放配方、及類似者之形式。合適的醫藥賦形劑之非

限制性實例係描述於Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA。此類組成物將含有疾病預防或治療有效量的本文提供之抗體或其抗原結合片段（諸如呈純化形式）、連同合適量的（多種）賦形劑，以提供適當投予至患者的形式。配方應適合投予模式。

**【0319】** 在一實施例中，將組成物根據程序調配為經調適以用於靜脈投予至人類的醫藥組成物。

**【0320】** 通常，本文提供之組成物的成分係分開或以單位劑型混合在一起來供應，例如於氣密密封容器（諸如指示活性劑的量之安瓿或藥包 (sachette)）中作為乾凍乾粉劑或無水濃縮物。在欲藉由輸注投予組成物之情況下，其可用含有無菌醫藥等級水或鹽水之輸注瓶施配。在藉由注射投予組成物之情況下，可提供無菌注射用水或鹽水之安瓿，以便可在投予之前混合成分。

**【0321】** 可將本文提供之抗體或其抗原結合片段包裝於氣密密封容器中，諸如指示抗體的量之安瓿或藥包。在一個實施例中，抗體或其抗原結合片段係以乾滅菌凍乾粉劑或無水濃縮物於氣密密封容器中供應，且可例如用水或鹽水回溶至適當濃度以投予至對象。

**【0322】** 本文提供之組成物可調配為中性或鹽形式。醫藥上可接受之鹽包括與陰離子形成之鹽及與陽離子離子形成之鹽。

**【0323】** 將有效預防及/或治療疾病或病況的疾病預防劑或治療劑（例如本文提供之抗體或其抗原結合片段）、或本文提供之組成物之量可藉由所屬技術領域中已知的臨床技術判定。配方中所採用之精確劑量亦會取決於投予途

徑、及疾病或病況之嚴重性，並且應根據執業醫師之判斷及各患者之情況來決定。

【0324】 在某些實施例中，本文提供之抗體或抗原結合片段之劑量投予至患者的途徑係鼻內、肌內、靜脈內、皮下、或其組合，但本文所述之其他途徑亦係可接受的。各劑量可藉由或可不藉由相同投予途徑投予。在一些實施例中，本文提供之抗體或其抗原結合片段可經由多種投予途徑同時投予，或在本文提供之相同或不同抗體或其抗原結合片段之其他劑量之後投予。

【0325】 在某些實施例中，本文提供之抗體或其抗原結合片段係向對象疾病預防性或治療性投予。本文提供之抗體或其抗原結合片段可向對象疾病預防性或治療性投予，以預防、減輕、或改善其疾病或症狀。

## 5.8 基因療法

【0326】 在一具體實施例中，將包含編碼抗體或其功能衍生物之序列的核酸投予至對象，以用於本文提供之方法中，以例如藉由基因療法之方式預防、管理、治療、及/或改善IL-1 $\beta$ 介導之疾病、病症、或病況。此類療法涵蓋藉由向對象投予經表現或可表現核酸所執行之療法。在一實施例中，核酸生產其經編碼抗體，且抗體介導疾病預防或治療效應。

【0327】 可使用任何所屬技術領域中可用的重組基因表現（或基因療法）之方法。

【0328】 關於基因療法之方法的一般綜述，參見Goldspiel *et al.*, 1993, Clinical Pharmacy 12:488-505；Wu and Wu, 1991, Biotherapy 3:87-95；

Tolstoshev, 1993, Ann.Rev. Pharmacol.Toxicol.32:573-596；Mulligan, 1993,

第 129 頁，共 184 頁(發明說明書)

Science 260:926-932；及Morgan and Anderson, 1993, Ann.Rev. Biochem.62:191-217；May, 1993, TIBTECH 11(5):155-215。可使用的在重組DNA技術領域中普遍已知的方法係描述於Ausubel *et al.* (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；及Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)。

【0329】 在一具體實施例中，組成物包含編碼本文提供之抗體之核酸，該核酸係表現載體之一部分，該表現載體在合適宿主中表現抗體或嵌合蛋白或其重鏈或輕鏈。特定而言，此類核酸具有可操作地連接至抗體編碼區之啟動子，諸如異源啟動子，該啟動子具誘導性或組成性及視情況地組織特異性。在另一具體實施例中，使用核酸分子，其中抗體編碼序列及任何其他所欲序列側接促進在基因體之所欲部位發生同源重組之區域，因此提供編碼抗體之核酸的染色體內表現(Koller and Smithies, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935; Zijlstra *et al.*, 1989, Nature 342:435-438)。

【0330】 核酸可直接遞送至對象，在此情況下，使對象直接暴露於核酸或核酸攜帶載體，或間接遞送至對象，在此情況下，首先將細胞以核酸體外轉形，接著移植至對象體內。這二種方法分別稱為體內或離體基因療法。

【0331】 在一具體實施例中，直接體內投予核酸序列（例如DNA或mRNA序列），其中序列經表現以生產經編碼產物。此可藉由所屬技術領域中已知的許多方法中任一者完成，例如藉由將其構築為適當核酸表現載體之一部分且投予載體，使得序列變成胞內，例如藉由使用缺陷或減毒的反轉錄病毒或其他病毒載體感染（參見美國專利第4,980,286號）、或藉由直接注射裸DNA或

mRNA、或藉由使用微粒轟擊(bombardment) (例如基因槍; Biolistic, Dupont)、或用脂質或細胞表面受體或轉染劑包覆、封裝於微脂體、微粒、或微膠囊中、或藉由將其與已知進入核之肽鍵聯來投予、藉由將其與經受受體介導之胞吞作用的配體鍵聯來投予(參見例如Wu and Wu, 1987, J. Biol. Chem.262:4429-4432)(其可用於靶向特異性表現受體之細胞類型)等。在另一實施例中,可形成核酸-配體複合物,其中配體包含融合性病毒肽以破壞胞內體,藉此允許核酸避免溶酶體降解。在又一實施例中,核酸可藉由靶向特定受體而在體內靶向細胞特異性攝取及表現(參見例如,PCT公開案WO 92/06180; WO 92/22635; WO 92/20316; W093/14188、WO 93/20221)。替代地,可將核酸引入細胞內且藉由同源重組併入宿主細胞DNA內以表現(Koller and Smithies, 1989, Proc.Natl. Acad. Sci. USA 86:8932-8935;及Zijlstra *et al.*, 1989, Nature 342:435-438)。

【0332】 在一具體實施例中,使用含有編碼抗體之核酸序列之病毒載體。例如,可使用反轉錄病毒載體(參見Miller *et al.*, 1993, Meth.Enzymol.217:581-599)。這些反轉錄病毒載體含有正確包裝病毒基因體及整合至宿主細胞DNA中所需之組分。可將用於基因療法之編碼抗體之核酸序列選殖至一或多個載體中,其促進基因遞送至對象中。關於反轉錄病毒載體之更多細節可見於Boesen *et al.*, 1994, Biotherapy 6:291-302,其描述使用反轉錄病毒載體將MDR1基因遞送至造血幹細胞,以使幹細胞對化學療法更具抗性。說明反轉錄病毒載體在基因療法中之使用的其他參考文獻係:Clowes *et al.*, 1994, J. Clin. Invest.93:644-651; Klein *et al.*, 1994, Blood 83:1467-1473; Salmons and

Gunzberg, 1993, Human Gene Therapy 4:129-141 ; 及Grossman and Wilson, 1993, Curr.Opin. in Genetics and Devel.3:110-114 。

【0333】 腺病毒係可用於重組生產抗體之其他病毒載體。腺病毒係遞送基因至呼吸道上皮之特別具有吸引力之媒劑。腺病毒天然感染呼吸道上皮，其在呼吸道上皮造成輕微疾病。基於腺病毒之遞送系統的其他目標係肝臟、中樞神經系統、內皮細胞、及肌肉。腺病毒具有能夠感染非分裂細胞之優點。

Kozarsky and Wilson, 1993, Current Opinion in Genetics and Development 3:499-503呈現基於腺病毒之基因療法的綜述。Bout *et al.*, 1994, Human Gene Therapy 5:3-10展示使用腺病毒載體將基因轉移至恆河猴之呼吸道上皮。在基因療法中使用腺病毒之其他情況可見於Rosenfeld *et al.*, 1991, Science 252:431-434 ;

Rosenfeld *et al.*, 1992, Cell 68:143-155 ; Mastrangeli *et al.*, 1993, J. Clin.

Invest.91:225-234 ; PCT公開案W094/12649 ; 及Wang *et al.*, 1995, Gene Therapy 2:775-783。在一具體實施例中，使用腺病毒載體。

【0334】 亦可利用腺相關病毒(AAV) ( Walsh *et al.*, 1993, Proc.Soc.Exp.Biol. Med.204:289-300 ; 及美國專利第5,436,146號) 。在一具體實施例中，使用AAV載體表現如本文所提供之抗IL-1 $\beta$ 抗體。在某些實施例中，AAV包含編碼VH域之核酸。在其他實施例中，AAV包含編碼VL域之核酸。在某些實施例中，AAV包含編碼VH域及VL域之核酸。在本文提供之方法之一些實施例中，向對象投予包含編碼VH域之核酸的AAV及包含編碼VL域之核酸的AAV。在其他實施例中，向對象投予包含編碼VH域及VL域之核酸的AAV。在某些實施例中，過度表現VH及VL域。

【0335】 基因療法之另一種方法涉及藉由諸如電穿孔、脂質體轉染、磷酸鈣介導之轉染、或病毒感染之方法將基因轉移至組織培養的細胞中。通常，轉移之方法包括將可選標記轉移至細胞。接著將細胞放置在選擇下以單離該些已攝取且表現經轉移之基因的細胞。接著將該等細胞遞送至對象。

【0336】 在此實施例中，在體內投予所得重組細胞之前，將核酸引入細胞中。此類引入可藉由所屬技術領域中已知之任何方法進行，包括但不限於轉染、電穿孔、顯微注射、感染含有核酸序列之病毒或噬菌體載體、細胞融合、染色體介導之基因轉移、微細胞介導之基因轉移、球形質體融合等。用於將外來基因引入細胞中之許多技術係所屬技術領域中已知（參見例如例如，Loeffler 及 Behr, 1993, Meth.Enzymol.217:599-618；Cohen *et al.*, 1993, Meth.Enzymol.217:618-644；Clin.Pharma.Ther.29:69-92 (1985)）且可根據本文提供之方法使用，惟其接受者細胞之必要發展及生理功能並未受到破壞。技術應提供核酸穩定轉移至細胞，使得核酸可由細胞表現，諸如可由其細胞後代遺傳及表現。

【0337】 可藉由所屬技術領域中已知的各種方法將所得重組細胞遞送至對象。重組血液細胞（例如，造血幹細胞或祖細胞）可經靜脈內投予。設想供使用之細胞的量取決於所欲效應、患者狀態等，且可由所屬技術領域中具有通常知識者決定。

【0338】 出於基因療法之目的而可引入核酸之細胞涵蓋任何所欲、可得之細胞類型，且包括但不限於上皮細胞、內皮細胞、角質細胞、纖維母細胞、肌肉細胞、肝細胞；血液細胞諸如T淋巴球、B淋巴球、單核球、巨噬細胞、嗜

中性球、嗜酸性球、巨核細胞、顆粒球；多種幹細胞或祖細胞，特別是造血幹細胞或祖細胞，例如獲自骨髓、臍帶血、周邊血液、胎兒肝臟等。

【0339】 在一具體實施例中，用於基因療法之細胞係對象之自體細胞。

【0340】 在使用重組細胞之基因療法之一實施例中，將編碼抗體之核酸序列引入細胞中，使得其可由細胞或其後代表現，接著體內投予重組細胞以用於治療效應。在一具體實施例中，使用幹細胞或祖細胞。可單離且於體外維持之任何幹細胞及/或祖細胞均可潛在地根據本文提供之方法之此實施例使用（參見例如，PCT公開案WO 94/08598；Stemple and Anderson, 1992, Cell 7 1:973-985；Rheinwald, 1980, Meth.Cell Bio.21A:229；及Pittelkow and Scott, 1986, Mayo Clinic Proc.61:771）。

【0341】 在一具體實施例中，出於基因療法之目的而引入之核酸包含可操作地連接至編碼區之誘導性啟動子，以使核酸之表現可藉由控制適當轉錄誘導物之存在或不存在來控制。

## 5.9. 診斷檢定及方法

【0342】 免疫特異性結合至IL-1 $\beta$ 抗原之經標示之抗體、及其衍生物及類似物可用於診斷目的，以偵測、診斷、或監測IL-1 $\beta$ 介導之疾病。因此，本文提供用於偵測IL-1 $\beta$ 介導之疾病的方法，其包含：(a)使用本文提供之免疫特異性結合至IL-1 $\beta$ 抗原之一或多種抗體檢定IL-1 $\beta$ 抗原在對象之細胞或組織樣本中之表現；及(b)比較IL-1 $\beta$ 抗原之水平與對照水平，例如在正常組織樣本（例如，來自未患有IL-1 $\beta$ 介導之疾病之患者、或來自疾病發作之前之相同患者）中

之水平，藉此IL-1 $\beta$ 抗原之檢定水平相較於IL-1 $\beta$ 抗原之對照水平增加指示IL-1 $\beta$ 介導之疾病。

【0343】 本文亦提供一種用於診斷IL-1 $\beta$ 介導之疾病的診斷檢定，其包含：(a)使用本文提供之免疫特異性結合至IL-1 $\beta$ 抗原之一或多種抗體檢定IL-1 $\beta$ 抗原在個體之細胞或組織樣本中之水平；及(b)比較IL-1 $\beta$ 抗原之水平與對照水平，例如正常組織樣本中之水平，藉此IL-1 $\beta$ 抗原之檢定水平相較於IL-1 $\beta$ 抗原之對照水平增加指示IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在某些實施例中，本文提供一種治療對象之IL-1 $\beta$ 介導之疾病的方法，其包含：(a)使用本文提供之免疫特異性結合至IL-1 $\beta$ 抗原之一或多種抗體檢定IL-1 $\beta$ 抗原在對象之細胞或組織樣本中之水平；及(b)比較IL-1 $\beta$ 抗原之水平與對照水平，例如正常組織樣本中之水平，藉此IL-1 $\beta$ 抗原之檢定水平相較於IL-1 $\beta$ 抗原之對照水平增加指示IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在一些實施例中，該方法進一步包含(c)向經識別為患有IL-1 $\beta$ 介導之疾病之對象投予有效量的本文提供之抗體。IL-1 $\beta$ 介導之疾病之更明確診斷可允許健康專業人員更早採用預防性措施或侵略性治療，藉此預防IL-1 $\beta$ 介導之疾病的發展或進一步進展。

【0344】 本文提供之抗體可用以使用如本文所述或如所屬技術領域中具有通常知識者已知的經典免疫組織學方法檢定生物樣本中之IL-1 $\beta$ 抗原水平（例如，參見Jalkanen *et al.*, 1985, J. Cell.Biol. 101:976-985；及Jalkanen *et al.*, 1987, J. Cell.Biol. 105:3087-3096）。可用於偵測蛋白質基因表現之其他基於抗體之方法包括免疫檢定，諸如酶聯免疫吸附檢定(ELISA)及放射免疫檢定(RIA)。合適抗體檢定標示係所屬技術領域中已知且包括酶標示，諸如葡萄糖氧化酶；放射

性同位素，諸如碘(125I, 121I)、碳(14C)、硫(35S)、氚(3H)、銦(121In)、及鎝(99Tc)；發光標示，諸如魯米諾；及螢光標示，諸如螢光素及玫瑰紅、及生物素。

**【0345】** 本文提供之一個態樣係偵測及診斷人類之IL-1 $\beta$ 介導之疾病。在一個實施例中，診斷包含：a)向對象投予（例如腸胃外、皮下、或腹膜內）有效量的免疫特異性結合至IL-1 $\beta$ 抗原之經標示之抗體；b)在投予後等待一段時間間隔，以允許經標示之抗體集中在對象中表現IL-1 $\beta$ 抗原之部位（及未結合之經標示之分子清除至背景水平）；c)判定背景水平；及d)偵測對象中經標示之抗體，使得偵測到高於背景水平的經標示之抗體指示對象患有IL-1 $\beta$ 介導之疾病。背景水平可藉由多種方法判定，包括比較偵測到的經標示之分子的量與先前針對特定系統所判定之標準值。

**【0346】** 所屬技術領域將理解對象的體型及所使用的成像系統將決定產生診斷影像所需之成像部份的數量。在放射性同位素部份之情況下，對人類對象而言，所注射之放射活性的數量通常將在約5至20毫居禮之99Tc的範圍內。經標示之抗體接著將累積在含有特定蛋白質之細胞的位置。體內腫瘤成像係描述於S.W. Burchiel *et al.*, “Immunopharmacokinetics of Radiolabeled Antibodies and Their Fragments.” (Chapter 13, Tumor Imaging: The Radiochemical Detection of Cancer, S.W. Burchiel and B.A.Rhodes, eds., Masson Publishing Inc. (1982)。

**【0347】** 取決於數個變項，包括所使用之標示類型及投予模式，在投予之後允許經標示之抗體集中在對象中之部位及未結合之經標示之抗體清除至背景水平的時間間隔係6至48小時或6至24小時或6至12小時。在另一實施例中，在投予後的時間間隔係5至20天或5至10天。

【0348】 在一個實施例中，監測IL-1 $\beta$ 介導之疾病係藉由在例如初始診斷之後一個月、初始診斷之後六個月、初始診斷之後一年等重複用於診斷IL-1 $\beta$ 介導之疾病的方法來進行。

【0349】 可在對象中使用所屬技術領域中已知之用於體內掃描之方法偵測經標示之分子之存在。這些方法取決於所使用之標示的類型。所屬技術領域中具有通常知識者將能夠決定用於偵測特定標示之適當方法。可用於本文提供之診斷方法中之方法及裝置包括但不限於電腦斷層掃描(CT)、全身掃描（諸如正子發射斷層掃描(PET)）、磁共振造影(MRI)、及超音波掃描(sonography)。

【0350】 在一具體實施例中，將分子用放射性同位素標示並使用放射反應性手術儀器在患者中偵測（Thurston等人之美國專利第5,441,050號）。在另一實施例中，將分子用螢光化合物標示並使用螢光反應性掃描儀器在患者中偵測。在另一實施例中，將分子用正子發射金屬標示並使用正子發射斷層掃描在患者中偵測。在又一實施例中，將分子用順磁標示來標示並使用磁共振造影(MRI)在患者中偵測。

## 5.10 套組

【0351】 本文亦提供套組，其包含包裝至合適包裝材料中之本文提供之抗體（例如抗IL-1 $\beta$ 抗體）或其組成物（例如醫藥組成物）。套組視情況地包括標示或包裝插入物，其包括組分之說明或其中之組分的體外、體內、或離體使用說明。

【0352】 用語「包裝材料(packaging material)」係指容納套組之組分的物理結構。包裝材料可維持組分無菌性，且可由常用於此類目的之材料製成（例如，紙、瓦楞纖維、玻璃、塑膠、箔、安瓿、小瓶、試管等）。

【0353】 本文提供之套組可包括標示或插入物。標示或插入物包括「印刷物」，例如紙或硬紙板，其為分開的或附著至組分、套組、或包裝材料（例如，盒）、或附接至例如含有套組組分之安瓿、試管、或小瓶。標示或插入物可額外包括電腦可讀取媒體，諸如磁碟（例如，硬碟、卡、記憶體磁碟）、光碟，諸如CD-或DVD-ROM/RAM、DVD、MP3、磁帶、或電儲存媒體，諸如RAM及ROM或此等之混合，諸如磁/光學儲存媒體、FLASH媒體、或記憶型卡。標示或插入物可包括識別製造商資訊、批號、製造商地址、及日期的資訊。

【0354】 本文提供之套組可額外包括其他組分。套組之各組分可封閉在個別容器內，且所有各種容器可在單一包裝內。套組亦可針對冷藏設計。套組可進一步設計以含有本文提供之抗體，或含有編碼本文提供之抗體的核酸之細胞。套組中之細胞可維持在適當儲存條件下直到使用就緒。

【0355】 本文亦提供免疫特異性結合至IL-1 $\beta$ 抗原之抗體小組。在具體實施例中，本文提供抗體小組，其對IL-1 $\beta$ 抗原具有不同的締合速率常數、不同的解離速率常數、不同的親和力、及/或對IL-1 $\beta$ 抗原具有不同的特異性。在某些實施例中，本文提供約10種、較佳地約25、約50、約75、約100、約125、約150、約175、約200、約250、約300、約350、約400、約450、約500、約550、約600、約650、約700、約750、約800、約850、約900、約950、或約1000種或

