I820031

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I820031 B**

(45)公告日： 中華民國 112 (2023) 年 11 月 01 日

(21)申請案號：107123988 (22)申請日： 中華民國 107 (2018) 年 07 月 11 日

(51)Int. Cl.： *C07K16/24 (2006.01)* *A61K39/395 (2006.01)*
C12N5/0783 (2010.01) *C12N15/13 (2006.01)*
C12N15/63 (2006.01) *A61P35/00 (2006.01)*

(30)優先權：2017/07/11 美國 62/531,259
2017/07/11 美國 62/531,190
2017/10/04 美國 62/568,231
2017/10/26 美國 62/577,257
2017/10/26 美國 62/577,259

(71)申請人：美商坎伯斯治療有限責任公司 (美國) COMPASS THERAPEUTICS LLC (US)
美國

(72)發明人：波柏維茲 皮歐茲 BOBROWICZ, PIOTR (US)；維德布姆 保羅 WIDBOOM, PAUL (US)；史奇密德特 麥可 瑪區 SCHMIDT, MICHAEL MARCH (US)；拉喬伊 傑森 M LAJOIE, JASON M. (US)；提格 羅傑 V 三世 TIGHE, ROBERT V., III (US)；梁 倬綸 LEUNG, CHEUK LUN (US)；伊斯奇歐卡克 烏葛 ESKIOCAK, UGUR (TR)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：
WO 2005035584A1

審查人員：王顗棣

申請專利範圍項數：14 項 圖式數：34 共 334 頁

(54)名稱

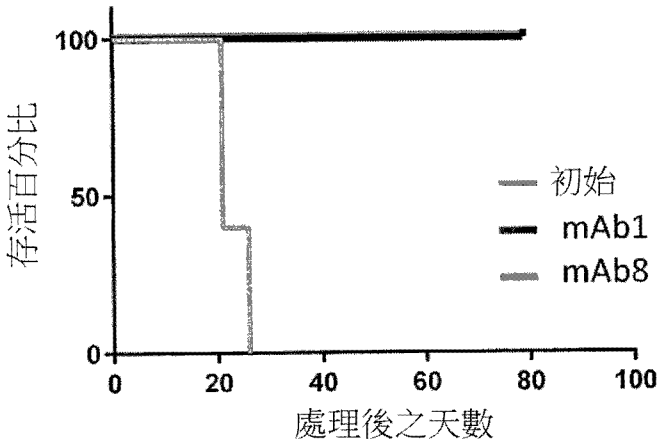
結合人類 CD137 之促效劑抗體及其用途

(57)摘要

本發明在諸多事項中特別是關於以下：與 CD137 之抗原決定基結合及促效 CD137 的化合物(例如抗體或其抗原結合片段)，及該化合物在用於治療或改善癌症之一或多種症狀之方法中的用途。

The present disclosure relates to,inter alia, compounds (e.g., antibodies, or antigen-binding fragments thereof) that bind to an epitope of CD137 and agonize CD137, and to use of the compounds in methods for treating, or ameliorating one or more symptoms of, cancer.

指定代表圖：



【圖15】

公告本

I820031

【發明摘要】

【中文發明名稱】

結合人類CD137之促效劑抗體及其用途

【英文發明名稱】

AGONIST ANTIBODIES THAT BIND HUMAN CD137 AND USES THEREOF

【中文】

本發明在諸多事項中特別是關於以下：與CD137之抗原決定基結合及促效CD137的化合物(例如抗體或其抗原結合片段)，及該化合物在用於治療或改善癌症之一或多種症狀之方法中的用途。

【英文】

The present disclosure relates to, *inter alia*, compounds (e.g., antibodies, or antigen-binding fragments thereof) that bind to an epitope of CD137 and agonize CD137, and to use of the compounds in methods for treating, or ameliorating one or more symptoms of, cancer.

【指定代表圖】

圖15

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

結合人類CD137之促效劑抗體及其用途

【英文發明名稱】

AGONIST ANTIBODIES THAT BIND HUMAN CD137 AND USES THEREOF

【技術領域】

【先前技術】

【0001】 近年來，愈來愈多的證據表明免疫系統充當腫瘤形成及發展之重要障壁。具有抗腫瘤潛力或活性之天然存在之T細胞存在於癌症患者體內之原理已使腫瘤學中免疫治療方法之發展合理化。免疫細胞，諸如T細胞、巨噬細胞及自然殺手細胞，可展現抗腫瘤活性且有效控制惡性腫瘤之發生及生長。腫瘤特異性或相關抗原可誘導免疫細胞識別及消除惡性腫瘤(Chen及Mellman, (2013) *Immunity* 39(1):1-10)。儘管存在腫瘤特異性免疫反應，但惡性腫瘤通常經由各種免疫調節機制逃避或避免免疫攻擊，導致無法控制腫瘤發生及發展(Motz及Coukos, (2013) *Immunity* 39(1):61-730)。實際上，癌症之新標誌為利用此等免疫調節機制及抗腫瘤免疫反應之失效，導致腫瘤逃避及避開免疫殺傷(Hanahan及Weinberg (2011) *Cell* 144(5):646-674)。

【0002】 癌症免疫療法中之新穎方法涉及抵消此等免疫逃避及避開機制且誘導內源性免疫系統排斥腫瘤。CD137 (或者稱為「腫瘤壞死因子受體超家族成員9」(TNFRSF9)、4-1BB及「由淋巴細胞活化誘導」(ILA))為屬於腫瘤壞死因子超家族之跨膜共刺激受體蛋白。CD137為TCR

活化後誘導之T細胞共刺激受體(Nam等人, (2005) *Curr Cancer Drug Targets* 5:357-363；Watts等人, (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68)。除在活化的CD4+及CD8+ T細胞上表現之外，CD137亦在CD4+CD25+調節性T細胞、活化的自然殺手(NK)及NK-T細胞、單核球、嗜中性球及樹突狀細胞上表現。

【0003】 在生理條件下，CD137藉由CD137配體(CD137L)連接，該配體為存在於包括B細胞、單核球、巨噬細胞及樹突狀細胞之抗原呈遞細胞上的促效劑膜分子(Watts等人, (2005) *Annu Rev Immunol* 23:23-68)。在與其配體相互作用後，CD137導致增加的TCR誘導之T細胞增殖、細胞介素產生、功能成熟及延長的CD8+ T細胞存活。已在許多模型中證明使用各種促效劑(例如促效性抗體、重組CD137L蛋白及CD137特異性適體)促使免疫系統攻擊腫瘤之CD137共刺激的可能性(Dharmadhikari等人, (2016) *Oncoimmunology* 5(4):e1113367及其中的參考文獻)。最近關於促效性CD137抗體(烏瑞魯單抗(Urelumab)，BMS-663513；Bristol-Myers Squibb)臨床評估之報告記錄人類受試者中治療相關不良事件之觀察結果，包括與抗體劑量相關之嚴重肝毒性(轉胺酶升高(transaminitis))的跡象(Segal等人, (2016) Clin Cancer Res 23(8):1929-1936)。相比之下，與抗PD-1抗體(派立珠單抗(pembrolizumab))組合測試之不同促效性CD137抗體(烏圖木單抗(Utomilumab)，PF-05082566；Pfizer)儘管未導致任何劑量限制性毒性，但顯示與單獨的抗PD-1抗體療法相當的結果(Tolcher, A.等人, (2017) Clin Cancer Res 23(18): 5349-5357)。此等結果突出表明，對於患有能夠用CD137促效劑治療之各種疾病及病況(包括癌症)的患者，仍存在對結合於人類CD137且展現足以開發安全有效的治療劑之特徵

的新穎促效性抗體的未滿足的需求。

【發明內容】

【0004】 本發明至少部分基於發現在動物中展現保護性抗腫瘤免疫性的新穎促效劑抗CD137抗體。值得注意的是，本文所述之抗體針對多種腫瘤類型且在寬劑量範圍內有效。此外，如實施例中所例示，本文所述之抗體在治療上有效針對非常大的腫瘤。舉例而言，用本文所述之促效劑抗CD137抗體治療負載腫瘤小鼠致使大至1,800 mm^3之腫瘤完全消退。如圖15所示，此類小鼠之治療亦產生保護性免疫。且與觀察到的功效一致的是腫瘤微環境中之陽性免疫表型變化，諸如增加的免疫細胞浸潤，伴隨調節性T細胞及耗盡的T細胞群體之減少(參見例如圖22A-22D)。

【0005】 如上所述，CD137之促效作用已與某些不良事件相關聯，包括人類之肝毒性相關死亡(參見例如Segal等人 (2017) *Clin Cancer Res* **23(8)**: 1929-1935)。在動物模型中亦觀察到用促效劑抗CD137抗體(諸如3H3抗體)處理產生之類似毒性(參見例如Bartkowiak等人 (2018) *Clin Cancer Res* **24(5)**:1138-1151)。然而，本文所述之促效劑抗CD137抗體對肝臟的影響最小，如藉由例如肝酶(例如丙胺酸轉胺酶(ALT))之血漿含量及免疫細胞浸潤所測定。舉例而言，在用抗體處理之小鼠中沒有證據表明肝內或脾內免疫細胞浸潤增加。因此，本文所述之抗體不僅高度有效，且亦使與CD137促效作用相關之某些毒性減量。

【0006】 雖然本發明不受任何特定理論或作用機制束縛，但咸信本文所述之抗體的優異治療特性及毒性減量特性部分源自其親和力及其結合之新穎抗原決定基中之一者或兩者。亦即，本文所述之抗體共享共同的新穎抗原決定基，其不同於其他促效劑抗CD137抗體之抗原決定基。並且，

如實施例中所例示，藉由本文所述之抗體結合此抗原決定基產生與結合CD137之不同抗原決定基的促效劑抗體相比有區別的活體外活性，諸如對調節性T細胞增殖之影響、$CD8^+$ T細胞及巨噬細胞之細胞介素產生以及細胞內信號傳導。此外，已證明抗體之親和力範圍(「最佳點(sweet spot)」)對於抗腫瘤活性特別理想。舉例而言，與具有更高或更低親和力之抗體相比，顯示具有中等親和力之抗體對大腫瘤更有效。

【0007】 鑒於前述，在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約40 nM至約100 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約110 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些態樣中，抗CD137抗體對人類CD137之親和力比mAb10對小鼠CD137之親和力高至少兩倍(例如至少三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或10倍)。在一些態樣中，抗CD137抗體之親和力不大於500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110或100 nM。在一些態樣中，抗CD137抗體對人類CD137之親和力比mAb10對小鼠CD137之親和力高至少兩倍(例如至少三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或10倍)，但不大於500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110或100 nM。

【0008】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO:3之胺基酸111至

132中之一或多個(例如一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個或全部25個)。在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分結合於SEQ ID NO:3之胺基酸111至132內的抗原決定基。在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分結合於SEQ ID NO:3之胺基酸111至132之全部或一部分。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之K114。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113及K114。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114、N126及I132。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114及P135。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135。在一些態樣中，抗體或其抗原結合部分以約30 nM至約100 nM (例如約30 nM至約110 nM)之親和力結合於人類CD137。

【0009】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約40至100 nM (例如在約40 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137且結合於人類CD137上包含SEQ ID NO:3之K114的抗原決定基。在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137且結合於人類CD137上包

含SEQ ID NO:3之K114的抗原決定基。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113及K114。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114、N126及I132。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114及P135。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135。

【0010】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如約30 nM至約100 nM)之親和力(K_D)結合人類CD137且結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基的序列。在一些態樣中，抗原決定基包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸殘基。

【0011】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137且結合於人類CD137上位於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至135內的抗原決定基。在一些態樣中，抗原決定基為至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個胺基酸。在一些態樣中，抗原決定基少於25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6或5個胺基酸。

【0012】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經

分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137且結合於人類CD137上包含ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)的抗原決定基。在一些態樣中，抗原決定基進一步包含SEQ ID NO:3之一或多個殘基N126、I132及P135。

【0013】 在前述態樣之任一者中，抗原決定基為非線性抗原決定基。在前述態樣之任一者中，SEQ ID NO:3之殘基K114的突變消除抗體或其抗原結合部分與人類CD137之結合。

【0014】 在前述態樣之任一者中，本文所述之抗體或抗原結合部分以約30至100 nM、30至95 nM、45至95 nM、50至90 nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些態樣中，抗體或抗原結合部分結合於人類CD137之細胞外結構域的非配體結合區。在一些態樣中，抗體或抗原結合部分不抑制CD137與CD137L之間的相互作用。在一些態樣中，非配體結合區跨越富含半胱胺酸之結構域(CRD) III及CRD IV。在前述態樣之任一者中，抗體或抗原結合部分不抑制CD137:CD137L單體形成三聚體。

【0015】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分：

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於人類CD137之細胞外結構域的非配體結合區；及

(iii)結合於人類CD137上包含SEQ ID NO:3之K114的抗原決定基。

【0016】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分：

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)不抑制人類CD137與人類CD137配體之間的相互作用；及

(iii)結合於人類CD137上包含SEQ ID NO:3之K114的抗原決定基。

【0017】 在一些態樣中，本發明之特徵在於特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分：(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137及(ii)不抑制CD137:CD137L單體形成三聚體(亦即CD137:CD137L三聚體:三聚體複合物)。在一些態樣中，本發明之特徵在於特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分：(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137及(ii)結合於人類CD137之細胞外結構域的非配體結合區。在一些態樣中，本發明之特徵在於特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分：(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137及(ii)不抑制人類CD137與CD137配體之間的相互作用。

【0018】 在前述態樣之任一者中，抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX (SEQ ID NO: 127)，其中X為任何胺基酸。在前述態樣之任一者中，重鏈CDR3之殘基D95、

L100、Y100E、Y100G、Y100H或其組合突變成丙胺酸導致喪失與人類CD137之結合。在前述態樣之任一者中，殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成丙胺酸導致與人類CD137之結合減少。在前述態樣之任一者中，抗體或抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0019】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0020】 在另一態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0021】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO:3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135。

【0022】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO:3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸；或

(iv)其組合。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0023】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO:3之一或多個殘基E111、T113、

K114、N126、I132及P135；

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸；或

(iv)其組合。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0024】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO:3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；及

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0025】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO:3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；及

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0026】 在前述態樣之任一者中，抗原決定基包含K114。在前述態樣之任一者中，抗原決定基包含E111、T113及K114。在前述態樣之任一者中，抗原決定基包含E11、T113、K114、N126及I132。在前述態樣之任一者中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135。

【0027】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基。

【0028】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸；或

(iv)其組合。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0029】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸；或

(iv)其組合。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0030】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；及

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0031】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；及

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0032】 在前述態樣之任一者中，抗原決定基包含對應於SEQ ID NO:3之胺基酸位置111至135的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸殘

基。

【0033】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力結合人類CD137；及

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)的抗原決定基。

【0034】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)的抗原決定基；

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸；或

(iv)其組合。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0035】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)的抗原決定基；

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列

$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸；或

(iv)其組合。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0036】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)的抗原決定基；及

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0037】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)該抗體或其抗原結合部分特異性結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)的抗原決定基；及

(iii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列

$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸且其中X_{10}為任何胺基酸。在一些態樣中，X_2為脯胺酸，X_3為苯丙胺酸或色胺酸，X_5為天冬胺酸或麩胺酸，X_8為酪胺酸且X_9為酪胺酸。

【0038】 在前述態樣之任一者中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之殘基ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)。在一些態樣中，抗原決定基包含SEQ ID NO:3之ELTK (對應於SEQ ID NO:3之胺基酸殘基111至114)及SEQ ID NO:3之殘基N126、I132及P135。

【0039】 在前述態樣之任一者中，抗原決定基為非線性抗原決定基。在一些態樣中，人類CD137 (SEQ ID NO: 3)之殘基K114的突變消除抗體或其抗原結合部分與人類CD137之結合。

【0040】 在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX (SEQ ID NO: 128)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，本文所述之抗體或抗原結合部分之重鏈CDR3的殘基D95、L100、Y100E、Y100G、Y100H或其組合的突變導致喪失與人類CD137之結合。在一些態樣中，本文所述之抗體或抗原結合部分之重鏈CDR3的殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成丙胺酸導致與人類CD137之結合減少。在其他態樣中，本文所述之抗體或抗原結合部分之重鏈CDR3的殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成除丙胺酸之外的任何殘基導致與人類CD137之結合增加。

【0041】在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分以約45至95 nM、50至90 nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之(K_D)結合人類CD137。在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分以約45 nM至約95 nM、約50至約90 nM、約55至約85 nM、約60至約80 nM、約65至約75 nM、約55至約75 nM、約40至約70 nM、約50至約80 nM或約60至約90 nM之(K_D)結合人類CD137。

【0042】在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0043】在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含選自由以下組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a)分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；及

(b)分別在SEQ ID NO: 51、108及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【0044】在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 4及101組成之群的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。

【0045】在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a)分別為SEQ ID NO: 4及6；及

(b)分別為SEQ ID NO: 101及6。

【0046】 在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4及101組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0047】 在前述態樣之任一者中，抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其包含與選自由以下組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(a)分別為SEQ ID NO: 4及6；及

(b)分別為SEQ ID NO: 101及6。

【0048】 在前述態樣之任一者中，如技術方案1至27中任一項之抗體或抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分包含重鏈及輕鏈，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a)分別為SEQ ID NO: 129及133；及

(b)分別為SEQ ID NO: 131及133。

【0049】 在前述態樣之任一者中，本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分為人類CD137活性之促效劑。

【0050】 在前述態樣之任一者中，本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分與mAb1或mAb1之抗原結合片段競爭結合於人類CD137之抗原決定基。

【0051】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含選自由以下

組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(b) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 70、79及90中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(c) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 71、80及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(d) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 72、81及92中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(e) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 73、82及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(f) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 74、83及93中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(g) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 75、84及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(h) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及

CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 74、85及94中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(i) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 76、86及95中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(j) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 77、87及93中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(k) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、88及90中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(l) 分別在SEQ ID NO: 49、57及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(m) 分別在SEQ ID NO: 49、58及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(n) 分別在SEQ ID NO: 49、59及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(o) 分別在SEQ ID NO: 49、60及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(p) 分別在SEQ ID NO: 50、61及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(q) 分別在SEQ ID NO: 50、58及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(r) 分別在SEQ ID NO: 51、62及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(s) 分別在SEQ ID NO: 52、63及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(t) 分別在SEQ ID NO: 50、64及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(u) 分別在SEQ ID NO: 50、65及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(v) 分別在SEQ ID NO: 51、108及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(w) 分別在SEQ ID NO: 107、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、

CDR2及CDR3序列；及

(x)　分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 109、110及92中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【0052】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101及103組成之群的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46及105組成之群的胺基酸序列。

【0053】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分包含由選自由以下組成之群的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a)　分別為SEQ ID NO: 5及7；及

(b)　分別為SEQ ID NO: 102及7。

【0054】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含由選自由以下組成之群的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a)分別為SEQ ID NO: 5及7；

(b)分別為SEQ ID NO: 5及29；

(c)分別為SEQ ID NO: 5及31；

(d)分別為SEQ ID NO: 5及33；

(e)分別為SEQ ID NO: 5及35；

(f)分別為SEQ ID NO: 5及37；

(g)分別為SEQ ID NO: 5及39；

(h)分別為SEQ ID NO: 5及41；

(i)分別為SEQ ID NO: 5及43；

(j)分別為SEQ ID NO: 5及45；

(k)分別為SEQ ID NO: 5及47；

(l)分別為SEQ ID NO: 9及7；

(m)分別為SEQ ID NO: 11及7；

(n)分別為SEQ ID NO: 13及7；

(o)分別為SEQ ID NO: 15及7；

(p)分別為SEQ ID NO: 17及7；

(q)分別為SEQ ID NO: 19及7；

(r)分別為SEQ ID NO: 21及7；

(s)分別為SEQ ID NO: 23及7；

(t)分別為SEQ ID NO: 25及7；

(u)分別為SEQ ID NO: 27及7；

(v)分別為SEQ ID NO: 102及7；

(w)分別為SEQ ID NO: 104及7；及

(x)分別為SEQ ID NO: 5及106。

【0055】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0056】 在另一態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分

離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0057】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX (SEQ ID NO: 127)，其中X為任何胺基酸。在一些態樣中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0058】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)，其中X為任何胺基酸，且其中殘基D95、L100、Y100E、Y100G、Y100H或其組合的突變導致喪失與人類CD137之結合。

【0059】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX (SEQ ID NO: 127)，其中X為任何胺基酸，且其中殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成丙胺酸導致與人類CD137之結合減少。

【0060】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX (SEQ

ID NO: 127)，其中X為任何胺基酸，且其中殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成除丙胺酸之外的任何殘基導致與人類CD137之結合增加。

【0061】在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DX1X2X3X4LX5X6X7X8YX9YYX10 (SEQ ID NO: 128)，其中X1為任何胺基酸，其中X2為非極性胺基酸，其中X3為非極性胺基酸，其中X4為任何胺基酸，其中X5為極性胺基酸，其中X6為任何胺基酸，其中X7為任何胺基酸，其中X8為極性胺基酸，其中X9為極性胺基酸且其中X10為任何胺基酸。在一些態樣中，其中X2為脯胺酸，其中X3為苯丙胺酸或色胺酸，其中X5為天冬胺酸或麩胺酸，其中X8為酪胺酸且其中X9為酪胺酸。

【0062】在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 4及28；

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及30；

(d) 分別為SEQ ID NO: 4及32；

(e) 分別為SEQ ID NO: 4及34；

(f) 分別為SEQ ID NO: 4及36；

(g) 分別為SEQ ID NO: 4及38；

(h) 分別為SEQ ID NO: 4及40；

(i) 分別為SEQ ID NO: 4及42；

(j) 分別為SEQ ID NO: 4及44；

(k) 分別為SEQ ID NO: 4及46；

(l) 分別為SEQ ID NO: 8及6；

(m) 分別為SEQ ID NO: 10及6；

(n) 分別為SEQ ID NO: 12及6；

(o) 分別為SEQ ID NO: 14及6；

(p) 分別為SEQ ID NO: 16及6；

(q) 分別為SEQ ID NO: 18及6；

(r) 分別為SEQ ID NO: 20及6；

(s) 分別為SEQ ID NO: 22及6；

(t) 分別為SEQ ID NO: 24及6；

(u) 分別為SEQ ID NO: 26及6；

(v) 分別為SEQ ID NO: 101及6；

(w) 分別為SEQ ID NO: 103及6；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 4及105。

【0063】 在其他態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101及103組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46及105組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0064】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其包含與選自由以下組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 4及28；

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及30；

(d) 分別為SEQ ID NO: 4及32；

(e) 分別為SEQ ID NO: 4及34；

(f) 分別為SEQ ID NO: 4及36；

(g) 分別為SEQ ID NO: 4及38；

(h) 分別為SEQ ID NO: 4及40；

(i) 分別為SEQ ID NO: 4及42；

(j) 分別為SEQ ID NO: 4及44；

(k) 分別為SEQ ID NO: 4及46；

(l) 分別為SEQ ID NO: 8及6；

(m) 分別為SEQ ID NO: 10及6；

(n) 分別為SEQ ID NO: 12及6；

(o) 分別為SEQ ID NO: 14及6；

(p) 分別為SEQ ID NO: 16及6；

(q) 分別為SEQ ID NO: 18及6；

(r) 分別為SEQ ID NO: 20及6；

(s) 分別為SEQ ID NO: 22及6；

(t) 分別為SEQ ID NO: 24及6；

(u) 分別為SEQ ID NO: 26及6；

(v) 分別為SEQ ID NO: 101及6；

(w) 分別為SEQ ID NO: 103及6；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 4及105。

【0065】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈序列，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a)分別為SEQ ID NO: 129及133；及

(b)分別為SEQ ID NO: 131及133。

【0066】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含具有分別在SEQ ID NO: 129及133中所示之胺基酸序列的重鏈及輕鏈序列。

【0067】 在一些態樣中，本發明提供特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含具有分別在SEQ ID NO: 131及133中所示之胺基酸序列的重鏈及輕鏈序列。

【0068】 在前述態樣之任一者中，抗體或抗原結合部分特異性結合並促效人類CD137。

【0069】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分展現選自由以下組成之群的至少一或多種以下特性：

(a) 誘導或增強CD137三聚體之二聚化；

(b) 誘導或增強CD137三聚體之多聚化；

(c) 誘導或增強T細胞活化；

(d) 誘導或增強細胞毒性T細胞反應；

(e) 誘導或增強T細胞增殖；

(f) 誘導或增強細胞介素產生；及

(g) 特性(a)至(f)之任何組合。

【0070】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分相對於結合人類CD137之參考抗體展現選自由以下組成之群的至少一或多種以下特性：

(a) 不誘導或增強肝內T細胞活化；

(b) 不誘導或增強肝內T細胞增殖；

(c) 不誘導或增強脾內T細胞活化；

(d) 不誘導或增強脾內T細胞增殖；

(e) 不誘導或增強巨噬細胞活化；

(f) 不誘導或增強巨噬細胞分化；

(g) 不誘導或增強丙胺酸轉胺酶(ALT)活性；及

(h) 特性(a)至(g)之任何組合。在一些態樣中，參考抗體為烏瑞魯單抗。

【0071】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞活化，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞活化。

【0072】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強腫瘤微環境中之T細胞活化，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中之T細胞活化。

【0073】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部

分誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應。

【0074】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強腫瘤微環境中之細胞毒性T細胞反應，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中之T細胞反應。

【0075】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞增殖，但不顯著誘導脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞增殖。

【0076】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導腫瘤微環境中之T細胞增殖，但不顯著誘導脾臟及/或肝臟中之T細胞增殖。

【0077】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞浸潤，但不顯著誘導脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞浸潤。

【0078】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導腫瘤微環境中之T細胞浸潤，但不顯著誘導脾臟及/或肝臟中之T細胞浸潤。

【0079】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合片段誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之細胞介素產生，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之細胞介素產生。

【0080】 在前述態樣之任一者中，本文所述之抗體或抗原結合部分的特性不依賴於Fcγ受體結合。在一些態樣中，本文所述之抗體或抗原結合部分之特性藉由Fcγ受體結合而增強。

【0081】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分與mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)交叉競爭。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分與mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)、mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)或mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)交叉競爭。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分與mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)交叉競爭。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分與mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)交叉競爭。

【0082】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分至少包含mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的功能特性。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分至少包含mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)、mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)或mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的功能特性。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分至少包含mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的功能特性。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分至少包含mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的功能特性。

【0083】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分具有至少等於mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可

變序列的抗體)的K_D值。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分具有至少等於mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)、mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)或mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的K_D值。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分具有至少等於mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的K_D值。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分具有至少等於mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的K_D值。

【0084】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分與食蟹獼猴CD137及/或小鼠CD137交叉反應。

【0085】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分係選自由以下組成之群：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD及IgE抗體。在一些態樣中，經分離單株抗體或其抗原結合部分為IgG1抗體或IgG4抗體。

【0086】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體包含野生型IgG1或野生型IgG4重鏈恆定區。在一些態樣中，經分離單株抗體包含突變型IgG1重鏈恆定區。在一些態樣中，經分離單株抗體包含突變型IgG4重鏈恆定區。在一些態樣中，突變型IgG4重鏈恆定區包含Ser228處之取代。在一些態樣中，突變型IgG4重鏈恆定區包含取代S228P。

【0087】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分結合於CD137之抗原決定基，其中包含該抗體結合之抗原決定基的胺基酸殘基位於包含本文所述之mAb1抗體之互補位的胺基酸殘基的4埃內。

【0088】 在前述態樣之任一者中，經分離單株抗體或其抗原結合部分結合於CD137之抗原決定基，其中該抗體結合之抗原決定基的突變抑制、減少或阻斷與該抗體及與抗體mAb1兩者之結合。

【0089】 在前述態樣之任一者中，經分離抗體或其抗原結合部分為完全人類或人類化的(亦即完全人類或人類化抗體或其抗原結合部分)。

【0090】 在一些態樣中，本發明提供醫藥組合物，其包含如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分及醫藥學上可接受之載劑。

【0091】 在其他態樣中，本發明提供核酸，其包含編碼本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分之輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的核苷酸序列。在一些態樣中，核酸包含SEQ ID NO: 5及7。在一些態樣中，核酸包含SEQ ID NO: 102及7。在一些態樣中，本發明提供包含本文所述之核酸的表現載體。在其他態樣中，本發明提供經本文所述之表現載體轉型之細胞。

【0092】 在另一態樣中，本發明提供用於產生特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分的方法，該方法包含在允許表現該單株抗體或其抗原結合部分之條件下維持本文所述之細胞。在一些態樣中，用於產生特異性結合人類CD137之單株抗體或其抗原結合部分的方法進一步包含獲得該單株抗體或其抗原結合部分。

【0093】 在另一態樣中，本發明提供用於誘導或增強受試者之人類CD137三聚體二聚化的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。

【0094】 在另一態樣中，本發明提供用於誘導或增強受試者之人類CD137三聚體多聚化的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本

文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。

【0095】 在其他態樣中，本發明提供用於誘導或增強受試者之人類CD137介導之T細胞活化的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。在一些態樣中，T細胞活化係發生在腫瘤微環境中。在其他態樣中，T細胞活化不顯著發生在受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0096】 在另一態樣中，本發明提供用於誘導或增強受試者之人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。在一些態樣中，細胞毒性T細胞反應係發生在腫瘤微環境中。在其他態樣中，細胞毒性T細胞反應不顯著發生在受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0097】 在一些態樣中，本發明提供用於誘導或增強受試者之人類CD137介導之細胞介素產生的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2、TNFα、IL-13、IFNγ或其組合。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及TNFα。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-13及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為