更多種抗體之小組。抗體小組可用於例如96孔或384孔盤中，諸如用於諸如ELISA之檢定。

**【0356】** 除非另有定義，否則本文中所使用之所有技術及科學用語皆具有本發明所屬之技術領域中具有通常知識者所共同理解的相同含義。雖然類似或等效於本文所述者之方法及材料可用於本發明之實務或測試中，本文中仍描述合適方法及材料。

**【0357】** 如本文中所使用，數值通常在本文件通篇中以範圍格式呈現。除非上下文以其他方式清楚指示，否則範圍格式之使用僅出於方便及簡潔起見，且不應解讀為對於本發明之範圍的剛性限制。因此，明示使用之範圍包括所有可能的子範圍、在該範圍內之所有個別數值、及在該等範圍內之所有數值或數字範圍包括整數、及範圍內之分數或整數，除非上下文以其他方式清楚指示。此構築無論範圍之廣度如何皆適用且適用於本專利文件通篇的所有上下文中。因此，例如指涉90至100%之範圍包括91至99%、92至98%、93至95%、91至98%、91至97%、91至96%、91至95%、91至94%、91至93%等等。指涉90至100%之範圍亦包括91%、92%、93%、94%、95%、95%、97%等、以及91.1%、91.2%、91.3%、91.4%、91.5%等、92.1%、92.2%、92.3%、92.4%、92.5%等，諸如此類。

**【0358】** 另外，指涉範圍1至3、3至5、5至10、10至20、20至30、30至40、40至50、50至60、60至70、70至80、80至90、90至100、100至110、110至120、120至130、130至140、140至150、150至160、160至170、170至180、180至190、190至200、200至225、225至250包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、

10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20等。在一進一步實例中，指涉範圍25至250、250至500、500至1,000、1,000至2,500、2,500至5,000、5,000至25,000、25,000至50,000包括在該等數值內之任何數值或範圍或涵蓋該等數值，例如25、26、27、28、29...250、251、252、253、254...500、501、502、503、504...等。

**【0359】** 在本文件通篇中揭示本文亦使用之系列範圍。系列範圍之使用包括上限與下限範圍之組合以提供另一範圍。此構築無論範圍之廣度如何皆適用且適用於本專利文件通篇的所有上下文中。因此，例如指涉諸如5至10、10至20、20至30、30至40、40至50、50至75、75至100、100至150之系列範圍包括諸如5至20、5至30、5至40、5至50、5至75、5至100、5至150、及10至30、10至40、10至50、10至75、10至100、10至150、及20至40、20至50、20至75、20至100、20至150之範圍，諸如此類。

**【0360】** 為了簡潔起見，在本文中使用某些縮寫。一個實例係代表胺基酸殘基之單字母縮寫。胺基酸及其對應之三字母及單字母縮寫如下：

|       |     |     |
|-------|-----|-----|
| 丙胺酸   | Ala | (A) |
| 精胺酸   | Arg | (R) |
| 天冬醯胺酸 | Asn | (N) |
| 天冬胺酸  | Asp | (D) |
| 半胱胺酸  | Cys | (C) |
| 麩胺酸   | Glu | (E) |
| 麩醯胺酸  | Gln | (Q) |
| 甘胺酸   | Gly | (G) |
| 組胺酸   | His | (H) |
| 異白胺酸  | Ile | (I) |
| 白胺酸   | Leu | (L) |

|      |     |     |
|------|-----|-----|
| 離胺酸  | Lys | (K) |
| 甲硫胺酸 | Met | (M) |
| 苯丙胺酸 | Phe | (F) |
| 脯胺酸  | Pro | (P) |
| 絲胺酸  | Ser | (S) |
| 蘇胺酸  | Thr | (T) |
| 色胺酸  | Trp | (W) |
| 酪胺酸  | Tyr | (Y) |
| 纈胺酸  | Val | (V) |

【0361】 本發明大致上在本文中使用肯定的語言描述多個實施例來揭示。本發明亦具體地包括其中完全或部分排除特定主題之實施例，諸如物質或材料、方法步驟及條件、計劃書、程序、檢定、或分析。因此，即使本發明大致上並未在本文中就本發明所不包括方面明示，但仍在本文中揭示非明示包括在本發明中的態樣。

【0362】 已經描述本發明之數個實施例。儘管如此，將理解的是，在不偏離本發明之精神及範圍下，可做出各種修改。因此，下列實例旨在說明但不限制申請專利範圍中所述之發明範圍。

6. 實施例

【0363】 本發明提供以下非限制性實施例。

【0364】 在一組實施例中，所提供者係：

- 1. 一種結合 IL-1β 之抗體，其包含：
  - (1) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的 VH 之 VH

- CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列；
- (2) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列；或
- (3) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列。
2. 如實施例 1 之抗體，(i)其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 Kabat 編號系統；(ii)其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 Chothia 編號系統；(iii)其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3

胺基酸序列係根據 AbM 編號系統；(iv)其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 Contact 編號系統；且/或(v)其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 胺基酸序列係根據 IMGT 編號系統。

3. 一種結合 IL-1 $\beta$  之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 67、及 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 68、及 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 69、及 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 70、及SEQ ID NO: 88之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 71、及SEQ ID NO: 89之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 72、及SEQ ID NO: 90之胺基酸序列的VL CDR3；

- (2) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 73、及 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 74、及 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 75、及 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有選自 SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 76、及 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 77、及 SEQ ID NO: 95 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 78、及 SEQ ID NO: 96 之胺基酸序列的 VL CDR3；或
- (3) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 80、及 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 81、及 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

(ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 82、及SEQ ID NO: 100之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 83、及SEQ ID NO: 101之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 84、及SEQ ID NO: 102之胺基酸序列的VL CDR3。

4. 一種結合 IL-1 $\beta$  之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的VL CDR3；
- (2) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的VL CDR3；

- (3) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 27 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 28之胺基酸序列的VL CDR1；具  
有SEQ ID NO: 29之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 30  
之胺基酸序列的VL CDR3；
- (4) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 33 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 34之胺基酸序列的VL CDR1；具  
有SEQ ID NO: 35之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 36  
之胺基酸序列的VL CDR3；
- (5) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 39 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 40之胺基酸序列的VL CDR1；具  
有SEQ ID NO: 41之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 42  
之胺基酸序列的VL CDR3；
- (6) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 45 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的VL CDR3；
- (7) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 52之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的VL CDR3；
- (8) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 58之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的VL CDR3；
- (9) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 64之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 66之胺基酸序列的VL CDR3；

- (10) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 69 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列的 VL CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO:  
72 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (11) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 75 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列的 VL CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO:  
78 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (12) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 81 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列的 VL CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO:  
84 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (13) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID  
NO: 87 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 88之胺基酸序列的VL CDR1；  
具有SEQ ID NO: 89之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 90之胺基酸序列的VL CDR3；
- (14) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 94之胺基酸序列的VL CDR1；  
具有SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 96之胺基酸序列的VL CDR3；或
- (15) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列的 VH CDR1；  
具有 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 100之胺基酸序列的VL CDR1；  
具有SEQ ID NO: 101之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 102之胺基酸序列的VL CDR3。
- 5. 如實施例 1 至 4 中任一者之抗體，其中該抗體進一步包含一或多個如 SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、及/或 SEQ ID NO: 12 中所示之骨架區。
- 6. 如實施例 1 至 5 中任一者之抗體，其中：
  - (i) 該抗體包含具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的 VL；

- (ii) 該抗體包含具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 VL；或
  - (iii) 該抗體包含具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 VL。
7. 如實施例 1 至 6 中任一者之抗體，其中該抗體係人源化抗體。
  8. 如實施例 1 至 7 中任一者之抗體，其中該抗體係 IgG 抗體。
  9. 如實施例 8 之抗體，其中該 IgG 抗體係 IgG1、IgG2、IgG3、或 IgG4 抗體。
  10. 如實施例 1 至 9 中任一者之抗體，其中該抗體包含  $\kappa$  輕鏈。
  11. 如實施例 1 至 9 中任一者之抗體，其中該抗體包含  $\lambda$  輕鏈。
  12. 如實施例 1 至 11 中任一者之抗體，其中該抗體包含突變 Fc 區。
  13. 如實施例 12 之抗體，其中該突變 Fc 區包含 M252Y/S254T/T256E (YTE)突變。
  14. 如實施例 1 至 13 中任一者之抗體，其中該抗體係單株抗體。
  15. 如實施例 1 至 14 中任一者之抗體，其中該抗體結合 IL-1 $\beta$  抗原。
  16. 如實施例 1 至 14 中任一者之抗體，其中該抗體結合 IL-1 $\beta$  表位。
  17. 如實施例 1 至 14 中任一者之抗體，其中該抗體特異性結合至 IL-1 $\beta$ 。
  18. 如實施例 1 至 17 中任一者之抗體，其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 形成針對該 IL-1 $\beta$  之抗原的結合位點。

19. 如實施例 1 至 15 中任一者之抗體，其中該 VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 形成針對該 IL-1 $\beta$  之表位的結合位點。
20. 如實施例 1 至 19 中任一者之抗體，其中該抗體係多特異性的。
21. 如實施例 20 之抗體，其中該抗體能夠結合至少兩種抗原。
22. 如實施例 20 之抗體，其中該抗體能夠結合至少三種抗原。
23. 如實施例 20 之抗體，其中該抗體能夠結合至少四種抗原。
24. 如實施例 20 之抗體，其中該抗體能夠結合至少五種抗原。
25. 一種結合分子，其包含如實施例 1 至 24 中任一者之抗體，其中該抗體經基因融合或化學接合至藥劑。
26. 一種核酸，其編碼如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。
27. 一種載體，其包含如實施例 26 之核酸。
28. 一種宿主細胞，其包含如實施例 27 之載體。
29. 一種套組，其包含如實施例 27 之載體及該載體之包裝。
30. 一種套組，其包含如實施例 1 至 24 中任一者之抗體及該抗體之包裝。
31. 一種醫藥組成物，其包含如實施例 1 至 24 中任一者之抗體、及一或多種醫藥上可接受之賦形劑。
32. 一種產生如實施例 31 之醫藥組成物之方法，其包含將該抗體與一或多種醫藥上可接受之賦形劑組合，以獲得該醫藥組成物。
33. 一種抑制細胞中 IL-1 $\beta$  或 IL-1 $\beta$  介導之信號傳導之方法，其包含使該細胞接觸如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。

34. 一種抑制細胞中 IL-1 $\beta$  誘導之 IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及/或 G-CSF 之生產的方法，其包含使該細胞接觸如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。
35. 一種減少細胞中 IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及/或 G-CSF 之生產的方法，其包含使該細胞接觸如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。
36. 一種抑制 IL-1 $\beta$  表現性細胞之生長或增生的方法，其包含使該等細胞接觸如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。
37. 如實施例 33 至 36 中任一者之方法，其中該（等）細胞係在患有疾病或病症之對象中。
38. 一種在對象中抑制 IL-1 $\beta$  之方法，其包含向該對象投予如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。
39. 一種用於治療對象之疾病或病症之方法，其包含向該對象投予如實施例 1 至 24 中任一者之抗體。
40. 如實施例 37 或 39 之方法，其中該疾病或病症係 IL-1 $\beta$  相關疾病或病症。
41. 如實施例 40 之方法，其中該 IL-1 $\beta$  相關疾病或病症係發炎性疾病或病症。
42. 如實施例 40 之方法，其中該 IL-1 $\beta$  相關疾病或病症係癌症。
43. 如實施例 42 之方法，其中該癌症係肺癌。
44. 如實施例 43 之方法，其中該肺癌係非小細胞肺癌，其中視情況地該非小細胞肺癌已達到 0 期、1 期、2 期、3 期、或 4 期。

45. 如實施例 42 之方法，其中該癌症係腎癌
46. 如實施例 45 之方法，其中該腎癌係腎細胞癌。
47. 如實施例 46 之方法，其中該腎細胞癌已達到 1 期、2 期、或 3 期。
48. 一種經單離蛋白質，其包含結合 hIL-1 $\beta$  之抗原結合域，其中該抗原結合域結合至 hIL-1 $\beta$  上之表位，該表位具有選自圖 1 中所識別之表位的序列。
49. 如實施例 48 之經單離蛋白質，其中該經單離蛋白質結合至與 05H21A 相同的（多個）表位。
50. 如實施例 48 之經單離蛋白質，其中該經單離蛋白質結合至與 15N14A 相同的（多個）表位。
51. 如實施例 48 之經單離蛋白質，其中該經單離蛋白質結合至與 08F17A 相同的（多個）表位。

**【0365】** 本發明之特定實施例係描述於本文中。在閱讀前述說明時，所揭示實施例之變化對於所屬技術領域中具有通常知識者而言可變得顯而易見，且預期該等技術領域中具有通常知識者可視情況採用此類變化。因此，本發明意欲以除本文中具體描述以外之方式實施本發明，且本發明包括適用法律允許之所附申請專利範圍中所記載之標的之所有修改及等效物。此外，除非本文中另有指示或以其他方式與上下文明顯矛盾，否則呈其所有可能變型之上述元件之任何組合均由本發明所涵蓋。已經描述本發明之數個實施例。儘管如此，將理解的是，在不偏離本發明之精神及範圍下，可做出各種修改。因此，實例章節中之描述旨在說明但不限制申請專利範圍中所述之發明範圍。

7. 實例

【0366】 以下為本研究中所使用之各種方法及材料的說明，並且係經陳述，以提供所屬技術領域中具有通常知識者如何製造及使用本揭露之完整揭露及說明，且非意圖限制本發明人關於其揭露之範疇，亦非意圖表示以下的實驗係經執行且為可執行的所有實驗。應理解，以現在式書寫之例示性描述非必然執行，而是該描述可被執行以產生與本揭露之教示相關聯之資料及類似者。已致力於確保關於所使用數字（例如，量、百分比等）之精確性，但應將一些實驗誤差及偏差納入考量。

7.1 實例1：IL- 1β mAb分子設計、序列、及結構

【0367】 產生能夠中和IL-1β信號傳導路徑之高親和力且有效的抗IL-1β抗體分子。編碼具有降低生物活性之人類IL-1β變體(D145K)的DNA免疫活動(campaign)係在Alivamab基因轉殖小鼠平台上進行。本文所述之三個先導物（殖株：05H21A、15N14A、及08F17A）經Fc工程改造以包括增加抗體半衰期之YTE突變(M252Y/S254T/T256E)。

【0368】 先導候選物之HC及LC之胺基酸序列顯示於下**表3**中。先導候選物之VL及VH胺基酸序列係顯示於**表4**中。在先導候選物之各鏈中的3個互補決定區(CDR)係顯示於**表5**至**表9**中。

表3.先導抗IL-1β mAb之HC及LC AA序列

| 名稱 | HC AA 序列 | LC AA 序列 |
|----|----------|----------|
|----|----------|----------|

| 名稱                              | HC AA 序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | LC AA 序列                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 05H21A 重鏈<br>同型：IgG1-YTE 輕鏈同型：λ | QVTLRESGPALVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTS<br>GMWVSWIRQPPGKALEWLALIDWGDDKYY<br>TTSCLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVD<br>TATYYCARMREGSRAFDIWGQGTVVTVSSA<br>STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY<br>FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY<br>SLSSVTVPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV<br>DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL<br>FPPKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVVDVSHEDPEV<br>KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV<br>VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI<br>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV<br>SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT<br>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID<br>NO: 1) | QSVLTQPPSVSEAPRQR<br>VTISCSGSSSNIGDNAV<br>NWWYQQLP GKAPKLLIY<br>NDDLSSGVSDRFGSGK<br>SGTSASLAISGLQSEDE<br>ADYYCAA WDDSLNGP<br>VFGGGTKLTVLGQPKA<br>APSVTLFPPSSEELQAN<br>KATLVCLISDFYPGAVT<br>VAWKADSSPVKAGVE<br>TTTPSKQSNNKYAASS<br>YLSLTPEQWKSHRSYS<br>CQVTHEGSTVEKTVAP<br>TECS(SEQ ID NO: 2)      |
| 15N14A 重鏈<br>同型：IgG1-YTE 輕鏈同型：λ | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSY<br>YWTWIRQPAGKGLEWIGRIDSSGSSKYNPTL<br>KSRVTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVY<br>YCARGDSGYDWA FDYWGQGT LVTVSSAST<br>KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP<br>EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL<br>SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV<br>DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP<br>PKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVVDVSHEDPEVKFN<br>WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV<br>LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKT<br>ISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT<br>CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT<br>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 3)   | QAVLTQPSSLSASPGAS<br>ASLTCTLRSGINVGTYR<br>IYWYQQKPGSPQQYLL<br>SYKSDSDKQQGSGVPS<br>RFGSGKDASANVGILLI<br>SGLQSEDEADYYCMIW<br>HSSAWVFGGGTKLTVL<br>GQPKAAPSVTLFPPSSE<br>ELQANKATLVCLISDFY<br>PGAVTVAWKADSSPVK<br>AGVETTTTPSKQSNNKY<br>AASSYLSLTPEQWKSH<br>RSYSCQVTHEGSTVEK<br>TVAPTECS (SEQ ID NO: 4) |
| 08F17A 重鏈<br>同型：IgG1-YTE 輕鏈同型：κ | EVQLVESGGGLVTPGGSLRLSCAASGFTFSG<br>YSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSGYIYYA<br>DSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAEDT<br>AVYYCAREYWGS GFDYWGQGT LVTVSSAS<br>TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYF<br>PEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS<br>LSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD<br>KKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP<br>PKPKDTL <u>YITRE</u> PEVTCVVVDVSHEDPEVKF<br>NWWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS<br>VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK<br>TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL<br>TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT<br>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS<br>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 5)   | DIQMTQSPSSLSASVGD<br>RVTITCRASQGSIYYLA<br>WYQQKPGKVPKLLISA<br>EFTLQSGVPSRFGSGSGS<br>GTDFTLTISLQPEDVA<br>TYYCQKYNTAPRTFGQ<br>GTKVEIKRTVAAPSVFI<br>FPPSDEQLKSGTASVVC<br>LLNNFYPREAKVQWK<br>VDNALQSGNSQESVTE<br>QDSKDYSTYLSSTLTLS<br>KADYEEKHKVYACEVT<br>HQGLSSPVTKSFNRGEC<br>(SEQ ID NO: 6)         |

表4.先導抗IL-1β mAb之VH及VL AA序列

| 名稱     | VH AA 序列                                                                                                                                                 | VL AA 序列                                                                                                                                               |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 05H21A | QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTF<br>SGFSLSTSGMWVSWIRQPPGKAL<br>EWLALIDWGDDKYTTSLKTRLT<br>ISKDTSKNQVVLTMNMDPVDTA<br>TYYCARMREGSRAFDIWGQGT<br>VTVSS (SEQ ID NO: 7)  | QSVLTQPPSVSEAPRQRVTISCSGSS<br>SNIGDNAVNWYQQLPGKAPKLLIY<br>NDDLSSGVSDRFGSGSKSGTSASLA<br>ISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGP<br>VFGGGTKLTVL (SEQ ID NO: 8)          |
| 15N14A | QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTV<br>SGGSISSYYWTWIRQPAGKGLEW<br>IGRIDSSGSSKYNPTLKSRTMSV<br>DTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYY<br>CARGDSGYDWAFDYWGQGT<br>TVSS (SEQ ID NO: 9)  | QAVLTQPSSLSASPGASASLTCTLR<br>SGINVGTYRIYWYQQKPGSPPQYL<br>LSYKSDSDKQQGSGVPSRFGSGKD<br>ASANVGILLISGLQSEDEADYYCMI<br>WHSSAWVFGGGTKLTVL (SEQ ID<br>NO: 10) |
| 08F17A | EVQLVESGGGLVTPGGSRLSCA<br>ASGFTFSGYSMNWVRQAPGKGL<br>EWVSSISSSSGYIYYADSVKGRFT<br>ISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTA<br>VYYCAREYWGSQFDYWGQGT<br>VTVSS (SEQ ID NO: 11) | DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRA<br>SQGISYYLAWYQQKPGKVPKLLIS<br>AEFTLQSGVPSRFGSGSGTDFTLTI<br>SSLQPEDVATYYCQKYNTAPRTFG<br>QGTEVEIK (SEQ ID NO: 12)             |

表5.先導抗IL-1β mAb之Kabat CDR AA序列

| 名稱     | HCDR1                         | HCDR2                                       | HCDR3                                 | LCDR1                                    | LCDR2                                | LCDR3                              |
|--------|-------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|
| 05H21A | TSGMWVS<br>(SEQ ID<br>NO: 13) | LIDWGDD<br>KYYTTS<br>LK (SEQ ID<br>NO: 14)  | MREGSR<br>AFDI<br>(SEQ ID<br>NO: 15)  | SGSSNI<br>GDAVN<br>(SEQ ID<br>NO: 16)    | NDDLSS<br>(SEQ ID<br>NO: 17)         | AAWDDSL<br>NGPV (SEQ<br>ID NO: 18) |
| 15N14A | SYWT<br>(SEQ ID<br>NO: 19)    | RIDSSGSSK<br>YNPTLKS<br>(SEQ ID<br>NO: 20)  | GDSGYD<br>WAFDY<br>(SEQ ID<br>NO: 21) | TLRSGIN<br>VGTYRIY<br>(SEQ ID<br>NO: 22) | YKSDSD<br>KQGS<br>(SEQ ID<br>NO: 23) | MIWHSSA<br>WV (SEQ<br>ID NO: 24)   |
| 08F17A | GYSMN<br>(SEQ ID<br>NO: 25)   | SISSSGYI<br>YYADSVK<br>G (SEQ ID<br>NO: 26) | EYWGS<br>FDY (SEQ<br>ID NO: 27)       | RASQGIS<br>YYLA<br>(SEQ ID<br>NO: 28)    | AEFTLQS<br>(SEQ ID<br>NO: 29)        | QKYNTAP<br>RT (SEQ ID<br>NO: 30)   |

表6.先導抗IL-1β mAb之Chothia CDR AA序列

| 名稱 | HCDR1 | HCDR2 | HCDR3 | LCDR1 | LCDR2 | LCDR3 |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|

|        |                                  |                              |                                       |                                       |                                       |                                    |
|--------|----------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| 05H21A | GFSLSTS<br>GM (SEQ<br>ID NO: 31) | DWGDD<br>(SEQ ID<br>NO: 32)  | MREGSRA<br>FDI (SEQ<br>ID NO: 33)     | SGSSSNIGD<br>NAVN (SEQ<br>ID NO: 34)  | NDDLSS<br>(SEQ ID<br>NO: 35)          | AAWDDSL<br>NGPV (SEQ<br>ID NO: 36) |
| 15N14A | GGSISSY<br>(SEQ ID<br>NO: 37)    | DSSGS<br>(SEQ ID<br>NO: 38)  | GDSGYD<br>WAFDY<br>(SEQ ID<br>NO: 39) | TLRSGINVG<br>TYRIY (SEQ<br>ID NO: 40) | YKSDSDK<br>QQGS<br>(SEQ ID<br>NO: 41) | MIWHSSA<br>WV (SEQ<br>ID NO: 42)   |
| 08F17A | GFTFSGY<br>(SEQ ID<br>NO: 43)    | SSSSGY<br>(SEQ ID<br>NO: 44) | EYWGSFG<br>DY (SEQ<br>ID NO: 45)      | RASQGISY<br>LA (SEQ ID<br>NO: 46)     | AEFTLQS<br>(SEQ ID<br>NO: 47)         | QKYNTAP<br>RT (SEQ ID<br>NO: 48)   |

表7.先導抗IL-1β mAb之AbM CDR AA序列

| 名稱     | HCDR1                                  | HCDR2                             | HCDR3                                 | LCDR1                                    | LCDR2                                 | LCDR3                              |
|--------|----------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| 05H21A | GFSLSTSG<br>MWVS<br>(SEQ ID<br>NO: 49) | LIDWGDD<br>KY (SEQ<br>ID NO: 50)  | MREGSRA<br>FDI (SEQ<br>ID NO: 51)     | SGSSSNIG<br>DNAVN<br>(SEQ ID<br>NO: 52)  | NDDLSS<br>(SEQ ID<br>NO: 53)          | AAWDDSL<br>NGPV (SEQ<br>ID NO: 54) |
| 15N14A | GGSISSYY<br>WT (SEQ<br>ID NO: 55)      | RIDSSGSS<br>K (SEQ ID<br>NO: 56)  | GDSGYD<br>WAFDY<br>(SEQ ID<br>NO: 57) | TLRSGINV<br>GTYRIY<br>(SEQ ID<br>NO: 58) | YKSDSDK<br>QQGS<br>(SEQ ID<br>NO: 59) | MIWHSSAW<br>V (SEQ ID<br>NO: 60)   |
| 08F17A | GFTFSGYS<br>MN(SEQ<br>ID NO: 61)       | SISSSSGYI<br>Y (SEQ ID<br>NO: 62) | EYWGSFG<br>DY (SEQ<br>ID NO: 63)      | RASQGISY<br>YLA(SEQ<br>ID NO: 64)        | AEFTLQS<br>(SEQ ID<br>NO: 65)         | QKYNTAPR<br>T (SEQ ID<br>NO: 66)   |

表8.先導抗IL-1β mAb之Contact CDR AA序列

| 名稱     | HCDR1                           | HCDR2                                  | HCDR3                                   | LCDR1                                | LCDR2                                    | LCDR3                             |
|--------|---------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------|
| 05H21A | STSGMW<br>VS (SEQ<br>ID NO: 67) | WLALID<br>WGDDKY<br>(SEQ ID<br>NO: 68) | ARMREG<br>SRAFD<br>(SEQ ID<br>NO: 69)   | IGDNAV<br>NWY<br>(SEQ ID<br>NO: 70)  | LLIYNDD<br>LLS (SEQ<br>ID NO: 71)        | AAWDDSL<br>NGP (SEQ<br>ID NO: 72) |
| 15N14A | SSYYWT<br>(SEQ ID<br>NO: 73)    | WIGRID<br>SGSSK<br>(SEQ ID<br>NO: 74)  | ARGDSG<br>YDWA<br>FD (SEQ ID<br>NO: 75) | NVGTYRI<br>YWY<br>(SEQ ID<br>NO: 76) | YLLSYKS<br>DSDKQ<br>G (SEQ ID<br>NO: 77) | MIWHSSA<br>W (SEQ ID<br>NO: 78)   |
| 08F17A | SGYSMN<br>(SEQ ID<br>NO: 79)    | WVSSISS<br>SGYIY<br>(SEQ ID<br>NO: 80) | AREYWG<br>SGFD<br>(SEQ ID<br>NO: 81)    | SYYLAW<br>Y (SEQ ID<br>NO: 82)       | LLISAEFT<br>LQ (SEQ<br>ID NO: 83)        | QKYNTAP<br>R (SEQ ID<br>NO: 84)   |

表9.先導抗IL-1β mAb之IMGT CDR AA序列

| 名稱     | HCDR1                                | HCDR2                          | HCDR3                                    | LCDR1                            | LCDR2                          | LCDR3                              |
|--------|--------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| 05H21A | GFSLSTS<br>GMW<br>(SEQ ID<br>NO: 85) | IDWGDD<br>K (SEQ ID<br>NO: 86) | ARMREG<br>SRAFDI<br>(SEQ ID<br>NO: 87)   | SSNIGDN<br>A (SEQ ID<br>NO: 88)  | NDD<br>(SEQ ID<br>NO: 89)      | AAWDDSL<br>NGPV (SEQ<br>ID NO: 90) |
| 15N14A | GGSISSY<br>Y (SEQ ID<br>NO: 91)      | IDSSGSS<br>(SEQ ID<br>NO: 92)  | ARGDSG<br>YDWAFD<br>Y (SEQ ID<br>NO: 93) | SGINVGT<br>YR (SEQ<br>ID NO: 94) | YKSDSD<br>K (SEQ ID<br>NO: 95) | MIWHSSA<br>WV (SEQ<br>ID NO: 96)   |
| 08F17A | GFTFSGY<br>S (SEQ ID<br>NO: 97)      | ISSSSGYI<br>(SEQ ID<br>NO: 98) | AREYWG<br>SGFDY<br>(SEQ ID<br>NO: 99)    | QGISYY<br>(SEQ ID<br>NO: 100)    | AEF (SEQ<br>ID NO:<br>101)     | QKYNTAP<br>RT (SEQ ID<br>NO: 102)  |

7.1.1 05H21A、15N14A、及08F17A之分子設計

【0369】 05H21A、15N14A、及08F17A係結合至人類IL-1β之免疫球蛋白G1 (IgG1)單株抗體(mAb)。抗體特徵係在恆定區中之M252Y、S254T、及T256E突變（YTE，EU編號），以增強與新生兒Fc受體(FcRn)在pH ~ 6下之交互作用，藉以增強FcRn介導之胞內體再循環，導致更長的血清暴露(Dall'Acqua et al., J Biol Chem, 2006. 281(33): 23514-241; Dall'Acqua et al., J Immunol, 2002. 169(9): 5171-80)。此等mAb經開發用於靶向人類IL-1β並阻斷其與IL-1R1之結合、及抑制IL-1β信號傳導（其係與癌症有關的發炎性路徑）(Ridker, P.M. et al., Lancet, 2017. 390(10105): 1833-1842)。

7.1.2 編碼序列之來源

【0370】 05H21A、15N14A、及08F17A係藉由將具有人類抗體貯庫之基因轉殖小鼠(Ablexis®)用編碼hIL-1 $\beta$  D145K之重組DNA免疫來獲得。將此等三種先導抗體次選殖(sub-cloned)至人類IgG1-YTE恆定區中並重組表現。

### 7.1.3 序列及結構

#### 7.1.3.1 05H21A、15N14A、及08F17A之胺基酸序列

【0371】 如由05H21A、15N14A、08F17A之cDNA序列所推導並藉由肽圖譜(peptide mapping)及質譜法確認，其等之HC及LC之胺基酸序列係顯示於表3中。各鏈中之3個互補決定區(CDR)係顯示於表5至表9中。05H21A、15N14A、及08F17A之VL及VH胺基酸序列係顯示於表4中。在HC位置1之麩醯胺酸(Q)殘基及在LC位置1之麩醯胺酸(Q)構成05H21A及15N14A之成熟鏈之N端。在HC位置1之麩胺酸(E)殘基及在LC位置1之天冬胺酸(Q)構成08F17A之成熟鏈之N端。在05H21A、15N14A、及08F17A之重鏈恆定域中之YTE突變在表1中以粗體及加底線顯示。

#### 7.1.3.2 藉由EpiVax EpiMatrix對05H21A、15N14A、及08F17A可變域進行電腦模擬免疫原性風險評估

【0372】 使用來自EpiVax Epimatrix電腦模擬免疫原性預測程式之調節T(T<sub>reg</sub>)調整評分來分析mAb可變區序列之潛在免疫原性(De Groot et al., Clin Immunol, 2009.131(2): 189-201)。EpiVax Epimatrix程式計算與在「超類型(supertype)」或分組之各者內最常見的HLA分子之結合潛力。報告提供的結果代表>90%的全球人口，而無需個別地測試各單倍型。EpiVax評分係藉由聚集

在給定蛋白質序列內所含有之所有預測的T細胞表位之EpiMatrix評分並調整預期的T細胞表位含量及蛋白質長度來計算。EpiVax評分及EpiVax解釋係如下表10中所示。

表10. 05H21A（抗hu IL-1β）之免疫原性評估

| Ab 名稱  | 鏈資訊   | EpiVax 評分 |
|--------|-------|-----------|
| 05H21A | 輕鏈 VL | -61.54    |
|        | 重鏈 VH | -35.07    |
| 15N14A | 輕鏈 VL | 3.31      |
|        | 重鏈 VH | 14.84     |
| 08F17A | 輕鏈 VL | -42.83    |
|        | 重鏈 VH | -37.91    |

7.2 實例2：產生05H21A、15N14A、及08F17A之表現構築體

【0373】 合成編碼05H21A、15N14A、及08F17A抗體之cDNA，並將其  
在ATUM (CA, USA)次選殖至Leap-In Transposase<sup>®</sup>麩醯胺酸合成酶表現載體骨  
架中。接著將雙基因表現質體轉移至JRD (PA, USA)之製造質體產生組  
(Manufacturing Plasmid Generation Group)，且在NeoGenomics Laboratories (CA,  
USA)確認其序列。

【0374】 重鏈及輕鏈基因之初級轉錄本核苷酸序列係列於表11中。

表11. 05H21A、15N14A、及08F17A之HC及LC核苷酸序列

| 名稱     | LC 核苷酸序列                                                 | HC 核苷酸序列                                                                                                  |
|--------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 05H21A | CAGTCTGTGCTGACCC<br>AGCCTCCATCTGTGTCT<br>GAGGCCCTAGACAGA | CAAGTGACCCTGAGAGAGTCTGGACCCGCTCT<br>GGTCAAGCCCACACAGACCCTGACACTGACCT<br>GCACCTTCTCCGGCTTCTCCCTGTCCACCTCTG |

| 名稱     | LC 核苷酸序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | HC 核苷酸序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|        | GAGTGACCATCTCCTG<br>CTCCGGCTCCTCCTCTA<br>ACATCGGCGATAACGC<br>CGTGAAGTGGTATCAG<br>CAGCTGCCTGGCAAGG<br>CCCCTAAACTGCTGAT<br>CTACAACGACGACCTG<br>CTGTCTCTGGCGTGTC<br>CGACAGATTCTCCGGC<br>TCTAAGTCTGGCACCTC<br>CGCCAGCCTGGCTATC<br>TCTGGATTGCAGTCTG<br>AGGACGAGGCCGACTA<br>CTACTGTGCCGCCTGG<br>GACGATTCTCTGAACG<br>GCCCTGTTTTTGGCGGA<br>GGCACCAAGCTGACAG<br>TCCTGGGTCAGCCCAA<br>GGCTGCACCCAGTGTC<br>ACTCTGTTCCCGCCCTC<br>CTCTGAGGAGCTTCAA<br>GCCAACAAGGCCACAC<br>TGGTGTGTCTCATAAGT<br>GACTTCTACCCGGGAG<br>CCGTGACAGTGGCCTG<br>GAAGGCCGATAGCAGC<br>CCCGTCAAGGCGGGAG<br>TCGAAACCACCACACC<br>CTCCAAACAAAGCAAC<br>AACAAGTACGCGGCCA<br>GCAGCTATCTGAGCCT<br>GACGCCTGAGCAGTGG<br>AAGTCCCACAGAAGCT<br>ACAGCTGCCAGGTCAC<br>GCATGAAGGGAGCACC<br>GTGGAGAAGACAGTGG<br>CCCCTACAGAATGTTC<br>A (SEQ ID NO: 103) | GAATGTGGGTGTCCTGGATCAGACAGCCTCCT<br>GGCAAGGCACTGGAATGGCTGGCTCTGATCGA<br>TTGGGGCGACGACAAGTACTACACCACCAGCC<br>TGAAAACCCGGCTGACCATCTCCAAGGACACC<br>TCCAAGAACCAGGTGGTGCTGACCATGACCAA<br>CATGGACCCTGTGGACACCGCCACCTACTACT<br>GCGCCAGAATGAGAGAGGGATCCAGAGCCTTC<br>GATATCTGGGGCCAGGGAACCGTGGTCACCGT<br>TTCTTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTT<br>CCCCCTGGCACCTCCTCCAAGAGCACCTCTG<br>GGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAG<br>GACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTG<br>GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACA<br>CCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCT<br>ACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCC<br>AGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAA<br>CGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG<br>ACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAA<br>ACTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGA<br>ACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCC<br>CCCAAAACCCAAGGACACCCTCTACATCACCC<br>GGGAGCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGAC<br>GTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAA<br>CTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATG<br>CCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAA<br>CAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCG<br>TCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG<br>TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGCCCTCCC<br>AGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCA<br>AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACAC<br>CCTGCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGA<br>ACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC<br>TTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA<br>GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAG<br>ACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTC<br>CTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA<br>AGAGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCA<br>TGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCA<br>CTACACGCAGAAGTCTCTCTCCCTGTCTCCGG<br>GAAAA (SEQ ID NO: 104) |
| 15N14A | CAGGCTGTTCTGACCC<br>AGCCTAGCTCTCTGTCT<br>GCTTCTCCTGGCGCTTC<br>CGCCTCTCTGACCTGCA<br>CACTGAGATCCGGCAT<br>CAACGTGGGCACCTAC<br>CGGATCTACTGGTATC<br>AGCAGAAGCCTGGCAG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | CAGGTTCACTGCAAGAGTCTGGACCCGGCCT<br>GGTCAAGCCTTCCGAGACACTGTCTCTGACCT<br>GCACCGTGTCTGGCGGCTCCATCTCCTCTTACT<br>ATTGGACCTGGATCAGACAGCCTGCCGGCAAA<br>GGCCTGGAATGGATCGGCAGAATCGACTCCTC<br>CGGCTCCTCCAAGTACAACCCACACTGAAGT<br>CCAGAGTGACCATGTCCGTGGACACCTCCAAG<br>AACCAGTTCTCCCTGAAGCTGTCCTCCGTGAC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

| 名稱     | LC 核苷酸序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | HC 核苷酸序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|        | CCCTCCTCAGTACCTGC<br>TGTCCTACAAGTCCGA<br>CTCCGACAAGCAGCAA<br>GGCTCTGGCGTGCCCT<br>CTAGATTCTCCGGCTCT<br>AAGGACGCCTCCGCCA<br>ATGTGGGCATCCTGCT<br>GATCTCTGGCCTGCAG<br>TCTGAGGACGAGGCCG<br>ACTACTACTGCATGAT<br>CTGGCACTCCTCCGCCT<br>GGGTTTTTCGGAGGCCG<br>AACAAAGCTGACAGTC<br>CTGGGTCAGCCCAAGG<br>CTGCACCCAGTGTAC<br>TCTGTTCCCGCCCTCCT<br>CTGAGGAGCTTCAAGC<br>CAACAAGGCCACACTG<br>GTGTGTCTCATAAGTG<br>ACTTCTACCCGGGAGC<br>CGTGACAGTGGCCTGG<br>AAGGCCGATAGCAGCC<br>CCGTCAAGGCGGGAGT<br>CGAAACCACCACACCC<br>TCCAAACAAAGCAACA<br>ACAAGTACGCGGCCAG<br>CAGCTATCTGAGCCTG<br>ACGCCTGAGCAGTGGA<br>AGTCCCACAGAAGCTA<br>CAGCTGCCAGGTCACG<br>CATGAAGGGAGCACCG<br>TGGAGAAGACAGTGGC<br>CCCTACAGAATGTTCA<br>(SEQ ID NO: 105) | CGCTGCTGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCA<br>GAGGCGACTCTGGATACGACTGGGCCTTTGAC<br>TATTGGGGCCAGGGCACACTGGTCACCGTTTC<br>TTCTGCCTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCC<br>CCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGG<br>GCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGAC<br>TACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGAA<br>CTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT<br>TCCCGGCTGTCTACAGTCCTCAGGACTCTACT<br>CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC<br>AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGT<br>GAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC<br>AAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC<br>TCACACATGCCACCGTGCCACAGCACCTGAAC<br>TCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCC<br>CAAAACCCAAGGACACCTCTACATCACCCGG<br>GAGCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGT<br>GAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACT<br>GGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCC<br>AAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACA<br>GCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTC<br>CTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA<br>CAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGCCCTCCCAG<br>CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAA<br>GGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCT<br>GCCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAAC<br>CAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTT<br>CTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGA<br>GCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGAC<br>CACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT<br>TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAG<br>AGCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATG<br>CTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACT<br>ACACGCAGAAAGTCTCTCTCCCTGTCTCCGGGA<br>AAA (SEQ ID NO: 106) |
| 08F17A | GACATCCAGATGACCC<br>AGTCTCCATCCTCTCTG<br>TCCGCTTCTGTGGGCG<br>ACAGAGTGACCATCAC<br>CTGTAGAGCCTCTCAG<br>GGCATCTCCTACTACCT<br>GGCCTGGTATCAGCAG<br>AAACCCGGCAAGGTGC<br>CCAAGCTGCTGATCTCT<br>GCTGAGTTCACCCTGC<br>AGTCTGGCGTGCCCTCT<br>AGATTCTCCGGCTCTG<br>GCTCTGGCACCGACTTT<br>ACCCTGACAATCTCCA<br>GCCTGCAGCCTGAGGA                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | GAGGTGCAGCTGGTTGAATCTGGCGGAGGACT<br>GGTTACCCCTGGCGGATCTCTGAGACTGTCTT<br>GTGCCGCTCTGGCTTCACCTTCTCCGGCTACT<br>CTATGAACTGGGTCCGACAGGCTCCTGGCAAA<br>GGCCTGGAATGGGTGTCCTCCATCTCCTCCAG<br>CAGCGGCTACATCTACTACGCCGACTCCGTGA<br>AGGGCAGATTACCATCTCCAGAGACAACGCC<br>AAGAACTCCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCT<br>GAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGTG<br>CCAGAGAGTATTGGGGCTCCGGCTTCGATTAT<br>TGGGGCCAAGGAACACTGGTCACCGTGTCTCT<br>TGCCTCCACCAAGGGGCCCATCGGTCTTCCCCCT<br>GGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCA<br>CAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC<br>TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAATC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |

| 名稱 | LC 核苷酸序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | HC 核苷酸序列                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|    | TGTGGCCACCTACTACT<br>GCCAGAAGTACAACAC<br>CGTCTCTCGGACCTTTG<br>GCCAGGGCACCAAGGT<br>GGAAATCAAGCGTACT<br>GTGGCTGCACCATCTG<br>TCTTCATCTTCCCGCCA<br>TCTGATGAGCAGTTGA<br>AATCTGGAAGTGCCTC<br>TGTTGTGTGCCTGCTGA<br>ATAACTTCTATCCCAG<br>AGAGGCCAAAGTACAG<br>TGGAAGGTGGATAACG<br>CCCTCCAATCGGGTAA<br>CTCCAGGAGAGTGTC<br>ACAGAGCAGGACAGCA<br>AGGACAGCACCTACAG<br>CCTCAGCAGCACCTG<br>ACGCTGAGCAAAGCAG<br>ACTACGAGAAACACAA<br>AGTCTACGCCTGCGAA<br>GTCACCCATCAGGGCC<br>TGAGCTCGCCCGTCAC<br>AAAGAGCTTCAACAGG<br>GGAGAGTGT (SEQ ID<br>NO: 107) | AGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCC<br>CGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCC<br>TCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGC<br>TTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA<br>TCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAG<br>AAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCA<br>CACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCC<br>TGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCCA<br>AAACCCAAGGACACCCTCTACATCACCCGGGA<br>GCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA<br>GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG<br>TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAA<br>GACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGC<br>ACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCT<br>GCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC<br>AAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGCCCTCCCAGC<br>CCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG<br>GGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG<br>CCCCCATCCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACC<br>AGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC<br>TATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG<br>CAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACC<br>ACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTT<br>CTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA<br>GCAGATGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGC<br>TCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTA<br>CACGCAGAAGTCTCTCTCCCTGTCTCCGGGAA<br>AA (SEQ ID NO: 108) |