IL-2、TNFα及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2、TNFα及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IFNγ、TNFα及IL-13。在其他態樣中，細胞介素產生係發生在腫瘤微環境中。在其他態樣中，細胞介素產生不顯著發生在受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0098】 在另一態樣中，本發明提供用於誘導或增強受試者之人類CD137介導之T細胞增殖的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。在一些態樣中，T細胞增殖係發生在腫瘤微環境中。在其他態樣中，T細胞增殖不顯著發生在受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0099】 在另一態樣中，本發明提供用於減少或抑制腫瘤生長之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。

【0100】 在另一態樣中，本發明提供用於治療受試者之人類CD137介導之病症的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。

【0101】 在一些態樣中，本發明提供用於治療受試者之癌症的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。在一些態樣中，癌症係選自由以下組成之群：黑色素瘤、神經膠質瘤、腎癌、乳癌、血液癌及頭頸癌。在一些態樣中，血液癌為B細胞淋巴瘤。

【0102】 在一些態樣中，本發明提供誘導抗腫瘤記憶免疫反應之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分或本文所述之醫藥組合物。

【0103】在前述態樣之任一者中，在投與抗體或抗原結合部分之後，免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤增加。在一些態樣中，免疫細胞表現CD45。

【0104】在前述態樣之任一者中，在投與抗體或抗原結合部分之後，T調節(Treg)細胞之數量在腫瘤微環境中降低。在一些態樣中，Treg細胞表現CD4、FOXP-3及CD24。

【0105】在前述態樣之任一者中，在投與單株抗體或抗原結合部分之後，巨噬細胞之數量在腫瘤微環境中降低。在一些態樣中，巨噬細胞表現CD45及CD11b。

【0106】在前述態樣之任一者中，在投與抗體或抗原結合部分之後，T細胞耗竭減少。在一些態樣中，T細胞耗竭之減少包含TIGIT、PD-1、LAG-3或其組合之表現降低。在一些態樣中，T細胞耗竭之減少包含TIGIT及PD-1之表現降低。

【0107】在前述態樣之任一者中，CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、自然殺手細胞或其組合之消耗降低抗體或其抗原結合部分之功效。

【0108】在另一態樣中，本發明提供用於偵測生物樣品中存在或不存在人類CD137之方法，其包含：

(a)　使生物樣品與本文所述之抗體或抗原結合部分接觸，其中該抗體或抗原結合部分用可偵測物質標記；及

(b)　偵測與人類CD137結合之抗體或抗原結合部分，從而偵測生物樣品中存在或不存在人類CD137。

【0109】在另一態樣中，本發明提供用於治療或延遲有需要之受試者中癌症進展或減少或抑制腫瘤生長之套組，其包含如下：容器，該容器

包含本文所述之抗體或抗原結合部分及視情況選用之醫藥學上可接受之載劑或本文所述之醫藥組合物；及藥品仿單，該藥品仿單包含投與抗體或醫藥組合物之說明。

【0110】 在另一態樣中，本發明提供用於治療或延遲有需要之受試者中癌症進展或減少或抑制腫瘤生長之套組，其包含如下：容器，該容器包含本文所述之抗體或抗原結合部分及視情況選用之醫藥學上可接受之載劑或本文所述之醫藥組合物；及藥品仿單，該藥品仿單包含單獨投與或與另一種藥劑組合投與抗體或醫藥組合物之說明。

【0111】 在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強受試者之人類CD137介導之T細胞活化的用途。在其他態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強受試者之人類CD137三聚體多聚化的用途。在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強受試者之人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應的用途。在其他態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強受試者之人類CD137介導之細胞介素產生的用途。在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分誘導或增強受試者之人類CD137介導之T細胞增殖的用途。

【0112】 在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分減少或抑制有需要之受試者之腫瘤生長的用途。在其他態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分治療有需要之受試者之人類CD137介導之病症的用途。在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分治療有需要之受試者

之癌症的用途。

【0113】 在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分用於製造用於在有需要之受試者中治療或延遲癌症進展或減少或抑制腫瘤生長之藥劑的用途。在其他態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其用於製造用於在有需要之受試者中治療或延遲癌症進展或減少或抑制腫瘤生長的藥劑。在另一態樣中，本發明提供如本文所述之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其用作藥劑。

【圖式簡單說明】

【0114】

圖1提供描繪親本抗CD137抗體mAb1之親和力成熟純系之結合親和力分佈的圖式。

圖2提供顯示mAb1 CDRH3丙胺酸掃描結果之示意圖，如藉由對人類或小鼠CD137之結合親和力(K_D)所量測。

圖3A顯示人類CD137之胺基酸序列，其中包含由mAb1、mAb4或mAb5結合之抗原決定基的殘基以粗體表示。

圖3B為描繪如藉由表面電漿子共振所測定之mAb1與小鼠及大鼠CD137之細胞外結構域之動力學結合資料的圖式。

圖3C提供與CD137L (以灰色顯示)結合且殘基E111、T113、K114及P135顯示為球體之人類CD137的X射線結晶學影像。

圖3D提供以三聚體形式與CD137L (以灰色顯示)結合且殘基E111、T113、K114及P135顯示為球體之人類CD137的X射線結晶學影像。

圖4A提供流動式細胞測量術資料的散點圖，其描繪響應於抗CD137

抗體之CD44+ T細胞上TIGIT (頂部)或PD-1 (底部)表現的增加。

圖4B提供描繪在用抗CD137抗體處理之後小鼠脾臟中表現TIGIT (頂部)或PD-1 (底部)之CD8+ CD44+ T細胞之定量的圖式。

圖4C提供描繪在用抗CD137抗體處理之後小鼠脾臟中CD8+ T細胞之定量的圖式，其為CD45+細胞之百分比(左)或每個脾臟之細胞數目(右)。

圖5A提供顯示在用指定劑量之抗CD137抗體處理之後小鼠之個別CT26腫瘤體積的圖式。

圖5B為顯示圖5A中提供之平均腫瘤體積的圖式。

圖5C為卡普蘭-邁耶圖(Kaplan-Meier graph)，其顯示在用抗CD137抗體處理之後具有腫瘤之小鼠的總存活率。

圖5D為顯示用致瘤性CT26細胞再攻擊之小鼠之腫瘤體積的圖式。

圖6A提供顯示在用親本及親和力成熟的抗CD137抗體處理之後小鼠之個別CT26腫瘤體積的圖式。

圖6B為提供圖6A中提供之平均腫瘤體積的圖式。

圖7提供描繪在用指定劑量之抗CD137抗體處理之後來自脾T細胞(頂部)及腫瘤浸潤性白血球(底部)之CD8+或CD4+ T細胞百分比的圖式。

圖8提供顯示當用mAb1處理小鼠時，在淋巴細胞耗竭抗體存在或不存在下之個體腫瘤體積的圖式。CD4+ T細胞用GK1.5耗竭(中間的圖)，CD8+ T細胞用YTS169.4耗竭(右側第二幅圖)，且NK細胞用抗脫唾液酸GM1抗體耗竭(右側最後一幅圖)。

圖9提供顯示具有CT26腫瘤(結腸癌)、EMT-6腫瘤(乳癌)、A20腫瘤(B細胞淋巴瘤)或MC38腫瘤(結腸癌)且用mAb8或同型對照抗體處理之小鼠之個體腫瘤體積的圖式。

圖10A至10C顯示以150 μg/小鼠投與之抗CD137抗體的活體內抗腫瘤功效。個體腫瘤體積顯示於**10A**中，平均腫瘤體積顯示於**10B**中且存活百分比顯示於**10C**中。

圖11A至11C顯示以20 μg/小鼠投與之抗CD137抗體的活體內抗腫瘤功效。個體腫瘤體積顯示於**11A**中，平均腫瘤體積顯示於**11B**中且存活百分比顯示於**11C**中。

圖12提供顯示具有CT26腫瘤且用不同劑量之mAb1 (亦即12.5、25、50、100或200 μg)或同型對照處理之小鼠之個體腫瘤體積的圖式。

圖13A及13B顯示Fc結合對mAb1之抗腫瘤功效的貢獻。**圖13A**顯示呈IgG4同型或IgG4去糖基化同型之mAb1。平均腫瘤體積顯示在頂部且個體腫瘤體積顯示在底部。**圖13B**顯示呈IgG4同型或IgG1去糖基化同型之mAb1。平均腫瘤體積顯示在頂部且個體腫瘤體積顯示在底部。

圖14A至14D顯示抗CD137抗體在接受處理之前具有已確立之大腫瘤(亦即500 mm^3)之小鼠中的活體內抗腫瘤功效。個體腫瘤體積顯示於**14A及14D**中，平均腫瘤體積顯示於**14B**中且存活百分比顯示於**14C**中。

圖15提供卡普蘭-邁耶存活圖，其顯示先前用圖14A至14C之mAb1、mAb8或同型對照處理且視為治癒，在相對側腹用CT26細胞再攻擊之小鼠中的保護性抗腫瘤免疫。

圖16A提供流動式細胞測量術資料之散佈圖，其顯示在用指定劑量之抗CD137抗體處理後CD45+肝內T細胞之擴增。

圖16B提供描繪在用指定劑量之抗CD137抗體處理後肝內CD8+ T細胞(左)及CD4+ T細胞(右)之定量的圖式。

圖17A提供描繪在用親和力成熟的抗CD137抗體處理小鼠之後，來自

脾T細胞之CD3+、CD4+或CD8+ T細胞之百分比的圖式。

圖17B提供描繪在用親和力成熟的抗CD137抗體處理小鼠之後，來自肝T細胞之CD3+、CD4+或CD8+ T細胞之百分比的圖式。

圖18A提供描繪在用親和力成熟的抗CD137抗體處理小鼠之後，表現TIGIT、PD-1或LAG3之脾CD8+CD44+ T細胞之百分比的圖式。

圖18B提供描繪在用親和力成熟的抗CD137抗體處理小鼠之後，表現TIGIT、PD-1或LAG3之肝CD8+CD44+ T細胞之百分比的圖式。

圖19A提供描繪在用親和力成熟的抗CD137抗體處理小鼠之後，表現TIGIT、PD-1或LAG3之脾CD4+CD44+ T細胞之百分比的圖式。

圖19B提供描繪在用親和力成熟的抗CD137抗體處理小鼠之後，表現TIGIT、PD-1或LAG3之肝CD4+CD44+ T細胞之百分比的圖式。

圖20A至20C提供由多次投與不同劑量之抗CD137抗體mAb1、mAb8或3H3引起之毒性之活體內指標的圖式。**圖20A**為顯示在投與抗CD137抗體之後肝臟中CD8+ T細胞百分比的圖式。**圖20B**為顯示投與抗CD137抗體之小鼠血漿中丙胺酸轉胺酶(ALT)活性的圖式。**圖20C**為顯示投與抗CD137抗體之小鼠血漿中TNFα含量的圖式。

圖21提供如圖20A至20C中所述用mAb1、mAb8、3H3或同型對照處理之小鼠的用蘇木精及伊紅(H&E)染色之切片肝臟的代表性影像。箭頭指示免疫細胞浸潤。

圖22A至22D提供代表性FACS圖，顯示腫瘤微環境中之免疫細胞再程式化。投與具有CT26腫瘤之小鼠多劑量的mAb8或同型對照(第0、3、6及9天)。**圖22A**顯示基於CD45表現之總體免疫細胞浸潤。**圖22B**顯示如藉由FOXP-3及CD25表現所量測之Treg細胞減少。**圖22C**顯示如藉由PD-1及

TIGIT表現所量測之T細胞耗竭的減少。**圖22D**顯示如藉由F4/80及CD11b表現所量測之腫瘤相關巨噬細胞的減少。

圖23顯示具有CT26腫瘤且用抗CD137抗體mAb1及3H3或同型對照處理之小鼠的脾臟的免疫表型分析。

圖24為顯示當用指定抗CD137抗體刺激時，在OVA刺激分析中由鼠T細胞產生之IL-2濃度(pg/ml)的圖式。連同阿特珠單抗(Atezolizumab) (抗PD-L1抗體)一起，使用鼠抗PD-1 (RMP1-14)作為比較物。

圖25A及25B為顯示在OVA刺激分析中用指定抗CD137抗體刺激時，表現CD25 (**25A**)或TIGIT (**25B**)之鼠CD8+ T細胞百分比的圖式。連同阿特珠單抗(抗PD-L1抗體)一起，使用鼠抗PD-1 (RMP1-14)及鼠抗CD137 (3H3)作為比較物。

圖26提供描繪與培養盤結合之抗CD137抗體一起培育後由CD3+ T細胞產生之細胞介素(IL-2、TNFα、IL-13及IFNγ)之定量的條形圖。細胞介素含量顯示為相對於藉由抗CD3抗體之基線活化的倍數增加。

圖27A至27C提供描繪用抗CD137抗體處理後混合淋巴細胞反應中IFNγ產生之劑量-反應的圖式。使用抗PD1抗體(Keytruda；Merck)作為對照。

圖28為顯示在抗CD137抗體mAb1、mAb8、mAb4或mAb5或同型對照存在下，與經工程改造以表現CD32之CHO細胞(CHO-CD32細胞)共培養之人類T細胞之IFNγ產生的圖式。

圖29為顯示在抗CD137抗體mAb1、mAb8、mAb4或mAb5、同型對照存在或不存在下，當與經工程改造以表現CD32之CHO細胞(CHO-CD32細胞)共培養時Treg細胞增殖的圖式。

圖30提供顯示在不同濃度之mAb1、mAB8、mAb4或mAb5存在下，經NFκβ或SRF螢光素酶報導基因轉導之CCL-119細胞中之NFκβ及SRF信號傳導的圖式。

圖31提供顯示在抗CD137抗體mAb1、3H3或LOB12.3或同型對照存在下，用TLR9促效劑CpG刺激之骨髓源性小鼠巨噬細胞誘導IL-6、TNFα或IL-27的圖式。

圖32提供顯示在抗CD137抗體mAb1、mAb4或mAb5或同型對照存在下，用LPS刺激之人類單核球源性巨噬細胞誘導TNFα的圖式。

圖33提供顯示抗CD137抗體對巨噬細胞分化之效應的圖式，如藉由在抗CD137抗體mAb1、mAb4或mAb5或同型對照存在下用PMA培養之THP1單核球的CD64表現所測定。

圖34A至34C提供顯示來自接受人類PBMC及抗CD137抗體mAb1、mAb4或mAb5或同型對照之免疫活性小鼠之hCD45+、hCD8+或hCD4+百分比的圖式。

【實施方式】

【0115】

相關申請案

本申請案主張2017年7月11日申請之美國臨時專利申請案序號62/531,259；2017年7月11日申請之美國臨時專利申請案序號62/531,190；2017年10月4日申請之美國臨時專利申請案序號62/568,231；2017年10月26日申請之美國臨時專利申請案序號62/577,257；及2017年10月26日申請之美國臨時專利申請案序號62/577,259之權益。上文提及之申請案之全部內容以引用的方式併入本文

中。

【0116】已顯示使用促效劑抗CD137抗體之癌症療法誘導小鼠之免疫介導性腫瘤排斥反應，且此種類型之類似藥劑目前正在癌症患者中進行測試。先前的報告已指出，抗CD137抗體之投與可誘導肝臟中T淋巴細胞之多株浸潤的顯著累積(Dubrot等人, (2010) Cancer Immunology, Immunotherapy 59(8):1223-1233)，提示肝臟炎症及藥物誘導之肝毒性的可能性。最近關於促效性抗CD137抗體(烏瑞魯單抗，BMS-663513；Bristol-Myers Squibb)臨床評估之報告記錄人類受試者中治療相關不良事件之觀察結果，包括與抗體劑量相關之嚴重肝毒性(轉胺酶升高)的跡象(Segal等人, (2016) Clin Cancer Res 23(8):1929-1936)。

【0117】本發明提供經分離單株抗體或其抗原結合部分，其特異性結合於人類CD137之抗原決定基且促效人類CD137。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分與mAb1競爭結合於人類CD137之抗原決定基。在一些態樣中，與抗小鼠CD137 3H3抗體(Melero等人 (1997) Nature Medicine 3(6):682-685；Uno等人 (2006) Nature Medicine 12(6):693-696)及至少兩種臨床開發中之抗人類CD137抗體(BMS-663513/烏瑞魯單抗，Bristol-Meyers Squibb，及PF-05082566/烏圖木單抗，Pfizer)相比，本發明之抗CD137促效劑抗體誘導腫瘤微環境中CD8+ T細胞之細胞介素產生及擴增，以及活體內保護性抗腫瘤免疫，同時降低毒性相關事件之可能性。

【0118】

定義

除非另外規定，否則申請專利範圍及說明書中所用之術語定義如

下。

【0119】 必須注意，除非上下文另外明確指示，否則如本說明書及隨附申請專利範圍中所用，單數形式「一」及「該」包括複數個指示物。另外，除非上下文另有要求，否則單數術語應包括複數且複數術語應包括單數。

【0120】 如本文所用，「約」應為一般熟習此項技術者所理解，且在一定程度上視使用其之上下文而變化。若該術語之使用在給定使用其之上下文的情況下對一般熟習此項技術者而言不清楚，則「約」將意謂至多特定值加或減10%。

【0121】 如本文所用，術語「促效劑」係指部分或完全促進、誘導、增加及/或活化本文所揭示之天然多肽(例如CD137)之生物活性的任何分子。適合之促效劑分子特別包括促效劑抗體或抗體片段、天然多肽之片段或胺基酸序列變體、肽、反義寡核苷酸、有機小分子等。在一些實施例中，以劑量依賴性方式觀察到在促效劑存在下之活化。在一些實施例中，量測之信號(例如生物活性)比在可比條件下用陰性對照量測之信號高至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%或至少約100%。本文亦揭示鑑定適用於本發明方法之促效劑的方法。舉例而言，此等方法包括但不限於結合分析，諸如酶聯免疫吸附分析(ELISA)、Forte Bio©系統及放射免疫分析(RIA)。此等分析確定促效劑結合所關注之多肽(例如受體或配體，例如CD137)之能力，且因此表明促效劑促進、增加或活化多肽活性之能

力。促效劑之功效亦可使用功能分析來確定，諸如促效劑活化或促進多肽功能之能力。舉例而言，功能分析可包含使多肽與候選促效劑分子接觸且量測通常與多肽相關之一或多種生物活性的可偵測變化。促效劑之效價通常由其EC_{50}值(活化50%促效劑反應所需之濃度)來定義。EC_{50}值愈低，促效劑之效力愈大且活化最大生物反應所需之濃度愈低。

【0122】 如本文所用，術語「丙胺酸掃描」係指用於確定特定野生型殘基對給定蛋白質或多肽之穩定性或功能(例如結合親和力)之貢獻的技術。該技術涉及用丙胺酸殘基取代多肽中之野生型殘基，隨後評定丙胺酸取代之衍生物或突變型多肽之穩定性或功能(例如結合親和力)且與野生型多肽相比。用丙胺酸取代多肽中之野生型殘基的技術為此項技術中已知的。

【0123】 術語「改善」係指疾病狀態(例如癌症)治療中之任何治療上有益的結果，包括其預防、嚴重程度或進展減輕、緩解或治癒。

【0124】 如本文所用，術語「胺基酸」係指天然存在及合成的胺基酸，以及以與天然存在之胺基酸類似的方式起作用之胺基酸類似物及胺基酸模擬物。天然存在之胺基酸為由遺傳密碼編碼之胺基酸以及後來經修飾之彼等胺基酸，例如羥脯胺酸、γ-羧基麩胺酸及O-磷酸絲胺酸。胺基酸類似物係指具有與天然存在之胺基酸相同的基本化學結構(亦即與氫、羧基、胺基及R基團鍵結之碳)的化合物，例如高絲胺酸、正白胺酸、甲硫胺酸亞碸、甲硫胺酸甲基銃。此類類似物具有經修飾之R基團(例如正白胺酸)或經修飾之肽主鏈，但保留與天然存在之胺基酸相同的基本化學結構。胺基酸模擬物係指具有與胺基酸之通用化學結構不同的結構，但以與天然存在之胺基酸類似的方式起作用的化合物。

【0125】胺基酸在本文中可由其通常已知之三字母符號或由IUPAC-IUB生物化學命名委員會(Biochemical Nomenclature Commission)所推薦之單字母符號來指代。同樣，核苷酸可由其通常接受之單字母代碼來指代。如本文所用，「極性胺基酸」係指包含較佳存在於水性環境中之側鏈的胺基酸。在一些實施例中，極性胺基酸係選自由以下組成之群：精胺酸、天冬醯胺、天冬胺酸、麩胺酸、麩醯胺酸、組胺酸、離胺酸、絲胺酸、蘇胺酸及酪胺酸。極性胺基酸可帶正電荷、負電荷或中性電荷。如本文所用，「非極性胺基酸」係指選自由以下組成之群的胺基酸：丙胺酸、半胱胺酸、甘胺酸、異白胺酸、白胺酸、甲硫胺酸、苯丙胺酸、脯胺酸、色胺酸及纈胺酸。

【0126】如本文所用，「胺基酸取代」係指預先確定之胺基酸序列(起始多肽之胺基酸序列)中至少一個現有胺基酸殘基用第二個不同的「替代」胺基酸殘基替代。「胺基酸插入」係指將至少一個額外胺基酸併入預先確定之胺基酸序列中。雖然插入將通常由插入一或兩個胺基酸殘基組成，但亦可進行較大的「肽插入」，例如插入約三至約五個或甚至多達約十、十五或二十個胺基酸殘基。插入之殘基可為天然存在的或非天然存在的，如上文所揭示。「胺基酸缺失」係指自預先確定之胺基酸序列移除至少一個胺基酸殘基。

【0127】如本文所用，術語「量」或「含量」係指物質(例如蛋白質)之可偵測數量、含量或豐度。當提及多肽(諸如本文所述之多肽)時，術語「表現量(level of expression)」或「表現量(expression level)」一般可互換使用，且一般係指生物樣品中(例如細胞表面上)多肽之可偵測量。

【0128】如本文所用，術語「抗CD137促效劑抗體」(與術語「抗

CD137抗體」可互換使用)係指特異性結合於CD137且部分或完全促進、誘導、增加及/或活化CD137生物活性、反應及/或由CD137信號傳導介導之下游途徑或其他CD137介導之功能的抗體。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體結合於CD137且允許CD137L之結合。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體結合於CD137且誘導CD137之多聚化。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體結合於CD137且誘導CD137三聚體之二聚化。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體結合於CD137且誘導CD137三聚體之多聚化。本文提供抗CD137促效劑抗體之實例。偵測三聚體:三聚體複合物形成之方法為熟習此項技術者已知的。舉例而言，已顯示電子顯微術偵測此類複合物，參見例如Won, E. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 285 (12): 9202-9210 (2010)。

【0129】 如本文所用，術語「抗CD137 mAb1」(與「mAb1」可互換使用)係指例示性抗CD137促效劑抗體，其包含可變重鏈(V_H)胺基酸序列：

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVW GKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 4) ，

及可變輕鏈(V_L)胺基酸序列：

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 6) 。

【0130】 如本文所用，術語「抗CD137 mAb8」(與「mAb8」可互換使用)係指例示性抗CD137促效劑抗體，其包含可變重鏈((V_H))胺基酸序列：

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGDTT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDV WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 101) ；

及可變輕鏈(V_L)胺基酸序列：
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 6) 。

【0131】 如本文所用，術語「抗CD137 mAb10」(與「mAb10」可互換使用)係指例示性抗CD137促效劑抗體，其包含可變重鏈((V_H)胺基酸序列：
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLEWVAAISGSGDST
YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDV
WGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 26) ;

及可變輕鏈(V_L)胺基酸序列：
DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPS
RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHLFPITFGGGTKVEIK (SEQ ID NO: 6) 。

【0132】 如本文所用，術語「抗體」係指包含兩個輕鏈多肽及兩個重鏈多肽之全抗體。全抗體包括不同的抗體同型，包括IgM、IgG、IgA、IgD及IgE抗體。術語「抗體」包括多株抗體、單株抗體、嵌合抗體、人類化抗體、靈長類化抗體、去免疫化抗體及完全人類抗體。抗體可在多種物種中之任一者中製備或來源於多種物種中之任一者，例如哺乳動物，諸如人類、非人類靈長類動物(例如猩猩、狒狒或黑猩猩)、馬、牛、豬、綿羊、山羊、犬、貓、兔、天竺鼠、沙鼠、倉鼠、大鼠及小鼠。抗體可為經純化之抗體或重組抗體。

【0133】 如本文所用，術語「抗體片段」、「抗原結合片段」、「抗原結合部分」或類似術語係指保留結合靶抗原(例如CD137)且抑制靶抗原活性之能力的抗體片段。此類片段包括例如單鏈抗體、單鏈Fv片段(scFv)、Fd片段、Fab片段、Fab'片段或$F(ab')_2$片段。scFv片段為單一多肽鏈，其包括衍生scFv之抗體的重鏈及輕鏈可變區。另外，胞內抗體、微型抗體、三功能抗體及雙功能抗體亦包括於抗體定義中且適用於本文所述之方法。

參見例如Todorovska等人, (2001) *J. Immunol. Methods* 248(1):47-66；Hudson及Kortt, (1999) *J. Immunol. Methods* 231(1):177-189；Poljak, (1994) *Structure* 2(12):1121-1123；Rondon及Marasco, (1997) *Annu. Rev. Microbiol.* 51:257-283，其中每一者之揭示內容以全文引用的方式併入本文中。

【0134】 如本文所用，術語「抗體片段」亦包括例如單結構域抗體，諸如駱駝化單結構域抗體。參見例如Muyldermans等人, (2001) *Trends Biochem. Sci.* 26:230-235；Nuttall等人, (2000) *Curr. Pharm. Biotech.* 1:253-263；Reichmann等人, (1999) *J. Immunol. Meth.* 231:25-38；PCT申請公開案第WO 94/04678號及第WO 94/25591號；及美國專利第6,005,079號，其均以全文引用之方式併入本文中。在一些實施例中，本發明提供包含兩個VH結構域之單結構域抗體，該等VH結構域具有修飾以便形成單結構域抗體。

【0135】 在一些實施例中，抗原結合片段包括重鏈多肽之可變區及輕鏈多肽之可變區。在一些實施例中，本文所述之抗原結合片段包含抗體之輕鏈及重鏈多肽的CDR。

【0136】 術語「抗原呈遞細胞」或「APC」為在其表面上呈現與MHC複合之外來抗原的細胞。T細胞使用T細胞受體(TCR)識別此複合物。APC之實例包括但不限於樹突狀細胞(DC)、外周血液單核細胞(PBMC)、單核球(諸如THP-1)、B類淋巴母細胞細胞(諸如C1R.A2、1518 B-LCL)及單核球源性樹突狀細胞(DC)。一些APC藉由噬菌作用或受體介導之內飲作用使抗原內化。

【0137】 術語「抗原呈遞」係指APC捕捉抗原且使其能夠例如作為

MHC-I及/或MHC-II結合物之組分由T細胞識別的過程。

【0138】 如本文所用，術語「細胞凋亡」係指在多細胞生物體(例如人類)中發生之計劃性細胞死亡的過程。導致細胞凋亡之高度調節之生化事件及分子事件可導致細胞之可觀察及特徵性形態變化，包括膜起泡、細胞體積縮小、染色體DNA縮合及片段化以及mRNA衰變。鑑定經歷細胞凋亡之細胞(包括T細胞)的常用方法為將細胞暴露於螢光團結合之蛋白質(磷脂結合蛋白V)。磷脂結合蛋白V通常用於藉由其與質膜外層上之磷脂醯絲胺酸結合的能力來偵測凋亡細胞，其為細胞正經歷細胞凋亡過程之早期指示物。

【0139】 如本文所用，術語「結合於固定CD137」係指本發明之人類抗體結合於例如細胞表面上表現或附著於固體支撐物之CD137的能力。

【0140】 如本文所用，術語「雙特異性」或「雙功能抗體」係指具有兩個不同重鏈/輕鏈對及兩個不同結合位點之人工雜合抗體。雙特異性抗體可藉由多種方法產生，包括融合瘤融合或Fab'片段連接。參見例如Songsivilai及Lachmann, (1990) *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321；Kostelny等人, (1992) *J. Immunol.* 148:1547-1553。

【0141】 傳統上，雙特異性抗體之重組產生係基於兩個免疫球蛋白重鏈/輕鏈對之共表現，其中兩個重鏈/輕鏈對具有不同的特異性(Milstein及Cuello, (1983) *Nature* 305:537-539)。具有所需結合特異性之抗體可變結構域(抗體-抗原組合位點)可與免疫球蛋白恆定結構域序列融合。重鏈可變區之融合較佳具有免疫球蛋白重鏈恆定結構域，包括鉸鏈、CH2及CH3區的至少一部分。關於用於產生雙特異性抗體之當前已知示意性方法的其他細節，參見例如Suresh等人, (1986) *Methods Enzymol.* 121:210；

PCT公開案第WO 96/27011號；Brennan等人, (1985) *Science* 229:81；Shalaby等人, *J. Exp. Med.* (1992) 175:217-225；Kostelny等人, (1992) *J. Immunol.* 148(5):1547-1553；Hollinger等人, (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448；Gruber等人, (1994) *J. Immunol.* 152:5368；及Tutt等人, (1991) *J. Immunol.* 147:60。雙特異性抗體亦包括交聯或異結合抗體。異結合抗體可使用任何方便的交聯方法製備。適合之交聯劑連同許多交聯技術為此項技術中所熟知，且揭示於美國專利第4,676,980號中。