【0375】 如由cDNA序列所推導並藉由肽圖譜及質譜法確認，05H21A、15N14A、及08F17A之成熟胺基酸序列係顯示於上表3中。

7.3 實例3：05H21A、15N14A、及08F17A之生物物理評估

7.3.1 05H21A、15N14A、及08F17A與人類IL-β之結合親和力（藉由SPR）

【0376】 05H21A、15N14A、及08F17A對人類IL-1β之親和力評估係藉由表面電漿共振(SPR)使用Biacore 8k執行。亦評估相同抗體小組對食蟹獼猴、小鼠、大鼠、及豬IL-1β之交叉反應性。

【0377】 SPR係一種無標示技術，其藉由測量在複合物形成及解離時之質量變化來研究兩個結合夥伴之間的交互作用強度。簡言之，將抗體固定在與山羊抗人類Fc偶合之感測晶片（GAH-Fc C1感測晶片）上。使可溶性IL-1β流過經固定之抗體，且監測締合/解離反應。藉由將感測圖(sensorgram)擬合至1:1 Langmuir模型來提取動力學資訊（締合速率及解離速率常數）。結合親和力(K<sub>D</sub>)係記述為速率常數之比率((k<sub>off</sub>/k<sub>on</sub>)。結合評估結果係顯示於表12中。

【0378】 05H21A、15N14A、及08F17A分別以~20pM、~64pM、及~180pM之高親和力結合人類IL-1βδ。05H21A、15N14A、及08F17A亦以~22pM、~70pM、及~1.7nM之親和力與食蟹獼猴IL-1βδ具有交叉反應性。所有三種Ab皆顯示與小鼠、大鼠、及豬IL-1β 無交叉反應性或具有弱交叉反應性。

表12.05H21A、15N14A、及08F17A之結合評估

| mAb 特徵            | 05H21A                                                             | 15N14A                                                          | 08F17A                                                           |
|-------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 與人類 IL-β 之結合親和力   | KD (M) = 1.97E-11<br>ka (1/Ms) = 2.14E+07<br>kd (1/s) = 4.22E-04   | KD (M) = 6.4E-11<br>ka (1/Ms) = 2.20E+06<br>kd (1/s) = 1.41E-04 | KD (M) = 1.8E-10<br>ka (1/Ms) = 8.55E-05<br>kd (1/s) = 1.82E-10  |
| 與食蟹獼猴 IL-β 之結合親和力 | KD (M) = 2.20E-11 M<br>ka (1/Ms) = 1.58E+07<br>kd (1/s) = 3.48E-04 | KD = 7.0E-11<br>ka (1/Ms) = 3.01E+06<br>kd (1/s) = 2.09E-04     | KD (M) = 1.71E-09<br>ka (1/Ms) = 1.72E+05<br>kd (1/s) = 2.95E-04 |
| 與小鼠 IL-β 之結合親和力   | 弱結合<br>KD >100 nM                                                  | 無結合                                                             | 無結合                                                              |
| 與大鼠 IL-β 之結合親和力   | 弱結合，<br>KD >100 nM                                                 | KD = 7.45E-08<br>ka (1/Ms) = 7.71E+05<br>kd (1/s) = 5.74E-02    | 無結合                                                              |
| 與豬 IL-β 之結合親和力    | 無結合                                                                | 無結合                                                             | 無結合                                                              |

7.3.2 05H21A、15N14A、及08F17A之表位識別（藉由HDX）

【0379】 藉由氫氘交換質譜法(HDX-MS)判定IL-1 $\beta$ 上之表位。使用基於氫氘交換之LC-MS的所選抗體在IL-1 $\beta$ 上之表位定位係顯示於圖1中。

【0380】 用於HDX-MS之交換(*on-exchange*)實驗。交換反應係藉由以下起始：將10  $\mu$ L的10  $\mu$ M IL-1 $\beta$  (R&D Systems)（其係hIL-1 $\beta$ 之殘基117至269 (Uniprot ID P01584; **SEQ ID NO: 109**)）與或不與1.2莫耳過量的配體及30  $\mu$ L的H<sub>2</sub>O或氘化緩衝液（20 mM MES (pH 6.4)、於95% D<sub>2</sub>O中之150 mM NaCl；或20 mM Tris (pH 8.4)、於95% D<sub>2</sub>O中之150 mM NaCl）混合。將反應混合物在1.2°C下培養15、50、150、500、或1,500 s。將交換溶液藉由添加冰鎮之40  $\mu$ L的1.6 M胍鹽酸鹽、0.8%甲酸淬熄並立即分析。

【0381】 **IL-1 $\beta$**  (Uniprot ID P01584) (**SEQ ID NO: 109**) :

MAEVP ELASEMMAY YSGNEDDLFF EADGPKQMKCSFQDL DLCPLDGGI  
QLRISDHHYSKGFRQAASVVVAMD KLRKMLVPCPQTFQENDLSTFFPFIFEE  
EPIFFDTWDNEAYVHDAPVRSLNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQD  
MEQQVVFSMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVD  
PKNYPKKKMEKRFVFNKIEINN KLEFESAQFPN WYISTSQAENMPVFLGGTK  
GGQDITDFTMQFVSS

【0382】 用於HDX-MS數據獲取之通常程序。HDX-MS樣本製備係用自動化HDx系統(LEAP Technologies, Morrisville, NC)來執行。管柱及泵係：蛋白酶，蛋白酶XIII型（來自齋藤麴菌(*Aspergillus saitoi*)之蛋白酶，XIII型）/胃蛋白酶管柱(w/w, 1:1; 2.1  $\times$  30 mm) (NovaBioAssays Inc., Woburn, MA)；捕集(trap)，ACQUITY UPLC BEH C18 VanGuard前置管柱(2.1  $\times$  5 mm) (Waters,

Milford, MA)，分析，Accucore C18 (2.1 × 100 mm) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA)；及LC泵，VH-P10-A (Thermo Fisher Scientific)。將裝載泵（自蛋白酶管柱至捕集管柱）設定為600 µL/min，使用0.1%甲酸水溶液。將梯度泵（自捕集管柱至分析管柱）設定為以100 µL/min在20 min內進行的於0.1%甲酸水溶液中之9%至33%乙腈。

【0383】 MS數據獲取。使用LTQ™ Orbitrap Fusion Lumos質譜儀(Thermo Fisher Scientific)進行質譜分析，其中毛細管溫度為275℃，解析度為120,000，且質量範圍(m/z)為300至1,500。

【0384】 HDX-MS數據提取。在HDX實驗之前，使用BioPharma Finder 2.0 (Thermo Fisher Scientific)來進行非氘化樣本的肽識別。使用HDExaminer第2.5版(Sierra Analytics, Modesto, CA)，以自HDX實驗之MS原始數據文件提取質心值。

【0385】 HDX-MS數據分析。將所提取之HDX-MS數據進一步於Excel中分析。將所有交換時間點（在pH 6.4或pH 8.4下在23℃下）轉換為在pH 7.4及23℃下之等效時間點（例如，在pH 6.4下在23℃下之15 s等效於在pH 7.4下在23℃下之1.5 s）（表13）。

表13. HDX反應條件及交換時間對校正至pH 7.4及23℃之交換時間。

| 調整至 pH 7.4、23℃ 之時間(s) | pH 6.4 23℃ (s) | pH 8.4 23℃ (s) |
|-----------------------|----------------|----------------|
| 0.15                  | -----          | -----          |
| 0.5                   | -----          | -----          |
| 1.5                   | 15             | -----          |
| 5                     | 50             | -----          |
| 15                    | 150            | -----          |

|        |       |       |
|--------|-------|-------|
| 50     | 500   | ----- |
| 150    | 1,500 | 15    |
| 500    | ----- | 50    |
| 1,500  | ----- | 150   |
| 5,000  | ----- | 500   |
| 15,000 | ----- | 1,500 |

【0386】 結果.IL-1 β針對05H21A之強表位（結合後 $\Delta\Delta G \leq -2$  kcal/mol）係殘基119 (V)、161至162 (SF)、及164至169 (QGEESEN)。弱表位（ $-2 < \text{結合後} \Delta\Delta G \leq -1$  kcal/mol）係殘基120至123 (RSLN)及157至160 (VFSM)。

【0387】 IL-1 β針對08F17A之強表位係殘基147至156 (LQGQDMEQQV) 及264至267 (MQFV)。

【0388】 IL-1 β針對15N14A之強表位係殘基164至169 (QGEESEN)。弱表位係殘基158至162 (FSMSF)。

7.3.3 05H21A、15N14A、及08F17A之構形穩定性（藉由DSC）

【0389】 05H21A、15N14A、及08F17A之構形穩定性係藉由微差掃描熱量法(DSC)判定。微差掃描熱量法實驗係使用Microcal VP-DSC Malvern儀器 (Northampton, MA, USA)於10 mM乙酸鈉(pH 5.5)中以1 mg/mL進行。熱掃描係自25°C執行至95°C，其使用60°C/h掃描速率並具有15 min預掃描恆溫。各抗體係以二重複測量，其中在各樣本運行之間用緩衝劑/緩衝劑空白運行。使用MicroCal Origin第7版軟體執行數據分析，且轉移溫度(Tm)係記述於表14中。

【0390】 05H21A熱分析圖顯示62.2°C (Tm1)、77.9°C (Tm2)、及84.0°C (Tm3)之3個轉移溫度。15N14A熱分析圖顯示64.7°C (Tm1)、68.0°C (Tm2)、76.9

°C (Tm3)、及83.3°C (Tm4)之4個轉移溫度。08F17A熱分析圖顯示62.8°C (Tm1)、75.5°C (Tm2)、及83.3°C (Tm3)之3個轉移溫度

表14. 05H21A、15N14A、及08F17A之轉移溫度

| mAb 特徵       | 05H21A                                                                           | 15N14A                                                                                                       | 08F17A                                                                           | 註釋                      |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| 微差掃描熱量法(DSC) | Tm <sub>1</sub> = 62.2°C<br>Tm <sub>2</sub> = 77.9°C<br>Tm <sub>3</sub> = 84.0°C | Tm <sub>1</sub> = 63.2°C<br>Tm <sub>2</sub> = 68.0°C<br>Tm <sub>3</sub> = 76.9°C<br>Tm <sub>4</sub> = 83.3°C | Tm <sub>1</sub> = 62.8°C<br>Tm <sub>2</sub> = 75.5°C<br>Tm <sub>3</sub> = 83.3°C | 於 10 mM 乙酸酯鈉(pH 5.5)中測量 |

7.3.4 05H21A、15N14A、及08F17A之疏水性（藉由aHIC）

【0391】 藉由疏水性交互作用層析法(HIC)評估05H21A、15N14A、及08F17A之相對疏水性。簡言之，將樣本以1:5稀釋於高鹽緩衝劑（100 mM磷酸鈉、1.5M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，pH 6.5）中，且將大約10ug的各樣本注射在Agilent HPLC儀器之TOSOH TSKgel Butyl-NPR管柱上。將HIC在1.1M至0M之線性鉍-SO<sub>4</sub>梯度下運行8分鐘。收集UV280及螢光（280 nm下激發且340 nm下發射）信號。相對疏水性係以相對於內部疏水性標準品(CNTO607)之滯留時間評估，並記述為疏水性指數(HI=rtAb/rtCNTO607)。IL-1βδ抗體之滯留時間及疏水性指數係顯示於表15中。

【0392】 05H21A及15N14A之相對疏水性低（HI分別為0.37及0.49），但08F17A之相對疏水性中等(HI 0.80)。

表15.相對疏水性（藉由HIC）

| mAb 特徵 | 05H21A | 15N14A | 08F17A | CNTO607 |
|--------|--------|--------|--------|---------|
|--------|--------|--------|--------|---------|

|                 |                                       |                                      |                                    |                                   |
|-----------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| 相對疏水性<br>(aHIC) | 低表面疏水性：<br>HI = 0.37<br>Rt = 1.74 min | 低表面疏水性：HI<br>= 0.49<br>Rt = 2.32 min | 中等表面疏水性：<br>HI = 0.80<br>Rt = 3.77 | 高表面疏水性<br>HI = 1<br>rt = 4.72 min |
|-----------------|---------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|

7.4 實例4：蛋白質生產及純化

7.4.1 製備05H21A、15N14A、及08F17A

【0393】 05H21A、15N14A、及08F17A係在穩定轉染之CHO細胞中表現並使用管柱層析法純化。

7.4.2 蛋白質表現及細胞培養

【0394】 05H21A、15N14A、及08F17A係在穩定轉染之Horizon CHO非選殖池中表現，該池係使用MaxCyte STx電穿孔器藉由用編碼為05H21A、15N14A、或08F17A（重鏈及輕鏈）及Leap-In轉位酶mRNA（ATUM，目錄號LPN-1R）之經純化質體DNA電穿孔產生。在電穿孔之後，依循標準表現規程以產生饋料批次。採集各饋料批次並藉由離心、接著過濾來澄清。

7.4.3 蛋白質純化

【0395】 使用標準純化規程將經過濾之細胞培養上清液純化。簡言之，使用AKTA層析系統將各上清液裝載至預平衡之蛋白質A管柱(GE Healthcare)上。在裝載之後，將管柱用7倍管柱體積的1×DPBS (pH 7.2)洗滌。將蛋白質用2.5倍管柱體積的0.1 M乙酸鈉(pH 3.5)洗提。將蛋白質流份藉由添加2.5 M Tris HCl (pH 7.5)至8% (v/v)的洗提流份體積來立即中和，且匯集峰流份。

【0396】 將ProA後洗提池使用Capto S Impact樹脂(GE Healthcare)藉由陽離子交換層析法(CEX)進一步純化。將蛋白質用增加的NaCl於20 mM MES (pH 6.5)中之梯度自管柱洗提出。僅匯集含有單體蛋白質之峰流份。將CEX後洗提池使用Pierce透析盒(ThermoFisher)透析至10 mM乙酸鈉(pH 5.5)中，接著過濾(0.2 μm)。

7.4.4 品質控制

【0397】 使用計算之消光係數藉由在Dropsense分光光度計上280 nm之吸光度判定經純化蛋白質之濃度（表16）。藉由SDS-PAGE及分析級粒徑篩析HPLC（Agilent HPLC系統）評估經純化蛋白質之品質。內毒素水平係使用濁度LAL檢定測量(Pyrotell®-T, Associates of Cape Cod; Falmouth, MA)。QC數據彙總係見於表16中。

表16：蛋白質釋放數據彙總

| GDB<br>批次 ID# | 蛋白質<br>描述                            | 濃度<br>(mg/mL) | 體積<br>(mL) | 總產率<br>(mg) | 單體<br>%(SE-<br>HPLC) | 內毒素<br>(Eu/mg) | 測量質量<br>G0F/G0F<br>[Da] | 誤差<br>[ppm] | 緩衝劑                     |
|---------------|--------------------------------------|---------------|------------|-------------|----------------------|----------------|-------------------------|-------------|-------------------------|
| 05H21A        | 05H21A（抗<br>IL-1β）mAb<br>[IgG1: YTE] | 19.33         | 109        | 2107        | >99                  | <1             | 147216.4                | 51.8        | 10 mM<br>乙酸鈉<br>(pH5.5) |
| 15N14A        | 15N14A（抗<br>IL-1β）mAb<br>[IgG1: YTE] | 15.06         | 79.0       | 1190        | 97.1                 | <1             | 147842.9                | 39.0        | 10 mM<br>乙酸鹽<br>(pH5.5) |
| 08F17A        | 08F17A（抗<br>IL-1β）mAb<br>[IgG1: YTE] | 18.12         | 58.9       | 1067        | 97.3                 | <1             | 147368.5                | 26.3        | 10 mM<br>乙酸鹽<br>(pH5.5) |

7.5 實例5：抗IL-1β抗體之功能檢定

## 7.5.1 實驗方法

### 7.5.1.1 HEK-Blue IL-1 $\beta$ 報導子系中IL-1 $\beta$ δ信號傳導之抑制

【0398】 收集IL-1 $\beta$  HEK-Blue細胞（其係在具有10%熱去活化胎牛血清(FBS)、1%青黴素/鏈黴素、及100  $\mu$ g/ml Normocin之DMEM中培養）並在PBS中洗滌兩次。將細胞再懸浮於培養基中至330,000個細胞/mL之濃度，並根據盤配置(plate layout)每孔接種150  $\mu$ l。最終細胞計數係每孔50,000個。

【0399】 將測試抗體稀釋至40nM之起始濃度（最終濃度為5nM），並藉由在培養基中連續稀釋三倍進行測試。將重組人類IL-1 $\beta$  (rhIL-1 $\beta$ )在培養基中稀釋至0.8 ng/mL（最終濃度為0.1 ng/mL或6pM）。將100  $\mu$ l的重組人類IL-1 $\beta$  (rhIL-1 $\beta$   $\delta$ 及抗IL-1 $\beta$ 先導抗體在37°C下於5% CO<sub>2</sub>中共培養30分鐘。接著將50  $\mu$ l的rhIL-1 $\beta$ /抗體複合物添加至細胞，且建立生物性重複(biological replicate)。接著將複合物與細胞在37°C與5% CO<sub>2</sub>下培養18至20小時。在培養後，製備QuantiBlue溶液，並將180  $\mu$ l添加至96孔非結合盤中。自各細胞孔中取20  $\mu$ l添加至QuantiBlue溶液中，並在37°C與5% CO<sub>2</sub>下培養30分鐘。接著在655 nm之光密度下讀取盤，且使用GraphPad中之對數（抑制劑）對反應（可變斜率）函數計算抗IL-1 $\beta$ 先導抗體之半最大抑制濃度(IC<sub>50</sub>)。

### 7.5.1.2 MRC5細胞中IL-1 $\beta$ -誘導之IL-6生產之抑制

【0400】 MRC5肺纖維母細胞中之IL-6生產係如先前所述評估(Goh AX *et al*, MAbs.2014; 6(3):765-773)。將MRC5纖維母細胞[ATCC #CCL-171]（其係在具有10%熱去活化胎牛血清(FBS)及1%青黴素/鏈黴素之EMEM中培養）胰蛋白酶化(trypsinized)並計數。將細胞再懸浮於培養基中至30,000個細胞/mL之濃

第 171 頁，共 184 頁(發明說明書)

度，並以每孔3000個細胞接種於96孔盤中。使細胞在37°C/5% CO<sub>2</sub>下恢復16hr過夜。將測試抗體稀釋至10nM之起始濃度，並使用三倍步驟在96孔盤中以二重複（在完全培養基中）連續稀釋。將100 µL的各抗體稀釋液轉移至新的96孔盤。將重組IL-1β蛋白質在培養基中稀釋至110pg/mL，並將11 µL添加至各抗體孔中（最終IL-1β濃度為11pg/mL；此濃度係先前使用IL-6釋放作為讀數判定為3000個細胞在4hr時之EC<sub>50</sub>）。將rhIL-1β及抗IL-1βδ抗體連續稀釋液在37°C與5% CO<sub>2</sub>下共培養30分鐘。接著將100 µL的經共培養之複合物根據盤配置添加至細胞。將細胞在37°C與5% CO<sub>2</sub>下培養4小時。接著將80 µL的培養基移除並轉移至新的96孔盤中，並冷凍於-80°C下。

**【0401】** 將培養基樣本在冰上解凍並藉由ELISA評估。遵循產品規程藉由將捕捉抗體添加至各孔中並培養過夜來製備高結合ELISA盤（R&D IL-6 DuoSet ELISA套組；目錄號DY206-05）。使用此套組評估50 µL的所收集之細胞培養基，其中所有步驟皆依循製造商之規程。套組提供重組hIL-6作為陽性對照。ELISA係使用SureBlue TMB (KPL; #52-00-03)在室溫下顯影5分鐘。停止反應（TMB終止液）並測量450 nm及540 nm之吸光度。在GraphPad Prism中執行分析。對於各孔，自OD<sub>450</sub>減去OD<sub>540</sub>以標準化各孔之光學缺陷(optical imperfection)。將各盤之底排（僅稀釋劑）加以平均並自各樣本中減去以考量盤背景。使用IL-6標準曲線計算各樣本中之IL-6。使用GraphPad中之四參數可變斜率分析（對數（促效劑）對反應）判定各抗體之IC<sub>50</sub>。

**7.5.1.3 NHDF中IL-1β誘導之IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及G-CSF生產之抑制**

【0402】 將供體人類皮膚纖維母細胞（Lonza，目錄號CC-2509；供體29073及29114）稀釋至5,000個細胞/ml（最終1,000個細胞/孔於FGM-2培養基中），且將200  $\mu$ l添加至96孔平底盤之各孔中並在37°C、5% CO<sub>2</sub>下培養過夜。以4X抗體之3倍劑量滴定液製備測試抗體，其中最終濃度為於FGM-2中之10nM至0.001nM。

【0403】 藉由添加41.4  $\mu$ l的rhIL-1 $\beta$ 之1:1000稀釋液+ 49.959 ml的FGM-2來製備4X rhIL-1 $\beta$ （最終檢定濃度為10pM rhIL-1 $\beta$ ）。將200  $\mu$ l的4X抗體滴定液及200  $\mu$ l的4X rhIL-1 $\beta$ 組合並在室溫下培養1 hr。將接種之纖維母細胞用200  $\mu$ l的FBM培養基洗滌。藉由輕彈盤移除過量FBM，且每孔添加100  $\mu$ l的FGM-2培養基。接著添加100  $\mu$ l的2X抗體/rhIL-1 $\beta$ 混合物，且將盤在37°C、5% CO<sub>2</sub>下培養18至20小時。總共移除125  $\mu$ l的上清液，並將其轉移至新的96孔圓底盤中並儲存在-20°C下以用於下游MSD讀數。

【0404】 MSD U-Plex（Lonza，目錄號K15067L-4）係用以定量測試上清液中之IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及G-CSF。根據製造商之替代規程執行定量，其將偵測抗體直接添加至樣本中，其間無需洗滌。使用具有1/(SD)<sup>2</sup>加權之4P線性迴歸曲線擬合在Workbench中產生標準曲線擬合，且使用無加權之GraphPad PRISM之4P線性迴歸曲線擬合計算抑制百分比(IC<sub>50</sub>) [抑制百分比=100×(陽性對照-陰性對照)-(樣本-陰性對照)/(陽性對照-陰性對照)]。對於任何低於LLOD（偵測下限）之數據點，用自標準曲線計算之分析物的LLOD值取代。對於任何高於ULOD（偵測上限）之數據點，排除該值。

#### 7.5.1.4 NHLF中IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及G-CSF生產之抑制

第 173 頁，共 184 頁(發明說明書)

【0405】 將供體人類肺纖維母細胞（Lonza，目錄號CC-2512；供體34325及35234）稀釋至10,000個細胞/ml（最終2,000個細胞/孔於FGM-2培養基中），且將200  $\mu$ l添加至96孔平底盤之各孔中並在37°C、5% CO<sub>2</sub>下培養過夜。以4X抗體之3倍劑量滴定液製備測試抗體，其中最終濃度為於FGM-2中之10nM至0.001nM（測試抗體ID及批次濃度列於下表中）。

【0406】 藉由添加24.8  $\mu$ l的rhIL-1 $\beta$ 之1:1000稀釋液+ 29.975 ml的FGM-2來製備4X rhIL-1 $\beta$ （最終檢定濃度為10pM rhIL-1 $\beta$ ）。將350  $\mu$ l的4X抗體滴定液及350  $\mu$ l的4X rhIL-1 $\beta$ 組合並在室溫下培養1hr。將接種之纖維母細胞用200  $\mu$ l的FBM培養基洗滌。藉由輕彈盤移除過量FBM，且每孔添加100  $\mu$ l的FGM-2培養基。接著添加100  $\mu$ l的2X抗體/rhIL-1 $\beta$ 混合物，且將盤在37°C、5% CO<sub>2</sub>下培養18至20hr。總共移除125  $\mu$ l的上清液，並將其轉移至新的96孔圓底盤中並儲存在-20°C下以用於下游MSD讀數。

【0407】 根據製造商之替代規程使用MSD U-Plex（Lonza，目錄號K15067L-4）定量IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及G-CSF，其將偵測抗體直接添加至樣本中，其間無需洗滌。使用具有1/(SD)<sup>2</sup>加權之4P線性迴歸曲線擬合在Workbench中產生標準曲線擬合，且使用無加權之GraphPad PRISM之4P線性迴歸曲線擬合計算抑制百分比(IC50) [抑制百分比= 100× (陽性對照-陰性對照) - (樣本-陰性對照))/(陽性對照-陰性對照)]。對於任何低於LLOD（偵測下限）之數據點，用自標準曲線計算之分析物的LLOD值取代。對於任何高於ULOD（偵測上限）之數據點，排除該值。

#### 7.5.1.5 人類PBMC中IL-1 $\beta$ 誘導曲線之判定

第 174 頁，共 184 頁(發明說明書)

【0408】 用rhIL-1β處理PBMC（周邊血液單核細胞）誘導IL-6釋放至上清液中。測試IL-1β對人類PBMC之滴定，以判定並設定用於後續測試抗體評估之EC50及EC90值。

【0409】 獲得來自健康供體之血液，且將PBMC使用標準方法藉由Ficoll-Hypaque單離並冷凍直至使用。將PBMC解凍至預溫熱之RPMI完全培養基（含有10%熱去活化(HI)、1%青黴素、1%鏈黴素、及1%麩醯胺酸之RPMI）中並洗滌兩次。將細胞計數並以每ml 1百萬個細胞再懸浮。將100 μl的細胞添加至平底、經TC處理之盤中。將rhIL-1β (201-LB/CF, R&D Systems)從較所欲起始濃度高3X的濃度開始連續稀釋，並執行連續稀釋。將50 μl的稀釋液以二重複或三重重複添加至細胞，且將盤在37°C 與5% CO2下培養18至20小時。

【0410】 使用人類IL-6 ELISA套組（DY206，R&D Systems，適用於半區ELISA盤，Corning 3690）測量上清液中之IL-6。測試每孔來自各生物性重複之50 μl上清液，且根據製造商之說明執行ELISA。使用Graphpad Prism將數據作圖並分析，且/或藉由Biostatistician判定模型化值(modeled value)。

表17.所測試之供體中模型化IL-1β EC50及EC90誘導值

| 供體      | EC50                    | EC90                     |
|---------|-------------------------|--------------------------|
| AC5684  | 4.419 (3.231, 6.042)    | 12.445 (8.443, 18.344)   |
| TS078.5 | 18.673 (13.656, 25.532) | 71.474 (48.49, 105.351)  |
| TS083   | 17.935 (13.117, 24.524) | 69.250 (46.982, 102.073) |
| TS235   | 8.335 (6.096, 11.397)   | 29.074 (19.725, 42.855)  |
| TS274   | 9.418 (6.888, 12.877)   | 22.148 (15.026, 32.645)  |
| TS294   | 11.762 (8.602, 16.082)  | 43.364 (29.42, 63.918)   |
| TS301   | 7.347 (5.373, 10.046)   | 25.794 (17.5, 38.02)     |
| TS319   | 6.056 (4.429, 8.281)    | 26.520 (17.992, 39.09)   |

|       |                       |                         |
|-------|-----------------------|-------------------------|
| TS320 | 8.472 (6.196, 11.584) | 34.077 (23.119, 50.229) |
| 模型    | 9.289 (6.794, 12.702) | 32.468 (22.028, 47.857) |
| 中位數   | 8.472                 | 29.074                  |
| 平均值   | 10.268                | 37.127                  |
| 供體範圍  | [4.419, 18.673]       | [12.445, 71.474]        |

7.5.1.6 人類PBMC中IL-1β誘導之IL-6生產之抑制

【0411】 針對10pM或30pM濃度的rhIL-1β對測試抗體進行測試（如章節7.5.1.5中所判定），且藉由ELISA定量人類PBMC中之IL-6生產。

【0412】 測試抗體係以3X濃度(5nM)製備並連續稀釋3倍，並以預定10pM (~EC50)及30pM (~EC90)濃度與等體積的rhIL-1β混合。在37°C與5% CO2下60分鐘培養之後，將100 μl的各混合物添加至平底經TC處理之盤中。對照包括單獨培養基（以建立基線反應）、rhIL-1β（以測量最大反應）、及單獨抗體（以確保單獨抗體沒有IL-6誘導）。在此培養期期間，如上所述製備人類PBMC並使其濃度為每ml 2百萬個細胞，且將50 μl添加至各孔中。將細胞在37°C與5% CO2下培養18至20小時。每孔使用50 μl的上清液測量IL-6（目錄號DY206，R&D Systems，適用於半區ELISA盤，Corning3690）。使用GraphPad Prism將數據作圖並分析，以判定IC50。

7.5.1.7 人類全血檢定中IL-1β誘導之IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及G-CSF生產之抑制

【0413】 將供體人類全血收集於ACD管中並快遞至測試地點以供立即使用。將測試抗IL-1β抗體在含有1%BSA之PBS中於96孔U型底盤中連續稀釋至

10X濃度，其中最高最終濃度為10nM，且稀釋液系列中包括「無抗體」對照。rhIL-1 $\beta$  (R&D Systems)係於含有1%BSA之PBS中以1000pM製備，且使用100pM之最終檢定濃度。將10X抗體稀釋液及10X rhIL-1 $\beta$ 稀釋液以1:1組合並在室溫下培養60min。將人類供體血液樣本輕輕混合，且在96孔U型底組織培養盤中每孔接種80  $\mu$ l的全血。每孔添加20  $\mu$ l的抗體+ rhIL-1 $\beta$ 混合物，且將1%PBS/BSA添加至沒有rhIL-1 $\beta$ 及/或抗體之對照孔中。亦製備rhIL-1 $\beta$ 稀釋液系列以用於患者樣本間IL-1 $\beta$ 劑量反應之確認。接著將經處理之細胞在37°C下培養22 $\pm$ 2hr。在過夜培養之後，將100  $\mu$ l的PBS添加至所有孔中，混合，並在室溫下在96孔檢定盤中以300xG離心沉降10分鐘。將100  $\mu$ l的上清液轉移至新的96孔盤中，且將25  $\mu$ l的檢定上清液直接用於MSD檢定中，且根據製造商之說明進行IL-6、G-CSF、及CXCL5 (ENA-78)之分析，但有以下例外：(i)藉由將2個小瓶各以125  $\mu$ l稀釋，並將其等合併在一起來使校正品#1 (IL-6)之濃度加倍；及(ii)執行11點標準曲線（如指示4倍稀釋）+空白總共12點。在MSD Workbench軟體中計算未知數，且使用GraphPad prism使用4P線性迴歸曲線擬合計算EC值（rhIL-1 $\beta$ 刺激）及IC值（抗體抑制）。

#### 7.5.1.8 建立物種相關性：食蟹獼猴肺及皮膚纖維母細胞中IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6及G-CSF生產之抑制

【0414】 將食蟹獼猴皮膚及肺纖維母細胞在CFM培養基（完全纖維母細胞培養基，Cell Biologics，目錄號M32267）中稀釋至15,000個細胞/ml（最終3,000個細胞/孔），且將200  $\mu$ l添加至96孔平底盤之個別孔中。將盤在37°C、5% CO<sub>2</sub>下培養過夜。製備4X測試抗體之3倍劑量滴定液，其中最終濃度為

第 177 頁，共 184 頁(發明說明書)

10nM至0.001nM，除了08F17A之外（具有於CFM中之100nM至0.01nM的劑量範圍）。於CFM中製備4X rcyno-IL-1 $\beta$ （食蟹獼猴皮膚纖維母細胞及食蟹獼猴肺纖維母細胞之最終檢定濃度分別為5pM及15pM rcyno-IL-1 $\beta$ ），且將200  $\mu$ l的4X rcynoIL-1 $\beta$ 與200  $\mu$ l的4X測試抗體滴定液組合，接著在RT下培養1 hr。將接種之皮膚及肺纖維母細胞用200  $\mu$ l的FBM培養基洗滌，接著每孔添加100  $\mu$ l的CFM培養基。接著將100  $\mu$ l的2X抗體/rcynoIL-1 $\beta$ 混合物添加至對應的測試孔中並在37°C、5% CO<sub>2</sub>下培養18至20小時。總共移除125  $\mu$ l的上清液，並將其轉移至新的96孔圓底盤中並儲存在-20°C下以用於下游MSD讀數。

**【0415】** 根據製造商之替代規程使用MSD U-Plex（Lonza，目錄號K15067L-4）定量IL-6及G-CSF，其將偵測抗體直接添加至樣本中，其間無需洗滌。使用具有1/(SD)<sup>2</sup>加權之4P線性迴歸曲線擬合在Workbench中產生標準曲線擬合，且使用無加權之GraphPad PRISM之4P線性迴歸曲線擬合計算抑制百分比(IC<sub>50</sub>) [抑制百分比= 100× (陽性對照-陰性對照) - (樣本-陰性對照))/(陽性對照-陰性對照)]。對於任何低於LLOD（偵測下限）之數據點，用自標準曲線計算之分析物的LLOD值取代。對於任何高於ULOD（偵測上限）之數據點，排除該值。

## 結果

### 7.5.2 抗IL-1 $\beta$ mAb抑制報導細胞系中之IL-1信號傳導

**【0416】** 在HEK-Blue™ IL-1 $\beta$ 報導細胞系(Invivogen)中評估抗IL-1 $\beta$ 先導小組抑制IL-1路徑之能力。此報導細胞系已自人類胚胎腎HEK 293細胞工程改造，以經由NF- $\kappa$ B及AP-1誘導型分泌型胚胎鹼性磷酸酶(SEAP)報導子之活化來

第 178 頁，共 184 頁(發明說明書)

偵測生物活性IL-1 $\beta$ 。細胞系對人類IL-1 $\beta$ 及IL-1 $\alpha$ 兩者皆有反應，因其等皆經由相同的受體IL-1RI信號傳導。此外，已在此報導子系中剔除編碼通過NF-kB及AP-1路徑信號傳導之TNFR1、TLR3、及TLR5的基因，以避免干擾。在此研究中，評估05H21A、15N14A、及08F17A的基因報導子之中和活性。所有mAb皆展現劑量依賴性抑制（圖2）。所有先導mAb之IC50值係顯示於圖2中。

**7.5.3 抗IL-1 $\beta$  mAb抑制肺纖維母細胞系中之IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6生產**

【0417】 為進一步評估抗IL-1 $\beta$ 先導mAb之中和活性，在MRC5肺纖維母細胞中建立基於IL-6釋放之檢定。IL-6係一種多效性發炎性細胞介素，其主要藉由經由NF-kB及AP-1活化之IL-1路徑來調控。因此，IL-1 $\beta$ 活性可通過將MRC5細胞暴露於rhIL-1 $\beta$ 後之IL-6生產容易地測量。15N14A、08F17A、及05H21A以劑量依賴性方式抑制IL-6釋放（圖3）。所測試之三種mAb之IC50效力值係記述於圖3中。

**7.5.4 抗IL-1 $\beta$  mAb抑制初代人類纖維母細胞中之IL-1 $\beta$ 生物活性**

【0418】 在初代人類肺纖維母細胞（供體#34325及#35234）中評估05H21A、15N14A、及08F17A之抑制活性。作為IL-1 $\beta$ 路徑活性之量度，經由MSD自培養上清液中定量IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及G-CSF細胞介素生產及分泌。使用10pM的rhIL-1 $\beta$ 之最終量，以確保此等供體樣本中之IL-1路徑完全活化。所有測試mAb皆展現出濃度依賴性中和活性，其係基於IL-6及CXCL5 (ENA-78)釋放測量值（分別為圖4 A部分及B部分）。所測試之三種mAb之IC50效力值係在圖4獲得。在將記述於表18中之模型化IC30、IC50、及IC90值與在

人類肺纖維母細胞樣本中判定之模型化IC30、IC50、及IC90值進行比較之情況下，在初代皮膚人類纖維母細胞（供體#29114）中之評估顯示與人類肺纖維母細胞樣本類似的效力。

表18. IL-1β先導抗體小組在人類肺及皮膚纖維母細胞中之抑制值

| 細胞類型 | 化合物    | 供體    | IC30 (95% CI)        | IC50 (95% CI)        | IC90 (95% CI)        |
|------|--------|-------|----------------------|----------------------|----------------------|
| NHLF | 05H21A | 34325 | 0.071 (0.046, 0.11)  | 0.167 (0.11, 0.254)  | 1.510 (0.893, 2.555) |
|      |        | 35234 | 0.042 (0.027, 0.065) | 0.098 (0.065, 0.149) | 0.890 (0.526, 1.505) |
|      | 15N14A | 34325 | 0.128 (0.095, 0.173) | 0.253 (0.189, 0.339) | 1.479 (1, 2.186)     |
|      |        | 35234 | 0.090 (0.067, 0.122) | 0.178 (0.133, 0.239) | 1.043 (0.705, 1.542) |
|      | 08F17A | 34325 | 0.127 (0.093, 0.175) | 0.293 (0.216, 0.398) | 2.552 (1.613, 4.038) |
|      |        | 35234 | 0.090 (0.065, 0.123) | 0.207 (0.152, 0.281) | 1.803 (1.139, 2.852) |
| NHDF | 05H21A | 29114 | 0.039 (0.030, 0.050) | 0.078 (0.065, 0.095) | 0.490 (0.323, 0.743) |
|      | 15N14A |       | 0.069 (0.049, 0.095) | 0.127 (0.098, 0.165) | 0.626 (0.349, 1.123) |
|      | 08F17A |       | 0.087 (0.061, 0.124) | 0.174 (0.130, 0.234) | 1.073 (0.541, 2.129) |

在人類皮膚纖維母細胞（NHDF供體# 29114）及人類肺纖維母細胞（NHLF供體#34325及#35234）中之模型化IC30、IC50、及IC90值係以nM記述，且CI指示信賴區間。

7.5.5 抗IL-1β mAb抑制人類供體PBMC樣本中之IL-1βδ生物活性

【0419】 使用rhIL-1β之誘導實驗係在一小組健康人類PBMC供體中執行。基於使用非線性混合效應模型的rhIL-1β誘導之IL-6細胞介素測量值判定模型化EC50及EC90誘導估計值（表17）。供體中rhIL-1β EC50誘導值係在4.42至18.67pM之範圍內，且中間值為8.4pM；且rhIL-1β EC90誘導值係在12.45至

71.47pM之範圍內，且中間值為29.1pM。從此等研究中，選擇10pM及30pM的 rhIL-1β作為代表性EC50及EC90值，以用於後續供體PBMC檢定中之效力研究中。

【0420】 接著使用兩個預定rhIL-1β誘導濃度在一小組五個PBMC供體中評估抗IL-1β mAb（15N14A、05H21A、及08F17A）之功能活性。所有抗IL-1β mAb皆展現出劑量依賴性抑制，如在代表性供體PBMC樣本中所示（圖5）。模型化IC30、IC50、及IC90估計之平均值（n=5個供體PBMC）係記述於表19中。

表19. IL-1β先導抗體小組在人類PBMC樣本中之抑制值

| 治療        | IC | 05H21A               | 08F17A               | 15N14A               |
|-----------|----|----------------------|----------------------|----------------------|
| 10pM IL1β | 30 | 0.043 (0.028, 0.067) | 0.052 (0.034, 0.082) | 0.032 (0.018, 0.059) |
|           | 50 | 0.070 (0.045, 0.107) | 0.092 (0.060, 0.142) | 0.056 (0.031, 0.099) |
|           | 90 | 0.244 (0.146, 0.407) | 0.402 (0.212, 0.765) | 0.226 (0.108, 0.474) |
| 30pM IL1β | 30 | 0.104 (0.075, 0.144) | 0.156 (0.115, 0.212) | 0.075 (0.056, 0.099) |
|           | 50 | 0.164 (0.120, 0.223) | 0.241 (0.178, 0.328) | 0.120 (0.092, 0.155) |
|           | 90 | 0.533 (0.294, 0.969) | 0.744 (0.487, 1.136) | 0.409 (0.228, 0.734) |

\* 模型化 IC30、IC50、及 IC90 估計之平均值基於來自對五個 PBMC 供體樣本進行之代表性 IL-6 釋放檢定的抑制百分比之劑量反應分析。值係以 nM 記述。

7.5.6 抗IL-1β mAb抑制人類全血樣本中之IL-1β生物活性

【0421】 作為效力之最終量度，在人類全血供體樣本中評估抗IL-1βδmAb小組之中和活性。在血清蛋白質存在的情況下，相較於在PBMC樣本中之評估，在全血樣本中之效力評估中提供更具生理相關性的環境。15N14A、08F17A、及05H21A之效力係在5個供體樣本中評估，且係基於IL-6、CXCL-

5、及G-CSF細胞介素釋放測量值（圖6）。來自5個血液供體樣本之模型化IC30、IC50、及IC90估計之平均值係基於抑制百分比之劑量反應分析並記述於表20中。

表20. IL-1β先導抗體小組在人類全血檢定中之抑制值

| 細胞介素  | 化合物     | IC30 (95% CI)        | IC50 (95% CI)         | IC90 (95% CI)           |
|-------|---------|----------------------|-----------------------|-------------------------|
| IL-6  | 15N14A  | 0.360 (0.263, 0.493) | 0.595 (0.450, 0.786)  | 2.183 (1.200, 3.974)    |
|       | 05H21A  | 0.393 (0.280, 0.552) | 0.631 (0.465, 0.857)  | 2.156 (1.064, 4.368)    |
|       | 08F17A  | 0.872 (0.513, 1.483) | 1.529 (0.853, 2.743)  | 6.559 (1.895, 22.703)   |
| G-CSF | 15N14A  | 0.299 (0.183, 0.488) | 0.520 (0.329, 0.820)  | 2.179 (0.813, 5.840)    |
|       | 05H21A  | 0.364 (0.221, 0.600) | 0.632 (0.394, 1.016)  | 2.643 (1.026, 6.807)    |
|       | 08F17A- | 0.704 (0.398, 1.246) | 1.311 (0.683, 2.516)  | 6.576 (1.549, 27.909)   |
| CXCL5 | 15N14A  | 0.364 (0.244, 0.542) | 0.603 (0.420, 0.867)  | 2.236 (0.981, 5.098)    |
|       | 05H21A  | 0.400 (0.249, 0.642) | 0.622 (0.403, 0.961)  | 1.953 (0.757, 5.035)    |
|       | 08F17A  | 1.330 (0.437, 4.049) | 2.859 (0.646, 12.642) | 20.797 (0.860, 502.943) |