【0142】 亦已描述直接自重組細胞培養物製備及分離雙特異性抗體片段的各種技術。舉例而言，已使用白胺酸拉鏈產生雙特異性抗體。參見例如Kostelny等人 (1992) J Immunol 148(5):1547-1553。來自Fos及Jun蛋白質之白胺酸拉鏈肽可藉由基因融合與兩種不同抗體之Fab'部分連接。可在鉸鏈區還原抗體同二聚體以形成單體，且隨後再氧化以形成抗體異二聚體。此方法亦可用於產生抗體同二聚體。Hollinger等人 (1993) Proc Natl Acad Sci USA 90:6444-6448描述之「雙功能抗體」技術提供製備雙特異性抗體片段之替代機制。該等片段包含藉由連接子與輕鏈可變結構域(VL)連接之重鏈可變結構域(VH)，該連接子太短而不允許同一鏈上的兩個結構域之間配對。因此，迫使一個片段之VH及VL結構域與另一片段之互補VL及VH結構域配對，由此形成兩個抗原結合位點。亦已報導藉由使用單鏈Fv (scFv)二聚體製備雙特異性抗體片段的另一種策略。參見例如Gruber等人 (1994) J Immunol 152:5368。或者，抗體可為「線性抗體」，如Zapata等人 (1995) Protein Eng. 8(10):1057-1062中所述。簡言之，此等抗體包含一對串聯Fd區段(VH-CH1-VH-CH1)，其形成一對抗原結合區。線性抗體可為雙特異性或單特異性的。

【0143】 涵蓋具有多於兩個價數之抗體(例如三特異性抗體)且描述於例如Tutt等人 (1991) J Immunol 147:60中。

【0144】 本發明亦涵蓋多特異性抗體之變體形式，諸如Wu等人(2007) Nat Biotechnol 25(11): 1290-1297中所描述之雙可變結構域免疫球蛋白(DVD-Ig)分子。DVD-Ig分子經設計以使得來自兩種不同親本抗體之兩個不同輕鏈可變結構域(VL)藉由重組DNA技術直接或經由短連接子串聯連接，隨後為輕鏈恆定結構域。類似地，重鏈包含串聯連接之兩個不同的重鏈可變結構域(VH)，隨後為恆定結構域CH1及Fc區。由兩個親本抗體製備DVD-Ig分子之方法進一步描述於例如PCT公開案第WO 08/024188號及第WO 07/024715號中。在一些實施例中，雙特異性抗體為Fabs-in-Tandem免疫球蛋白，其中具有第二特異性之輕鏈可變區與全抗體之重鏈可變區融合。此類抗體描述於例如國際專利申請公開案第WO 2015/103072號中。

【0145】 如本文所用，「癌症抗原」係指(i)腫瘤特異性抗原，(ii)腫瘤相關抗原，(iii)表現腫瘤特異性抗原之細胞，(iv)表現腫瘤相關抗原之細胞，(v)腫瘤上之胚抗原，(vi)自體腫瘤細胞，(vii)腫瘤特異性膜抗原，(viii)腫瘤相關膜抗原，(ix)生長因子受體，(x)生長因子配體，及(xi)任何其他類型之抗原或抗原呈遞細胞或與癌症相關之物質。

【0146】 術語「癌」為此項技術公認的且係指上皮組織或內分泌組織之惡性腫瘤，包括呼吸系統癌、胃腸道系統癌、泌尿生殖系統癌、睪丸癌、乳癌、前列腺癌、內分泌系統癌及黑色素瘤。本文所述之抗CD137抗體可用於治療患有、疑似患有或可能處於罹患任何類型之癌症(包括腎癌或黑色素瘤)之高風險的患者。例示性癌包括由子宮頸、肺、前列腺、乳

房、頭頸部、結腸及卵巢組織形成之癌。該術語亦包括癌肉瘤，其包括由癌組織及肉瘤組織構成的惡性腫瘤。「腺癌」係指源自腺體組織或其中腫瘤細胞形成可識別之腺體結構的癌。

【0147】 如本文所用，術語「競爭」，當在抗原結合蛋白(例如免疫球蛋白、抗體或其抗原結合片段)競爭結合於相同抗原決定基之上下文中使用時，係指抗原結合蛋白之間的相互作用，如藉由分析(例如競爭性結合分析；交叉阻斷分析)所測定，其中測試抗原結合蛋白(例如測試抗體)抑制(例如減少或阻斷)參考抗原結合蛋白(例如參考抗體，諸如mAb1)與共同抗原(例如CD137或其片段)之特異性結合。在一些實施例中，本文所述之抗體與mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)、mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)或mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)交叉競爭。

【0148】 「源自」指定多肽或蛋白質之多肽或胺基酸序列係指多肽之來源。較佳地，源自特定序列之多肽或胺基酸序列具有與該序列或其部分基本上一致的胺基酸序列，其中該部分由至少10至20個胺基酸、較佳至少20至30個胺基酸、更佳至少30至50個胺基酸組成，或一般熟習此項技術者可以其他方式鑑別為其來源於該序列中。源自另一種肽之多肽可具有相對於起始多肽之一或多個突變，例如一或多個胺基酸殘基已經另一個胺基酸殘基取代或其具有一或多個胺基酸殘基插入或缺失。

【0149】 多肽可包含非天然存在之胺基酸序列。此類變體必須與起始分子具有小於100%之序列一致性或相似性。在某些實施例中，變體之胺基酸序列將與起始多肽之胺基酸序列具有例如在變體分子之長度上約

75%至小於100%胺基酸序列一致性或相似性，更佳約80%至小於100%、更佳約85%至小於100%、更佳約90%至小於100%（例如91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%)且最佳約95%至小於100%。

【0150】在某些實施例中，起始多肽序列與源自其之序列之間存在一個胺基酸差異。關於此序列之一致性或相似性在本文中定義為在比對序列及必要時引入空隙以實現最大百分比序列一致性之後，候選序列中與起始胺基酸殘基一致的胺基酸殘基(亦即相同殘基)的百分比。在某些實施例中，多肽由選自表3或表4中所列之序列的胺基酸序列組成，基本上由該胺基酸序列組成或包含該胺基酸序列。在某些實施例中，多肽包括與選自表3或表4中所列之序列的胺基酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的胺基酸序列。在某些實施例中，多肽包括與選自表3或表4中所列之序列的連續胺基酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的連續胺基酸序列。在某些實施例中，多肽包括具有選自表3或表4中所列之序列之胺基酸序列的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、300、400或500（或此等數字內之任何整數)個連續胺基酸的胺基酸序列。

【0151】在某些實施例中，本發明之抗體由核苷酸序列編碼。本發明之核苷酸序列可用於許多應用，包括：選殖、基因療法、蛋白質表現及純化、突變引入、有需要之宿主的DNA疫苗接種、關於例如被動免疫之抗體產生、PCR、引子及探針產生及其類似物。在某些實施例中，本發明

之核苷酸序列包含選自表3或表4中所列之序列的核苷酸序列，由該核苷酸序列組成或基本上由該核苷酸序列組成。在某些實施例中，核苷酸序列包括與選自表3或表4中所列之序列的核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的核苷酸序列。在某些實施例中，核苷酸序列包括與選自表3或表4中所列之序列的連續核苷酸序列至少80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%一致的連續核苷酸序列。在某些實施例中，核苷酸序列包括具有選自表3或表4中所列之序列之核苷酸序列的至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、300、400或500 (或此等數字內之任何整數)個連續核苷酸的核苷酸序列。

【0152】 一般熟習此項技術者亦應理解，可改變適用於本文所揭示之方法的抗體，使其在序列上與其源自之天然存在之序列或天然序列不同，同時保留天然序列所需之活性。舉例而言，可進行導致保守取代或在「非必需」胺基酸殘基處之變化的核苷酸或胺基酸取代。可藉由標準技術引入突變，諸如定點突變誘發及PCR介導誘變。

【0153】 適用於本文所揭示之方法的抗體可包含在一或多個胺基酸殘基處，例如在必需或非必需胺基酸殘基處之保守胺基酸取代。「保守胺基酸取代」為胺基酸殘基經具有類似側鏈之胺基酸殘基置換之胺基酸取代。此項技術中已定義具有類似側鏈之胺基酸殘基家族，包括鹼性側鏈(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、酸性側鏈(例如天冬胺酸、麩胺酸)、不帶電荷的極性側鏈(例如甘胺酸、天冬醯胺、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分支側鏈(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)。因此，結合多肽中之非必需胺基酸殘基較佳經來自相同側鏈家族之另一個胺基酸殘基置換。在某些實施例中，一串胺基酸可經結構上類似但側鏈家族成員之順序及/或組成不同的一串置換。或者，在某些實施例中，可沿著編碼序列之全部或部分隨機引入突變，諸如藉由飽和突變誘發，且所得突變體可併入本發明之結合多肽中且篩選其結合於所需靶標之能力。

【0154】 如本文所用，術語抗原「交叉呈遞」係指外源蛋白抗原經由APC上之MHC I類及II類分子呈遞至T細胞。

【0155】 如本文所用，術語「交叉反應」係指本發明之抗體與來自不同物種之CD137結合的能力。舉例而言，結合人類CD137之本發明抗體亦可結合另一物種之CD137。如本文所用，交叉反應性係藉由在結合分析(例如SPR、ELISA)中偵測與純化抗原之特異性反應性或與生理學上表現CD137之細胞結合或以其他方式功能性相互作用來量測。用於測定交叉反應性之方法包括如本文所述之標準結合分析，例如藉由使用Biacore™ 2000 SPR儀器(Biacore AB, Uppsala, Sweden)之Biacore™表面電漿子共振(SPR)分析或流動式細胞測量技術。

【0156】 如本文所用，術語「細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應」係指由細胞毒性T細胞誘導之免疫反應。CTL反應主要由$CD8^+$ T細胞介導。

【0157】 如本文所用，術語「二聚化」係指由兩個通常非共價結合之大分子(諸如蛋白質或蛋白質多聚體)形成大分子複合物。同二聚化係指

當大分子(例如蛋白質)性質相同時之二聚化過程。異二聚化係指當大分子(例如蛋白質)性質不相同時之二聚化過程。用於測定二聚化之方法為熟習此項技術者已知的。舉例而言，此類方法包括但不限於酵母雙雜交分析、螢光共振能量轉移(FRET)、生物發光共振能量轉移(BRET)、蛋白質質譜分析、消散波方法、尺寸排阻色譜、分析型超速離心、散射技術、NMR光譜分析、等溫滴定熱量測定、螢光各向異性、螢光關聯光譜法(FCS)、光漂白後螢光恢復(FRAP)、鄰近成像(PRIM)及雙分子螢光互補(BiFC)(參見例如Gell D.A., Grant R.P., Mackay J.P. (2012) The Detection and Quantitation of Protein Oligomerization. 於Matthews J.M. (編) Protein Dimerization and Oligomerization in Biology. Advances in Experimental Medicine and Biology, 第747卷. Springer, New York, NY；及Xie, Q.等人 Methods Mol Biol, 2011; 680: 3-28)。

【0158】 如本文所用，術語「CD137之二聚化」係指兩個CD137三聚體之二聚化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強CD137之二聚化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體相對於不存在抗CD137促效劑抗體之二聚化量誘導或增強CD137之二聚化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體相對於參考抗CD137促效劑抗體存在下之二聚化量誘導或增強CD137之二聚化。在一些實施例中，二聚化增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0159】 如本文所用，術語「EC_{50}」係指在活體外或活體內分析中，抗體或其抗原結合部分誘導最大反應之50% (亦即最大反應與基線之

間的一半)之反應的濃度。

【0160】 如本文所用，術語「有效劑量」定義為足以實現或至少部分實現所需效應之量。術語「治療有效劑量」定義為足以治癒或至少部分遏制已罹患疾病之患者之疾病及其併發症的量。對此用途有效之量將視所治療病症之嚴重程度及患者自身免疫系統之一般狀態而定。

【0161】 如本文所用，術語「抗原決定基」或「抗原決定子」係指抗原(例如CD137)上與抗原結合蛋白(例如免疫球蛋白、抗體或抗原結合片段)特異性結合之決定子或位點。蛋白質抗原之抗原決定基可分為「線性抗原決定基」及「構形抗原決定基」。如本文所用，術語「線性抗原決定基」係指由相連胺基酸之連續線性序列形成的抗原決定基。蛋白質抗原之線性抗原決定基通常在暴露於化學變性劑(例如酸、鹼、溶劑、交聯劑、離液劑、二硫鍵還原劑)或物理變性劑(例如熱量、放射活性或機械剪切或應力)時保留。在一些實施例中，抗原決定基為非線性的，亦稱為中斷的抗原決定基。如本文所用，術語「構形抗原決定基」或「非線性抗原決定基」係指由多肽之三級摺疊而並置的非連續胺基酸形成的抗原決定基。構形抗原決定基通常在用變性劑處理後喪失。抗原決定基通常以獨特的空間構形包括至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15個胺基酸。在一些實施例中，抗原決定基以獨特的空間構形包括少於25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6或5個胺基酸。一般而言，特異性針對特定靶分子之抗體或其抗原結合片段將優先識別及結合蛋白質及/或大分子之複雜混合物內之靶分子上的特定抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基不包括人類CD137之細胞外結構域的所有胺基酸。

【0162】 本發明亦涵蓋與CD137上之抗原決定基結合的抗體，該抗原決定基包含由本文所述之特定抗體識別之抗原決定基的全部或一部分(例如相同或重疊的區域或在該區域之間或跨越該區域的區域)。

【0163】 如本文所用，術語「抗原決定基定位」係指鑑定抗體或其抗原結合片段在其靶蛋白抗原上之結合位點或抗原決定基的過程或方法。本文提供抗原決定基定位方法及技術。

【0164】 如本文所用，術語「CD137」係指跨膜蛋白之腫瘤壞死因子受體(TNFR)家族的特定成員。此項技術中CD137之替代名稱及縮寫字包括「腫瘤壞死因子受體超家族成員9」(TNFRSF9)、4-1BB及「由淋巴細胞活化誘導」(ILA) (Alderson等人, (1994) Eur J Immunol 24(9):2219-2227；Schwarz等人, (1993) Gene 134(2):295-298)。包括前導、跨膜及細胞質結構域之全長人類CD137的例示性胺基酸序列列於表4 (SEQ ID NO: 3)及此處：

MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQR
TCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAP
AREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMR
PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL 。

【0165】 如本文所用，術語「CD137L」或「CD137配體」係指跨膜蛋白之腫瘤壞死因子(TNF)家族成員。此項技術中CD137L之替代名稱及縮寫字包括「腫瘤壞死因子超家族成員9」(TNFSF9)及4-1BB配體(4-1BBL) (Alderson等人, (1994) Eur J Immunol 24(9):2219-2227)。全長CD137L之例示性胺基酸序列列於表4 (SEQ ID NO: 97)中。

【0166】 如本文所用，術語「Fc介導之效應功能」或「Fc效應功能」係指除抗體之主要功能及目的以外的抗體的生物活性。舉例而言，治

療性不可知抗體之效應功能為除靶蛋白或途徑之活化以外的生物活性。抗體效應功能之實例包括C1q結合及補體依賴性細胞毒性；Fc受體結合；抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)；吞噬；下調細胞表面受體(例如B細胞受體)；缺乏表現Fc受體之血小板活化；及B細胞活化。許多效應功能以Fc結合於Fcγ受體開始。

【0167】 如本文所用，術語「Fc受體」係指在免疫效應細胞表面上發現之多肽，其與抗體之Fc區結合。在一些實施例中，Fc受體為Fcγ受體。Fcγ受體有三個亞類，FcγRI (CD64)、FcγRII (CD32)及FγcRIII (CD16)。所有四種IgG同型(IgG1、IgG2、IgG3及IgG4)結合及活化Fc受體FcγRI、FcγRIIA及FcγRIIIA。FcγRIIB為一種抑制性受體，因此與此受體結合之抗體不活化補體及細胞反應。FcγRI為以單體形式結合於IgG之高親和力受體，而FcγRIIA及FcγRIIA為低親和力受體，其僅以多聚體形式結合IgG且具有略微較低的親和力。抗體與Fc受體及/或C1q之結合由Fc區內之特定殘基或結構域支配。結合亦視位於鉸鏈區內及抗體之CH2部分內的殘基而定。在一些實施例中，本文所述之抗體的促效及/或治療活性視Fc區與Fc受體(例如FcγR)之結合而定。在一些實施例中，本文所述之抗體的促效及/或治療活性藉由Fc區與Fc受體(例如FcγR)之結合而增強。

【0168】 如本文所用，術語「糖基化型態」定義為與蛋白質，更具體地與免疫球蛋白共價連接之碳水化合物單元的型態。當一般熟習此項技術者將異源抗體之糖基化型態識別為相比轉殖基因之CH基因來源之物種更類似於非人類轉殖基因動物之物種中之該糖基化型態時，異源抗體之糖基化型態可表徵為實質上類似於由非人類轉殖基因動物之物種產生之抗體上天然存在的糖基化型態。

【0169】 如本文所用，術語「血液癌症」包括淋巴瘤、白血病、骨髓瘤或淋巴惡性腫瘤，以及脾臟及淋巴結之癌症。例示性淋巴瘤包括B細胞淋巴瘤(B細胞血液癌症)及T細胞淋巴瘤。B細胞淋巴瘤包括霍奇金氏淋巴瘤(Hodgkin's lymphomas)及大多數非霍奇金氏淋巴瘤。B細胞淋巴瘤之非限制性實例包括彌漫性大B細胞淋巴瘤、濾泡性淋巴瘤、黏膜相關淋巴組織淋巴瘤、小細胞淋巴細胞性淋巴瘤(與慢性淋巴細胞性白血病重疊)、套細胞淋巴瘤(MCL)伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、縱隔大B細胞淋巴瘤、瓦爾登斯特倫巨球蛋白血症(Waldenstrom macroglobulinemia)、結邊緣區B細胞淋巴瘤、脾邊緣區淋巴瘤、血管內大B細胞淋巴瘤、原發性滲出性淋巴瘤、淋巴瘤樣肉芽腫。T細胞淋巴瘤之非限制性實例包括結外T細胞淋巴瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、間變性大細胞淋巴瘤及血管免疫母細胞T細胞淋巴瘤。血液惡性病亦包括白血病，諸如但不限於繼發性白血病、慢性淋巴細胞性白血病、急性骨髓性白血病、慢性骨髓性白血病及急性淋巴母細胞白血病。血液惡性病進一步包括骨髓瘤，諸如但不限於多發性骨髓瘤及鬱積型多發性骨髓瘤。術語血液惡性病涵蓋其他血液及/或B細胞或T細胞相關之癌症。

【0170】 如本文所用，術語「人類抗體」包括具有人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區(若存在)的抗體。本發明之人類抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外隨機或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變)(參見例如Lonberg等人，(1994) *Nature* 368(6474): 856-859)；Lonberg, (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101；Lonberg及Huszar, (1995) *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93，以及Harding及Lonberg,

(1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 764:536-546)。然而，術語「人類抗體」不包括源自另一種哺乳動物物種(諸如小鼠)之生殖系的CDR序列已移植於人類構架序列(亦即人類化抗體)上之抗體。

【0171】 如本文所用，術語「異源抗體」係相對於產生此類抗體之轉殖基因非人類生物體定義的。此術語係指胺基酸序列或編碼核酸序列對應於在不由轉殖基因非人類動物組成且一般來自除轉殖基因非人類動物以外之物種的生物體中發現的胺基酸序列或編碼核酸序列的抗體。

【0172】 術語「誘導免疫反應」及「增強免疫反應」可互換使用，且係指對特定抗原之免疫反應(亦即被動或適應性)的刺激。關於誘導CDC或ADCC使用之術語「誘導」係指刺激特定的直接細胞殺傷機制。

【0173】 如本文所用，「需要預防」、「需要治療」或「有需要」之受試者係指由合適的醫學從業者(例如在人類情況下之醫生、護士或護士從業者；在非人類哺乳動物情況下之獸醫)判斷將合理地受益於給定治療(諸如用包含抗CD137抗體之組合物治療)的受試者。

【0174】 術語「活體內」係指在活生物體中發生之過程。

【0175】 如本文所用，術語「經分離抗體」意欲指基本上不含具有不同抗原特異性之其他抗體的抗體(例如，特異性結合於人類CD137之經分離抗體基本上不含特異性結合除CD137以外之抗原的抗體)。然而，特異性結合於抗原決定基之經分離抗體可能與來自不同物種之其他CD137蛋白具有交叉反應性。然而，抗體在如本文所述之特異性結合分析中繼續顯示與人類CD137之特異性結合。另外，經分離抗體通常基本上不含其他細胞物質及/或化學物質。在一些實施例中，具有不同CD137特異性之「經分離」抗體的組合係在明確定義之組合物中組合。

【0176】 如本文所用，術語「經分離核酸分子」係指編碼與CD137結合之抗體或抗體部分(例如V_H、V_L、CDR3)的核酸，意欲指編碼該抗體或抗體部分之核苷酸序列不含編碼結合除CD137以外之抗原的抗體或抗體部分的其他核苷酸序列的核酸分子，其他序列可天然地側接人類基因組DNA中之核酸。舉例而言，選自表3或表4中所列之序列的序列對應於包含本文所述之抗CD137抗體單株抗體之重鏈(V_H)及輕鏈(V_L)可變區的核苷酸序列。

【0177】 如本文所用，「同型」係指由重鏈恆定區基因編碼之抗體類別(例如IgM或IgG1)。在一些實施例中，本發明之人類單株抗體屬於IgG1同型。在一些實施例中，本發明之人類單株抗體屬於IgG1同型且包含突變。在一些實施例中，本發明之人類單株抗體屬於IgG2同型。在一些實施例中，本發明之人類單株抗體屬於IgG3同型。在一些實施例中，本發明之人類單株抗體屬於IgG4同型。在一些實施例中，本發明之人類單株抗體屬於IgG4同型且包含突變。在一些實施例中，突變為Ser228處之取代。在一些實施例中，Ser228處之取代為S228P。

【0178】 如本文所用，術語「同型轉換」係指抗體之類別或同型自一個Ig類別變為其他Ig類別中之一者的現象。

【0179】 如本文所用，術語「KD」或「K_D」係指抗體與抗原之間的結合反應的平衡解離常數。K_D之值為抗體解離速率常數(kd)與抗體結合速率常數(ka)之比的數值表示。K_D之值與抗體與抗原之結合親和力成反比。K_D值愈小，抗體對其抗原之親和力愈大。親和力為單個分子與其配體之結合強度且通常藉由平衡解離常數(K_D)量測及報導，其用於對雙分子相互作用之強度進行評估及排序。

【0180】 如本文所用，術語「kd」或「k_d」(或者「koff」或「k_{off}」)意欲指抗體自抗體/抗原複合物解離之解離速率常數。kd之值為每秒衰變或解離之複合物分數的數值表示，且以單位sec^{-1}表示。

【0181】 如本文所用，術語「ka」或「k_a」(或者「kon」或「k_{on}」)意欲指抗體與抗原締合之結合速率常數。ka之值為1莫耳(1 M)抗體及抗原溶液中每秒形成之抗體/抗原複合物之數目的數值表示，且以單位$M^{-1}sec^{-1}$表示。

【0182】 如本文所用，術語「連接」、「融合(fused/fusion)」可互換使用。此等術語係指藉由包括化學結合或重組手段之任何手段將多於兩種要素或組分或結構域接合在一起。化學結合之方法(例如使用異雙官能交聯劑)為此項技術中已知的。

【0183】 如本文所用，「局部投與」或「局部遞送」係指不依賴於經由血管系統將組合物或藥劑輸送至其既定靶組織或位點的遞送。舉例而言，組合物可藉由注射或植入組合物或藥劑或藉由注入或植入含有組合物或藥劑之裝置來遞送。在靶組織或位點附近局部投與後，組合物或藥劑或其一或多種組分可擴散至既定靶組織或位點。

【0184】 如本文所用，「MHC分子」係指兩種類型之分子，MHC I類及MHC II類。MHC I類分子將抗原呈遞至特異性CD8+ T細胞，且MHC II類分子將抗原呈遞至特異性CD4+ T細胞。外源性遞送至APC之抗原主要經處理以用於與MHC II類締合。相比之下，內源性遞送至APC之抗原主要經處理以用於與MHC I類締合。

【0185】 如本文所用，術語「單株抗體」係指對特定抗原決定基顯示單一結合特異性及親和力的抗體。因此，術語「人類單株抗體」係指顯

示單一結合特異性且具有源自人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及視情況選用之恆定區的抗體。在一些實施例中，人類單株抗體係由融合瘤產生，該融合瘤包括與永生化細胞融合之獲自轉殖基因非人類動物(例如轉殖基因小鼠)的B細胞，其具有包含人類重鏈轉殖基因及輕鏈轉殖基因之基因組。

【0186】 如本文所用，術語「多聚化」係指通常藉由非共價相互作用結合形成包含多於兩個大分子(諸如蛋白質)之大分子複合物。用於測定多聚化之方法為熟習此項技術者已知的且如上文關於二聚化所述。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強CD137之多聚化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體相對於不存在抗CD137促效劑抗體之多聚化量誘導或增強CD137之多聚化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體相對於參考抗CD137促效劑抗體存在下之多聚化量誘導或增強CD137之多聚化。在一些實施例中，多聚化增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0187】 如本文所用，術語「天然存在」在應用於物體時係指物體可在自然界中找到的事實。舉例而言，存在於可自自然界中之來源分離之生物體(包括病毒)中且未經人類在實驗室中有意修飾的多肽或多核苷酸序列為天然存在的。

【0188】 如本文所用，術語「非轉換同型」係指在未發生同型轉換時產生之同型類別的重鏈；編碼非轉換同型之CH基因通常為緊鄰功能重排之VDJ基因下游的第一個CH基因。同型轉換已分類為經典或非經典同型轉換。經典同型轉換藉由重組事件發生，該等重組事件涉及轉殖基因中

之至少一個轉換序列區域。非經典同型轉換可藉由例如人類σ_μ與人類$\sum_\mu$(δ相關缺失)之間的同源重組而發生。替代性非經典轉換機制，尤其諸如轉殖基因間及/或染色體間重組，可存在且實現同型轉換。

【0189】 如本文所用，術語「核酸」係指單股或雙股形式之去氧核糖核苷酸或核糖核苷酸及其聚合物。除非特別限定，否則該術語涵蓋含有天然核苷酸之已知類似物的核酸，其具有與參考核酸類似的結合特性且以類似於天然存在之核苷酸的方式代謝。除非另外指明，否則特定核酸序列亦隱含地涵蓋其經保守修飾之變體(例如簡併密碼子取代)及互補序列以及明確指出的序列。具體而言，簡併密碼子取代可藉由產生一或多個選定(或所有)密碼子之第三位置經混合鹼基及/或去氧肌苷殘基取代之序列來實現(Batzer等人, Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991；Ohtsuka等人, Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985；及Cassol等人, 1992；Rossolini等人, Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994)。對於精胺酸及白胺酸，在第二鹼基處之修飾亦可為保守的。術語核酸可與基因、cDNA及由基因編碼之mRNA互換使用。

【0190】 本文所用之多核苷酸可由任何多核糖核苷酸或多去氧核糖核苷酸構成，其可為未修飾之RNA或DNA或經修飾之RNA或DNA。舉例而言，多核苷酸可由單股及雙股DNA、作為單股及雙股區之混合物的DNA、單股及雙股RNA、作為單股及雙股區之混合物的RNA、包含可為單股或更通常為雙股或單股及雙股區之混合物的DNA及RNA的雜交分子構成。另外，多核苷酸可由包含RNA或DNA或RNA及DNA兩者之三股區構成。多核苷酸亦可含有一或多個經修飾之鹼基或出於穩定性或其他原因經修飾之DNA或RNA主鏈。「經修飾之」鹼基包括例如三苯甲基化鹼基及

不常見的鹼基，諸如肌苷。可對DNA及RNA進行各種修飾；因此，「多核苷酸」涵蓋經化學、酶促或代謝修飾之形式。

【0191】 核酸在與另一核酸序列處於功能關係時為「可操作地連接的」。舉例而言，若啟動子或強化子影響序列之轉錄，則啟動子或強化子可操作地連接於編碼序列。關於轉錄調控序列，可操作地連接意謂連接的DNA序列為連續的，且在需要接合兩個蛋白質編碼區時為連續的且在閱讀框架中。對於轉換序列，可操作地連接表示序列能夠實現轉換重組。

【0192】 如本文所用，術語「互補位」，亦稱「抗原結合位點」係指抗體或其抗原結合片段之一部分，其識別且結合於抗原上之抗原決定基，包含位於可變重鏈及輕鏈內之互補決定區(CDR)集合。

【0193】 如本文所用，「非經腸投藥」、「非經腸投與」及其他語法上等同之片語係指除經腸及局部投藥以外的通常藉由注射之投藥模式，且包括但不限於靜脈內、鼻內、眼內、肌內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊柱內、硬膜外、腦內、顱內、頸動脈內及胸骨內注射及輸注。

【0194】 如本文所用，術語「患者」包括接受預防性或治療性治療之人類及其他哺乳動物受試者。

【0195】 在兩個或更多個核酸或多肽序列之上下文中，術語「一致性百分比」係指當比較及比對以最大對應時，兩個或更多個序列或子序列具有指定百分比之核苷酸或胺基酸殘基為相同的，如使用下文所述之序列比較算法(例如BLASTP及BLASTN或技術人員可用之其他算法)中之一者或藉由目視檢查所量測。視應用而定，「一致性百分比」可存在於所比較之序列區域上，例如在功能結構域上，或替代地，存在於有待比較之兩個

序列的全長上。關於序列比較，通常一個序列充當與測試序列進行比較之參考序列。當使用序列比較算法時，將測試序列及參考序列輸入至電腦中，必要時指定子序列座標，且指定序列算法程式參數。隨後，序列比較算法基於指定程式參數計算測試序列相對於參考序列之序列一致性百分比。

【0196】 用於比較之序列的最佳比對可例如藉由Smith及Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)之局部同源性算法，藉由Needleman及Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)之同源性比對算法，藉由Pearson及Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)之搜尋相似性方法，藉由此等算法之電腦化實現方式(Wisconsin遺傳學套裝軟體中之GAP、BESTFIT、FASTA及TFASTA，Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, Wis.)或藉由目視檢查(一般參見Ausubel等人, 見下文)來進行。