\* 模型化 IC30、IC50、及 IC90 估計之平均值基於來自對五個健康人類血液樣本（供體 CC00448、M3767、M5988、M7286、及 M7370）進行之 IL-6、CXCL5、及 G-CSF 釋放檢定的抑制百分比之劑量反應分析。數據係以 nM 記述，且 CI 表示信賴區間。

7.5.7 NHP相關性：抗IL-1β mAb抑制食蟹獼猴纖維母細胞中之IL-1βδ生物活性

【0422】 為了能夠在靈長類中進行毒理學研究，在食蟹獼猴中評估15N14A、08F17A、及05H21A之交叉反應性。在胺基酸層級下，人類及食蟹獼猴IL-1β之成熟形式係95%同源的。經由BIAcore之親和力判定指示三種先導mAb皆對來自食蟹獼猴之IL-1β具有高親和力，其表明食蟹獼猴中有保守性表位（表12）。相比之下，卡那單抗(canakinumab)不與食蟹獼猴IL-1β交叉反應，此因其抗原表位包括人類序列中之Glu64，其係食蟹獼猴IL-1β序列中無抗體辨識之關鍵。(Dhimolea E. Canakinumab. *MAbs*.2010; 2(1):3-13)。事實上，獼經識

別為唯一攜帶Glu64之非人類靈長類物種，因此能夠在此物種中進行卡那單抗之毒理學研究。(Rondeau JM, Ramage P, Zurini M, Gram H. The molecular mode of action and species specificity of canakinumab, a human monoclonal antibody neutralizing IL-1beta. *MAbs*.2015;7(6):1151-1160)。

【0423】 鑑於對食蟹獼猴IL-1 $\beta$ 之高親和力及藉由氬交換之表位定位數據，吾等預測吾等之先導小組將在基於食蟹獼猴細胞之檢定中展現功能活性。為了證實吾等之預測，吾等在初代皮膚及肺食蟹獼猴纖維母細胞兩者中用食蟹獼猴重組IL-1 $\beta$ 建立基於IL-6及G-CSF釋放之檢定。接著評估05H21A、15N14A、及08F17A在兩種食蟹獼猴初代纖維母細胞中之中和活性。所有先導抗IL-1 $\beta$  mAb在皮膚及肺食蟹獼猴纖維母細胞中皆展現劑量依賴性中和活性（圖7）。將食蟹獼猴皮膚纖維母細胞(CDF)及食蟹獼猴肺纖維母細胞(CLF)分別用5pM及15pM的重組食蟹獼猴IL-1 $\beta$ 活化。表21獲得在食蟹獼猴皮膚(CDF)及肺纖維母細胞(CLF)中之模型化IC30、IC50、及IC90估計值。此處顯示之結果證實所有三種mAb在食蟹獼猴中之功能活性，藉以建立此物種之相關性以能夠進行下游毒理學研究。

表21. IL-1 $\beta$ 先導抗體小組在初代食蟹獼猴纖維母細胞中之抑制值

| 劑量                      | 化合物    | IC30 (95% CI)        | IC50 (95% CI)        | IC90 (95% CI)           |
|-------------------------|--------|----------------------|----------------------|-------------------------|
| <i>IL-6</i>             |        |                      |                      |                         |
| 5 pM IL1 $\beta$ (CDF)  | 15N14A | 0.093 (0.051, 0.171) | 0.156 (0.095, 0.257) | 0.594 (0.193, 1.833)    |
|                         | 05H21A | 0.089 (0.055, 0.145) | 0.175 (0.117, 0.260) | 0.997 (0.396, 2.510)    |
|                         | 08F17A | 2.722 (1.981, 3.741) | 5.096 (3.766, 6.895) | 25.904 (12.420, 54.030) |
| 15 pM IL1 $\beta$ (CLF) | 15N14A | 0.192 (0.095, 0.391) | 0.376 (0.197, 0.718) | 2.140 (0.443, 10.335)   |
|                         | 05H21A | 0.214 (0.124, 0.367) | 0.306 (0.207, 0.453) | 0.779 (0.324, 1.874)    |

|                                               |        |                      |                       |                         |
|-----------------------------------------------|--------|----------------------|-----------------------|-------------------------|
|                                               | 08F17A | 3.435 (1.585, 7.448) | 6.969 (3.064, 15.851) | 43.624 (5.649, 336.854) |
| <i>G-CSF</i>                                  |        |                      |                       |                         |
| 5 pM IL1β (CDF)                               | 05H21A | 0.046 (0.031, 0.069) | 0.059 (0.037, 0.095)  | 0.110 (0.041, 0.299)    |
|                                               | 08F17A | 1.923 (1.453, 2.544) | 3.236 (2.555, 4.099)  | 12.480 (7.193, 21.651)  |
| 15 pM IL1β (CLF)                              | 15N14A | 0.129 (0.063, 0.264) | 0.261 (0.140, 0.487)  | 1.629 (0.363, 7.302)    |
|                                               | 05H21A | 0.195 (0.108, 0.353) | 0.270 (0.174, 0.421)  | 0.630 (0.283, 1.400)    |
|                                               | 08F17A | 3.584 (1.519, 8.456) | 6.106 (2.722, 13.695) | 24.308 (3.671, 160.959) |
| 用於細胞介素 G-CSF 之 5pM IL1β (CDF)的 15N14A 模型未能收斂。 |        |                      |                       |                         |

\* IL-6 及 G-CSF 釋放之模型化 IC30、IC50、及 IC90 估計值係在食蟹獼猴皮膚(CDF)及肺纖維母細胞(CLF)中分別用 5pM 及 15pM 的 rcynoIl-1β 刺激之後測量。數據係以 nM 記述，且 CI 表示信賴區間。

【符號說明】 無

```

<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing 1.3//EN"
"ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing originalFreeTextLanguageCode="en"
nonEnglishFreeTextLanguageCode="zh" dtdVersion="V1_3" fileName="14620-563-
228_SEQ_LISTING.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.2.0"
productionDate="2022-12-01">
  <ApplicantFileReference>14620-563-228</ApplicantFileReference>
  <EarliestPriorityApplicationIdentification>
    <IPOfficeCode>US</IPOfficeCode>
    <ApplicationNumberText>63/297, 436</ApplicationNumberText>
    <FilingDate>2022-01-07</FilingDate>
  </EarliestPriorityApplicationIdentification>
  <ApplicantName languageCode="zh">美商壯生和壯生企業創新公司</ApplicantName>
  <ApplicantNameLatin>JOHNSON & JOHNSON ENTERPRISE INNOVATION
INC. </ApplicantNameLatin>
  <InventionTitle languageCode="en">MATERIALS AND METHODS OF IL-1BETA BINDING
PROTEINS</InventionTitle>
  <InventionTitle languageCode="zh">IL-1 $\beta$  結合蛋白之材料及方法</InventionTitle>
  <SequenceTotalQuantity>110</SequenceTotalQuantity>
  <SequenceData sequenceIDNumber="1">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>450</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..450</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q221">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>05H21A HC</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>05H21A HC</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
      </INSDSeq>
    </SequenceData>
  </ST26SequenceListing>

```

```
<INSDQualifier id="q2">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVTLRSEGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMWVSWIRQPPGKALEWLALIDWGDDKYYT
TSLKTRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATATYYCARMREGSRAFDIWGGTVVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT
AALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST
YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_se
quence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="2">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>216</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..216</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q222">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LC</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LC</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q4">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
```

<NonEnglishQualifier\_value>合成構築體</NonEnglishQualifier\_value>
 </INSDQualifier>
</INSDFeature\_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq\_feature-table>
<INSDSeq\_sequence>QSVLTQPPSVSEAPRQRVTISCSGSSSNIGDNAVNWYQQLPGKAPKLLIYNDDLSSGVSDR
FSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISD
FYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS</INSD
Seq\_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="3">
 <INSDSeq>
 <INSDSeq\_length>449</INSDSeq\_length>
 <INSDSeq\_moltype>AA</INSDSeq\_moltype>
 <INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>
 <INSDSeq\_feature-table>
 <INSDFeature>
 <INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>
 <INSDFeature\_location>1..449</INSDFeature\_location>
 <INSDFeature\_qual>
 <INSDQualifier>
 <INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>
 <INSDQualifier\_value>protein</INSDQualifier\_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q223">
 <INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>
 <INSDQualifier\_value>15N14A HC</INSDQualifier\_value>
 <NonEnglishQualifier\_value>15N14A HC</NonEnglishQualifier\_value>
 </INSDQualifier>
 <INSDQualifier id="q6">
 <INSDQualifier\_name>organism</INSDQualifier\_name>
 <INSDQualifier\_value>synthetic construct</INSDQualifier\_value>
 <NonEnglishQualifier\_value>合成構築體</NonEnglishQualifier\_value>
 </INSDQualifier>
 </INSDFeature\_qual>
 </INSDFeature>
 </INSDSeq\_feature-table>
 <INSDSeq\_sequence>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWTWIRQPAGKGLEWIGRIDSSGSSKYNPT
LKSRTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGDSGYDWAFDYWGQGTLLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTA

```
ALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY
RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_seq
uence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="4">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>221</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..221</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q224">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LC</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LC</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q8">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QAVLTQPSSLASPGASASLTCTLRSGINVGTYRIYWYQQKPGSPQYLLSYKSDSDKQQGS
GVPSRFGSGKDASANVGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSSAWVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS<
/INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 5" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>448</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..448</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q225">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A HC</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A HC</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q10">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVTPGGSLRLSCAASGFTFSGYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSGYIYYAD
SVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYWGSFQDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</INSDSeq_sequ
ence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 6" >
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>214</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..214</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q226">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>08F17A LC</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>08F17A LC</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q12">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISYYLAWYQQKPGKVPKLLISAEFTLQSGVPSRF
SGSGSGTDFLTITSSLQPEDVATYYCQKYNTAPRTFGGQTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR
EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</INSDSe
q_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="7">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>120</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..120</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q227">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>05H21A VH</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>05H21A VH</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql4">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVTLRSEGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMWVSWIRQPPGKALEWLALIDWGDDKYYT
TSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATYYCARMREGSRAFDIWGGTVVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="8">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>110</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..110</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q228">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>05H21A VL</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>05H21A VL</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q16">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QSVLTQPPSVSEAPRQRVTISCSGSSSNIGDNAVNWYQQLPGKAPKLLIYNDDLSSGVSDR
FSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGPVFGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="9">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>119</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..119</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q229">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A VH</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A VH</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q18">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSISSYYWTWIRQPAGKGLEWIGRIDSSGSSKYNPT
LKSRTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARGDSGYDWFADYWGQGLTVTVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="10">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>115</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..115</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q230">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A VL</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A VL</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q20">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QAVLTQPSSLASPGASASLTCTLRSGINVGTYRIYWYQQKPGSPQYLLSYKSDSDKQQGS
GVPSRFSGSKDASANVGILLISGLQSEDEADYYCMIHSSAWVFGGGTKLTVL</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="11">
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>118</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..118</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q231">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>08F17A VH</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>08F17A VH</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q22">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EVQLVESGGGLVTPGGSLRLSCAASGFTFSGYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSSGYIYYAD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREYWGSFQYWGQGTLVTVSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="12">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>107</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..107</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q232">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>08F17A VL</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>08F17A VL</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q24">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISYYLAWYQQKPGKVPKLLISAEFTLQSGVPSRF
SGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQKYNTAPRTFGQGTKVEIK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="13">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q233">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
```

```

        <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR1
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q26">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TSGMWVS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="14">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q317">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>05H21A HCDR2 (Kabat)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR2
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q28">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>

```

```

        </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LIDWGDDKYYTTS�KT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="15">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q234">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>05H21A HCDR3 (Kabat)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR3
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q30">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>MREGSRAFDI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="16">
    <INSDSeq>

```

```

<INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q235">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>05H21A LCDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR1
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q32">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SGSSSNIGDNAVN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="17">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>

```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q236">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>05H21A LCDR2 (Kabat)</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR2
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q34">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NDDLSS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="18">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q237">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR3 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR3
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q36">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AAWDDSLNGPV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="19">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q238">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A HCDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR1
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q38">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
```

```

        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>SYYYWT</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 20">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>16</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..16</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q328">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>15N14A HCDR2 (Kabat)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR2
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q40">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>RIDSSGSSKYNPTLKS</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 21">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q239">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>15N14A HCDR3 (Kabat)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR3
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q42">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GDSGYDWAFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="22">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q318">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>15N14A LCDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR1
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q44">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>TLRSGINVGTYRIY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="23">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q240">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR2 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR2
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>

```

```
<INSDQualifier id="q46">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YKSDSDKQQGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="24">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q241">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR3 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR3
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q48">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDSeq_sequence>MIWHSSAWV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 25" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q319">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A HCDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR1
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q50">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GYSMN</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 26" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>17</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..17</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q242">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>08F17A HCDR2 (Kabat)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR2
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q52">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SISSSSGYIYYADSVKG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="27">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q243">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>08F17A HCDR3 (Kabat)</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR3
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q54">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>EYWGSQFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="28">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q244">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR1 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR1
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q56">
```

表單編號 A0202

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 30">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q246">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR3 (Kabat)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR3
(Kabat)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q60">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QKYNTAPRT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 31">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q247">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>05H21A HCDR1 (Chothia)</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR1
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q62">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFSLSTSGM</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 32">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q248">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>05H21A HCDR2 (Chothia)</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR2
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q64">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DWGDD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="33">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q249">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR3 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR3
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q66">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MREGSRAFDI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="34">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q320">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR1 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR1
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q68">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SGSSSNIGDNAVN</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 35">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q250">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR2 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR2
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q70">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>NDDLSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 36">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q251">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>05H21A LCDR3 (Chothia)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR3
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q72">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AAWDDSLNGPV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="37">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q252">
```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>15N14A HCDR1 (Chothia)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR1
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q74">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSISSY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="38">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>5</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..5</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q253">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A HCDR2 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR2
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q76">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>DSSGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 39">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q254">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A HCDR3 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR3
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q78">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GDSGYDWAFDY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 40">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q255">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR1 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR1
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q80">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>TLRSGINVGTYRIY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 41">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q256">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>15N14A LCDR2 (Chothia)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR2
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q82">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YKSDSDKQQGS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 42">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q329">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

        <INSDQualifier_value>15N14A LCDR3 (Chothia)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR3
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q84">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MIWHSSAWV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="43">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q257">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>08F17A HCDR1 (Chothia)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR1
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q86">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFSGY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 44" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q258">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A HCDR2 (Chothia)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR2
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SSSSGY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 45" >
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q259">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>08F17A HCDR3 (Chothia)</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR3
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q90">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>EYWGSQFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 46">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q260">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>08F17A LCDR1 (Chothia)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR1
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q92">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>RASQGISYYLA</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="47">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q261">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR2 (Chothia)</INSDQualifier_value>
```

```

    <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR2
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q94">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AEFTLQS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="48">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q330">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>08F17A LCDR3 (Chothia)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR3
(Chothia)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q96">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>QKYNTAPRT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 49">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q262">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR1 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR1
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q98">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFSLSTSGMWVS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 50">
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q263">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>05H21A HCDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR2
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q100">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LIDWGDDKY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="51">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q264">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>05H21A HCDR3 (AbM)</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR3
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q102">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MREGSRAFDI</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="52">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q265">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR1 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR1
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q104">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SGSSSNIGDNAVN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="53">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q266">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR2
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q106">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
```

```

    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>NDDLSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 54">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q267">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR3 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR3
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q108">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AAWDDSLNGPV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 55">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q268">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>15N14A HCDR1 (AbM)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR1
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q110">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSISSYYWT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="56">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```



```
<INSDQualifier id="q114">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GDSGYDWAFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="58">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q270">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR1 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR1
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q116">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
```

```

    <INSDSeq_sequence>TLRSGINVGTYRIY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 59">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q271">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR2
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q118">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YKSDSDKQQGS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 60">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>

```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q272">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>15N14A LCDR3 (AbM)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR3
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q120">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MIWHSSAWV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="61">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```

    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q273">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>08F17A HCDR1 (AbM)</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR1
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q122">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFTFSGYSMN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="62">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q274">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A HCDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR2
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q124">
```

```

        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>SISSSSGYIY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 63">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id=" q324">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>08F17A HCDR3 (AbM)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR3
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id=" q126">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>EYWGS GFDY</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 64">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q275">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR1 (AbM)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR1
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q128">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>RASQGISYYLA</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 65">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q276">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>08F17A LCDR2 (AbM)</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR2
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="ql30">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AEFTLQS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="66">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
```

```
<INSDQualifier id="q331">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>08F17A LCDR3 (AbM)</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR3
(AbM)</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q132">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QKYNTAPRT</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="67">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q277">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR1 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR1
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q134">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
```

```

    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>STSGMWVS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 68" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q278">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR2 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR2
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q136">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WLALIDWGDDKY</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>

```

```

</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 69">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q279">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR3 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR3
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q138">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>ARMREGSRAFD</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 70">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>

```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q280">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>05H21A LCDR1 (Contact)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR1
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q140">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IGDNAVNWY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="71">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q281">
```

```

    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>05H21A LCDR2 (Contact)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR2
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q142">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>LLIYNDDLLS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="72">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q282">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR3 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR3
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q144">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>

```

```

    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AAWDDSLNGP</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="73">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q283">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A HCDR1 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR1
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q146">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>SSYYWT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>

```

```
<SequenceData sequenceIDNumber=" 74">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q332">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A HCDR2 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR2
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q148">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>WIGRIDSSGSSK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 75">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
```

```
<INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q284">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>15N14A HCDR3 (Contact)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR3
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q150">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARGDSGYDWAFD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="76">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q285">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
```

```

        <INSDQualifier_value>15N14A LCDR1 (Contact)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR1
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q152">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>NVGTYRIYWY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="77">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>14</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..14</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q286">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>15N14A LCDR2 (Contact)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR2
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q154">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier value>合成構築體</NonEnglishQualifier value>

```

```

    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>YLLSYKSDSDKQQG</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 78" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q287">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR3 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR3
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q156">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>MIWHSSAW</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 79" >
```

```
<INSDSeq>
  <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
  <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
  <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
  <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
      <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
      <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
      <INSDFeature_qual>
        <INSDQualifier>
          <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q288">
          <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>08F17A HCDR1 (Contact)</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR1
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q158">
          <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
          <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
          <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
      </INSDFeature_qual>
    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SGYSMN</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 80">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>13</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..13</INSDFeature_location>
```

```
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q289">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>08F17A HCDR2 (Contact)</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR2
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql60">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>WVSSISSSSGYIY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="81">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q290">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A HCDR3 (Contact)</INSDQualifier_value>
```

```

    <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR3
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="ql62">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>AREYWGSFGD</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="82">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q333">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR1 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR1
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql64">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
</INSDSeq>

```

```

    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>SYYLAWY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 83" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q291">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR2 (Contact)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR2
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q166">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>LLISAFTLQ</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 84" >
  <INSDSeq>
```

```
<INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
<INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q292">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>08F17A LCDR3 (Contact)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR3
(Contact)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="ql68">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>QKYNTAPR</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 85">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>10</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..10</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
```

```
<INSDQualifier>
  <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q293">
  <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>05H21A HCDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR1
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="q170">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GFSLSTSGMW</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 86">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q326">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR2 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR2
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
```

```
</INSDQualifier>
<INSDQualifier id="ql72">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>IDWGDDK</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="87">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>12</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..12</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q294">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A HCDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A HCDR3
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql74">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
```

```

        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>ARMREGSRAFDI</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 88">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q295">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>05H21A LCDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR1
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q176">
                        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                </INSDFeature_qual>
            </INSDFeature>
        </INSDSeq_feature-table>
        <INSDSeq_sequence>SSNIGDNA</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 89">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length />
        <INSDSeq_moltype />

```

```

    <INSDSeq_division />
    <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 90">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>11</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..11</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q327">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>05H21A LCDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>05H21A LCDR3
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q180">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>AAWDDSLNGPV</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 91">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>

```

```
<INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q297">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>15N14A HCDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A HCDR1
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q182">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>GGSISSYY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 92">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
```



```
<INSDQualifier id="ql86">
  <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
  <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
  <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
</INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>ARGDSGYDWAFDY</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="94">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q300">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR1
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="ql88">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
```

```

    <INSDSeq_sequence>SGINVGTyr</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 95" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q301">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LCDR2 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR2
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q190">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>YKSDSDK</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber=" 96" >
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
```

```
<INSDSeq_feature-table>
  <INSDFeature>
    <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
    <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
    <INSDFeature_qual>
      <INSDQualifier>
        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q302">
        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>15N14A LCDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>15N14A LCDR3
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q192">
        <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
        <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
        <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
      </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
  </INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MIWHSSAWV</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="97">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
```

```

        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q303">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A HCDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR1
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
        <INSDQualifier id="q194">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
        </INSDQualifier>
    </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>GFTFSGYS</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="98">
    <INSDSeq>
        <INSDSeq_length>8</INSDSeq_length>
        <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
        <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
        <INSDSeq_feature-table>
            <INSDFeature>
                <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
                <INSDFeature_location>1..8</INSDFeature_location>
                <INSDFeature_qual>
                    <INSDQualifier>
                        <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q304">
                        <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
                        <INSDQualifier_value>08F17A HCDR2 (IMGT)</INSDQualifier_value>
                        <NonEnglishQualifier_value>08F17A HCDR2
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
                    </INSDQualifier>
                    <INSDQualifier id="q196">

```



```

    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="100">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length>6</INSDSeq_length>
      <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
      <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
      <INSDSeq_feature-table>
        <INSDFeature>
          <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
          <INSDFeature_location>1..6</INSDFeature_location>
          <INSDFeature_qual>
            <INSDQualifier>
              <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q306">
              <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>08F17A LCDR1 (IMGT)</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR1
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
            <INSDQualifier id="q200">
              <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
              <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
              <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
            </INSDQualifier>
          </INSDFeature_qual>
        </INSDFeature>
      </INSDSeq_feature-table>
      <INSDSeq_sequence>QGISYY</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>
  <SequenceData sequenceIDNumber="101">
    <INSDSeq>
      <INSDSeq_length />
      <INSDSeq_moltype />
      <INSDSeq_division />
      <INSDSeq_sequence>000</INSDSeq_sequence>
    </INSDSeq>
  </SequenceData>

```

```
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="102">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>9</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..9</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q308">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LCDR3 (IMGT)</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LCDR3
(IMGT)</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q204">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>QKYNTAPRT</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="103">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>648</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
```

```
<INSDFeature>
  <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
  <INSDFeature_location>1..648</INSDFeature_location>
  <INSDFeature_qual>
    <INSDQualifier>
      <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q309">
      <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>05H21A LC</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>05H21A LC</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
    <INSDQualifier id="q206">
      <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
      <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
    </INSDQualifier>
  </INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>cagtctgtgctgacccagcctccatctgtgtctgaggcccctagacagagagtgaccatctc
ctgctccggctcctcctctaacatcggcgataacgccgtgaactggtatcagcagctgcctggcaaggccccctaaactgc
tgatctacaacgacgacctgctgtcctctggcgtgtccgacagattctccggctctaagtctggcacctccgccagcctg
gctatctcttgattgcagtctgaggacgaggccgactactactgtgccgcctgggacgattctctgaacggccctgtttt
tggcggaggcaccaagctgacagtcctgggtcagcccaaggctgcacccagtgtcactctgttccccgccctcctctgagg
agcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgacttctacccgggagccgtgacagtggcctggaaggcc
gatagcagccccgtcaaggcgggagtcgaaaccaccacacctccaaacaaagcaacaacaagtacgcggccagcagcta
tctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggggagcaccgtggaga
agacagtggcccctacagaatgttca</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="104">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1350</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
```

```
<INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
<INSDFeature_location>1..1350</INSDFeature_location>
<INSDFeature_qual>
  <INSDQualifier>
    <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q310">
    <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>05H21A HC</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>05H21A HC</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
  <INSDQualifier id="q208">
    <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
    <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
    <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
  </INSDQualifier>
</INSDFeature_qual>
</INSDFeature>
</INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>caagtgaccctgagagagtctggaccgcctctggtcaagcccacacagaccctgacactgac
ctgcaccttctccggttctccctgtccacctctggaatgtgggtgtcctggatcagacagcctcctggcaaggcactgg
aatggctggctctgatcgattggggcgacgacaagtactacaccaccagcctgaaaacccggctgaccatctccaaggac
acctccaagaaccaggtggtgctgaccatgaccaacatggaccctgtggacaccgccacctactactgcgccagaatgag
agagggatccagagccttcgatctctggggccagggaaccgtggtcaccgtttcttctgcctccaccaagggcccatcgg
tcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggacagcgccctgggctgcctgggtcaaggactacttcccc
gaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcgcgctgcacaccttccccggctgtcctacagtcctcagg
actctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcaca
agcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaattctgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgccagca
cctgaactcctggggggaccgtcagttcttcttccccccaaaacccaaggacacctctacatcacccgggagcctga
ggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgc
ataatgccaaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccag
gactggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtgtccaacaaagccctcccagccccatcgagaaaaccatctccaa
agccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcc
tgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactac
aagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcagatggca
gcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagtctctctccctgtctc
cgggaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
```

```
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="105">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>663</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..663</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q311">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A LC</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A LC</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q210">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>caggctgttctgaccagcctagctctctgtctgcttctcctggcgcttccgcctctctgac
ctgcacactgagatccggcatcaacgtgggcacctaccggatctactggtatcagcagaagcctggcagccctcctcagt
acctgctgtcctacaagtccgactccgacaagcagcaaggctctggcgtgccctctagattctccggctctaaggacgcc
tccgccaatgtgggcatcctgctgatctctggcctgcagctctgaggacgaggccgactactactgcatgatctggcactc
ctccgcctgggttttcggaggcggaacaaagctgacagtcctgggtcagcccaaggctgcacccagtgtcactctgttcc
cgccctcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacactggtgtgtctcataagtgacttctacccgggagccgtgaca
gtggcctggaaggccgatagcagccccgtcaaggcgggagtcgaaaccaccacaccctccaacaaagcaacaacaagta
cgcgccagcagctatctgagcctgacgcctgagcagtggaagtccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaag
ggagcaccgtggagaagacagtggcccctacagaatgttca</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
```

```
<SequenceData sequenceIDNumber="106">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>1347</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..1347</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q312">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>15N14A HC</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>15N14A HC</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q212">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
    <INSDSeq_sequence>caggttcagctgcaagagtctggaccgcgcttggtcaagccttccgagacactgtctctgac
ctgcaccgtgtctggcggctccatctctcttactattggacctggatcagacagcctgccggcaaaggcctggaatgga
tcggcagaatcgactcctccggctcctccaagtacaacccacactgaagtccagagtgacctgtccgtggacacctcc
aagaaccagttctccctgaagctgtcctccgtgaccgtgctgataccgccgtgtactactgtgccagaggcgactctgg
atacgaactgggcctttgactattggggccagggcacactgggtaccggtttcttctgcctccaccaaggggcccatcggtct
tccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcgccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaa
ccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggact
ctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagc
ccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaattctgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccgacacct
gaactcctgggggggaccgtcagttctcttccccccaaaacccaaggacacctctacatcacccggggagcctgaggt
cacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactgggtacgtggacggcggtggaggtgcata
atgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcacgctcctgcaccaggac
tggctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtgtccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagc
```

```
caaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatccccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctga
cctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaag
accacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcagatggcagca
ggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagttctctctccctgtctccgg
gaaaa</INSDSeq_sequence>
</INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="107">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>642</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>DNA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..642</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>other DNA</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q313">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>08F17A LC</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>08F17A LC</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q214">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>gacatccagatgacccagttctccatcctctctgtccgcttctgtgggcgacagagtgaccat
cacctgtagagcctctcagggcatctcctactacctggcctgggtatcagcagaaacccggcaaggtgcccagctgctga
tctctgctgagttcaccctgcagttctggcgtgccctctagattctccggctctggctctggcaccgactttaccctgaca
atctccagcctgcagcctgaggatgtggccacctactactgccagaagtacaacaccgctcctcggacctttggccaggg
caccaaggtggaaatcaagcgtactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctg
gaactgcctctgtttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgcctc
```

caatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgct  
gagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaga  
gcttcaacaggggagagtgt</INSDSeq\_sequence>  
 </INSDSeq>  
</SequenceData>  
<SequenceData sequenceIDNumber="108">  
 <INSDSeq>  
 <INSDSeq\_length>1344</INSDSeq\_length>  
 <INSDSeq\_moltype>DNA</INSDSeq\_moltype>  
 <INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>  
 <INSDSeq\_feature-table>  
 <INSDFeature>  
 <INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>  
 <INSDFeature\_location>1..1344</INSDFeature\_location>  
 <INSDFeature\_qual>  
 <INSDQualifier>  
 <INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>  
 <INSDQualifier\_value>other DNA</INSDQualifier\_value>  
 </INSDQualifier>  
 <INSDQualifier id="q314">  
 <INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>  
 <INSDQualifier\_value>08F17A HC</INSDQualifier\_value>  
 <NonEnglishQualifier\_value>08F17A HC</NonEnglishQualifier\_value>  
 </INSDQualifier>  
 <INSDQualifier id="q216">  
 <INSDQualifier\_name>organism</INSDQualifier\_name>  
 <INSDQualifier\_value>synthetic construct</INSDQualifier\_value>  
 <NonEnglishQualifier\_value>合成構築體</NonEnglishQualifier\_value>  
 </INSDQualifier>  
 </INSDFeature\_qual>  
 </INSDFeature>  
 </INSDSeq\_feature-table>  
 <INSDSeq\_sequence>gaggtgcagctggttgaatctggcggaggactggttacccttggcggatctctgagactgtc  
ttgtgccgcctctggcttcaccttctccggctactctatgaactgggtccgacaggctcctggcaaaggcctggaatggg  
tgtctccatctcctccagcagcggctacatctactacgccgactccgtgaagggcagattcaccatctccagagacaac  
gccaagaactccctgtacctgcagatgaacagcctgagagccgaggacaccgccgtgtactactgtgccagagagtattg  
gggctccggcttcgattattggggccaaggaacactggtcaccgtgtcctctgcctccaccaagggcccatcggtcttcc  
ccctggcaccctcctcaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctgggtcaaggactacttccccgaaccg  
gtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactcta  
ctccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagccca

gcaacaccaaggtggacaagaaagttgagcccaaattcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgccagcacctgaa  
ctcctggggggaccgtcagttcttcttctcccccaaaacccaaggacacctctacatcaccgggagcctgaggtcac  
atgctgtggtggtggacgtgagccacgaagacctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatg  
ccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactgg  
ctgaatggcaaggagtacaagtgaaggtgtccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaagccaa  
agggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacct  
gcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagacc  
acgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttctctacagcaagctcaccgtggacaagagcagatggcagcaggg  
gaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagtctctctcctgtctccgggaa  
aa</INSDSeq\_sequence>

</INSDSeq>

</SequenceData>

<SequenceData sequenceIDNumber="109">

<INSDSeq>

<INSDSeq\_length>269</INSDSeq\_length>

<INSDSeq\_moltype>AA</INSDSeq\_moltype>

<INSDSeq\_division>PAT</INSDSeq\_division>

<INSDSeq\_feature-table>

<INSDFeature>

<INSDFeature\_key>source</INSDFeature\_key>

<INSDFeature\_location>1..269</INSDFeature\_location>

<INSDFeature\_qual>

<INSDQualifier>

<INSDQualifier\_name>mol\_type</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>protein</INSDQualifier\_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q315">

<INSDQualifier\_name>note</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>IL-1beta (Uniprot ID  
P01584)</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>IL-1β (Uniprot ID  
P01584)</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

<INSDQualifier id="q218">

<INSDQualifier\_name>organism</INSDQualifier\_name>

<INSDQualifier\_value>Homo sapiens</INSDQualifier\_value>

<NonEnglishQualifier\_value>智人</NonEnglishQualifier\_value>

</INSDQualifier>

</INSDFeature\_qual>

```

    </INSDFeature>
  </INSDSeq_feature-table>
<INSDSeq_sequence>MAEVPELASEMMAYYSNEDDLFFEADGPKQMKSFQDL DLCPLDGGIQLRISDHHYSKGFR
QAASVVVAMDKLRKMLVPCPQTFQENDLSTFFPFIFEEPIFFDTWDNEAYVHDAPVRS LNCTLRDSQQKSLVMSGPYEL
KALHLQGQDMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVALGLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEI
NNKLEFESAQFPNWYIST SQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQFVSS</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
</SequenceData>
<SequenceData sequenceIDNumber="110">
  <INSDSeq>
    <INSDSeq_length>153</INSDSeq_length>
    <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
    <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
    <INSDSeq_feature-table>
      <INSDFeature>
        <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
        <INSDFeature_location>1..153</INSDFeature_location>
        <INSDFeature_qual s>
          <INSDQualifier>
            <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q316">
            <INSDQualifier_name>note</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>the fragment of SEQ ID NO:
109</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>SEQ ID NO: 109之片段
</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
          <INSDQualifier id="q220">
            <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
            <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
            <NonEnglishQualifier_value>合成構築體</NonEnglishQualifier_value>
          </INSDQualifier>
        </INSDFeature_qual s>
      </INSDFeature>
    </INSDSeq_feature-table>
  <INSDSeq_sequence>APVRS LNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALHLQGQDMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVALGL
KEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPKNYPKKKMEKRFVFNKIEINN KLEFESAQFPNWYIST SQAENMPVFLGGTKGGQD
ITDFTMQFVSS</INSDSeq_sequence>

```

</INSDSeq>  
</SequenceData>  
</ST26SequenceListing>

## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種結合IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列；
- (2) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列；或
- (3) (i) VH，其包含 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3，該等 VH CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 VH 之 VH CDR1、VH CDR2、及 VH CDR3 之胺基酸序列；及(ii) VL，其包含 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3，該等 VL CDR 分別具有：具有 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 VL 之 VL CDR1、VL CDR2、及 VL CDR3 之胺基酸序列。

【請求項2】如請求項1所述之抗體，(i)其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據Kabat編號系統；(ii)其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據Chothia編號系統；(iii)其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據AbM編號系統；(iv)其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據Contact編號系統；且/或(v)其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3胺基酸序列係根據IMGT編號系統。

【請求項3】一種結合IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 13、SEQ ID NO: 31、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 67、及 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 14、SEQ ID NO: 32、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 68、及 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 15、SEQ ID NO: 33、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 69、及 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 16、SEQ ID NO: 34、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 70、及SEQ ID NO: 88之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 17、SEQ ID NO: 35、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 71、及SEQ ID NO: 89之胺基酸序列的VL CDR2；具有選

自SEQ ID NO: 18、SEQ ID NO: 36、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 72、及SEQ ID NO: 90之胺基酸序列的VL CDR3；

(2) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 19、SEQ ID NO: 37、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 73、及 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 20、SEQ ID NO: 38、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 74、及 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 21、SEQ ID NO: 39、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 75、及 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

(ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 22、SEQ ID NO: 40、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 76、及SEQ ID NO: 94之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 23、SEQ ID NO: 41、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 77、及SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 24、SEQ ID NO: 42、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 78、及SEQ ID NO: 96之胺基酸序列的VL CDR3；或

(3) (i) VH，其包含具有選自 SEQ ID NO: 25、SEQ ID NO: 43、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 79、及 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有選自 SEQ ID NO: 26、SEQ ID NO: 44、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 80、及 SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有選自 SEQ ID NO: 27、SEQ ID NO: 45、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 81、及 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

(ii) VL，其包含具有選自SEQ ID NO: 28、SEQ ID NO: 46、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 82、及SEQ ID NO: 100之胺基酸序列的VL CDR1；具有選自SEQ ID NO: 29、SEQ ID NO: 47、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 83、及SEQ ID NO: 101之胺基酸序列的VL CDR2；具有選自SEQ ID NO: 30、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 84、及SEQ ID NO: 102之胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項4】一種結合IL-1 $\beta$ 之抗體，其包含：

- (1) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列的 VH CDR3；及  
(ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 16之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 17之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 18之胺基酸序列的VL CDR3；
- (2) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列的 VH CDR3；及  
(ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 22之胺基酸序列的VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 23之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 24之胺基酸序列的VL CDR3；

- (3) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (4) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (5) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (6) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 46之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 47之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 48之胺基酸序列的VL CDR3；
- (7) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 52之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 53之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 54之胺基酸序列的VL CDR3；
- (8) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 58之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 59之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 60之胺基酸序列的VL CDR3；
- (9) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 64之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 65之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 66之胺基酸序列的VL CDR3；

- (10) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (11) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (12) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列的 VL CDR1；具有 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列的 VL CDR2；具有 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列的 VL CDR3；
- (13) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列的 VH CDR3；及

- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 88之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 89之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 90之胺基酸序列的VL CDR3；
- (14) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 94之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 95之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 96之胺基酸序列的VL CDR3；或
- (15) (i) VH，其包含具有 SEQ ID NO: 97 之胺基酸序列的 VH CDR1；具有SEQ ID NO: 98 之胺基酸序列的 VH CDR2；具有 SEQ ID NO: 99 之胺基酸序列的 VH CDR3；及
- (ii) VL，其包含具有SEQ ID NO: 100之胺基酸序列的VL CDR1；具有SEQ ID NO: 101之胺基酸序列的VL CDR2；具有SEQ ID NO: 102之胺基酸序列的VL CDR3。

【請求項5】如請求項1至4中任一項所述之抗體，其中該抗體進一步包含一或多個如SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 11、及/或SEQ ID NO: 12中所示之骨架區。

【請求項6】如請求項1至5中任一項所述之抗體，其中：

- (i)該抗體包含具有 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列的 VL；

(ii)該抗體包含具有 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列的 VL；或

(iii)該抗體包含具有 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列的 VH、及具有 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列的 VL。

【請求項7】如請求項1至6中任一項所述之抗體，其中該抗體係人源化抗體。

【請求項8】如請求項1至7中任一項所述之抗體，其中該抗體係IgG抗體。

【請求項9】如請求項8所述之抗體，其中該IgG抗體係IgG1、IgG2、IgG3、或IgG4抗體。

【請求項10】如請求項1至9中任一項所述之抗體，其中該抗體包含κ輕鏈。

【請求項11】如請求項1至9中任一項所述之抗體，其中該抗體包含λ輕鏈。

【請求項12】如請求項1至11中任一項所述之抗體，其中該抗體包含突變Fc區。

【請求項13】如請求項12所述之抗體，其中該突變Fc區包含M252Y/S254T/T256E (YTE)突變。

【請求項14】如請求項1至13中任一項所述之抗體，其中該抗體係單株抗體。

【請求項15】如請求項1至14中任一項所述之抗體，其中該抗體結合IL-1 $\beta$ 抗原。

【請求項16】如請求項1至14中任一項所述之抗體，其中該抗體結合IL-1 $\beta$ 表位。

【請求項17】如請求項1至14中任一項所述之抗體，其中該抗體特異性結合至IL-1 $\beta$ 。

【請求項18】如請求項1至17中任一項所述之抗體，其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3形成針對該IL-1 $\beta$ 之抗原的結合位點。

【請求項19】如請求項1至15中任一項所述之抗體，其中該VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VL CDR1、VL CDR2、及VL CDR3形成針對該IL-1 $\beta$ 之表位的結合位點。

【請求項20】如請求項1至19中任一項所述之抗體，其中該抗體係多特異性的。

【請求項21】如請求項20所述之抗體，其中該抗體能夠結合至少兩種抗原。

【請求項22】如請求項20所述之抗體，其中該抗體能夠結合至少三種抗原。

【請求項23】如請求項20所述之抗體，其中該抗體能夠結合至少四種抗原。

【請求項24】如請求項20所述之抗體，其中該抗體能夠結合至少五種抗原。

【請求項25】一種結合分子，其包含如請求項1至24中任一項所述之抗體，其中該抗體經基因融合或化學接合至藥劑。

【請求項26】一種核酸，其編碼如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項27】一種載體，其包含如請求項26所述之核酸。

【請求項28】一種宿主細胞，其包含如請求項27所述之載體。

【請求項29】一種套組，其包含如請求項27所述之載體及該載體之包裝。

【請求項30】一種套組，其包含如請求項1至24中任一項所述之抗體及該抗體之包裝。

【請求項31】一種醫藥組成物，其包含如請求項1至24中任一項所述之抗體、及一或多種醫藥上可接受之賦形劑。

【請求項32】一種產生如請求項31所述之醫藥組成物之方法，其包含將該抗體與一或多種醫藥上可接受之賦形劑組合，以獲得該醫藥組成物。

【請求項33】一種抑制細胞中IL-1 $\beta$ 或IL-1 $\beta$ 介導之信號傳導之方法，其包含使該細胞接觸如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項34】一種抑制細胞中IL-1 $\beta$ 誘導之IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及/或G-CSF之生產的方法，其包含使該細胞接觸如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項35】一種減少細胞中IL-6、ENA-78 (CXCL5)、及/或G-CSF之生產的方法，其包含使該細胞接觸如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項36】一種抑制IL-1 $\beta$ 表現性細胞之生長或增生的方法，其包含使該等細胞接觸如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項37】如請求項33至36中任一項所述之方法，其中該（等）細胞係在患有疾病或病症之對象中。

【請求項38】一種在對象中抑制IL-1 $\beta$ 之方法，其包含向該對象投予如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項39】一種用於治療對象之疾病或病症的方法，其包含向該對象投予如請求項1至24中任一項所述之抗體。