【0197】 適於確定序列一致性百分比及序列相似性之算法的一個實例為BLAST算法，其描述於Altschul等人, J. Mol. Biol. 215:403-410 (1990)中。用於進行BLAST分析之軟體可經由國家生物技術資訊中心(National Center for Biotechnology Information)網站公開獲得。

【0198】 如本文一般所用，「醫藥學上可接受」係指在合理的醫學判斷範圍內，適合與人類及動物之組織、器官及/或體液接觸使用而不引起過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症，與合理的益處/風險比相稱的彼等化合物、材料、組合物及/或劑型。

【0199】 如本文所用，「醫藥學上可接受之載劑」係指且包括生理上相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑及抗真菌劑、等張

劑及吸收延遲劑及其類似物。組合物可包括醫藥學上可接受之鹽，例如酸加成鹽或鹼加成鹽(參見例如Berge等人 (1977) *J Pharm Sci* **66**:1-19)。

【0200】 如本文所用，術語「多肽」、「肽」及「蛋白質」可互換使用，係指胺基酸殘基之聚合物。該等術語適用於一或多個胺基酸殘基為相應天然存在之胺基酸之人工化學模擬物的胺基酸聚合物，以及適用於天然存在之胺基酸聚合物及非天然存在之胺基酸聚合物。

【0201】 如本文所用，術語「預防」在關於病況使用時，係指相對於未接受組合物之受試者，投與組合物降低受試者之醫學病況症狀發作的頻率或延遲其發作。

【0202】 如本文所用，術語「經純化」或「經分離」在應用於本文所述之任何蛋白質(抗體或片段)時係指已自天然伴隨之組分(例如蛋白質或其他天然存在之生物或有機分子)，例如表現該等蛋白質之原核生物中之其他蛋白質、脂質及核酸分離或純化的多肽。通常，當多肽佔樣品中總蛋白之至少60 (例如至少65、70、75、80、85、90、92、95、97或99)重量%時，純化多肽。

【0203】 如本文所用，術語「重排」係指重鏈或輕鏈免疫球蛋白基因座之構型，其中V區段在編碼基本上完整的V_H或V_L結構域之構形中分別緊鄰D-J或J區段定位。重排的免疫球蛋白基因座可藉由與生殖系DNA比較來鑑定；重排的基因座將具有至少一個重組的七聚體/九聚體同源元件。

【0204】 如本文所用，術語「受體聚集」係指導致特定細胞位置處之一組受體分組或局部積聚的細胞過程，通常誘導或擴增信號傳導反應。許多蛋白質受體在結合其同源配體時結合同源配體且聚集，亦即形成二聚

體、三聚體、寡聚體或多聚體。舉例而言，PDGF受體及TNF受體超家族成員分別在配體結合時形成二聚體及三聚體。同源配體誘導之聚集(例如二聚化、多聚化)誘導通過受體之信號轉導。因此，本發明之抗體或其抗原結合片段可藉由結合多於一種受體來活化受體，且在存在或不存在同源配體結合之情況下誘導或穩定二聚化、三聚化及/或多聚化。

【0205】 受體聚集及多聚化為TNFR信號傳導所需的(Wajant (2015) Cell Death Differ 22(11):1727-1741)，且尤其用於TNFRSF活化。4-1BB (CD137)、CD40、GITR、CD27、DR3、DR5及Fas為已知需要聚集以觸發下游信號傳導的一些TNFSF受體。4-1BB受體必須與信號交聯之實驗證據來自Rabu等人。此等作者報導，1個三聚體形式的人類4-1BBL對人類T細胞無活化效應，而將蛋白質交聯成2個或更多個三聚體產生強活化蛋白(Rabu等人, (2005) J Biol Chem 280:41472-41481)。因此，在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體誘導2個或更多個CD137三聚體之多聚化。

【0206】 如本文所用，術語「重組宿主細胞」(或簡稱「宿主細胞」)意欲指已引入重組表現載體之細胞。應理解，此類術語不僅意欲指特定受試者細胞，而且意欲指此類細胞之後代。因為某些修飾可能由於突變或環境影響而在後代中發生，所以此類後代可能實際上與親本細胞不一致，但仍包括於如本文所用之術語「宿主細胞」的範疇內。

【0207】 如本文所用，術語「重組人類抗體」包括藉由重組手段製備、表現、產生或分離的所有人類抗體，諸如(a)自人類免疫球蛋白基因之轉殖基因或轉殖染色體動物(例如小鼠)或自其製備之融合瘤中分離的抗體；(b)自經轉型以表現抗體之宿主細胞(例如轉染瘤)中分離的抗體；(c)自重組、組合人類抗體文庫中分離的抗體；及(d)藉由包括將人類免疫球

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、產生或分離的抗體。此類重組人類抗體包含利用由生殖系基因編碼之特定人類生殖系免疫球蛋白序列，但包括隨後例如在抗體成熟期間發生之重排及突變的可變區及恆定區。如此項技術中已知(參見例如Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125)，可變區含有由重排以形成特異性針對外來抗原之抗體的各種基因編碼的抗原結合結構域。除重排之外，可變區可藉由多個單胺基酸變化(稱為體細胞突變或超突變)進一步修飾以增加抗體對外來抗原之親和力。恆定區將在對抗原之進一步反應中發生變化(亦即同型轉換)。因此，響應於抗原重排及體細胞突變之編碼輕鏈及重鏈免疫球蛋白多肽的核酸分子可能與原始核酸分子不具有序列一致性，而是基本上一致或類似(亦即具有至少80%一致性)。

【0208】 如本文所用，術語「參考抗體」(與「參考mAb」可互換使用)或「參考抗原結合蛋白」係指結合於人類CD137上之特異性抗原決定基且用於建立其自身與一或多種不同抗體之間的關係的抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，該關係為參考抗體及一或多種不同抗體與CD137上之相同抗原決定基結合。如本文所用，該術語意謂可作為競爭者用於測試或分析之抗CD137抗體，諸如本文所述之測試或分析(例如競爭性結合分析)，其中該分析可用於發現、鑑定或開發一或多種結合於相同抗原決定基的不同抗體。例示性參考抗體(mAb1)之可變重鏈(V_H)及輕鏈(V_L)胺基酸序列提供於表4中(V_H1，SEQ ID NO. 4；V_H2，SEQ ID NO. 6)。在一些實施例中，該術語意謂可作為比較物用於測試或分析之抗CD137抗體，其中該分析可用於區分抗體之特徵(例如肝毒性、抗腫瘤功效)。在一些實施例中，參考

抗體為烏圖木單抗。

【0209】如本文所用，術語「特異性結合(specific binding/specifically binds)」及「選擇性結合(selective binding/selectively binds)」係指抗體結合於預定抗原上之抗原決定基。通常，當藉由BIACORE 2000儀器中之表面電漿子共振(SPR)技術，使用重組人類CD137作為分析物且抗體作為配體測定時，抗體結合之平衡解離常數(K_D)大致小於10^{-6} M，諸如大致小於10^{-7}、10^{-8} M、10^{-9} M或10^{-10} M或甚至更低，且結合於預定抗原之親和力比其結合於除預定抗原或緊密相關抗原以外之非特異性抗原(例如BSA、酪蛋白)的親和力大至少兩倍。片語「識別抗原之抗體」及「特異性針對抗原之抗體」在本文中可與術語「特異性結合於抗原之抗體」互換使用。

【0210】如本文所用，術語「轉換序列」係指負責轉換重組之彼等DNA序列。「轉換供體」序列，通常為μ轉換區，應為在轉換重組期間將缺失之構築體區的5' (亦即上游)。「轉換受體」區應在將缺失之構築體區與替代恆定區(例如γ、ε等)之間。由於不存在總是發生重組之特定位點，因此通常無法自構築體預測最終基因序列。

【0211】如本文所用，術語「受試者」包括任何人類或非人類動物。舉例而言，本發明之方法及組合物可用於治療患有免疫病症之受試者。術語「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗、牛、雞、兩棲動物、爬行動物等。

【0212】對於核酸，術語「基本同源性」表示兩個核酸或其指定序列在進行最佳比對及比較時，至少約80%之核苷酸，通常至少約90%至

95%且更佳至少約98%至99.5 %之核苷酸為一致的，其中具有適當的核苷酸插入或缺失。或者，當區段在選擇性雜交條件下與該股之互補序列雜交時，存在基本同源性。

【0213】 兩個序列之間的一致性百分比為序列共有之一致位置之數目的函數(亦即%同源性 = 一致位置數/位置總數 × 100)，考慮到出於兩個序列之最佳比對而需要引入的空隙之數目及各空隙之長度。序列之比較及兩個序列之間的一致性百分比的確定可使用數學算法完成，如下文非限制性實例中所述。

【0214】 兩個核苷酸序列之間的一致性百分比可使用GCG套裝軟體(可在http://www.gcg.com獲得)中之GAP程式，使用NWSgapdna.CMP矩陣以及40、50、60、70或80之空隙權重及1、2、3、4、5或6之長度權重來確定。兩個核苷酸或胺基酸序列之間的一致性百分比亦可使用已併入ALIGN程式(2.0版)中之E. Meyers及W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989))之算法，使用PAM120權重殘基表、空隙長度罰分12及空隙處罰4來確定。另外，兩個胺基酸序列之間的一致性百分比可使用Needleman及Wunsch (*J. Mol. Biol.* (48):444-453 (1970))算法，該算法已併入GCG套裝軟體(可在http://www.gcg.com獲得)中之GAP程式中，使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣，以及空隙權重16、14、12、10、8、6或4及長度權重1、2、3、4、5或6來確定。

【0215】 本發明之核酸及蛋白質序列可進一步用作「查詢序列」以針對公共資料庫進行搜尋，從而例如鑑定相關序列。此類搜尋可使用Altschul等人 (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10之NBLAST及XBLAST程式(2.0版)進行。BLAST核苷酸搜尋可用NBLAST程式，得分= 100，字長=

12來進行，以獲得與本發明之核酸分子同源的核苷酸序列。BLAST蛋白質搜尋可用XBLAST程式，分數= 50，字長= 3來進行，以獲得與本發明之蛋白質分子同源的胺基酸序列。為獲得用於比較目的之空隙比對，可如Altschul等人, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402中所述使用空隙BLAST。當利用BLAST及空隙BLAST程式時，可使用相應程式(例如XBLAST及NBLAST)之預設參數。參見http://www.ncbi.nlm.nih.gov。

【0216】 核酸可存在於全細胞、細胞溶解物或部分純化或基本上純的形式中。當藉由標準技術(包括鹼/SDS處理、CsCl顯帶、管柱層析、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中熟知的其他技術)純化而與其他細胞組分或其他污染物(例如其他細胞核酸或蛋白質)分離時，核酸為「經分離的」或「呈基本上純的」。參見F. Ausubel等人編, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)。

【0217】 本發明之核酸組合物，雖然通常在天然序列中(除經修飾之限制性位點及其類似物以外)、來自cDNA、基因組或其混合物，但仍可根據標準技術突變以提供基因序列。對於編碼序列，此等突變可視需要影響胺基酸序列。特定言之，涵蓋實質上與天然V、D、J、恆定、轉換及本文所述之其他此類序列同源或源自該等序列之DNA序列(其中「源自」表示序列與另一序列一致或自另一序列修飾所得)。

【0218】 如本文所用，術語「腫瘤微環境」(或者「癌症微環境」；縮寫為TME)係指存在腫瘤或贅瘤之細胞環境，包括周圍血管以及非癌細胞，包括但不限於免疫細胞、纖維母細胞、骨髓源性炎症細胞及淋巴細胞。信號傳導分子及細胞外基質亦包含TME。腫瘤與周圍微環境密切相

關且不斷相互作用。腫瘤可藉由釋放細胞外信號、促進腫瘤血管生成及誘導外周免疫耐受來影響微環境，而微環境中之免疫細胞可影響腫瘤細胞之生長及進化。

【0219】術語「T細胞」係指一種類型之白血球，其可藉由細胞表面上T細胞受體之存在而與其他白血球區分開。存在數種T細胞亞群，包括但不限於T輔助細胞(亦稱為T_H細胞或$CD4^+$ T細胞)及亞型，包括T_H1、T_H2、T_H3、T_H17、T_H9及T_{FH}細胞；細胞毒性T細胞(亦即T_C細胞、$CD8^+$ T細胞、細胞毒性T淋巴細胞、T殺手細胞、殺手T細胞)；記憶T細胞及亞型，包括中樞記憶T細胞(T_{CM}細胞)、效應記憶T細胞(T_{EM}及T_{EMRA}細胞)及駐留記憶T細胞(T_{RM}細胞)；調節性T細胞(亦稱為T_{reg}細胞或抑制性T細胞)及亞型，包括$CD4^+$ $FOXP3^+$ T_{reg}細胞、$CD4^+FOXP3^-$ T_{reg}細胞、Tr1細胞、Th3細胞及$T_{reg}17$細胞、自然殺手T細胞(亦稱為NKT細胞)、黏膜相關不變T細胞(MAIT)及γδ T細胞，包括Vγ9/Vδ2 T細胞。前述或未提及之T細胞中之任何一或多者可為本發明之使用方法的靶細胞類型。

【0220】如本文所用，術語「T細胞活化(T cell activation/activation of T cells)」係指成熟T細胞在其表面上表現抗原特異性T細胞受體，識別其同源抗原且藉由進入細胞週期、分泌細胞介素或溶解酶及啟動或變得有能力進行基於細胞之效應功能起反應的細胞過程。T細胞活化需要至少兩個信號才能完全活化。第一個出現在T細胞抗原特異性受體(TCR)與抗原-主要組織相容複合體(MHC)結合後，且第二個藉由隨後共刺激分子(例如CD28)之結合。此等信號傳遞至細胞核且導致T細胞之選殖擴增、細胞表面上之活化標記物上調、分化成效應細胞、誘導細胞毒性或細胞介素分泌、誘導細胞凋亡或其組合。

【0221】 如本文所用，術語「T細胞介導之反應」係指由T細胞介導之任何反應，T細胞包括但不限於效應T細胞(例如$CD8^+$細胞)及輔助T細胞(例如$CD4^+$細胞)。T細胞介導之反應包括例如T細胞細胞毒性及增殖。

【0222】 如本文所用，術語「治療有效量」或「治療有效劑量」或本文所用之類似術語欲意謂將引發期望的生物或醫學反應(例如癌症之一或多種症狀的改善)之藥劑(例如抗CD137抗體或其抗原結合片段)之量。

【0223】 如本文所用，術語「治療(treat/treating/treatment)」係指本文所述之治療或預防措施。「治療」方法採用向需要此類治療之受試者投與本發明之人類抗體，例如需要針對特定抗原之增強之免疫反應的受試者或最終可能罹患此類病症之受試者，以預防、治癒、延遲病症或復發病症、降低其嚴重程度或改善一或多種症狀，或延長受試者之存活期超過在不存在此類治療下預期之存活期。

【0224】 如本文所用，術語「未重排」或「生殖系構型」係指V區段未重組以便緊鄰D或J區段之構型。

【0225】 如本文所用，術語「載體」意欲指能夠轉運其已連接之另一核酸的核酸分子。一種類型之載體為「質體」，其係指環狀雙股DNA環，其中可接合額外的DNA區段。另一種類型之載體為病毒載體，其中額外的DNA區段可接合至病毒基因組中。某些載體能夠在引入其之宿主細胞中自主複製(例如具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如非游離型哺乳動物載體)可在引入宿主細胞中後整合至宿主細胞之基因組中，從而與宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠引導其可操作地連接之基因的表現。此類載體在本文中稱為「重組表現載體」(或簡稱「表現載體」)。一般而言，在重組DNA技術中有用之表現

載體通常呈質體形式。在本說明書中，「質體」及「載體」可互換使用，因為質體為最常用的載體形式。然而，本發明意欲包括此類其他形式之表現載體，諸如病毒載體(例如複製缺陷反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)，其提供等效的功能。

【0226】 除非另外定義，否則本文所用之所有技術及科學術語具有與一般熟習本發明所屬技術者通常所理解相同之含義。較佳方法及材料如下所述，但與本文所述類似或等效的方法及材料亦可用於本發明所揭示之方法及組合物的實踐或測試。本文中所提及之所有公開案、專利申請案、專利及其他參考文獻均以全文引用之方式併入。

【0227】

抗CD137抗體及其抗原結合片段

本發明提供特異性結合且促效CD137之抗體。在一些態樣中，本發明提供可用於治療癌症之抗CD137促效劑抗體。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體誘導細胞介素產生。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體增加腫瘤微環境中CD8+ T細胞之數目。在一些實施例中，抗CD137促效劑抗體誘導保護性抗腫瘤免疫。本發明亦提供抗CD137促效劑抗體，其在活體內投與後基本上不增加脾內或肝內CD4+及/或CD8+ T細胞群體。

【0228】 人類CD137為255個胺基酸之跨膜多肽(SEQ ID NO: 3；寄存編號NM_001561；NP_001552)及系統發育上保守之腫瘤壞死因子受體(TNFR)超家族的成員。CD137 (或4-1BB、TNFR超家族9)及其配體(CD137L)參與多種免疫活性之調節。CD137配體交聯其受體CD137，其在經活化T細胞上表現且共刺激T細胞活性。CD137為活化誘導之共刺激

分子。近期研究已揭露，CD137介導之抗癌效應主要基於其活化T細胞，尤其誘導細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應及誘導細胞介素產生，尤其大量IFNγ之能力(Ye等人, (2014) Clin Cancer Res 20(1):44-55)。CD137配體為細胞表面上之跨膜蛋白且將信號傳遞至表現其之細胞中，該現象稱為「逆向信號傳導」或「反向信號傳導」)。CD137配體表現見於大多數類型之白血球及一些非免疫細胞上。在單核球性細胞(單核球、巨噬細胞及DC)中，CD137配體信號傳導誘導活化、遷移、存活及分化。

【0229】 因此，在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合且促效CD137並允許或促進CD137L結合。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合且促效CD137。在一些實施例中，本發明提供之抗CD137抗體結合且促效CD137並共刺激T細胞之活化。

【0230】 在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段具有以下特性或特徵中之一或多者：

a)特異性結合於人類CD137；

b)結合於人類及食蟹獼猴CD137；及

c)結合於人類及小鼠CD137。

【0231】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於CD137且共刺激T細胞活性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於CD137且誘導或增強T細胞活化、細胞毒性T淋巴細胞(CTL)反應、T細胞增殖、細胞介素產生或其組合。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段在腫瘤微環境中結合於CD137且誘導或增強T細胞活化、細胞毒性T

淋巴細胞(CTL)反應、T細胞增殖、細胞介素產生或其組合。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段不顯著誘導或增強肝內及/或脾內T細胞活化及/或T細胞增殖。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合於CD137且誘導IFNγ之產生。在一些實施例中，本發明提供之抗體結合於CD137且誘導IL-2、TNF-α、IL-13或其組合之產生。

【0232】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體特異性結合且促效CD137。在一些實施例中，CD137之促效作用係藉由測定免疫細胞產生之細胞介素的濃度來量測。用於分析細胞介素產生之方法為此項技術中已知的且在實例中使用。在一些實施例中，免疫細胞產生之細胞介素的增加表明CD137促效作用。在一些實施例中，CD137之促效作用係藉由分析T細胞增殖來量測。在一些實施例中，T細胞增殖之增加表明CD137促效作用。在一些實施例中，CD137之促效作用係藉由定量相關分子之磷酸化或相關啟動子後之基因報導基因之表現量測細胞信號傳導水準來量測。在一些實施例中，細胞信號傳導之增加表明CD137促效作用。在一些實施例中，CD137之促效作用係藉由量測腫瘤體積來量測。在一些實施例中，腫瘤體積減小表明CD137促效作用。

【0233】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體誘導、增加或穩定CD137之寡聚化、多聚化或其他更高級的聚集。在一些實施例中，細胞表面上CD137之聚集係經由螢光顯微鏡來觀察。

【0234】 本文提供結合且促效CD137之經分離單株抗體或其抗原結合片段。在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段(i)以約30至100 nM(例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；(ii)結合本文所述之人類CD137上的抗原決定基；及/或(iii)包含重鏈CDR3，其

包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)。

【0235】

對CD137之親和力

在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間或在約40 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，抗CD137抗體對人類CD137之親和力比mAb10對小鼠CD137之親和力高至少兩倍(例如至少三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或10倍)。在一些實施例中，抗CD137抗體之親和力不大於500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110或100 nM。在一些實施例中，抗CD137抗體對人類CD137之親和力比mAb10對小鼠CD137之親和力高至少兩倍(例如至少三倍、四倍、五倍、六倍、七倍、八倍、九倍或10倍)，但不大於500、450、400、350、300、250、200、250、200、175、150、125、110或100 nM。抗體之親和力為結合單個CD137多肽之強度。在一些實施例中，親和力係由平衡解離常數(K_D)表示。K_D之值與抗體與抗原之結合親和力成反比。因此，K_D值愈小，抗體對其抗原之親和力愈大。

【0236】 用於確定抗體對其抗原之親和力的方法為此項技術中已知的。用於確定結合親和力之例示性方法採用表面電漿子共振。表面電漿子共振為一種光學現象，其允許藉由例如使用BIAcore系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)偵測生物感測器基質內蛋白質濃度之變化來分析即時生物特異性相互作用。關於進一步說明，參見Jonsson, U.等人, (1993) Ann. Biol. Clin. 51: 19-26；Jonsson,

U., i (1991) Biotechniques 11 :620-627；Johnsson, B.等人, (1995) J. Mol. Recognit. 8: 125-131；及Johnsson, B.等人, (1991) Anal. Biochem. 198:268-277。

【0237】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約40至100 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約30至40 nM、40至50 nM、50至60 nM、60至70 nM、70至80 nM、80至90 nM、90至100 nM、45至55 nM、55至65 nM、75至85 nM、85至95 nM、45至95 nM、50至90 nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約60至80 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約60至75 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。

【0238】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約60至90 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約50至80 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約40至70 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約55至75 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約65至75 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約60至80 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約55至85 nM之親和力(K_D)結合人類

CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約50至90 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約45至95 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約85至95 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約75至85 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約75至85 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約55至65 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約45至55 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約80至90 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約70至80 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約60至70 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約50至60 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約40至50 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約30至40 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合人類CD137之親和力(K_D)為約30 nM、約31 nM、約32 nM、約33 nM、約34 nM、約35 nM、約36 nM、約37 nM、約38 nM、約39 nM、約40 nM、約41 nM、約42 nM、約43 nM、約44 nM、約45 nM、約46 nM、約47 nM、約48 nM、約49 nM、約50 nM、約51 nM、約52 nM、約53 nM、約54 nM、約55 nM、約56 nM、約57 nM、約58 nM、約59 nM、約60 nM、約61 nM、約62 nM、約63 nM、約64 nM、約65 nM、

約66 nM、約67 nM、約68 nM、約69 nM、約70 nM、約71 nM、約72 nM、約73 nM、約74 nM、約75 nM、約76 nM、約77 nM、約78 nM、約79 nM、約80 nM、約81 nM、約82 nM、約83 nM、約84 nM、約85 nM、約86 nM、約87 nM、約88 nM、約89 nM、約90 nM、約91 nM、約92 nM、約93 nM、約94 nM、約95 nM、約96 nM、約97 nM、約98 nM、約99 nM、約100 nM、約101 nM、約102 nM、約103 nM、約104 nM、約105 nM、約106 nM、約107 nM、約108 nM、約109 nM或約110 nM。

【0239】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合人類CD137之親和力(K_D)為至少30 nM但小於約110 nM、至少31 nM但小於約109 nM、至少32 nM但小於約108 nM、至少33 nM但小於約107 nM、至少34 nM但小於約106 nM、至少35 nM但小於約105 nM、至少36 nM但小於約104 nM、至少37 nM但小於約103 nM、至少38 nM但小於約102 nM、至少39 nM但小於約101 nM、至少40 nM但小於約100 nM；至少41 nM但小於約99 nM；至少42 nM但小於約98 nM；至少43 nM但小於約97 nM；至少44 nM但小於約96 nM；至少45 nM但小於約95 nM；至少46 nM但小於約94 nM；至少47 nM但小於約93 nM；至少48 nM但小於約92 nM；至少49 nM但小於約91 nM；至少50 nM但小於約90 nM；至少51 nM但小於約89 nM；至少52 nM但小於約88 nM；至少53 nM但小於約87 nM；至少54 nM但小於約86 nM；至少55 nM但小於約85 nM；至少56 nM但小於約84 nM；至少57 nM但小於約83 nM；至少58 nM但小於約82 nM；至少59 nM但小於約81 nM；至少60 nM但小於約80 nM；至少61 nM但小於約79 nM；至少62 nM但小於約78 nM；至少63 nM但小於約77

nM；至少64 nM但小於約76 nM；或至少65 nM但小於約75 nM。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以至少40 nM但小於約100 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。

【0240】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體與來自不止一種物種之CD137多肽交叉反應。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合食蟹獼猴CD137及人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合小鼠CD137及人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合人類CD137、小鼠CD137及食蟹獼猴CD137。

【0241】

CD137抗原決定基結合

在一些實施例中，特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO: 3之胺基酸111至132中之一或多個(例如一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、21個、22個、23個、24個或全部25個)。在一些實施例中，特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分結合於SEQ ID NO: 3之胺基酸111至132內的抗原決定基。在一些態樣中，本發明提供特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其結合於SEQ ID NO: 3之胺基酸111至132之全部或一部分。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO: 3之殘基K114的人類CD137之抗原決定基。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO: 3之殘基E111、T113及K114的人

類CD137之抗原決定基。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO: 3之殘基E111、T113、K114、N126及I132的人類CD137之抗原決定基。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO: 3之E111、T113、K114、N126、I132及P135的人類CD137之抗原決定基。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於包含SEQ ID NO: 3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135的人類CD137之抗原決定基。

【0242】 在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於人類CD137之抗原決定基，該抗原決定基包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置100至135、101至135、102至135、103至135、104至135、105至135、106至135、107至135、108至135、109至135、110至135或111至135之一或多個胺基酸殘基的序列。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於人類CD137之抗原決定基，該抗原決定基包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基的序列。在一些實施例中，抗原決定基包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸殘基。

【0243】 在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置100至135、101至135、102至135、103至135、104至135、105至135、106至135、107至135、108至135、109至135、110至135或111至135內的人類CD137之抗

原決定基。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135內的人類CD137之抗原決定基。在一些實施例中，抗原決定基包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135的2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24或25個胺基酸殘基。

【0244】 在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111至114)之人類CD137的抗原決定基。在一些實施例中，胺基酸殘基L112可為另一個胺基酸殘基。

【0245】 在一些實施例中，抗原決定基為非線性抗原決定基。在一些實施例中，胺基酸殘基K114之突變消除本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段與人類CD137的結合。

【0246】 在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於人類CD137之抗原決定基，該抗原決定基包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基的序列，其中該抗原決定基至少包含胺基酸K114，且其中該抗體或其抗原結合部分結合小鼠CD137且不結合大鼠CD137。在一些實施例中，抗原決定基為非線性抗原決定基。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分結合小鼠CD137及食蟹獼猴CD137且不結合大鼠CD137。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段與人類、小鼠、大鼠及食蟹獼猴CD137的結合係藉由表面電漿子共振(SPR)來測定。

【0247】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分與小鼠、食蟹獼

猴或人類CD137結合之親和力比抗體對大鼠CD137之親和力大至少10、20、30、40、50、100、200、500或1000倍。在一些實施例中，抗體或其抗原結合部分與小鼠、食蟹獼猴或人類CD137結合之親和力比抗體對CD137多肽之親和力大至少10、20、30、40、50、100、200、500或1000倍，該CD137多肽相對於SEQ ID NO: 3之人類CD137不包含位置114處之離胺酸。

【0248】 在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合於人類CD137之抗原決定基且與mAb1競爭結合於人類CD137之抗原決定基。在一些實施例中，本文所述之經分離抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段結合且促效CD137。在一些實施例中，本發明提供之抗CD137抗體結合且促效CD137並共刺激T細胞之活化。

【0249】 本發明提供競爭結合於CD137上之抗原決定基的抗體，該抗原決定基包含由本文所述之一或多種特定參考抗體(例如mAb1)識別之抗原決定基的全部或一部分。在一些實施例中，抗CD137抗體結合於人類CD137之抗原決定基且與參考抗體(例如mAb1)競爭結合於人類CD137之抗原決定基，且其中該抗體或其抗原結合片段以1×10^{-6}或更小之平衡解離常數K_D結合人類CD137。在一些實施例中，抗CD137抗體結合於CD137上之抗原決定基，其中該抗原決定基之一或多個突變抑制、減少或阻斷與該等抗體及參考抗體(例如mAb1)之結合。在一些實施例中，參考抗體為本文所述之mAb1抗體。在一些實施例中，參考抗體為表3或表4中提供之任何一種抗體。

【0250】 因此，本發明提供之抗CD137抗體可經由包含與CD137結合之抗體或其片段或部分之晶體結構的X射線結晶學分析來評定。在一些

態樣中，由本發明提供之抗體結合的抗原決定基係藉由確定人類CD137抗原上之殘基來鑑定，該等殘基存在或位於抗體互補位殘基(例如mAb1)之4埃(Å)內。

【0251】 在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少3個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少4個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少5個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少6個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少7個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少8個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少9個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少10個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少12個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少3個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少13個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少14個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基為至少15個胺基酸殘基。

【0252】 在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於25個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於24個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述

之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於23個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於22個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於21個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於20個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於19個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於18個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於17個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於16個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於15個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於14個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於13個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於12個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於11個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於10個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於9個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於8個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於7個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於6個胺基酸殘基。在一些實施例中，由本文所述之抗CD137抗體結合的抗原決定基少於5個胺基酸殘基。