【請求項40】如請求項37或39所述之方法，其中該疾病或病症係IL-1 $\beta$ 相關疾病或病症。

【請求項41】如請求項40所述之方法，其中該IL-1 $\beta$ 相關疾病或病症係發炎性疾病或病症。

【請求項42】如請求項40所述之方法，其中該IL-1 $\beta$ 相關疾病或病症係癌症。

【請求項43】如請求項42所述之方法，其中該癌症係肺癌。

【請求項44】如請求項43所述之方法，其中該肺癌係非小細胞肺癌，其中視情況地該非小細胞肺癌已達到0期、1期、2期、3期、或4期。

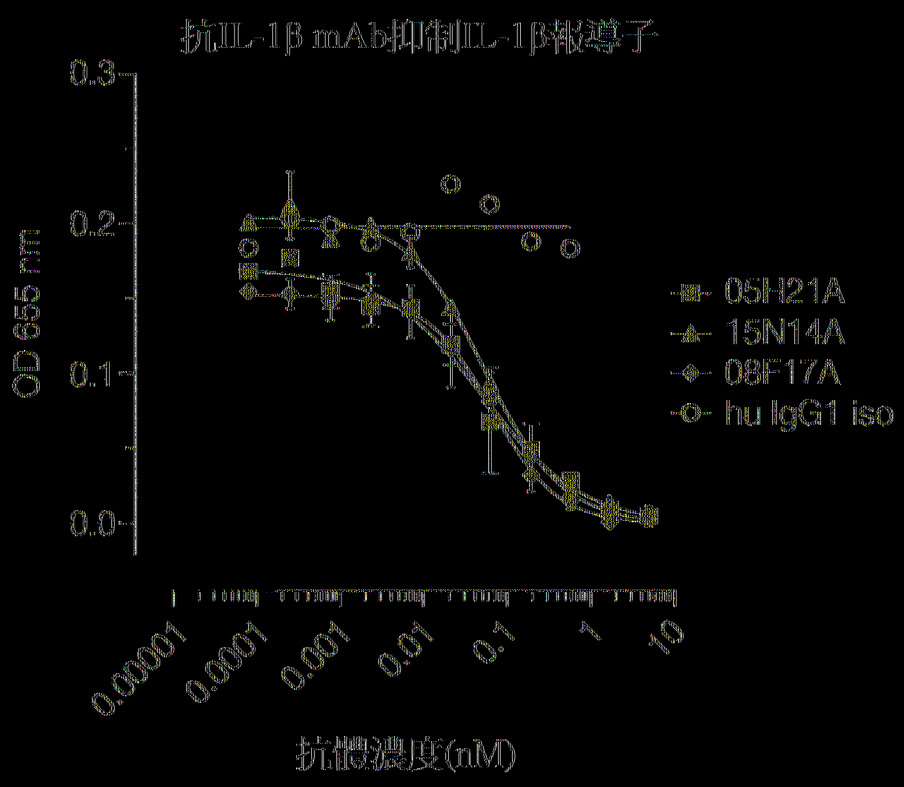
【請求項45】如請求項42所述之方法，其中該癌症係腎癌

【請求項46】如請求項45所述之方法，其中該腎臟癌係腎細胞癌。

【請求項47】如請求項46所述之方法，其中該腎細胞癌已達到1期、2期、或3期。



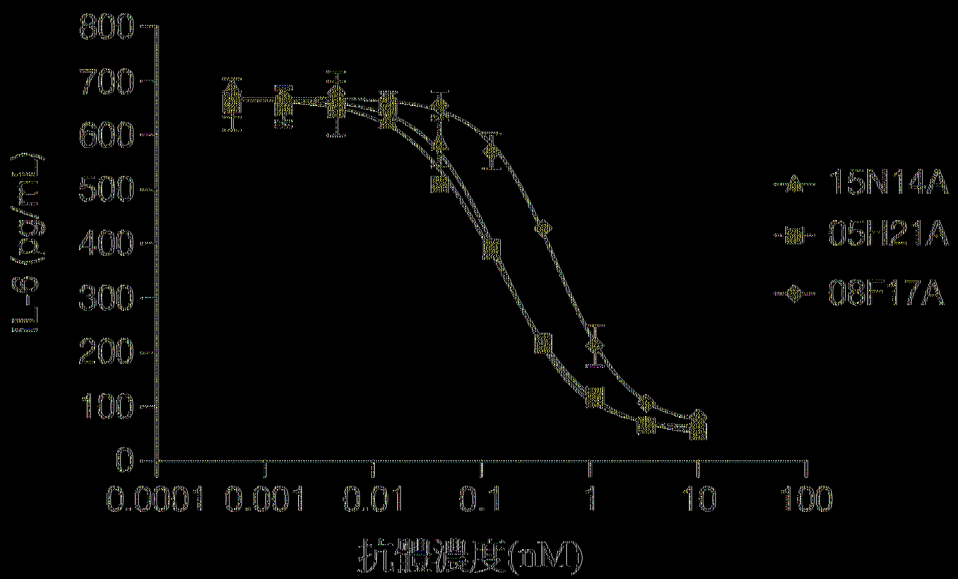
|([圖1])|



| IL-1 $\beta$ mAb | IC50 (pM) |
|------------------|-----------|
| 08F17A           | 65        |
| 05H21A           | 50        |
| 15N14A           | 53        |

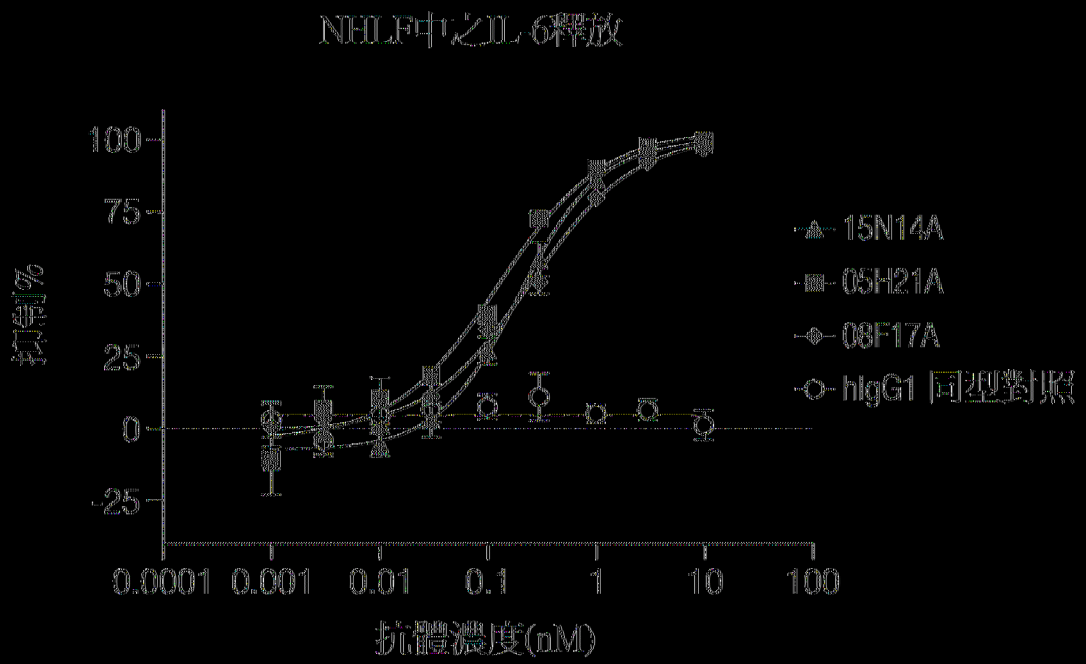
(圖2)

MRC5中IL-1β誘導之IL-6釋放的抑制



| IL-1β mAb | IC50 (pM) |
|-----------|-----------|
| 08F17A    | 485       |
| 05H21A    | 146       |
| 15N14A    | 152       |

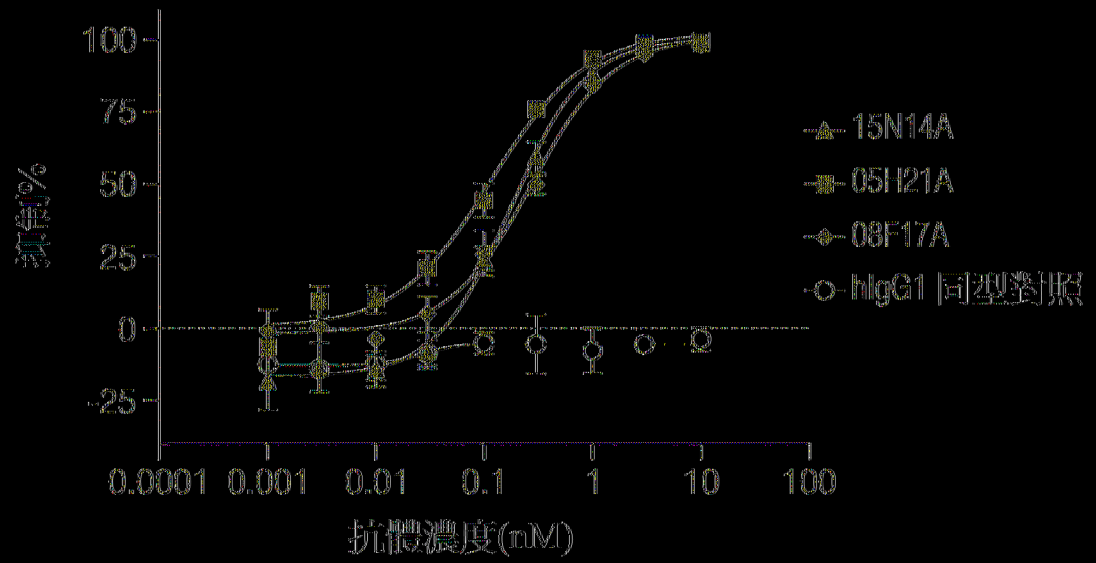
|(圖3)|



| IL-1β mAb | IC50 (pM) |
|-----------|-----------|
| 08F17A    | 248       |
| 05H21A    | 127       |
| 15N14A    | 195       |

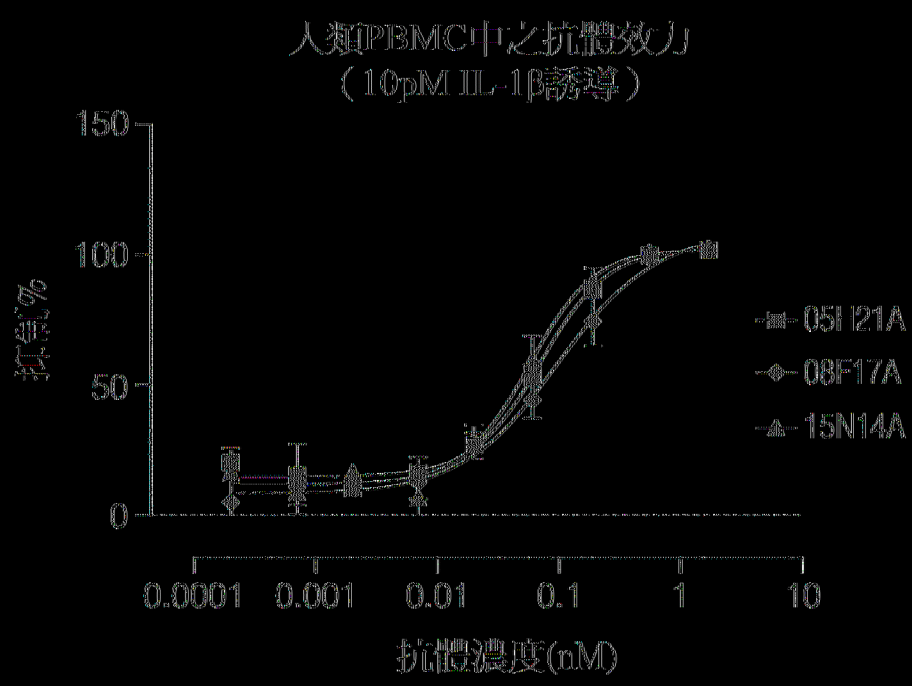
[(同4A)]

NILF中之CXCL5釋放



| IL-1β mAb | IC50 (pM) |
|-----------|-----------|
| 08F17A    | 269       |
| 05H21A    | 116       |
| 15N14A    | 175       |

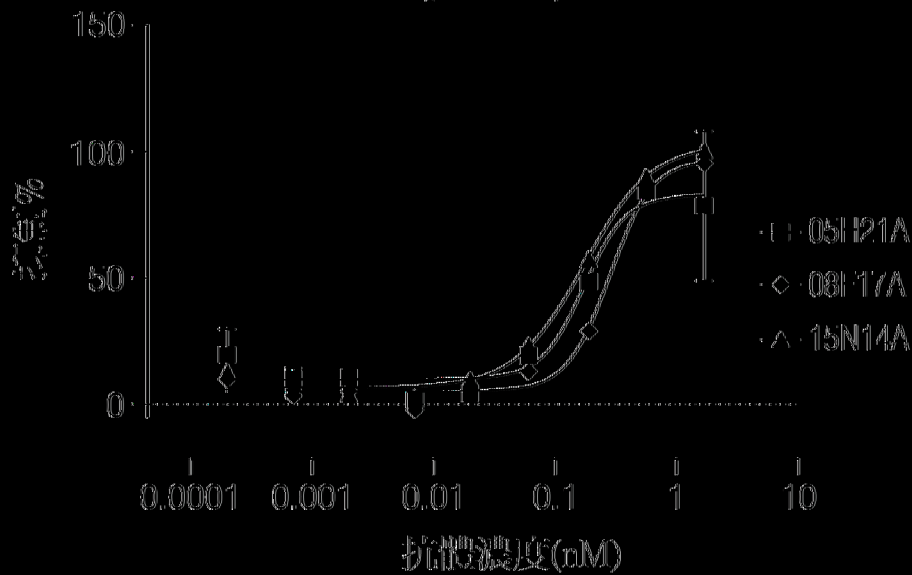
[(B-A)/B]



| IL-1 $\beta$ mAb | IC50 (pM) |
|------------------|-----------|
| 08F17A           | 98        |
| 05H21A           | 70        |
| 15N14A           | 55        |

[(同5A)]

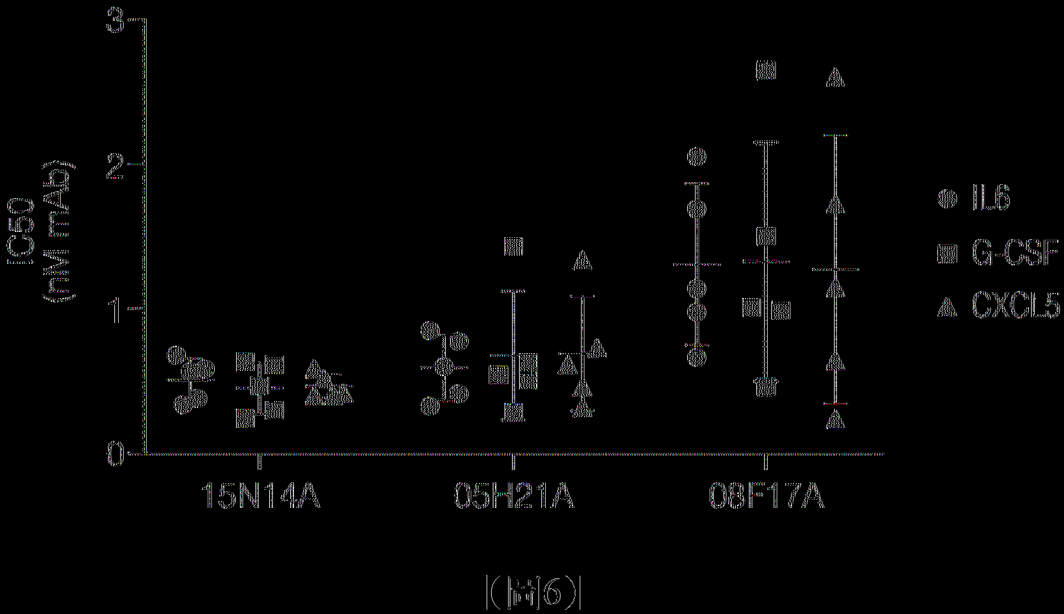
人類PBMC中之抗體效力  
(30pM IL-1β誘導)

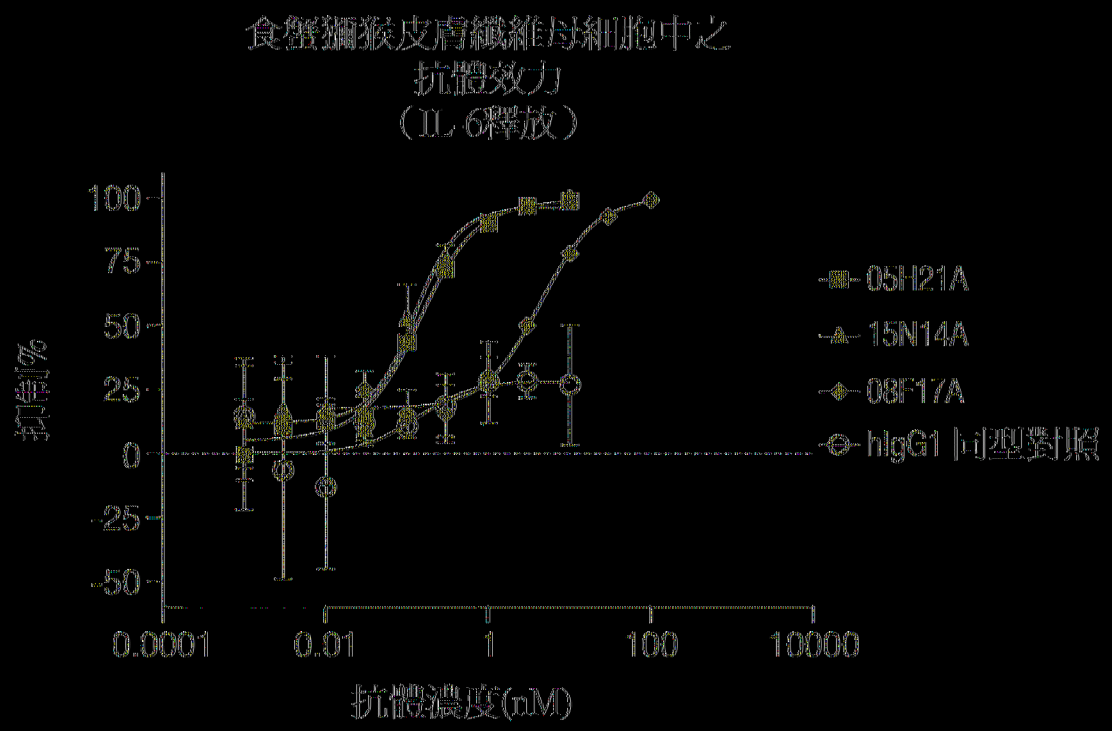


| IL-1β nmAb | IC50 (pM) |
|------------|-----------|
| 08F17A     | 283       |
| 05H21A     | 174       |
| 15N14A     | 173       |

[(F5B)]

人類全血檢定中之抗體效力  
(5個供體樣本之IC50值)

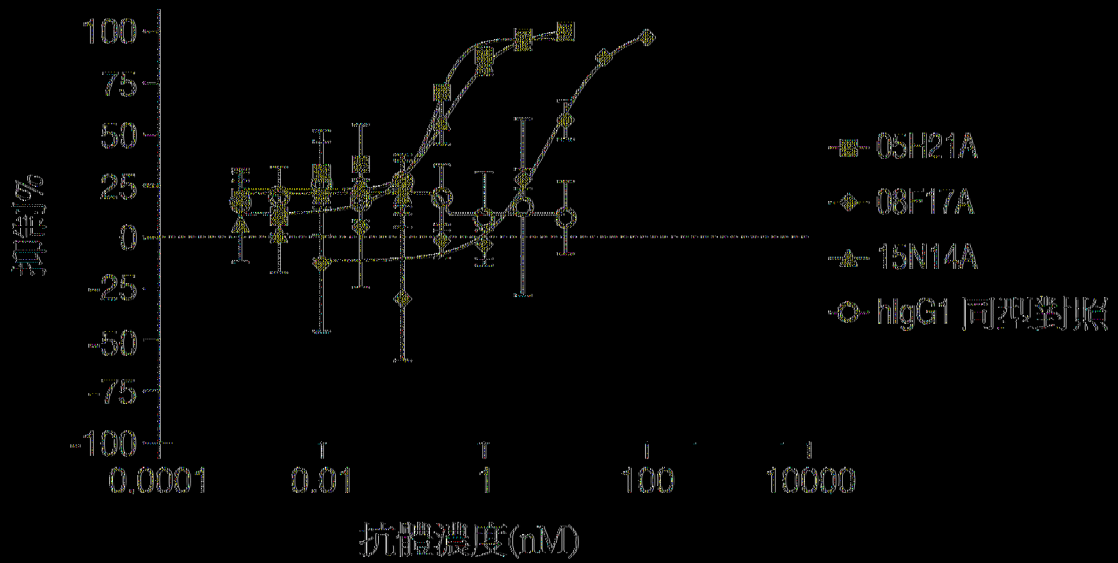




| IL-1β mAb | IC50 (pM) |
|-----------|-----------|
| 08F17A    | 4311      |
| 05H21A    | 140       |
| 15N14A    | 125       |

[(同/A)]

食蟹猴肺纖維母細胞中之  
抗體效力  
(IL-6釋放)



| IL-1β mAb | IC50 (pM) |
|-----------|-----------|
| 08F17A    | 6090      |
| 05H21A    | 248       |
| 15N14A    | 316       |

$\left| \frac{b_0 + b_1}{b_0} \right|$