【0253】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合於少於25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6或5個胺基酸且包含SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基K114的抗原決定基。

【0254】

可變區

在一些實施例中，本文提供經分離單株抗體或其抗原結合片段，其包含如表3及4中所列之重鏈及輕鏈可變序列。

【0255】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含選自由以下組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(b) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 70、79及90中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(c) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 71、80及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(d) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 72、81及92中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(e) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及

CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 73、82及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(f) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 74、83及93中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(g) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 75、84及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(h) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 74、85及94中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(i) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 76、86及95中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(j) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 77、87及93中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(k) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、88及90中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(l) 分別在SEQ ID NO: 49、57及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(m) 分別在SEQ ID NO: 49、58及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(n) 分別在SEQ ID NO: 49、59及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(o) 分別在SEQ ID NO: 49、60及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(p) 分別在SEQ ID NO: 50、61及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(q) 分別在SEQ ID NO: 50、58及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(r) 分別在SEQ ID NO: 51、62及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(s) 分別在SEQ ID NO: 52、63及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(t) 分別在SEQ ID NO: 50、64及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、

CDR2及CDR3序列；

(u) 分別在SEQ ID NO: 50、65及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(v) 分別在SEQ ID NO: 51、108及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(w) 分別在SEQ ID NO: 107、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；及

(x) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 109、110及92中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【0256】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101及103組成之群的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46及105組成之群的胺基酸序列。

【0257】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0258】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 4及28；

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及30；

(d) 分別為SEQ ID NO: 4及32；

(e) 分別為SEQ ID NO: 4及34；

(f) 分別為SEQ ID NO: 4及36；

(g) 分別為SEQ ID NO: 4及38；

(h) 分別為SEQ ID NO: 4及40；

(i) 分別為SEQ ID NO: 4及42；

(j) 分別為SEQ ID NO: 4及44；

(k) 分別為SEQ ID NO: 4及46；

(l) 分別為SEQ ID NO: 8及6；

(m) 分別為SEQ ID NO: 10及6；

(n) 分別為SEQ ID NO: 12及6；

(o) 分別為SEQ ID NO: 14及6；

(p) 分別為SEQ ID NO: 16及6；

(q) 分別為SEQ ID NO: 18及6；

(r) 分別為SEQ ID NO: 20及6；

(s) 分別為SEQ ID NO: 22及6；

(t) 分別為SEQ ID NO: 24及6；

(u) 分別為SEQ ID NO: 26及6；

(v) 分別為SEQ ID NO: 101及6；

(w) 分別為SEQ ID NO: 103及6；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 4及105。

【0259】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101及103組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46及105組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0260】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其包含與選自由以下組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 4及28；

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及30；

(d) 分別為SEQ ID NO: 4及32；

(e) 分別為SEQ ID NO: 4及34；

(f) 分別為SEQ ID NO: 4及36；

(g) 分別為SEQ ID NO: 4及38；

(h) 分別為SEQ ID NO: 4及40；

(i) 分別為SEQ ID NO: 4及42；

(j) 分別為SEQ ID NO: 4及44；

(k) 分別為SEQ ID NO: 4及46；

(l) 分別為SEQ ID NO: 8及6；

(m) 分別為SEQ ID NO: 10及6；

(n) 分別為SEQ ID NO: 12及6；

(o) 分別為SEQ ID NO: 14及6；

(p) 分別為SEQ ID NO: 16及6；

(q) 分別為SEQ ID NO: 18及6；

(r) 分別為SEQ ID NO: 20及6；

(s) 分別為SEQ ID NO: 22及6；

(t) 分別為SEQ ID NO: 24及6；

(u) 分別為SEQ ID NO: 26及6；

(v) 分別為SEQ ID NO: 101及6；

(w) 分別為SEQ ID NO: 103及6；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 4及105。

【0261】在一些實施例中，本文提供特異性結合人類CD137之抗體，其包含由選自由以下組成之群的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a) 分別為SEQ ID NO: 5及7；

(b) 分別為SEQ ID NO: 5及29；

(c) 分別為SEQ ID NO: 5及31；

(d) 分別為SEQ ID NO: 5及33；

(e) 分別為SEQ ID NO: 5及35；

(f) 分別為SEQ ID NO: 5及37；

(g) 分別為SEQ ID NO: 5及39；

(h) 分別為SEQ ID NO: 5及41；

(i) 分別為SEQ ID NO: 5及43；

(j) 分別為SEQ ID NO: 5及45；

(k) 分別為SEQ ID NO: 5及47；

(l) 分別為SEQ ID NO: 9及7；

(m) 分別為SEQ ID NO: 11及7；

(n) 分別為SEQ ID NO: 13及7；

(o) 分別為SEQ ID NO: 15及7；

(p) 分別為SEQ ID NO: 17及7；

(q) 分別為SEQ ID NO: 19及7；

(r) 分別為SEQ ID NO: 21及7；

(s) 分別為SEQ ID NO: 23及7；

(t) 分別為SEQ ID NO: 25及7；

(u) 分別為SEQ ID NO: 27及7；

(v) 分別為SEQ ID NO: 102及7；

(w) 分別為SEQ ID NO: 104及7；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 5及106。

【0262】在一些實施例中，本文提供特異性結合人類CD137之抗體，其包含由與選自由以下組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a) 分別為SEQ ID NO: 5及7；

(b) 分別為SEQ ID NO: 5及29；

(c) 分別為SEQ ID NO: 5及31；

(d) 分別為SEQ ID NO: 5及33；

(e) 分別為SEQ ID NO: 5及35；

(f) 分別為SEQ ID NO: 5及37；

(g) 分別為SEQ ID NO: 5及39；

(h) 分別為SEQ ID NO: 5及41；

(i) 分別為SEQ ID NO: 5及43；

(j) 分別為SEQ ID NO: 5及45；

(k) 分別為SEQ ID NO: 5及47；

(l) 分別為SEQ ID NO: 9及7；

(m) 分別為SEQ ID NO: 11及7；

(n) 分別為SEQ ID NO: 13及7；

(o) 分別為SEQ ID NO: 15及7；

(p) 分別為SEQ ID NO: 17及7；

(q) 分別為SEQ ID NO: 19及7；

(r) 分別為SEQ ID NO: 21及7；

(s) 分別為SEQ ID NO: 23及7；

(t) 分別為SEQ ID NO: 25及7；

(u) 分別為SEQ ID NO: 27及7；

(v) 分別為SEQ ID NO: 102及7；

(w) 分別為SEQ ID NO: 104及7；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 5及106。

【0263】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區由選自由SEQ ID NO: 5、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、102及104組成之群的核苷酸序列編碼；且其中該輕鏈可變區由選自由SEQ ID NO: 7、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47及106組成之群的核苷酸序列編碼。

【0264】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區由與選自由SEQ ID NO: 5、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、102及104組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼；且其中該輕鏈可變區由與選自由SEQ ID NO: 7、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47及106組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼。

【0265】在一些實施例中，本文提供抗CD137抗體，其特異性結合於人類CD137且包含具有胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸。在一些實施例中，X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。在一些實施例中，SEQ ID NO: 126之殘基D95、L100、Y100E、Y100G及/或Y100H的突變導致喪失與人類CD137之結合。

【0266】在一些實施例中，本文提供抗CD137抗體，其特異性結合於人類CD137且包含具有胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX (SEQ ID NO: 127)之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸。在一些實施例中，SEQ ID NO: 126之殘基F98、D100A、Y100D及/或Y100F及/或Y100H突變成丙胺酸導致喪失與人類CD137之結合。在一些實施例中，SEQ ID NO: 126之殘基F98、D100A、Y100D及/或Y100F及/或Y100H突變成除丙胺酸之外的任何殘基導致與人類CD137之結合增加。

【0267】在一些實施例中，本文提供抗CD137抗體，其特異性結合於人類CD137且包含具有胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$ (SEQ ID NO: 128)之重鏈CDR3，其中X_1為任何胺基酸，其中X_2為非極性胺基酸，其中X_3為非極性胺基酸，其中X_4為任何胺基酸，其中X_5為極性

胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸，且其中X_{10}為任何胺基酸。在一些實施例中，X_2為脯胺酸，其中X_3為苯丙胺酸或色胺酸，其中X_5為天冬胺酸或麩胺酸，其中X_8為酪胺酸且其中X_9為酪胺酸。

【0268】 抗體或其抗原結合部分之重鏈CDR3內的胺基酸殘基在與指定靶標(例如CD137)結合中的作用可藉由熟習此項技術者已知的方法確定。在一些實施例中，完成使用丙胺酸掃描之初始分析以確定抗原結合的關鍵殘基。如本文所述，丙胺酸掃描為用於確定特定野生型殘基對給定蛋白質或多肽之穩定性或功能(例如結合親和力)的貢獻的技術。該技術涉及用丙胺酸殘基取代多肽中之野生型殘基，隨後評定丙胺酸取代之衍生物或突變型多肽之穩定性或功能(例如結合親和力)且與野生型多肽相比。在一些實施例中，進一步評估鑑定為不重要的殘基以調節抗體與抗原之結合(例如增加或降低結合)。此類分析之非限制性實例為深度突變掃描。此方法允許評估大量突變。在一些實施例中，重鏈CDR3內之各胺基酸殘基突變成每一胺基酸殘基(丙胺酸除外)，且評定結合。用於分析胺基酸殘基突變之效應的其他方法為此項技術中已知的。在一些實施例中，此等方法用於評定所有重鏈及輕鏈CDR中之殘基與人類CD137結合的作用。

【0269】

例示性CD137結合抗體

在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以約40至100 nM (例如在約40 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137。在一些實施例中，本文所述

之抗CD137抗體結合上文所述之人類CD137上的抗原決定基(例如包含K114)。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137且結合上文所述之人類CD137上的抗原決定基(例如包含K114)。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137，且包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)之重鏈CDR3。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體結合上文所述之人類CD137上的抗原決定基(例如包含K114)且包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)之重鏈CDR3。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體以30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137，結合上文所述之人類CD137上的抗原決定基(例如包含K114)，且包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX (SEQ ID NO: 126)之重鏈CDR3。

【0270】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸。

【0271】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO: 3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135。

【0272】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO: 3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；

(iii)包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸；或

(iv)其組合。

【0273】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO: 3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；

(iii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸；或

(iv)其組合。

【0274】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)特異性結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO: 3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；及

(iii)包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸。

【0275】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於人類CD137上之抗原決定基，該抗原決定基包含SEQ ID NO: 3之一或多個殘基E111、T113、K114、N126、I132及P135；及

(iii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸。

【0276】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)結合於包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多

個胺基酸殘基之序列的抗原決定基。

【0277】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；

(iii)包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸；或

(iv)其組合。

【0278】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；

(iii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸；或

(iv)其組合。

【0279】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；及

(iii)包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸。

【0280】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸位置111至135之一或多個胺基酸殘基之序列的抗原決定基；及

(iii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸。

【0281】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力結合人類CD137；及

(ii)結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111至114)之抗原決定基。

【0282】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111至114)

之抗原決定基；

(iii)包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸；或

(iv)其組合。

【0283】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111至114)之抗原決定基；

(iii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸；或

(iv)其組合。

【0284】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111至114)之抗原決定基；及

(iii)包含有包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX之重鏈CDR3，其中X為任何胺基酸。

【0285】 在一些實施例中，抗CD137抗體

(i)以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合人類CD137；

(ii)結合於包含ELTK (對應於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111至114)之抗原決定基；及

(iii)包含有包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$之重鏈CDR3，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸。

【0286】 在一些實施例中，上文所述之抗CD137抗體包含選自由以下組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；及

(b) 分別在SEQ ID NO: 51、108及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【0287】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 4及101組成之群的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。

【0288】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；及

(b) 分別為SEQ ID NO: 101及6。

【0289】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 101及6；及

(c) 分別為SEQ ID NO: 26及6。

【0290】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含由選自由以下組成之群的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a) 分別為SEQ ID NO: 5及7；及

(b) 分別為SEQ ID NO: 102及7。

【0291】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含由選自由以下組成之群的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a) 分別為SEQ ID NO: 5及7；

(b) 分別為SEQ ID NO: 102及7；及

(c) 分別為SEQ ID NO: 27及7。

【0292】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4及101組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0293】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4、26及101組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0294】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區由與選自由SEQ ID NO: 5及102組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼；且其中該輕鏈可變區由與SEQ ID NO: 7之核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼。

【0295】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區由與選自由SEQ ID NO: 5、27及102組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼；且其中該輕鏈可變區由與SEQ ID NO: 7之核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼。

【0296】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其包含與選自由以下組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；及

(b) 分別為SEQ ID NO: 101及6。

【0297】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈可變區，其包含與選自由以下組成之群的胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 101及6；及

(c) 分別為SEQ ID NO: 26及6。

【0298】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含由與選自由以下組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a) 分別為SEQ ID NO: 5及7；及

(b) 分別為SEQ ID NO: 102及7。

【0299】 在一些實施例中，抗CD137抗體包含由與選自由以下組成之群的核苷酸序列至少90%一致的核苷酸序列編碼的重鏈及輕鏈可變區：

(a) 分別為SEQ ID NO: 5及7；

(b) 分別為SEQ ID NO: 102及7；及

(c) 分別為SEQ ID NO: 27及7。

【0300】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體至少具有mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)、mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)或mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)的功能特性。在一些實施例中，本文所述之抗體的功能特性包括但不限於：誘導或增強CD137之二聚化；誘導或增強CD137之多聚化；誘導或增強CD137介導之T細胞活化；誘導或增強CD137介導之細胞毒性T細胞反應；誘導或增強CD137介導之T細胞增殖；誘導或增強CD137介導之細胞介素產生；缺乏誘導或增強肝內及/或脾內T細胞活化及/或T細胞增殖；及減少或抑制腫瘤生長。

【0301】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體與人類CD137結合之平衡解離常數K_D至少等於mAb1 (亦即分別包含SEQ ID NO: 4及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)、mAb8 (亦即分別包含SEQ ID NO: 101及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)或mAb10 (亦即分別包含SEQ ID NO: 26及6之重鏈及輕鏈可變序列的抗體)之平衡解離常數K_D。

【0302】在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含人類IgG1重鏈恆定區或人類IgG4重鏈恆定區。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含人類野生型IgG1重鏈恆定區或人類野生型IgG4重鏈恆定區。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含如SEQ ID NO: 1中所示之人類野生型IgG1重鏈恆定區。在一些實施例中，本文所述之抗

CD137抗體包含突變型IgG1重鏈恆定區或突變型IgG4重鏈恆定區。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含突變型IgG4重鏈恆定區，其中該突變型IgG4重鏈恆定區包含殘基Ser228處之胺基酸取代。在一些實施例中，殘基Ser228處之胺基酸取代為S228P。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含IgG4重鏈恆定區，其中移除C端離胺酸殘基。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含IgG4重鏈恆定區，其中移除c端離胺酸殘基且包含S228P胺基酸取代。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含如SEQ ID NO: 2中所示之IgG4重鏈恆定區。

【0303】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含SEQ ID NO: 129及133中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含SEQ ID NO: 130及133中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含SEQ ID NO: 131及133中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含SEQ ID NO: 132及133中所示之胺基酸序列。

【0304】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含與SEQ ID NO: 129及133至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含與SEQ ID NO: 130及133至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含與SEQ ID NO: 131及133至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少

96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含重鏈及輕鏈，其分別包含與SEQ ID NO: 132及133至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。

【0305】

CD137結合抗體之表徵及功能

I. 親和力

在一些實施例中，如藉由抗原結合分析所測定，本文所述之抗CD137抗體以約40至100 nM (例如在約40 nM與約100 nM之間)之親和力(KD)結合人類CD137。在一些實施例中，如藉由抗原結合分析所測定，本文所述之抗CD137抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(KD)結合人類CD137。在一些實施例中，如藉由抗原結合分析所測定，本文所述之抗CD137抗體以約45至95 nM、50至90 nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之親和力(KD)結合人類CD137。

【0306】在一些實施例中，抗原結合分析測定抗CD137抗體對CD137多肽之結合親和力。在一些實施例中，抗原結合分析為表面電漿子共振。因此，在一些實施例中，如使用表面電漿子共振所測定，本文所述之抗CD137抗體以約40至100 nM (例如在約40 nM與約100 nM之間)之親和力(KD)結合人類CD137。在一些實施例中，如使用表面電漿子共振所測定，本文所述之抗CD137抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(KD)結合人類CD137。在一些實施例中，如使用表面電漿子共振所測定，本文所述之抗CD137抗體以約45至95 nM、50至90

nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之親和力(KD)結合人類CD137。

【0307】片語「表面電漿子共振」包括一種光學現象，其允許藉由例如使用BIAcore系統(Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, NJ)偵測生物感測器基質內蛋白質濃度之變化來分析即時生物特異性相互作用。關於進一步描述，參見Jönsson, U.等人, (1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26；Jönsson, U.等人, (1991) Biotechniques 11:620-627；Johnsson, B.等人, (1995) J. Mol. Recognit. 8:125-131；及Johnnson, B.等人, (1991) Anal. Biochem. 198:268-277。在一些實施例中，抗原結合分析為生物層干涉量測術(BLI)。因此，在一些實施例中，如使用生物層干涉量測術所測定，本文所述之抗CD137抗體以約40至100 nM (例如在約40 nM與約100 nM之間)之親和力(KD)結合人類CD137。在一些實施例中，如使用生物層干涉量測術所測定，本文所述之抗CD137抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(KD)結合人類CD137。在一些實施例中，如使用生物層干涉量測術所測定，本文所述之抗CD137抗體以約45至95 nM、50至90 nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之親和力(KD)結合人類CD137。

【0308】片語「生物層干涉量測術」或「BLI」包括允許量測其光學層偵測表面厚度之亞奈米變化的光學現象。在一些實施例中，生物分子在感測器表面結合且改變光學層厚度。光學層厚度變化之大小與結合分子之質量或分子量成比例。在一些實施例中，將CD137固定於感測器表面以量測抗體之結合，其中結合產生分子量變化，從而產生光學層厚度之相應

變化。在一些實施例中，BLI用OCTET系統(ForteBio)進行。

【0309】

II. 免疫細胞效應

在一些實施例中，如藉由細胞介素分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素。在一些實施例中，細胞介素分析測定自與抗CD137抗體接觸之免疫細胞分泌的至少一種細胞介素的量，其中至少一種細胞介素之量增加表明抗CD137抗體誘導或增強細胞介素產生。在一些實施例中，與對照抗體(例如不結合於CD137且不誘導細胞介素產生之抗體)相比，細胞介素產生增加至少1倍、2倍、3倍、4倍或5倍。

【0310】 在一些實施例中，如藉由細胞介素分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素，其中該細胞介素分析包含以下步驟：

(i) 使免疫細胞與抗CD137抗體接觸；及

(ii) 測定免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量，

其中至少一種細胞介素之量增加表明抗CD137抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素。

【0311】 在一些實施例中，如藉由細胞介素分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素，其中該細胞介素分析包含以下步驟：

(i) 使免疫細胞與抗CD137抗體接觸；及

(ii) 測定免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量，及

(iii) 將免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量與參考免疫細胞分泌

之量進行比較，

其中參考免疫細胞與對照抗體接觸，且其中相對於參考免疫細胞，免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量的增加表明誘導或增強人類CD137介導之細胞介素產生。

【0312】在一些實施例中，如藉由細胞介素分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素，其中該細胞介素分析包含以下步驟：

(i) 使免疫細胞與抗CD137抗體接觸；

(ii) 測定免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量，及

(iii) 將免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量與參考免疫細胞分泌之量或含量進行比較，

其中參考免疫細胞不與抗CD137抗體接觸，且其中相對於參考免疫細胞，免疫細胞產生的至少一種細胞介素之量的增加表明誘導或增強人類CD137介導之免疫細胞的細胞介素產生。

【0313】在一些實施例中，至少一種細胞介素係選自由IL-2、IFNγ、TNFα、IL-13及其組合組成之群。在一些實施例中，細胞介素為IL-2。在一些實施例中，細胞介素為IFNγ。在一些實施例中，細胞介素為TNFα。在一些實施例中，細胞介素為IL-13。在一些實施例中，抗CD137抗體誘導或增強IL-2產生。在一些實施例中，抗CD137抗體誘導或增強TNFα產生。在一些實施例中，抗CD137抗體誘導或增強IL-13產生。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及TNFα。在一

些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-13及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2、TNFα及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2、TNFα及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IFNγ、TNFα及IL-13。

【0314】 在一些實施例中，免疫細胞為T細胞。在一些實施例中，參考免疫細胞為T細胞。在一些實施例中，T細胞為CD8+ T細胞。

【0315】 在一些實施例中，細胞介素分析為細胞介素珠粒陣列分析。細胞介素珠粒陣列分析為基於珠粒之免疫分析，其允許多分析物流動式細胞測量術測定樣品中之多種細胞介素。使用不同尺寸或顏色之微球體為細胞介素珠粒陣列分析之基礎，其中各微球體(或「珠粒」)塗有特異性結合於抗原(例如細胞介素)之抗體。抗體塗佈之珠粒隨後與偵測抗體組合引入樣品中。隨後藉由流動式細胞測量術分析珠粒:抗原:偵測抗體複合物。市售細胞介素珠粒陣列分析包括但不限於BD™細胞珠粒陣列系統(BD Biosciences)及Luminex®分析(R&D Systems)。在一些實施例中，人類CD137介導之細胞介素產生的誘導或增強係藉由細胞介素珠粒陣列分析來測定。在一些實施例中，人類CD137介導之細胞介素產生的誘導或增強係藉由Luminex®分析來測定。

【0316】 在一些實施例中，細胞介素分析為Meso Scale Discovery (MSD)分析(Meso Scale Diagnostics; Rockville, MD)。MSD分析為基於偵測特異性結合於所關注抗原(例如細胞介素)之電化學發光標記之抗體的市售分析。MSD分析包含微量盤孔底部之高結合碳電極，其允許附接生

物試劑(例如特異性針對細胞介素之捕捉抗體)。MSD分析使用與偵測抗體結合之電化學發光標記。將樣品添加至微量盤孔中，且藉由MSD儀器將電施加至盤電極，導致電化學發光標記發光。量測光強度以定量樣品中之分析物(例如細胞介素)。在一些實施例中，人類CD137介導之細胞介素產生的誘導或增強係藉由Meso Scale Discovery (MSD)分析來測定。

【0317】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。在一些實施例中，T細胞活化分析測定與本文所述之抗CD137抗體接觸之T細胞分泌的至少一種細胞介素之量，其中至少一種細胞介素之量的增加表明誘導或增強T細胞活化。在一些實施例中，與對照抗體(例如不結合於CD137且不誘導細胞介素產生之抗體)相比，細胞介素產生增加至少1倍、2倍、3倍、4倍或5倍。

【0318】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 自受試者分離T細胞；

(ii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；及

(iii) 在(ii)之後，測定T細胞分泌的至少一種細胞介素之量，

其中至少一種細胞介素之含量增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0319】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 自受試者分離T細胞；

(ii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；

(iii) 測定T細胞分泌的至少一種細胞介素之量；及

(iv) 將T細胞產生的至少一種細胞介素之量與參考T細胞分泌之量或含量進行比較，

其中參考T細胞不與抗CD137抗體接觸，且其中相對於參考T細胞，T細胞產生的至少一種細胞介素之量的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0320】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 自受試者分離T細胞；

(ii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；

(iii) 測定T細胞分泌的至少一種細胞介素之量；及

(iv) 將T細胞產生的至少一種細胞介素之量與參考T細胞分泌之量進行比較，

其中參考T細胞與對照抗體接觸，且其中相對於參考T細胞，T細胞產生的至少一種細胞介素之量的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0321】 在一些實施例中，T細胞活化分析包含在與本文所述之抗CD137抗體接觸之後，測定T細胞分泌的至少一種細胞介素之含量，其中至少一種細胞介素係選自由IL-2、IFNγ、TNFα及IL-13組成之群。在一些實施例中，細胞介素為IL-2。在一些實施例中，細胞介素為IFNγ。在一些實施例中，細胞介素為TNFα。在一些實施例中，細胞介素為IL-13。在一

些實施例中，T細胞活化分析包含細胞介素分析，諸如本文所述之細胞介素分析，以測定至少一種細胞介素之量。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及TNFα。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為TNFα及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-13及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2、TNFα及IL-13。在一些態樣中，產生的細胞介素為IL-2、TNFα及IFNγ。在一些態樣中，產生的細胞介素為IFNγ、TNFα及IL-13。

【0322】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含偵測T細胞上至少一種活化標記物的表面表現，且其中至少一種活化標記物之表現量的增加表明T細胞活化之誘導或增強。在一些實施例中，「表面表現之增加」係指相對於在對照抗體存在下或在抗體不存在下之表面表現，表面表現增加至少5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。

【0323】 在一些實施例中，如藉由活體外T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 自受試者分離T細胞；

(ii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；及

(iii) 偵測T細胞上至少一種活化標記物之表面表現，

其中至少一種活化標記物之表面表現的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0324】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 自受試者分離T細胞；

(ii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；

(iii) 測定T細胞上至少一種活化標記物之表面表現；及

(iv) 將T細胞上至少一種活化標記物之表面表現與參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現進行比較，

其中參考T細胞不與抗CD137抗體接觸，且其中相對於參考T細胞，T細胞上至少一種活化標記物之表面表現的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0325】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 自受試者分離T細胞；

(ii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；

(iii) 測定T細胞上至少一種活化標記物之表面表現，

(iv) 將T細胞上至少一種活化標記物之表面表現與參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現進行比較，

其中參考T細胞與對照抗體接觸，且其中T細胞上至少一種活化標記物之表面表現相對於參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0326】 在一些實施例中，如藉由活體內T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 向受試者投與抗CD137抗體；

(ii) 自受試者分離T細胞；及

(iii) 偵測T細胞上至少一種活化標記物之表面表現，

其中至少一種活化標記物之表面表現的增加表明抗CD137抗體誘導或增強CD137介導之T細胞活化。

【0327】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 向受試者投與抗CD137抗體；

(ii) 自受試者分離T細胞；

(iii) 之後測定T細胞上至少一種活化標記物之表面表現；及

(iv) 將T細胞上至少一種活化標記物之表面表現與參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現進行比較，

其中參考T細胞自未投與抗CD137抗體之受試者分離，且其中相對於參考T細胞，T細胞上至少一種活化標記物之表面表現的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0328】 在一些實施例中，如藉由T細胞活化分析所測定，本文所

述之抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 向受試者投與抗CD137抗體；

(ii) 自受試者分離T細胞；

(iii) 測定T細胞上至少一種活化標記物之表面表現；及

(iv) 將T細胞上至少一種活化標記物之表面表現與參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現進行比較，

其中參考T細胞自與對照抗體接觸之受試者分離，且其中T細胞上至少一種活化標記物之表面表現相對於參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現的增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0329】 在一些實施例中，如藉由活體內T細胞活化分析所測定，本文所述之抗CD137抗體不誘導或增強肝內T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 向受試者投與抗CD137；

(ii) 自受試者之肝臟分離T細胞；

(iii) 偵測T細胞上至少一種活化標記物之表面表現；及

(iv) 將T細胞上至少一種活化標記物之表面表現與參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現進行比較，

其中參考T細胞自未投與抗CD137抗體之受試者分離，視情況，其中參考T細胞自投與對照抗體之受試者分離，且其中T細胞上至少一種活化標記物之表面表現相對於參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現沒有增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0330】 在一些實施例中，如藉由活體內T細胞活化分析所測定，

本文所述之抗CD137抗體不誘導或增強脾內T細胞活化，其中該T細胞活化分析包含以下步驟：

(i) 向受試者投與抗CD137；

(ii) 自受試者之脾臟分離T細胞；

(iii) 偵測T細胞上至少一種活化標記物之表面表現；及

(iv) 將T細胞上至少一種活化標記物之表面表現與參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現進行比較，

其中參考T細胞自未投與抗CD137抗體之受試者分離，視情況，其中參考T細胞自投與對照抗體之受試者分離，且其中T細胞上至少一種活化標記物之表面表現相對於參考T細胞上至少一種活化標記物之表面表現沒有增加表明抗CD137抗體誘導或增強T細胞活化。

【0331】 在一些實施例中，「不誘導或增強」意欲指不存在活性(例如T細胞活化)或相對於參考抗體之增加活性沒有增加。

【0332】 在一些實施例中，T細胞活化標記物之表面表現等於在抗體不存在下之表面表現。在一些實施例中，T細胞活化標記物之表面表現小於在參考抗體存在下之表面表現，該參考抗體誘導或增強表面表現比在抗體不存在下之表面表現高至少1倍、5倍、10倍、50倍或100倍。

【0333】 在一些實施例中，至少一種活化標記物係選自由CD25、CD69及CD40L組成之群。在一些實施例中，一或多種活化標記物為CD25。

【0334】 在一些實施例中，T細胞係自患有腫瘤之受試者分離。在一些實施例中，T細胞係自腫瘤分離。在一些實施例中，對照抗體為同型對照抗體。

【0335】 在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，本文所述之抗CD137抗體誘導或增強一或多種免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，本文所述之抗CD137抗體減少一或多種免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。

【0336】 在一些實施例中，免疫細胞浸潤分析測定在腫瘤中表現一或多種免疫細胞標記物之免疫細胞的量。在一些實施例中，一或多種免疫細胞標記物用抗體標記。在一些實施例中，一或多種免疫細胞標記物係選自由CD45、CD25、FOXP3、CD4、CD8、F4/80、CD11b、TIGIT及PD-1組成之群。在一些實施例中，藉由流動式細胞測量術測定在腫瘤中表現一或多種免疫細胞標記物之免疫細胞的數量。藉由流動式細胞測量術定量表現一或多種免疫細胞標記物之免疫細胞的方法為此項技術中已知的。

【0337】 在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，抗CD137抗體相對於參考抗體誘導或增強一或多種免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體相同之同型且不特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體相同之同型且特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體不同之同型且不特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體不同之同型且特異性結合於CD137的抗體。

【0338】 在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，本文所述之抗CD137抗體增加表現CD45之免疫細胞向受試者之腫瘤微環境中的浸潤，其中該分析包含以下步驟：

(i) 向患有腫瘤之受試者投與抗CD137抗體；

(ii) 獲得腫瘤樣品；

(iii) 使樣品與特異性結合於CD45之螢光標記之偵測抗體接觸，其中該偵測抗體螢光標記表現CD45之免疫細胞；及

(iv) 藉由流動式細胞測量術測定表現CD45之螢光標記之免疫細胞的量，

其中腫瘤中表現CD45之螢光免疫細胞的數量增加表明抗CD137抗體誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，表現CD45之免疫細胞的數量增加為腫瘤微環境中總細胞之至少25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%或80%。

【0339】 在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，本文所述之抗CD137抗體減少或抑制一或多種免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，抗CD137抗體相對於參考抗體減少一或多種免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體相同之同型且不特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體相同之同型且特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體不同之同型且不特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，參考抗體為包含與抗CD137抗體不同之同型且特異性結合於CD137的抗體。在一些實施例中，免疫細胞之減少小於腫瘤微環境中總細胞之40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。

【0340】 在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，本文所述之抗CD137抗體減少腫瘤相關巨噬細胞向受試者之腫瘤微環境中的浸潤，其中該分析包含以下步驟：

(i) 獲得腫瘤樣品；

(ii) 使樣品與一或多種標記腫瘤相關巨噬細胞之抗體接觸，其中該一或多種抗體特異性結合於選自由F4/80、CD11b、CD45及其組合組成之群的免疫細胞標記物；及

(iii) 藉由流動式細胞測量術測定經標記之腫瘤相關巨噬細胞的數量。在一些實施例中，腫瘤相關巨噬細胞少於腫瘤微環境中免疫細胞之40%、35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些實施例中，腫瘤相關巨噬細胞表現F4/80、CD11b及CD45。

【0341】 在一些實施例中，如藉由免疫細胞浸潤分析所測定，本文所述之抗CD137抗體減少T調節細胞(Treg)向受試者之腫瘤微環境中的浸潤，其中該分析包含以下步驟：

(i) 獲得腫瘤樣品；

(ii) 使樣品與一或多種標記腫瘤相關巨噬細胞之抗體接觸，其中該一或多種抗體特異性結合於選自由CD25、FOXP-3、CD4及其組合組成之群的免疫細胞標記物；及

(iii) 藉由流動式細胞測量術測定經標記之Treg細胞的數量。在一些實施例中，Treg細胞少於腫瘤微環境中CD4+ T細胞之35%、30%、25%、20%、15%、10%或5%。在一些實施例中，Treg細胞表現CD4、FOXP-3及CD25。

【0342】 在一些實施例中，如藉由T細胞耗竭分析所測定，本文所述之抗CD137抗體保護T細胞免於T細胞耗竭及/或逆轉T細胞耗竭。耗竭性T細胞可基於其潛在分子機制與其他T細胞功能障礙(諸如失能及衰老)區分開(Crespo等人, (2013) Curr Opin Immunol 25(2):241-221)。雖然由於

缺乏共刺激信號而在激活期間發生失能且衰老為廣泛增殖後之生長停滯，耗竭性T細胞產生於最初獲得且提供T細胞效應功能之T細胞，但由於來自持續性抗原及炎性介體之持續T細胞受體(TCR)刺激而展現T細胞效應功能的逐漸惡化，持續性抗原及炎性介體兩者通常存在於腫瘤中(Wherry及Kurachi (2015) Nat Rev Immunol 15(8):486-99)。T細胞耗竭之標誌包括但不限於活體內及/或離體T細胞功能之持續惡化、多種抑制受體(IR) (例如PD-1、CTLA-4、LAG-3、TIM-3、CD244、CD160、TIGIT)之表現增加、效應細胞介素分泌之進行性喪失或減少(例如IL-2、干擾素γ (IFNγ)、腫瘤壞死因子α (TNFα))、CC趨化因子(β-趨化因子)產生之喪失或減少、對IL-7及IL-15之反應性差、增殖能力之喪失或減少、活體內及/或離體溶胞活性之喪失或減少、細胞代謝改變及相對於非耗竭性T細胞之不同轉錄譜。嚴重耗竭之T細胞可屈服於缺失(Yi等人, (2010) Immunology 129(4):474-481)。

【0343】 在一些實施例中，如藉由T細胞耗竭分析所測定，本文所述之抗CD137抗體保護T細胞免於T細胞耗竭及/或逆轉T細胞耗竭，其中該T細胞耗竭分析測定用本文所述之抗CD137抗體處理之T細胞分泌的一或多種效應細胞介素的量或含量，其中一或多種效應細胞介素之量或含量表明T細胞耗竭的避免或逆轉。在一些實施例中，T細胞耗竭分析包含以下步驟：

(i) 自受試者(例如人類受試者)分離T細胞；

(ii) 使T細胞與誘導T細胞耗竭之抗原接觸；

(iii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；

(iv) 測定由T細胞分泌之一或多種效應細胞介素之量；及

(v) 將由T細胞分泌之一或多種效應細胞介素之量或含量與由參考T細胞分泌之量或含量進行比較，

其中參考T細胞不與誘導T細胞耗竭之抗原接觸，且其中由T細胞及參考T細胞分泌之一或多種效應細胞介素之量或含量的差異表明T細胞耗竭的避免或逆轉。

【0344】 在一些實施例中，一或多種效應細胞介素係選自IL-2、IFNγ及TNFα。在一些實施例中，一或多種效應細胞介素之量或含量係藉由ELISA測定。適用於測定一或多種效應細胞介素之量或含量的ELISA為此項技術中已知的。在一些實施例中，一或多種效應細胞介素之量或含量係藉由Meso Scale Discovery來測定。在一些實施例中，一或多種效應細胞介素之量或含量係藉由本文所述之細胞介素產生分析中之任一者來測定。

【0345】 耗竭性T細胞之逐漸功能障礙伴隨著IR之表現，IR在與靶細胞上之配體相互作用時將抑制信號傳遞至細胞核。因此，在一些實施例中，如藉由T細胞耗竭分析所測定，本文所述之抗CD137抗體保護T細胞免於T細胞耗竭及/或逆轉T細胞耗竭，其中該T細胞耗竭分析測定用本文所述之抗CD137抗體處理之T細胞上一或多種抑制受體的表現量，其中一或多種抑制受體之表現量表明T細胞耗竭的避免或逆轉。在一些實施例中，T細胞耗竭分析包含以下步驟：

(i) 自受試者(例如人類受試者)分離T細胞；

(ii) 使T細胞與誘導T細胞耗竭之抗原接觸；

(iii) 使T細胞與抗CD137抗體接觸；

(iv) 測定T細胞上一或多種抑制受體之表現量；及

(v) 將T細胞上一或多種抑制受體之表現量與由參考T細胞分泌之量或含量進行比較，其中參考T細胞不與誘導T細胞耗竭之抗原接觸，且其中T細胞與參考T細胞上一或多種抑制受體之表現量的差異表明T細胞耗竭的避免或逆轉。

【0346】 在一些實施例中，一或多種抑制受體係選自TIGIT及PD-1。在一些實施例中，一或多種抑制受體之表現量係藉由流動式細胞測量術來測定。藉由流動式細胞測量術測定免疫細胞(例如T細胞)上抑制受體之表現量的方法為此項技術中已知的。

【0347】 在一些實施例中，耗竭性T細胞之量少於腫瘤微環境中總CD8+或CD4+ T細胞之20%、15%、10%或5%。

【0348】 當本文所述之分析提及『自受試者分離T細胞』；應理解，可適當地對先前自受試者分離之T細胞進行分析。

【0349】 當本文所述之分析提及(i)向受試者投與抗CD137抗體及(ii)自受試者分離T細胞時；應理解，可適當地對先前自已投與抗CD137抗體之受試者分離的T細胞進行分析。

【0350】 當本文所述之分析提及『獲得腫瘤樣品』時；應理解，可適當地對先前自受試者分離之腫瘤樣品進行分析。

【0351】 當本文所述之分析提及(i)向患有腫瘤之受試者投與抗CD137抗體及(ii)獲得腫瘤樣品時；應理解，可適當地對先前自已投與抗CD137抗體之受試者分離的腫瘤樣品進行分析。

【0352】

III.非配體結合

在一些實施例中，如藉由配體結合分析所測定，本文所述之抗

CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。配體結合分析(LBA)為提供兩種反應物分子(例如受體及配體多肽)之間發生的相互作用的量度的分析或分析程序。適合地，LBA提供兩種反應物分子(例如受體及配體多肽)之間親和程度的量度。舉例而言，在一些實施例中，配體結合分析用於確定配體分子(例如CD137L)與受體(例如CD137)之存在、速率、結合程度或其組合。在一些實施例中，為確定配體與受體結合之存在、速率及/或程度，配體結合分析包含偵測配體:受體複合物之形成。在一些實施例中，為確定配體與受體結合之存在、速率及/或程度，配體結合分析包含測定配體:受體複合物之解離。

【0353】 在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測與受體複合之螢光標記之配體來測定。在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量與配體複合之螢光標記之受體的量來測定。在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量特異性結合於配體:受體複合物之螢光標記之抗體的量來測定。偵測及定量螢光之方法為此項技術中已知的且包括但不限於螢光偏振(FP)及螢光各向異性(FA)。

【0354】 在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量與受體複合之放射性標記之配體的量來測定。在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量與配體複合之放射性標記之受體的量來測定。在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量特異性結合於配體:受體複合物之放射性標記之抗體的量來測定。偵測及定量放射性之方法為此項技術中已知的且包括但不限於定量自動放射照像術及閃爍計數。

【0355】 在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量與受體複合之生物發光標記之配體的量來測定。在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量與配體複合之生物發光標記之受體的量來測定。在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由偵測及/或定量特異性結合於配體:受體複合物之生物發光標記之抗體的量來測定。偵測及定量生物發光之方法為此項技術中已知的且包括但不限於發光測定法。

【0356】 在一些實施例中，配體:受體複合物之形成及/或解離係藉由如上文所述之表面電漿子共振(SPR)來測定。

【0357】 在一些實施例中，配體結合分析藉由確定在抗體存在下配體與受體結合之存在、速率及/或程度來確定特異性結合於受體之抗體(例如抗CD137抗體)是否影響配體:受體複合物之形成。在一些實施例中，特異性結合於受體(例如CD137)且減少、破壞或阻斷配體:受體複合物(例如CD137:CD137L複合物)形成之抗體(例如抗CD137抗體)稱為「配體阻斷抗體」。在一些實施例中，與在不存在配體阻斷抗體之情況下發生的配體:受體複合物(例如CD137:CD137L複合物)之形成相比，「配體阻斷抗體」可使配體:受體複合物(例如CD137:CD137L複合物)之形成減少至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或至少50%。在一些實施例中，特異性結合於受體(例如CD137)且不減少、破壞或阻斷配體:受體複合物(例如CD137:CD137L複合物)形成之抗體(例如抗CD137抗體)稱為「非配體阻斷抗體」。在一些實施例中，與在不存在非配體阻斷抗體之情況下發生的配體:受體複合物(例如CD137:CD137L複合物)之形成相比，「非配體阻斷抗體」可使配體:受體複合物(例如CD137:CD137L複合物)之形成減少小於

10%、小於5%、小於2%或小於1%。因此，在一些實施例中，配體結合分析表徵作為「配體阻斷抗體」或「非配體阻斷抗體」與受體結合之抗體。

【0358】 在一些實施例中，配體結合分析表徵特異性結合於受體且促進配體:受體複合物形成之抗體。在一些實施例中，配體結合分析表徵特異性結合於受體且穩定配體:受體複合物形成之抗體。在一些實施例中，藉由抗體誘導及/或穩定配體:受體複合物之形成有助於抗體之促效性效應。在一些實施例中，如藉由配體結合分析所測定，本文所述之抗CD137抗體促效CD137。

【0359】 在一些實施例中，如藉由配體結合分析(LBA)所測定，本文所述之經分離抗CD137抗體或其抗原結合片段結合於CD137且誘導CD137L結合。

【0360】 在一些實施例中，如藉由配體結合分析所測定，本文所述之經分離抗CD137抗體或其抗原結合片段結合於CD137且誘導CD137L結合，其中該配體結合分析包含以下步驟：

(i) 將抗CD137抗體與各種濃度之CD137及CD137L組合，其中CD137及CD137L形成CD137:CD137L複合物，及

(ii) 隨時間推移，在抗CD137抗體存在下偵測CD137:CD137L複合物，

其中在抗CD137抗體存在下，CD137:CD137L複合物之增加表明抗CD137抗體誘導CD137L結合於CD137。在抗CD137抗體存在下CD137:CD137L複合物之增加可為在抗CD137抗體不存在下CD137:CD137L複合物之量的至少1.5倍、至少2倍、至少5倍、至少10倍或至少20倍。

【0361】在一些實施例中，如藉由配體結合分析所測定，本文所述之經分離抗CD137抗體或其抗原結合片段結合於CD137之非配體結合區，其中該配體結合分析包含以下步驟：

(i) 將抗CD137抗體與各種濃度之CD137及CD137L組合，其中CD137及CD137L形成CD137:CD137L複合物，及

(ii) 隨時間推移，在抗CD137抗體存在下偵測CD137:CD137L複合物，

其中在抗CD137抗體存在下CD137:CD137L複合物沒有變化表明抗CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。在一些實施例中，CD137:CD137L複合物之變化小於2%表明抗CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。在一些實施例中，CD137:CD137L複合物之變化小於5%表明抗CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。在一些實施例中，CD137:CD137L複合物之變化小於10%表明抗CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。

【0362】在一些實施例中，如藉由生物層干涉量測術所測定，本文所述之抗CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。在一些實施例中，如藉由表面電漿子共振成像(SPRi)所測定，本文所述之抗CD137抗體結合於CD137之非配體結合區。在一些實施例中，CD137及CD137L依次施加至預負載抗CD137抗體之感測器(亦即抗體在感測器上捕捉)。在一些實施例中，抗CD137抗體與非配體結合區之結合藉由暴露於CD137L時之反應增加來指示。

【0363】

IV. CD137結合抗體之功能

在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且抑制或減少T細胞耗竭。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且誘導或增強T細胞活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且誘導或增強免疫細胞產生細胞介素。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且誘導或增強T細胞增殖。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且展現抗腫瘤功效。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且結合於細胞外CD137上非

配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體以約30至100 nM (例如在約30 nM與約100 nM之間)之親和力(K_D)結合於人類CD137且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0364】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且誘導或增強T細胞活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且誘導或增強免疫細胞產生細胞介素。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且誘導或增強T細胞增殖。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且展現抗腫瘤功效。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少T細胞耗竭且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0365】在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且誘導或增強免疫細胞產生細胞介素。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且誘導或增強T細胞增殖。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且展現抗腫瘤功效。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞活化且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0366】在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且誘導或增強T細胞增殖。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且展現抗腫瘤功效。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗

CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞產生細胞介素且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0367】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且展現抗腫瘤功效。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強T細胞增殖且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0368】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗

腫瘤功效且抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗腫瘤功效且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗腫瘤功效且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗腫瘤功效且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗腫瘤功效且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗腫瘤功效且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體展現抗腫瘤功效且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0369】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化且誘導或增強NFκβ信號傳導。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體抑制或減少巨噬細胞分化及/或活化且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0370】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強NFκβ信號傳導且誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。在一

些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強NFκβ信號傳導且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強NFκβ信號傳導且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強NFκβ信號傳導且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強NFκβ信號傳導且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0371】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤且不誘導肝毒性。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體誘導或增強免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0372】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體不誘導肝毒性且結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體不誘導肝毒性且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體不誘導肝毒性且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0373】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體結合於細胞外CD137上之非配體結合結構域且不抑制CD137及CD137L相互作用。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體結合於細胞外

CD137上之非配體結合結構域且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。在一些實施例中，本文所述之抗CD137促效劑抗體不抑制CD137及CD137L相互作用且結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。

【0374】

抗原決定基定位

本發明提供抗CD137抗體或其抗原結合片段，其特異性結合於人類CD137之抗原決定基且與參考mAb (例如mAb1)競爭結合於人類CD137之抗原決定基。表徵、定位或以其他方式闡明抗CD137抗體之抗原決定基的方法可分為結構、功能或計算方法。確定抗體與其結合之相應抗原之間相互作用之精確分子架構的特別適合之結構方法為X射線結晶學(或者「X射線共結晶學」)。結合的抗體-抗原對的晶體結構能夠非常準確地確定抗原之抗原決定基及抗體之互補位兩者之兩側鏈的各個胺基酸與主鏈原子之間的關鍵相互作用。彼此在4埃(Å)內之胺基酸一般視為接觸殘基。該方法通常涉及純化抗體及抗原，形成及純化複合物，隨後連續數輪結晶篩選及最佳化以獲得繞射品質的晶體。在同步加速器源處經常在X射線結晶學之後獲得結構方案。用於抗原決定基定位之其他結構方法包括但不限於與質譜偶聯之氫-氘交換、交聯偶聯質譜及核磁共振(NMR) (參見例如Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, 第66卷, G. E. Morris編, (1996)；Abbott等人, (2014) Immunology 142(4):526-535)。

【0375】 用於抗原決定基定位之功能方法為此項技術中所熟知，且通常涉及抗體與全蛋白、蛋白質片段或肽之結合的評定或定量。用於抗原決定基定位之功能方法可用於例如鑑定線性或構形抗原決定基及/或可用於推斷兩種或更多種不同抗體何時結合於相同或類似的抗原決定基。用於

抗原決定基定位之功能方法包括例如免疫墨點及免疫沈澱分析，其中測試來自CD137之重疊或連續肽與抗CD137抗體(例如mAb1)之反應性。用於抗原決定基定位之其他功能方法包括基於陣列之寡肽掃描(或者稱為「重疊肽掃描」或「肽掃描分析」)、定點突變誘發(例如丙胺酸掃描突變誘發)及高通量突變誘發定位(例如鳥槍突變誘發定位)。

【0376】 已知許多類型之競爭性結合分析，例如：固相直接或間接放射免疫分析(RIA)、固相直接或間接酶免疫分析(EIA)、夾心競爭分析(參見Stahli等人, *Methods in Enzymology* 9:242 (1983))；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA (參見Kirkland等人, *J. Immunol.* 137:3614 (1986))；固相直接標記分析、固相直接標記夾心分析(參見Harlow及Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988))；使用I-125標記之固相直接標記RIA (參見Morel等人, *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988))；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA (Cheung等人, *Virology* 176:546 (1990))；及直接標記RIA (Moldenhauer等人, *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990))。通常，此類分析涉及使用與固體表面或細胞結合之純化抗原及1)未標記之測試抗原結合蛋白及經標記之參考抗原結合蛋白，或2)經標記之測試抗原結合蛋白及未標記之參考抗原結合蛋白。競爭性抑制係藉由測定在測試抗原結合蛋白存在下與固體表面或細胞結合之標記的量來量測。通常，測試抗原結合蛋白質過量存在。藉由競爭分析鑑定之抗原結合蛋白(競爭性抗原結合蛋白)包括與參考抗原結合蛋白(例如mAb1)結合於相同抗原決定基的抗原結合蛋白及結合於足夠靠近參考抗原結合蛋白(例如mAb1)結合之抗原決定基而發生位阻之相鄰抗原決定基的抗原結合蛋白。關於測定競爭性結合之方法的其他詳情提供於本文

實例中。通常，當競爭性抗原結合蛋白過量存在(例如約1倍、約5倍、約10倍、約20倍、約50倍或約100倍過量)時，其將抑制(例如減少或阻斷)參考抗原結合蛋白與共同抗原之特異性結合至少約40至45%、約45至50%、約50至55%、約55至60%、約60至65%、約65至70%、約70至75%或約75%或更多。在一些情況下，結合被抑制至少約80至85%、約85至90%、約90至95%、約95至97%或約97%或更多。

【0377】 定點突變誘發方法涉及靶向定點突變誘發，其中藉由沿著蛋白質序列系統地引入取代且隨後確定各取代對抗體結合之效應來鑑定關鍵胺基酸。此可藉由「丙胺酸掃描突變誘發」(Cunningham及Wells (1989) Science 244:1081-085)或CD137中胺基酸殘基之一些其他形式的點突變誘發來完成。在不受理論束縛的情況下，若抗原中基本上所有減少或消除第一抗體結合之胺基酸突變減少或消除第二或更多抗體之結合，則兩種或更多種抗體(例如測試抗體及參考抗體，例如mAb1)具有相同抗原決定基。

【0378】 鳥槍突變誘發定位利用靶基因之全面質體突變文庫，文庫中之各純系攜有獨特的胺基酸突變且整個文庫覆蓋靶蛋白中之每一胺基酸。構成突變文庫之純系分別排列在微量盤中，在活的哺乳動物細胞內表現，且用所關注抗體測試免疫反應性。對抗體抗原決定基關鍵的胺基酸係藉由喪失反應性來鑑定，且隨後定位至蛋白質結構上以使抗原決定基可視化。靶蛋白抗原在哺乳動物細胞內之表現通常提供靶蛋白抗原之天然結構，其允許線性及構形抗原決定基結構定位於複雜蛋白質上。(Paes等人, J. Am. Chem. Soc. 131 (20): 6952-6954 (2009)；Banik及Doranz, Genetic Engineering and Biotechnology News 3(2): 25-28 (2010))。

【0379】 亦可使用肽掃描方法確定抗CD137抗體結合之抗原決定基。在肽掃描中，測試來自靶蛋白CD137之重疊區段的短肽序列文庫結合所關注抗體的能力。合成肽且對結合進行篩選，例如使用ELISA或BIACORE，或在晶片上，藉由多種固相篩選方法中之任一者(Reineke等人, Curr. Opin. Biotechnol. 12: 59-64, 2001)，如在「肽掃描」方法中(WO 84/03564；WO 93/09872)。

【0380】 最近開發的稱為CLIPS (肽在骨架上之化學連接)的技術可用於定位構形抗原決定基。將肽之鬆散末端固定於合成骨架上，使得骨架肽可採用與完整蛋白質中相應序列相同的空間結構。CLIPS技術用於將線性肽固定成環狀結構(『單環』型式)，且將蛋白質結合位點之不同部分(『雙環』、『三環』等型式)合在一起，以便產生可分析抗體結合之構形抗原決定基。(美國專利第7,972,993號)。

【0381】 亦可使用計算方法定位本發明提供之抗體結合的抗原決定基。在此等方法中，例如，肽片段文庫呈現在噬菌體或細胞之表面上。隨後藉由使用選擇性結合分析篩選針對此等片段之抗體來定位抗原決定基。已開發許多計算工具，其允許基於使用噬菌體呈現獲得之線性親和選擇之肽預測構形抗原決定基(Mayrose等人, (2007) Bioinformatics 23:3244-3246)。方法亦可用於藉由噬菌體呈現偵測構形抗原決定基。微生物呈現系統亦可用於在細胞表面上表現適當摺疊之抗原片段以鑑定構形抗原決定基(Cochran等人, J. Immunol. Meth. 287: 147-158, 2004；Rockberg等人, Nature Methods 5: 1039-1045, 2008)。

【0382】 涉及蛋白水解及質譜之方法亦可用於確定抗體抗原決定基(Baerga-Ortiz等人, Protein Sci. 2002年6月; 1 1 (6): 1300-1308)。在有限

的蛋白水解中，在存在及不存在抗體之情況下，抗原由不同蛋白酶裂解且藉由質譜分析鑑定片段。抗原決定基為抗體結合後免於蛋白水解之抗原區(Suckau等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 9848-9852, 1990)。額外的基於蛋白水解之方法包括例如選擇性化學修飾(Fiedler等人, Bioconjugate Chemistry 1998, 9(2): 236-234, 1998)、抗原決定基切除(Van de Water等人, Clin. Immunol. Immunopathol. 1997, 85(3): 229-235, 1997)及最近開發的氫-氘(H/D)交換方法(Flanagan, N., Genetic Engineering and Biotechnology News 3(2): 25-28, 2010)。

【0383】在一些實施例中，如藉由突變誘發及哺乳動物呈現所確定，本文所述之抗CD137抗體結合於位於SEQ ID NO: 3之胺基酸殘基111-135內的抗原決定基。在一些實施例中，如藉由突變誘發及哺乳動物呈現所確定，本文所述之抗CD137抗體結合於包含SEQ ID NO: 3之K114的抗原決定基。在一些實施例中，如藉由突變誘發及哺乳動物呈現所確定，本文所述之抗CD137抗體結合於包含SEQ ID NO: 3之E111、T113及K114的抗原決定基。在一些實施例中，如藉由突變誘發及哺乳動物呈現所確定，本文所述之抗CD137抗體結合於包含SEQ ID NO: 3之E111、T113、K114及P135的抗原決定基。在一些實施例中，如藉由突變誘發及哺乳動物呈現所確定，本文所述之抗CD137抗體結合於包含SEQ ID NO: 3之E111、T113、K114、N126、I132及P135的抗原決定基。

【0384】

產生抗CD137抗體及其抗原結合片段的方法

本發明之特徵亦在於產生本文所述之任何抗CD137抗體或其抗原結合片段的方法。在一些實施例中，製備本文所述之抗體的方法可包括用適

當免疫原使受試者(例如非人類哺乳動物)免疫。適用於產生本文所述之任何抗體的免疫原闡述於本文中。舉例而言，為產生結合於CD137之抗體，熟習此項技術者可用全長CD137多肽，諸如包含SEQ ID NO. 3中所示之胺基酸序列的全長人類CD137多肽使適合之受試者(例如非人類哺乳動物，諸如大鼠、小鼠、沙鼠、倉鼠、狗、貓、豬、山羊、馬或非人類靈長類動物)免疫。

【0385】 適合之受試者(例如非人類哺乳動物)可用適當抗原免疫，隨後追加免疫多次，從而足以誘使哺乳動物產生抗體。免疫原可與佐劑一起投與受試者(例如非人類哺乳動物)。用於在受試者中產生抗體之佐劑包括但不限於蛋白質佐劑；細菌佐劑，例如完整細菌(BCG、短棒狀桿菌(*Corynebacterium parvum*)或明尼蘇達沙門氏菌(*Salmonella minnesota*))及細菌組分，包括細胞壁骨架、海藻糖二黴菌酸酯、單磷醯基脂質A、根瘤芽孢桿菌(*bacillus*)之甲醇可萃取性殘餘物(MER)、完全或不完全弗氏佐劑(Freund's adjuvant)；病毒佐劑；化學佐劑，例如氫氧化鋁，及碘乙酸鹽及膽固醇基半丁二酸鹽。可用於誘導免疫反應之方法中的其他佐劑包括例如霍亂毒素及副痘病毒蛋白質。亦參見Bieg等人 (1999) *Autoimmunity* **31(1)**:15-24。亦參見例如Lodmell等人 (2000) *Vaccine* **18**:1059-1066；Johnson等人 (1999) *J Med Chem* **42**:4640-4649；Baldridge等人 (1999) *Methods* **19**:103-107；及Gupta等人 (1995) *Vaccine* **13(14)**: 1263-1276。

【0386】 在一些實施例中，該等方法包括製備分泌與免疫原結合之單株抗體的融合瘤細胞株。舉例而言，如上所述用CD137多肽使適合之哺乳動物(諸如實驗室小鼠)免疫。經免疫之哺乳動物的產抗體細胞(例如脾

臟之B細胞)可在免疫原的至少一次追加免疫後二至四天分離，且隨後在與適合之骨髓瘤細胞株之細胞融合之前在培養物中短暫生長。細胞可在融合促進劑(諸如痘瘡病毒或聚乙二醇)存在下融合。選殖融合中獲得之雜交細胞，且選擇分泌所需抗體之細胞純系。舉例而言，經適合之免疫原免疫之Balb/c小鼠的脾細胞可與骨髓瘤細胞株PAI或骨髓瘤細胞株Sp2/0-Ag 14之細胞融合。融合後，細胞在適合之培養基中擴增，該培養基以規則的間隔補充選擇培養基(例如HAT培養基)，以便防止正常骨髓瘤細胞生長過度而超過所需融合瘤細胞。隨後篩選所獲得之融合瘤細胞以分泌所需抗體，例如結合於CD137之抗體。

【0387】 在一些實施例中，熟習此項技術者可鑑定來自非免疫偏倚文庫之抗CD137抗體，如美國專利第6,300,064號(屬於Knappik等人；Morphosys AG)及Schoonbroodt等人 (2005) *Nucleic Acids Res* **33(9)**:e81中所述。

【0388】 在一些實施例中，本文所述之方法可涉及或與例如噬菌體呈現技術、細菌呈現、酵母表面呈現、真核病毒呈現、哺乳動物細胞呈現及無細胞(例如核糖體呈現)抗體篩選技術結合使用(參見例如Etz等人(2001) *J Bacteriol* **183**:6924-6935；Cornelis (2000) *Curr Opin Biotechnol* **11**:450-454；Klemm等人 (2000) *Microbiology* **146**:3025-3032；Kieke等人 (1997) *Protein Eng* **10**:1303-1310；Yeung等人 (2002) *Biotechnol Prog* **18**:212-220；Boder等人 (2000) *Methods Enzymology* **328**:430-444；Grabherr等人 (2001) *Comb Chem High Throughput Screen* **4**:185-192；Michael等人 (1995) *Gene Ther* **2**:660-668；Pereboev等人 (2001) *J Virol* **75**:7107-7113；Schaffitzel等人 (1999) *J Immunol*

Methods **231**:119-135；及Hanes等人 (2000) *Nat Biotechnol* **18**:1287-1292)。

【0389】使用各種噬菌體呈現方法鑑定抗體之方法為此項技術中已知的。在噬菌體呈現方法中，功能性抗體結構域呈現在攜帶編碼其之多核苷酸序列之噬菌體粒子的表面上。此類噬菌體可用於呈現抗體之抗原結合結構域，諸如Fab、Fv或二硫鍵穩定之Fv抗體片段，其由譜系或組合抗體文庫(例如人類或鼠類)表現。此等方法中使用之噬菌體通常為絲狀噬菌體，諸如fd及M13。抗原結合結構域表現為與噬菌體外殼蛋白pIII、pVIII或pIX中之任一者的重組融合蛋白。參見例如Shi等人 (2010) *JMB* **397**:385-396。可用於製備本文所述之免疫球蛋白或其片段之噬菌體呈現方法的實例包括Brinkman等人 (1995) *J Immunol Methods* **182**:41-50；Ames等人 (1995) *J Immunol Methods* **184**:177-186；Kettleborough等人 (1994) *Eur J Immunol* **24**:952-958；Persic等人 (1997) *Gene* **187**:9-18；Burton等人 (1994) *Advances in Immunology* **57**:191-280；及PCT公開案第WO 90/02809號、第WO 91/10737號、第WO 92/01047號、第WO 92/18619號、第WO 93/11236號、第WO 95/15982號及第WO 95/20401號中所揭示之彼等方法。適合之方法亦描述於例如美國專利第5,698,426號；第5,223,409號；第5,403,484號；第5,580,717號；第5,427,908號；第5,750,753號；第5,821,047號；第5,571,698號；第5,427,908號；第5,516,637號；第5,780,225號；第5,658,727號；第5,733,743號及第5,969,108號中。

【0390】在一些實施例中，可使用自經免疫之哺乳動物之B細胞收集的mRNA產生噬菌體呈現抗體文庫。舉例而言，可自如上所述用CD137

多肽免疫之小鼠分離包含B細胞之脾細胞樣品。可自細胞分離mRNA且使用標準分子生物學技術將其轉化成cDNA。參見例如Sambrook等人(1989)「Molecular Cloning: A Laboratory Manual，第2版」，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.；Harlow及Lane (1988), 同上；Benny K. C. Lo (2004), 同上；及Borrebaek (1995), 同上。編碼免疫球蛋白重鏈及輕鏈多肽可變區之cDNA用來構築噬菌體呈現文庫。產生此類文庫之方法描述於例如Merz等人 (1995) *J Neurosci Methods* **62(1-2)**:213-9；Di Niro等人 (2005) *Biochem J* **388(Pt 3)**:889-894；及Engberg等人 (1995) *Methods Mol Biol* **51**:355-376中。

【0391】 在一些實施例中，可採用選擇及篩選之組合來鑑定來自例如融合瘤源抗體群或噬菌體呈現抗體文庫之所關注抗體。適合之方法為此項技術中已知的且描述於例如Hoogenboom (1997) *Trends in Biotechnology* **15**:62-70；Brinkman等人 (1995), 同上；Ames等人 (1995), 同上；Kettleborough等人 (1994), 同上；Persic等人 (1997), 同上；及Burton等人 (1994), 同上中。舉例而言，使用標準分子生物學技術產生複數個噬菌粒載體，各噬菌粒載體編碼噬菌體外殼蛋白(例如M13噬菌體之pIII、pVIII或pIX)及不同抗原組合區的融合蛋白，且隨後引入細菌群(例如大腸桿菌)中。在一些實施例中，噬菌體在細菌中之表現可能需要使用輔助噬菌體。在一些實施例中，不需要輔助噬菌體(參見例如Chasteen等人, (2006) *Nucleic Acids Res* 34(21):e145)。回收細菌產生之噬菌體，且隨後與例如結合於固體支撐物(固定化)之靶抗原接觸。亦可使噬菌體與溶液中之抗原接觸，且隨後將複合物結合於固體支撐物。

【0392】 可使用此項技術中已知的任何基於免疫學或生物化學之方

法表徵使用上述方法篩選之抗體亞群的特異性及對特定抗原(例如人類CD137)之結合親和力。舉例而言，抗體與CD137之特異性結合可例如使用基於免疫學或生物化學之方法來測定，諸如但不限於如上所述之ELISA分析、SPR分析、免疫沈澱分析、親和層析及平衡透析。可用於分析抗體之免疫特異性結合及交叉反應性的免疫分析包括但不限於使用諸如西方墨點之技術的競爭性及非競爭性分析系統、RIA、ELISA (酶聯免疫吸附分析)、「夾心」免疫分析、免疫沈澱分析、免疫擴散分析、凝集分析、補體固定分析、免疫放射測定分析、螢光免疫分析及蛋白質A免疫分析。此類分析為常規的且為此項技術中熟知的。

【0393】 應理解，上述方法亦可用於確定例如抗CD137抗體是否不與全長人類CD137及/或CD137蛋白結合。

【0394】 在經選擇之CDR胺基酸序列為短序列(例如長度少於10至15個胺基酸)之實施例中，編碼CDR之核酸可如Shiraishi等人 (2007) *Nucleic Acids Symposium Series* **51(1)**:129-130及美國專利第6,995,259號中所述化學合成。對於編碼受體抗體之給定核酸序列，可使用標準分子生物學技術用化學合成之核酸置換編碼CDR之核酸序列區。化學合成之核酸的5'及3'端可經合成以包含黏性末端限制酶位點，用於將核酸選殖至編碼供體抗體可變區之核酸中。或者，可使用此項技術中已知的DNA組裝技術(例如Gibson Assembly)將能夠一起編碼抗體之化學合成之核酸的片段接合在一起。

【0395】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體包含改變的重鏈恆定區，其相對於其相應的未改變的恆定區具有降低的(或無)效應功能。涉及抗CD137抗體恆定區之效應功能可藉由改變恆定區或Fc區之特性

來調節。改變的效應功能包括例如在以下活性中之一或多者中的調節：抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、補體依賴性細胞毒性(CDC)、細胞凋亡、與一或多種Fc受體之結合及促炎性反應。調節係指與未改變形式之恆定區的活性相比，含有改變的恆定區的主題抗體表現出的效應功能活性的增加、減少或消除。在具體實施例中，調節包括消除或完全不存在活性之情形。

【0396】 改變的FcR結合親和力及/或ADCC活性及/或改變的CDC活性的改變的恆定區為與未改變形式的恆定區相比具有增強或減弱的FcR結合活性及/或ADCC活性及/或CDC活性的多肽。顯示與FcR之結合增加的改變的恆定區以比未改變的多肽更大的親和力結合至少一種FcR。顯示與FcR之結合減弱的改變的恆定區以比未改變形式的恆定區更低的親和力結合至少一種FcR。與天然序列免疫球蛋白恆定區或Fc區與FcR之結合程度相比，顯示與FcR之結合減少之此類變體與FcR之結合可為很少或不明顯的，例如與FcR結合之0至50%（例如小於50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%)。類似地，與未改變的恆定區相比，呈現經調節之ADCC及/或CDC活性的改變的恆定區可展現增加或減少的ADCC及/或CDC活性。舉例而言，在一些實施例中，包含改變的恆定區的抗CD137抗體可展現未改變形式之恆定區之ADCC及/或CDC活性的約0至50%（例如小於50、49、48、47、46、45、44、43、42、41、40、39、38、37、36、35、34、33、32、31、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1%)。包含顯示

ADCC及/或CDC降低之改變的恆定區的本文所述之抗CD137抗體可展現降低的ADCC及/或CDC活性或無ADCC及/或CDC活性。

【0397】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體展現降低的效應功能或無效應功能。在一些實施例中，抗CD137抗體包含雜交恆定區或其部分，諸如G2/G4雜交恆定區(參見例如Burton等人 (1992) *Adv Immun* **51**:1-18；Canfield等人 (1991) *J Exp Med* **173**:1483-1491；及Mueller等人 (1997) *Mol Immunol* **34(6)**:441-452)。參見上文。

【0398】 在一些實施例中，抗CD137抗體可含有改變的恆定區，其展現增強或降低之補體依賴性細胞毒性(CDC)。經調節之CDC活性可藉由在抗體之Fc區中引入一或多個胺基酸取代、插入或缺失來達成。參見例如美國專利第6,194,551號。替代或另外地，可在Fc區中引入半胱胺酸殘基，從而允許在此區中形成鏈間二硫鍵。由此產生之同二聚體抗體可具有改善或降低的內化能力及/或增加或減少的補體介導之細胞殺滅。參見例如Caron等人 (1992) *J Exp Med* **176**:1191-1195及Shopes (1992) *Immunol* **148**:2918-2922；PCT公開案第WO 99/51642號及第WO 94/29351號；Duncan及Winter (1988) *Nature* **322**:738-40；及美國專利第5,648,260號及第5,624,821號。

【0399】

重組抗體表現及純化

本文所述之抗體或其抗原結合片段可使用分子生物學及蛋白質化學技術中已知的多種技術產生。舉例而言，可將編碼抗體之重鏈及輕鏈多肽中之一或兩者的核酸插入含有轉錄及轉譯調控序列之表現載體中，該等調控序列包括例如啟動子序列、核糖體結合位點、轉錄起始及終止序列、轉

譯起始及終止序列、轉錄終止子信號、聚腺苷酸化信號及強化子或活化子序列。調控序列包括啟動子及轉錄起始及終止序列。另外，表現載體可包括不止一種複製系統，以使其可在兩種不同生物體中維持，例如在哺乳動物或昆蟲細胞中進行表現及在原核宿主中進行選殖及擴增。

【0400】 數種可能的載體系統可用於在哺乳動物細胞中自核酸表現選殖的重鏈及輕鏈多肽。一類載體依賴於將所需基因序列整合至宿主細胞基因組中。具有穩定整合之DNA的細胞可藉由同時引入諸如大腸桿菌gpt (Mulligan及Berg (1981) *Proc Natl Acad Sci USA* **78**:2072)或*Tn*5 neo (Southern及Berg (1982) *Mol Appl Genet* **1**:327)之抗藥性基因來選擇。可選標記基因可與待表現之DNA基因序列連接，或藉由共轉染引入同一細胞中(Wigler等人 (1979) *Cell* **16**:77)。第二類載體利用DNA元件，其賦予染色體外質體自主複製能力。此等載體可來源於動物病毒，諸如牛乳頭狀瘤病毒(Sarver等人 (1982) *Proc Natl Acad Sci USA*, **79**:7147)、細胞巨大病毒、多瘤病毒(Deans等人 (1984) *Proc Natl Acad Sci USA* **81**:1292)或SV40病毒(Lusky及Botchan (1981) *Nature* **293**:79)。

【0401】 表現載體可以適於核酸後續表現之方式引入細胞中。引入方法主要由靶細胞類型決定，如下文論述。例示性方法包括$CaPO_4$沈澱、脂質體融合、陽離子脂質體、電穿孔、病毒感染、葡聚糖介導之轉染、凝聚胺介導之轉染、原生質體融合及直接顯微注射。

【0402】 適用於表現抗體或其抗原結合片段的宿主細胞包括酵母、細菌、昆蟲、植物及哺乳動物細胞。備受關注的為細菌，諸如大腸桿菌；真菌，諸如釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)及甲醇酵母(*Pichia pastoris*)；昆蟲細胞，諸如SF9；哺乳動物細胞株(例如人類細胞株)；以

及初級細胞株。

【0403】 在一些實施例中，抗體或其片段可在轉殖基因動物(例如轉殖基因哺乳動物)中表現且自其純化。舉例而言，抗體可在轉殖基因非人類哺乳動物(例如嚙齒動物)中產生且自乳汁分離，如Houdebine (2002) *Curr Opin Biotechnol* **13(6)**:625-629；van Kuik-Romeijn等人 (2000) *Transgenic Res* **9(2)**:155-159；及Pollock等人 (1999) *J Immunol Methods* **231(1-2)**:147-157中所述。

【0404】 藉由在足以允許蛋白質表現之條件及時間量下培養經含有編碼抗體或片段之核酸之表現載體轉型的宿主細胞，可自細胞產生抗體及其片段。用於蛋白質表現之此類條件將隨表現載體及宿主細胞之選擇而變化，且容易由熟習此項技術者經由常規實驗來確定。舉例而言，在大腸桿菌中表現之抗體可自包涵體再摺疊(參見例如Hou等人 (1998) *Cytokine* **10**:319-30)。細菌表現系統及其使用方法為此項技術中所熟知(參見Current Protocols in Molecular Biology, Wiley & Sons及Molecular Cloning--A Laboratory Manual --第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (2001))。密碼子、適合表現載體及適合宿主細胞之選擇將根據多種因素而變化，且容易根據需要最佳化。本文所述之抗體(或其片段)可在哺乳動物細胞或其他表現系統中表現，包括但不限於酵母、桿狀病毒及活體外表現系統(參見例如Kaszubska等人 (2000) *Protein Expression and Purification* **18**:213-220)。

【0405】 表現之後，可分離抗體及其片段。抗體或其片段可以熟習此項技術者已知的多種方式分離或純化，視樣品中存在何種其它組分而定。標準純化方法包括電泳技術、分子技術、免疫學技術及層析技術，包

括離子交換層析、疏水性層析、親和層析及逆相HPLC層析。舉例而言，可使用標準抗抗體管柱(例如蛋白質A或蛋白質G管柱)純化抗體。與蛋白質濃度相結合之超濾及透濾技術亦為有用的。參見例如Scopes (1994)「Protein Purification, 第3版,」 Springer-Verlag, New York City, New York。所需純化程度將視所需用途而變化。在一些情況下，不需要純化表現之抗體或其片段。

【0406】 測定純化抗體或其片段之產率或純度的方法為此項技術中已知的且包括例如布拉福分析(Bradford assay)、UV光譜分析、縮二脲蛋白質分析、洛瑞蛋白質分析(Lowry protein assay)、醯胺黑蛋白質分析、高壓液相層析(HPLC)、質譜分析(MS)及凝膠電泳方法(例如使用蛋白質染色劑，諸如庫馬斯藍(Coomassie Blue)或膠態銀染色劑)。

【0407】

抗體或其抗原結合片段之修飾

抗體或其抗原結合片段可在其表現及純化之後加以修飾。修飾可為共價或非共價修飾。此類修飾可藉由例如使多肽之靶向胺基酸殘基與有機衍生劑反應而引入抗體或片段中，該有機衍生劑能夠與所選側鏈或末端殘基反應。可使用多種準則中之任一者來選擇適合之修飾位點，包括例如抗體或片段之結構分析或胺基酸序列分析。

【0408】 在一些實施例中，抗體或其抗原結合片段可與異源部分結合。異源部分可為例如異源多肽、治療劑(例如毒素或藥物)，或可偵測標記，諸如但不限於放射性標記、酶標記、螢光標記、重金屬標記、發光標記，或親和標籤，諸如生物素或抗生蛋白鏈菌素。適合之異源多肽包括例如抗原標籤(例如FLAG (DYKDDDDK；SEQ ID NO: 98)、聚組胺酸(6-

His；HHHHHH；SEQ ID NO: 99)、血球凝集素(HA；YPYDVPDYA；SEQ ID NO: 100)、麩胱甘肽-S-轉移酶(GST)或麥芽糖結合蛋白(MBP))，用於純化抗體或片段。異源多肽亦包括可用作診斷或可偵測標記物之多肽(例如酶)，例如螢光素酶、螢光蛋白(例如綠色螢光蛋白(GFP))或氯黴素乙醯基轉移酶(CAT)。適合之放射性標記包括例如^{32}P、^{33}P、^{14}C、^{125}I、^{131}I、^{35}S及^{3}H。適合之螢光標記包括但不限於螢光素、螢光異硫氰酸鹽(FITC)、綠色螢光蛋白(GFP)、DyLight™ 488、藻紅素(PE)、碘化丙錠(PI)、PerCP、PE-Alexa Fluor® 700、Cy5、別藻藍蛋白及Cy7。發光標記包括例如各種發光鑭系元素(例如銪或鋱)螯合物中之任一者。舉例而言，適合之銪螯合物包括二伸乙基三胺五乙酸(DTPA)或四氮雜環十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)之銪螯合物。酶標記包括例如鹼性磷酸酶、CAT、螢光素酶及辣根過氧化酶。

【0409】 可使用許多已知化學交聯劑中之任一者交聯兩種蛋白質(例如抗體及異源部分)。此類交聯劑之實例為經由包括「受阻」二硫鍵之鍵聯連接兩個胺基酸殘基的彼等交聯劑。在此等鍵聯中，交聯單元內之二硫鍵受保護(藉由阻礙二硫鍵任一側之基團)免於藉由例如還原型麩胱甘肽或酶二硫鍵還原酶之作用而還原。一種適合之試劑4-琥珀醯亞胺基氧基羰基-α-甲基-α(2-吡啶基二硫基)甲苯(SMPT)在兩種蛋白質之間利用一種蛋白質上之末端離胺酸及另一種蛋白質上之末端半胱胺酸形成此類鍵聯。亦可使用藉由各蛋白質上之不同偶合部分交聯的異雙官能試劑。其他有用的交聯劑包括但不限於連接兩個胺基(例如N-5-疊氮基-2-硝基苯甲醯氧基琥珀醯亞胺)、兩個巰基(例如1,4-雙馬來醯亞胺丁烷)、胺基及巰基(例如間馬來醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基琥珀醯亞胺酯)、胺基及羧基(例如4-[對疊氮

水楊基胺基]丁胺)以及胺基及存在於精胺酸側鏈中之�胍基(例如對疊氮苯基乙二醛單水合物)之試劑。

【0410】 在一些實施例中，放射性標記可直接結合至抗體之胺基酸主鏈。或者，放射性標記可作為較大分子之一部分(例如間[^{125}I]碘苯基-N-羥基琥珀醯亞胺([^{125}I]mIPNHS)中之^{125}I，其結合於游離胺基以形成相關蛋白質之間碘苯基(mIP)衍生物(參見例如Rogers等人 (1997) *J Nucl Med* **38**:1221-1229)或螯合劑(例如DOTA或DTPA)之一部分(螯合劑又結合至蛋白質主鏈)包括在內。將放射性標記或含有其之較大分子/螯合物與本文所述之抗體或抗原結合片段結合之方法為此項技術中已知的。此類方法涉及將蛋白質與放射性標記一起在促進放射性標記或螯合劑與蛋白質結合之條件(例如pH、鹽濃度及/或溫度)下培育(參見例如美國專利第6,001,329號)。

【0411】 將螢光標記(有時稱為「螢光團」)與蛋白質(例如抗體)結合之方法為蛋白質化學技術中已知的。舉例而言，螢光團可使用與螢光團連接之琥珀醯亞胺基(NHS)酯或四氟苯基(TFP)酯部分與蛋白質之游離胺基(例如離胺酸)或巰基(例如半胱胺酸)結合。在一些實施例中，螢光團可結合至異雙官能交聯劑部分，諸如sulfo-SMCC。適合之結合方法涉及將抗體蛋白質或其片段與螢光團一起在促進螢光團與蛋白質結合之條件下培育。參見例如Welch及Redvanly (2003)「Handbook of Radiopharmaceuticals: Radiochemistry and Applications」，John Wiley and Sons (ISBN 0471495603)。

【0412】 在一些實施例中，抗體或片段可經修飾，例如用改良抗體在循環中(例如在血液、血清或其他組織中)之穩定及/或保留的部分。舉例

而言，抗體或片段可如Lee等人 (1999) *Bioconjug Chem* **10(6)**: 973-8；Kinstler等人 (2002) *Advanced Drug Deliveries Reviews* **54**:477-485；及Roberts等人 (2002) *Advanced Drug Delivery Reviews* **54**:459-476中所述經聚乙二醇化或經羥乙基澱粉化(Fresenius Kabi, Germany；參見例如Pavisić et al. (2010) *Int J Pharm* **387(1-2)**:110-119)。穩定化部分可使抗體(或片段)之穩定性或保留率提高至少1.5倍(例如至少2倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、40倍或50倍或更多)。

【0413】 在一些實施例中，本文所述之抗體或其抗原結合片段可經糖基化。在一些實施例中，本文所述之抗體或其抗原結合片段可進行酶處理或化學處理，或由細胞產生，以使得抗體或片段之糖基化減少或不存在。產生糖基化減少之抗體的方法為此項技術中已知的且描述於例如美國專利第6,933,368號；Wright等人 (1991) *EMBO J* **10(10)**:2717-2723；及Co等人 (1993) *Mol Immunol* **30**:1361中。

【0414】

醫藥組合物及調配物

在某些實施例中，本發明提供醫藥組合物，其包含抗CD137抗體與醫藥學上可接受之稀釋劑、載劑、增溶劑、乳化劑、防腐劑及/或佐劑。

【0415】 在某些實施例中，可接受之調配物質較佳在所採用之劑量及濃度下對接受者無毒。在某些實施例中，調配物質用於皮下及/或靜脈內投與。在某些實施例中，醫藥組合物可含有用於修改、維持或保留例如組合物之pH、重量莫耳滲透濃度、黏度、透明度、顏色、等張性、氣味、無菌性、穩定性、溶解或釋放速率、吸附或滲透的調配物質。在某些實施例中，適合之調配物質包括但不限於胺基酸(諸如甘胺酸、麩醯胺

酸、天冬醯胺、精胺酸或離胺酸)；抗微生物劑；抗氧化劑(諸如抗壞血酸、亞硫酸鈉或亞硫酸氫鈉)；緩衝劑(諸如硼酸鹽、碳酸氫鹽、Tris-HCl、檸檬酸鹽、磷酸鹽或其他有機酸)；增積劑(諸如甘露糖醇或甘胺酸)；螯合劑(諸如乙二胺四乙酸(EDTA))；錯合劑(諸如咖啡鹼、聚乙烯吡咯啶酮、β-環糊精或羥丙基-β-環糊精)；填充劑；單糖；雙糖；及其他碳水化合物(諸如葡萄糖、甘露糖或糊精)；蛋白質(諸如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白)；著色劑、調味劑及稀釋劑；乳化劑；親水性聚合物(諸如聚乙烯吡咯啶酮)；低分子量多肽；成鹽抗衡離子(諸如鈉)；防腐劑(諸如苯紮氯銨、苯甲酸、水楊酸、硫柳汞、苯乙醇、對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、氯己定(chlorhexidine)、山梨酸或過氧化氫)；溶劑(諸如甘油、丙二醇或聚乙二醇)；糖醇(諸如甘露糖醇或山梨糖醇)；懸浮劑；界面活性劑或濕潤劑(諸如普朗尼克(pluronics)、PEG、脫水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯諸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、曲拉通(triton)、緩血酸胺、卵磷脂、膽固醇、泰洛沙泊(tyloxapal))；穩定性增強劑(諸如蔗糖或山梨糖醇)；張力增強劑(諸如鹼金屬鹵化物，較佳氯化鈉或氯化鉀，甘露糖醇山梨糖醇)；遞送媒劑；稀釋劑；賦形劑及/或醫藥佐劑。(Remington's Pharmaceutical Sciences, 第18版, A. R. Gennaro編, Mack Publishing Company (1995)。在某些實施例中，調配物包含PBS；20 mM NaOAC pH 5.2、50 mM NaCl；及/或10 mM NAOAC pH 5.2、9%蔗糖。在某些實施例中，最佳醫藥組合物將由熟習此項技術者視例如預定投藥途徑、遞送型式及所需劑量而確定。參見例如Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上。在某些實施例中，此類組合物可影響抗CD137抗體之物理狀態、穩定性、活體內釋放速率及/或活體內清除速

率。

【0416】 在某些實施例中，醫藥組合物中之主要媒劑或載劑本質上可為水性或非水性的。舉例而言，在某些實施例中，適合之媒劑或載劑可為注射用水、生理鹽水溶液或人造腦脊髓液，可能補充有用於非經腸投藥之組合物中常見的其他物質。在某些實施例中，鹽水包含等張磷酸鹽緩衝鹽水。在某些實施例中，中性緩衝鹽水或與血清白蛋白混合之鹽水為進一步例示性媒劑。在某些實施例中，醫藥組合物包含約pH 7.0至8.5之Tris緩衝液或約pH 4.0至5.5之乙酸鹽緩衝液，其可進一步包括山梨糖醇或其適合之替代物。在某些實施例中，可藉由將具有所需純度之所選組合物與視情況選用之調配劑(Remington's Pharmaceutical Sciences, 同上)以凍乾餅或水溶液形式混合來製備包含抗CD137抗體之組合物用於儲存。另外，在某些實施例中，包含抗CD137抗體之組合物可使用適當賦形劑(諸如蔗糖)調配為凍乾物。

【0417】 在某些實施例中，醫藥組合物可經選擇以用於非經腸遞送。在某些實施例中，組合物可經選擇以用於吸入或經由消化道(諸如經口)遞送。此類醫藥學上可接受之組合物的製備在熟習此項技術者的能力內。

【0418】 在某些實施例中，調配物組分以投藥部位可接受之濃度存在。在某些實施例中，緩衝劑用於將組合物維持在生理pH或略低之pH，通常在約5至約8之pH範圍內。

【0419】 在某些實施例中，當考慮非經腸投藥時，治療組合物可呈在醫藥學上可接受之媒劑中包含抗CD137抗體之無熱原質、非經腸可接受之水溶液形式。在某些實施例中，用於非經腸注射之媒劑為無菌蒸餾水，

抗CD137抗體在其中調配為無菌的等張溶液且適當地保存。在某些實施例中，製備可涉及所需分子與諸如可注射微球、生物可侵蝕粒子、聚合化合物(諸如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂質體之試劑一起調配，該試劑可提供可隨後經由儲槽式注射劑遞送之產物的控制或持續釋放。在某些實施例中，亦可使用玻尿酸，且可具有提昇循環中之持續時間的效應。在某些實施例中，可植入藥物遞送裝置可用於引入所需分子。

【0420】 在某些實施例中，醫藥組合物可經調配以用於吸入。在某些實施例中，抗CD137抗體可調配為用於吸入之乾燥粉末。在某些實施例中，包含抗CD137抗體之吸入溶液可與推進劑一起調配用於氣溶膠遞送。在某些實施例中，溶液可經霧化。肺部投藥進一步描述於PCT申請案第PCT/US94/001875號中，其描述經化學修飾之蛋白質的肺部遞送。

【0421】 在某些實施例中，預期調配物可經口投與。在某些實施例中，以此方式投與之抗CD137抗體可在慣常用於混配固體劑型(諸如錠劑及膠囊)之載劑存在或不存在下進行調配。在某些實施例中，膠囊可經設計以在胃腸道之某處釋放調配物之有效部分，此時生物可用性最大化且到達全身前的降解最小化。在某些實施例中，可包括至少一種額外藥劑以促進抗CD137抗體之吸收。在某些實施例中，亦可採用稀釋劑、調味劑、低熔點蠟、植物油、潤滑劑、懸浮劑、錠劑崩解劑及黏合劑。

【0422】 在某些實施例中，醫藥組合物可包括有效量之抗CD137抗體與無毒賦形劑之混合物，該賦形劑適用於製造錠劑。在某些實施例中，藉由將錠劑溶解於無菌水或另一種適當媒劑中，可以單位劑量形式製備溶液。在某些實施例中，適合之賦形劑包括但不限於惰性稀釋劑，諸如碳酸鈣、碳酸鈉或碳酸氫鈉、乳糖或磷酸鈣；或黏合劑，諸如澱粉、明膠或阿

拉伯膠；或潤滑劑，諸如硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石。

【0423】 其他醫藥組合物對於熟習此項技術者將為顯而易見的，包括在持續或控制遞送調配物中包括抗CD137抗體的調配物。在某些實施例中，用於調配各種其他持續或控制遞送工具(諸如脂質體載劑、生物可侵蝕微粒或多孔珠粒及儲槽式注射劑)之技術亦為熟習此項技術者已知的。參見例如PCT申請案第PCT/US93/00829號，其描述用於遞送醫藥組合物之多孔聚合物微粒的控制釋放。在某些實施例中，持續釋放製劑可包括成形制品形式之半透性聚合物基質，例如膜或微膠囊。持續釋放基質可包括聚酯、水凝膠、聚乳酸交酯(美國專利第3,773,919號及EP 058,481)、L-麩胺酸及γ乙基-L-麩胺酸之共聚物(Sidman等人, Biopolymers, 22:547-556 (1983))、聚(2-羥乙基-甲基丙烯酸酯) (Langer等人, J. Biomed. Mater. Res., 15: 167-277 (1981)及Langer, Chem. Tech., 12:98- 105 (1982))、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人, 同上)或聚-D(-)-3-羥基丁酸(EP 133,988)。在某些實施例中，持續釋放組合物亦可包括脂質體，其可藉由此項技術中已知之數種方法中之任一者來製備。參見例如Eppstein等人, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:3688-3692 (1985)；EP 036,676；EP 088,046 及 EP 143,949。

【0424】 欲用於活體內投與之醫藥組合物通常為無菌的。在某些實施例中，此可藉由無菌過濾膜過濾來實現。在某些實施例中，在凍乾組合物之情況下，使用此方法滅菌可在凍乾及復原之前或之後進行。在某些實施例中，用於非經腸投藥之組合物可以凍乾形式或溶液形式儲存。在某些實施例中，非經腸組合物一般置於具有無菌進入口之容器中，例如具有可由皮下注射針頭刺穿之塞子的靜脈內溶液袋或小瓶。

【0425】 在某些實施例中，一旦已調配醫藥組合物，其可以溶液、懸浮液、凝膠、乳液、固體形式或以脫水或凍乾粉末形式儲存於無菌小瓶中。在某些實施例中，此類調配物可以即用形式或以在投與之前復原之形式(例如凍乾)儲存。

【0426】 在某些實施例中，提供用於產生單劑量投藥單位之套組。在某些實施例中，套組可含有具有乾燥蛋白質之第一容器及具有水性調配物之第二容器。在某些實施例中，包括含有單室及多室預填充注射器(例如液體注射器及冷凍乾燥物注射器)之套組。

【0427】 在某些實施例中，包含欲在治療上採用之抗CD137抗體之醫藥組合物的有效量將視例如治療背景及目標而定。熟習此項技術者應瞭解，根據某些實施例，用於治療之適當劑量水準將因此部分視遞送之分子、使用抗CD137抗體之適應症、投藥途徑及患者之體型(體重、體表或器官大小)及/或狀況(年齡及一般健康狀況)而變化。在某些實施例中，臨床醫師可滴定劑量且修改投藥途徑以獲得最佳治療效果。

【0428】 在某些實施例中，給藥頻率將考慮所用調配物中抗CD137抗體之藥物動力學參數。在某些實施例中，臨床醫師將投與組合物直至達到實現所需效應之劑量。在某些實施例中，組合物可因此作為單次劑量投與或作為兩次或更多次劑量(其可含有或可不含有相同量之所需分子)隨時間推移投與，或作為經由植入裝置或導管連續輸注投與。適當劑量之進一步優化為一般熟習此項技術者常規進行的且在其常規執行之任務範圍內。在某些實施例中，可經由使用適當劑量-反應資料確定適當劑量。

【0429】 在某些實施例中，醫藥組合物之投藥途徑與已知方法一致，例如經口、藉由靜脈內、腹膜內、腦內(實質內)、腦室內、肌內、皮

下、眼內、動脈內、門靜脈內或病灶內途徑注射；藉由持續釋放系統或藉由植入裝置。在某些實施例中，組合物可藉由快速注射投與或藉由輸注或藉由植入裝置連續投與。在某些實施例中，組合療法之各個要素可藉由不同途徑投與。

【0430】 在某些實施例中，組合物可經由植入已吸收或囊封所需分子之膜、海綿或其他適當材料局部投與。在使用植入裝置之某些實施例中，該裝置可植入任何適合之組織或器官中，且所需分子可經由擴散、定時釋放推注或連續投與來遞送。在某些實施例中，可能需要以離體方式使用包含抗CD137抗體之醫藥組合物。在此類情況下，將已自患者移出之細胞、組織及/或器官暴露於包含抗CD137抗體之醫藥組合物，之後將細胞、組織及/或器官隨後植入回患者體內。

【0431】 在某些實施例中，抗CD137抗體可藉由使用本文所述之方法植入已經基因工程改造以表現並分泌多肽之某些細胞來遞送。在某些實施例中，此類細胞可為動物或人類細胞，且可為自體、異源或異種的。在某些實施例中，細胞可經永生化。在某些實施例中，為降低免疫學反應之機會，可囊封細胞以避免浸潤周圍組織。在某些實施例中，囊封材料通常為生物相容、半滲透之聚合物外殼或膜，其允許蛋白質產物之釋放，但防止患者之免疫系統或來自周圍組織之其他有害因素破壞細胞。

【0432】

應用

本文所述之組合物可用於診斷及治療應用。舉例而言，可檢測標記之抗原結合分子可用於分析中以偵測樣品(例如生物樣品)中靶抗原之存在或量。該組合物可用於活體外分析，以研究靶抗原功能(例如CD137介導

之細胞信號傳導或反應)的抑制。在一些實施例中，例如其中該組合物結合且活化靶抗原(例如蛋白質或多肽)，該組合物可用作分析中之陽性對照，該等分析經設計以鑑定亦誘導靶蛋白或多肽之活性及/或以其他方式可用於治療與靶蛋白或多肽相關之病症的額外新穎化合物。舉例而言，CD137活化組合物可用作分析中之陽性對照，以鑑定誘導、增加或刺激CD137功能之額外化合物(例如小分子、適體或抗體)。該組合物亦可用於如下文詳述之治療方法中。

【0433】

套組

在一些實施例中，本發明提供包含本文所述之抗CD137抗體的套組。在一些實施例中，套組包括如本文所揭示之抗CD137抗體及使用說明書。套組可在適合容器中包含抗CD137抗體、一或多種對照以及此項技術中熟知的各種緩衝劑、試劑、酶及其他標準成分。

【0434】 容器可包括至少一個小瓶、槽孔、試管、燒瓶、瓶子、注射器或其他容器構件，其中可置放抗CD137抗體，且在一些情況下，適合地等分。在提供額外組分之情況下，套組可含有可置放此組分之額外容器。套組亦可包括用於嚴密容納抗CD137抗體及任何其他試劑容器之構件，用於商業銷售。此類容器可包括保留所要小瓶之射出模製或吹塑模製塑膠容器。容器及/或套組可包括帶有使用說明及/或警告之標記。

【0435】 在一些實施例中，套組包含有包含抗CD137抗體及醫藥學上可接受之載劑的內含物，或包含抗CD137抗體之醫藥組合物，及用於治療或延遲有需要之受試者的癌症進展或減少或抑制腫瘤生長的說明書。在一些實施例中，套組包含有包含抗CD137抗體及醫藥學上可接受之載劑的

內含物，或包含抗CD137抗體之醫藥組合物，及將抗CD137抗體單獨或與另一種藥劑組合投與有需要之受試者以治療或延遲受試者之癌症進展或減少或抑制腫瘤生長的說明書。

【0436】

使用方法

本發明之組合物具有許多活體外及活體內效用，涉及偵測及/或定量CD137及/或CD137功能之促效作用。

【0437】 上述組合物尤其可用於治療或預防受試者之多種癌症的方法。可使用多種方法向受試者(例如人類受試者)投與組合物，該等方法部分視投藥途徑而定。途徑可為例如靜脈內注射或輸注(IV)、皮下注射(SC)、腹膜內(IP)注射、肌內注射(IM)或鞘內注射(IT)。注射可為推注或連續輸注。

【0438】 投與可藉由例如局部輸注、注射或藉助於植入物來達成。植入物可具有多孔、無孔或膠狀材料，包括膜，諸如矽橡膠膜或纖維。植入物可經組態以將組合物持續或定期釋放至受試者。參見例如美國專利申請公開案第20080241223號；美國專利第5,501,856號；第4,863,457號及第3,710,795號；EP488401及EP 430539，其各者之揭示內容以全文引用之方式併入本文中。該組合物可藉助於可植入裝置遞送至受試者，該可植入裝置基於例如擴散、可沖刷性或對流系統，例如滲透泵、生物可降解植入物、電擴散系統、電滲透系統、蒸汽壓泵、電解泵、泡騰泵、壓電泵、基於侵蝕之系統或機電系統。

【0439】 在一些實施例中，抗CD137抗體或其抗原結合片段係藉助局部投與治療遞送至受試者。

【0440】 本文所述之抗體或其片段的適合劑量可視多種因素而定，包括例如待治療之受試者的年齡、性別及體重以及使用的特定抑制劑化合物，該劑量能夠治療或預防受試者之癌症。舉例而言，與治療患有癌症之受試者所需之CD137結合Fab'抗體片段的劑量相比，可能需要不同劑量之完整抗CD137抗體來治療同一受試者。影響投與受試者之劑量的其他因素包括例如癌症之類型或嚴重程度。舉例而言，患有轉移性黑色素瘤之受試者可能需要投與與患有神經膠母細胞瘤之受試者不同劑量的抗CD137抗體。其他因素可包括例如同時或先前影響受試者之其他醫學病症、受試者之一般健康狀況、受試者之遺傳傾向、飲食、投藥時間、排泄速率、藥物組合及投與受試者之任何其他額外治療劑。亦應理解，針對任何特定受試者之具體劑量及治療方案亦將視治療醫學從業者(例如醫生或護士)之判斷而定。本文描述適合之劑量。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體在高劑量及低劑量下均有效。

【0441】 醫藥組合物可包括治療有效量之本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段。一般熟習此項技術者可部分基於所投與之抗體的效應或該抗體與一或多種額外活性劑(若使用多於一種藥劑)之組合效應容易地確定此類有效量。本文所述之抗體或其片段的治療有效量亦可根據諸如個體之疾病狀態、年齡、性別及體重以及抗體(及一或多種額外活性劑)在個體中引發所需反應，例如腫瘤生長減少之因素而變化。舉例而言，治療有效量之抗CD137抗體可抑制(減輕嚴重程度的消除發生)及/或預防此項技術中已知或本文所述之特定病症及/或該特定病症之任一種症狀。治療有效量亦為治療有益效應超過組合物之任何毒性或有害效應的量。

【0442】 本文所述之任何抗體或其片段的適合之人類劑量可進一步

在例如I期劑量遞增研究中進行評估。參見例如van Gurp等人 (2008) *Am J Transplantation* 8(8):1711-1718；Hanouska等人 (2007) *Clin Cancer Res* 13(2, 第1部分):523-531；及Hetherington等人 (2006) *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 50(10): 3499-3500。

【0443】 在一些實施例中，組合物含有本文所述之任何抗體或其抗原結合片段及一或多種(例如兩種、三種、四種、五種、六種、七種、八種、九種、10種或11種或更多)額外治療劑，以使得組合物整體上為治療有效的。舉例而言，組合物可含有本文所述之抗CD137抗體及烷化劑，其中該抗體及藥劑各自之濃度在組合時對治療或預防受試者之癌症(例如黑色素瘤)為治療有效的。

【0444】 此類組合物之毒性及治療功效可在細胞培養物或實驗動物(例如本文所述之任何癌症的動物模型)中藉由已知醫藥程序來確定。此等程序可用於例如確定LD_{50} (對50%群體致死之劑量)及ED_{50} (在50%群體中治療有效之劑量)。毒性效應與治療效應之間的劑量比為治療指數且其可表示為比率LD_{50}/ED_{50}。展現高治療指數之抗體或其抗原結合片段為較佳的。雖然可使用展現毒副作用之組合物，但應注意設計使此類化合物靶向受影響組織部位且使對正常細胞之潛在損害降至最低之遞送系統，由此減少副作用。

【0445】 自細胞培養分析及動物研究獲得之資料可用於調配一系列用於人類的劑量。此類抗體或其抗原結合片段之劑量一般處於毒性很小或沒有毒性之抗體或片段的循環濃度範圍內，包括ED_{50}。劑量可視所用劑型及所用投藥途徑而在此範圍內變化。對於本文所述之抗CD137抗體，最初可自細胞培養分析估計治療有效劑量。可在動物模型中調配劑量以獲得如

在細胞培養中測定之循環血漿濃度範圍，其包括EC_{50} (亦即實現症狀之半最大抑制的抗體濃度)。此類資訊可用於更準確地確定在人體內有用的劑量。血漿中之含量可例如藉由高效液相層析法量測。在一些實施例中，例如當需要局部投與(例如眼睛或關節)時，細胞培養或動物模型可用於確定在局部部位內達到治療有效濃度所需的劑量。

【0446】 在一些實施例中，該等方法可與其他癌症療法聯合進行。舉例而言，組合物可在放射、手術、靶向或細胞毒性化學療法、化學放射療法、激素療法、免疫療法、基因療法、細胞移植療法、精確醫學、基因組編輯療法或其他藥物療法之同時、之前或之後投與受試者。

【0447】 如上所述，本文所述之組合物(例如抗CD137組合物)可用於治療多種癌症，諸如但不限於：卡波西氏肉瘤(Kaposi's sarcoma)、白血病、急性淋巴細胞性白血病、急性骨髓細胞性白血病、骨髓母細胞早幼粒細胞骨髓單核細胞性紅白血病、慢性白血病、慢性骨髓細胞性(顆粒球性)白血病、慢性淋巴細胞性白血病、套細胞淋巴瘤、原發性中樞神經系統淋巴瘤、伯基特氏淋巴瘤及邊緣區B細胞淋巴瘤、真性紅血球增多症淋巴瘤、霍奇金氏病、非霍奇金氏病、多發性骨髓瘤、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症、重鏈疾病、實體腫瘤、肉瘤及癌瘤、纖維肉瘤、黏液肉瘤、脂肪肉瘤、軟骨肉瘤、骨原性肉瘤、骨肉瘤、脊索瘤、血管肉瘤、內皮肉瘤、淋巴管肉瘤、淋巴管內皮肉瘤、滑膜瘤、間皮瘤、尤文氏瘤(Ewing's tumor)、平滑肌肉瘤、橫紋肌肉瘤、結腸肉瘤、結腸直腸癌、胰臟癌、乳癌、卵巢癌、前列腺癌、鱗狀細胞癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭狀癌、乳頭狀腺癌、囊腺癌、髓性癌、支氣管癌、腎細胞癌、肝癌、膽管癌、絨膜癌、精原細胞瘤、胚胎性瘤、威爾姆斯瘤(Wilm's

tumor)、子宮頸癌、子宮癌、睪丸腫瘤、肺癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮細胞癌、神經膠質瘤、星形細胞瘤、神經管胚細胞瘤、顱咽管瘤、室管膜瘤、松果體瘤、血管母細胞瘤、聽神經瘤、少突神經膠質瘤、腦膜瘤、黑色素瘤、神經母細胞瘤、視網膜母細胞瘤、鼻咽癌、食道癌、基底細胞癌、膽道癌、膀胱癌、骨癌、腦及中樞神經系統(CNS)癌、子宮頸癌、絨膜癌、結腸直腸癌、結締組織癌、消化系統癌、子宮內膜癌、食道癌、眼癌、頭頸癌、胃癌、上皮內瘤、腎癌、喉癌、肝癌、肺癌(小細胞、大細胞)、黑色素瘤、神經母細胞瘤；口腔癌(例如唇、舌、口及咽)、卵巢癌、胰臟癌、視網膜母細胞瘤、橫紋肌肉瘤、直腸癌；呼吸系統癌、肉瘤、皮膚癌、胃癌、睪丸癌、甲狀腺癌、子宮癌及泌尿系統癌。

【0448】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段可作為單一療法投與受試者。或者，如上所述，抗體或其片段可作為與另一種治療(例如另一種癌症治療)之組合療法投與受試者。舉例而言，組合療法可包括向受試者(例如人類患者)投與一或多種額外試劑，其為患有癌症或處於罹患癌症風險下之受試者提供治療益處。適合與本發明之組合物共投與之化學治療劑包括例如：紫杉醇(taxol)、細胞遲緩素B、短桿菌肽D、溴化乙錠、吐根素(emetine)、絲裂黴素(mitomycin)、依託泊苷(etoposide)、替尼泊苷(tenoposide)、長春新鹼(vincristine)、長春花鹼(vinblastine)、秋水仙鹼(colchicin)、多柔比星(doxorubicin)、道諾黴素(daunorubicin)、二羥基黃嘌呤二酮、米托蒽醌(mitoxantrone)、光神黴素(mithramycin)、放線菌素D、1-去氫睪固酮、糖皮質激素、普魯卡因(procaine)、四卡因(tetracaine)、利多卡因(lidocaine)、普萘洛爾

(propranolol)及嘌呤黴素(puromycin)及其類似物或同系物。其他藥劑包括例如抗代謝物(例如甲胺喋呤、6-巰基嘌呤、6-硫鳥嘌呤、阿糖胞苷、5-氟尿嘧啶達卡巴嗪(decarbazine))、烷基化劑(例如氮芥(mechlorethamine)、噻替派(thioTEPA)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、美法侖(melphalan)、卡莫司汀(BSNU)、洛莫司汀(CCNU)、環磷醯胺、白消安(busulfan)、二溴甘露醇、鏈佐黴素(streptozotocin)、絲裂黴素C、順二氯二胺鉑(II)(DDP)、丙卡巴肼(procarbazine)、六甲蜜胺(altretamine)、順鉑(cisplatin)、卡鉑(carboplatin)、奧沙利鉑(oxaliplatin)、奈達鉑(nedaplatin)、沙鉑(satraplatin)或四硝酸三鉑)、蒽環黴素(例如道諾黴素(原柔紅黴素)及多柔比星)、抗生素(例如放線菌素D(原放線菌素)、博萊黴素(bleomycin)、光神黴素及安麴黴素(AMC))及抗有絲分裂劑(例如長春新鹼及長春花鹼)及替莫唑胺(temozolomide)。在一些實施例中，抗CD137抗體及一或多種額外活性劑同時投與。在其他實施例中，第一次投與抗CD137抗體，且第二次投與一或多種額外活性劑。在一些實施例中，第一次投與一或多種額外活性劑，且第二次投與抗CD137抗體。

【0449】 本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段可替代或增強先前或目前投與之療法。舉例而言，在用抗CD137抗體或其抗原結合片段治療後，可停止或減少一或多種額外活性劑之投與，例如以較低水準或劑量投與。在一些實施例中，可維持先前療法之投與。在一些實施例中，維持先前療法直至抗CD137抗體之含量達到足以提供治療效果之含量。兩種療法可組合投與。

【0450】 如本文所定義，監測受試者(例如人類患者)之癌症改善意

謂評估受試者疾病參數之變化，例如腫瘤生長減少。在一些實施例中，在投藥之後進行評估至少一(1)小時，例如至少2、4、6、8、12、24或48小時，或至少1天、2天、4天、10天、13天、20天或更多天，或至少1週、2週、4週、10週、13週、20週或更長時間。可在一或多個以下時段評估受試者：在治療開始之前；在治療期間；或在已投與一或多個治療要素之後。評估可包括評估對進一步治療之需求，例如評估是否應改變劑量、投藥頻率或治療持續時間。其亦可包括評估添加或丟棄所選治療方式之需要，例如添加或丟棄本文所述之任何癌症治療。

【0451】 在一些實施例中，投與本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段以調節患者之T細胞反應，例如藉由增加T細胞活化及/或增殖。CD137之交聯強烈增強T細胞增殖、IFNγ產生及分泌以及T細胞之溶胞活性。因此，在一些實施例中，將本發明之抗CD137促效劑抗體或其抗原結合片段投與有需要之患者以誘導或增加T細胞活化、增強T細胞增殖、誘導IFNγ之產生及/或分泌，及/或誘導溶胞T細胞反應。

【0452】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段可用於將患者之T細胞群自T_H2/T_{reg} T細胞群調節或改變成T_H1/T_H17 T細胞群，從而改善或增強患者之抗腫瘤反應。研究表明，雖然CD137在兩種T細胞亞群Th1及Th2 T細胞中表現，但CD137在CD8+ T細胞上之表現量高於CD4+ T細胞。因此，CD137主要共刺激CD8+ T細胞。因此，將如本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段投與患者，以例如藉由將患者之T細胞反應及/或T細胞群自T_H2/T_{reg} T細胞反應及或T細胞群調節或改變成患者之T_H1/T_H17 T細胞反應及/或T細胞群來增強抗腫瘤反應。

【0453】 在一些癌症(例如黑色素瘤及卵巢癌)中，天然腫瘤浸潤性

淋巴細胞(TIL)可經由最佳化細胞培養方法富集且提供可用於授受性免疫療法之腫瘤反應性淋巴細胞的來源。授受性TIL療法可導致某些類型之癌症的持久腫瘤消退，其保證基於TIL之癌症方法的開發及最佳化。目前，由於抗原特異性CD8+ T細胞之低含量及/或罕見性，天然腫瘤反應性TIL之鑑定及擴增仍具有挑戰性。T細胞之CD137表現為活化依賴性的，其提供自循環或腫瘤樣品捕捉表現CD137之活化T細胞的機會。因此，如本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段可用於經活化之抗原特異性T細胞的選擇性富集。

【0454】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體的功效視勝任型免疫系統而定。具體而言，在一些實施例中，CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及/或自然殺手細胞之耗竭降低抗CD137抗體之功效。在一些實施例中，CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及/或自然殺手細胞之耗竭減少本文所述之抗CD137抗體對腫瘤生長的抑制或減少。在一些實施例中，CD4+ T細胞、CD8+ T細胞及/或自然殺手細胞之耗竭減少本文所述之抗CD137抗體對腫瘤生長的抑制或減少。在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體的功效視免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤而定。在一些實施例中，免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤與缺乏向脾臟及/或肝臟中之浸潤相結合。

【0455】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體誘導保護性抗腫瘤記憶免疫反應。記憶T細胞為抗原特異性T細胞之子集，其在遇到且響應其同源抗原後長期持續存在。此類細胞在再次暴露於其同源抗原後迅速擴增至大量效應細胞。因此，在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體刺激產生針對癌症抗原之記憶T細胞。在一些實施例中，已接受本文所述之抗CD137抗體治療或治癒癌症的受試者產生對該癌症具特異性的記憶

T細胞。在一些實施例中，已接受本文所述之抗CD137抗體治療或治癒癌症的受試者在再次暴露於癌症後產生抗腫瘤記憶免疫反應。在一些實施例中，抗腫瘤記憶免疫反應包含刺激記憶T細胞變成效應細胞。在一些實施例中，已接受本文所述之抗CD137抗體治療或治癒癌症的受試者產生針對癌症抗原之抗腫瘤記憶免疫反應。

【0456】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體誘導與腫瘤微環境的免疫重編程。具體而言，在一些實施例中，抗CD137抗體誘導免疫浸潤；減少、抑制或預防Treg增殖；減少、抑制或預防腫瘤相關巨噬細胞增殖；及保護或逆轉T細胞耗竭。

【0457】 在一些實施例中，抗CD137抗體誘導免疫細胞向相關腫瘤微環境中之浸潤。在一些實施例中，抗CD137抗體使免疫細胞浸潤增加至少5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少100%、至少105%、至少110%、至少115%、至少120%、至少125%、至少130%、至少135%、至少140%、至少145%或至少150%。在一些實施例中，免疫細胞浸潤係藉由量測自腫瘤微環境分離之細胞上的CD45表現量來確定。用於量測蛋白質表現之方法為熟習此項技術者已知的且在本文中描述。

【0458】 在一些實施例中，抗CD137抗體預防或抑制腫瘤微環境中Treg細胞之增加。在一些實施例中，預防或抑制係相對於不存在抗CD137抗體之腫瘤微環境中Treg細胞的量。在一些實施例中，預防或抑制Treg細胞增加係相對於參考抗體。在一些實施例中，Treg細胞係藉由在自腫瘤微

環境分離之CD4+ T細胞上表現CD25及FOX-3P來偵測。用於量測蛋白質表現之方法為熟習此項技術者已知的且在本文中描述。

【0459】 在一些實施例中，抗CD137抗體預防或抑制腫瘤微環境中腫瘤相關巨噬細胞之增加。在一些實施例中，預防或抑制係相對於不存在抗CD137抗體之腫瘤微環境中腫瘤相關巨噬細胞的量。在一些實施例中，預防或抑制腫瘤相關巨噬細胞之增加係相對於參考抗體。在一些實施例中，腫瘤相關巨噬細胞係藉由在自腫瘤微環境分離之CD45+免疫細胞上表現CD11b及F4/80來偵測。用於量測蛋白質表現之方法為熟習此項技術者已知的且在本文中描述。

【0460】 在一些實施例中，抗CD137抗體保護T細胞免於腫瘤微環境中之T細胞耗竭。在一些實施例中，抗CD137抗體逆轉腫瘤微環境中之T細胞耗竭。在一些實施例中，相對於不存在抗CD137抗體之腫瘤微環境，在本文所述之抗CD137抗體存在下，腫瘤微環境中之T細胞耗竭減少。在一些實施例中，T細胞耗竭係藉由分析CD8+ T細胞或CD4+ T細胞之共抑制受體(例如PD-1、TIGIT或LAG-3)的表現來確定。在一些實施例中，T細胞耗竭係藉由在自腫瘤微環境分離之CD4+或CD8+ T細胞上表現PD-1及TIGIT來偵測。

【0461】 在一些實施例中，本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段可用於偵測及/或定量生物樣品中之人類CD137的方法中。因此，如本文所述之抗CD137抗體或其抗原結合片段用於診斷、預後及/或確定患者之疾病(例如癌症)的進展。

【0462】

其他實施例

【0463】 E1. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含選自由以下組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(b) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 70、79及90中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(c) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 71、80及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(d) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 72、81及92中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(e) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 73、82及91中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(f) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 74、83及93中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(g) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 75、84及91中所示之輕鏈CDR1、

CDR2及CDR3序列；

(h) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 74、85及94中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(i) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 76、86及95中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(j) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 77、87及93中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(k) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、88及90中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(l) 分別在SEQ ID NO: 49、57及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(m) 分別在SEQ ID NO: 49、58及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(n) 分別在SEQ ID NO: 49、59及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(o) 分別在SEQ ID NO: 49、60及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及

CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(p) 分別在SEQ ID NO: 50、61及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(q) 分別在SEQ ID NO: 50、58及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(r) 分別在SEQ ID NO: 51、62及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(s) 分別在SEQ ID NO: 52、63及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(t) 分別在SEQ ID NO: 50、64及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(u) 分別在SEQ ID NO: 50、65及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(v) 分別在SEQ ID NO: 51、108及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；

(w) 分別在SEQ ID NO: 107、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；及

(x) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 109、110及92中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【0464】 E2. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101及103組成之群的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46及105組成之群的胺基酸序列。

【0465】 E3. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0466】 E4. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，該等重鏈及輕鏈可變區包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 4及28；

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及30；

(d) 分別為SEQ ID NO: 4及32；

(e) 分別為SEQ ID NO: 4及34；

(f) 分別為SEQ ID NO: 4及36；

(g) 分別為SEQ ID NO: 4及38；

(h) 分別為SEQ ID NO: 4及40；

(i) 分別為SEQ ID NO: 4及42；

(j) 分別為SEQ ID NO: 4及44；

(k) 分別為SEQ ID NO: 4及46；

(l) 分別為SEQ ID NO: 8及6；

(m) 分別為SEQ ID NO: 10及6；

(n) 分別為SEQ ID NO: 12及6；

(o) 分別為SEQ ID NO: 14及6；

(p) 分別為SEQ ID NO: 16及6；

(q) 分別為SEQ ID NO: 18及6；

(r) 分別為SEQ ID NO: 20及6；

(s) 分別為SEQ ID NO: 22及6；

(t) 分別為SEQ ID NO: 24及6；

(u) 分別為SEQ ID NO: 26及6；

(v) 分別為SEQ ID NO: 101及6；

(w) 分別為SEQ ID NO: 103及6；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 4及105。

【0467】 E5. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、101及103組成之群之胺基酸序列至少90%一致的

胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 6、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46及105組成之群之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0468】 E6. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，該等重鏈及輕鏈可變區包含與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(a) 分別為SEQ ID NO: 4及6；

(b) 分別為SEQ ID NO: 4及28；

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及30；

(d) 分別為SEQ ID NO: 4及32；

(e) 分別為SEQ ID NO: 4及34；

(f) 分別為SEQ ID NO: 4及36；

(g) 分別為SEQ ID NO: 4及38；

(h) 分別為SEQ ID NO: 4及40；

(i) 分別為SEQ ID NO: 4及42；

(j) 分別為SEQ ID NO: 4及44；

(k) 分別為SEQ ID NO: 4及46；

(l) 分別為SEQ ID NO: 8及6；

(m) 分別為SEQ ID NO: 10及6；

(n) 分別為SEQ ID NO: 12及6；

(o) 分別為SEQ ID NO: 14及6；

(p) 分別為SEQ ID NO: 16及6；

(q) 分別為SEQ ID NO: 18及6；

(r) 分別為SEQ ID NO: 20及6；

(s) 分別為SEQ ID NO: 22及6；

(t) 分別為SEQ ID NO: 24及6；

(u) 分別為SEQ ID NO: 26及6；

(v) 分別為SEQ ID NO: 101及6；

(w) 分別為SEQ ID NO: 103及6；及

(x) 分別為SEQ ID NO: 4及105。

【0469】 E7. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0470】 E8. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX，其中X為任何胺基酸。

【0471】 E9. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX，其中X為任何胺基酸。

【0472】 E10. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX，其中X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0473】 E11. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX，其中X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0474】 E12. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX，其中X為任何胺基酸，且其中殘基D95、L100、Y100E、Y100G、Y100H或其組合之突變導致喪失與人類CD137之結合。

【0475】 E13. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DX**PF**XL**D**XX**Y**Y**Y**YYX，其中X為任何胺基酸，且其中殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成丙胺酸導致與人類CD137之結合減少。

【0476】 E14. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列DX**PF**XL**D**XX**Y**Y**Y**YYX，其中X為任何胺基酸，且其中殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成除丙胺酸之外的任何殘基導致與人類CD137之結合增加。

【0477】 E15. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$

為任何胺基酸，其中X_5為極性胺基酸，其中X_6為任何胺基酸，其中X_7為任何胺基酸，其中X_8為極性胺基酸，其中X_9為極性胺基酸，且其中X_{10}為任何胺基酸。

【0478】 E16. 如實施例15之經分離單株抗體，其中X_2為脯胺酸，其中X_3為苯丙胺酸或色胺酸，其中X_5為天冬胺酸或麩胺酸，其中X_8為酪胺酸且其中X_9為酪胺酸。

【0479】 E17. 如實施例8至16中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分與mAb1交叉競爭。

【0480】 E18. 如實施例8至16中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分與mAb1、mAb8或mAb10交叉競爭。

【0481】 E19. 如實施例8至18中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分至少包含mAb1之功能特性。

【0482】 E20. 如實施例8至18中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分至少包含mAb1、mAb8或mAb10之功能特性。

【0483】 E21. 如實施例8至20中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分之K_D值至少等於mAb1。

【0484】 E22. 如實施例8至20中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分之K_D值至少等於mAb1、mAb8或mAb10。

【0485】 E23. 一種特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中當與人類CD137結合時，該經分離單株抗體或其抗

原結合部分與mAb1或mAb1之抗原結合片段結合之胺基酸殘基中之至少一者結合。

【0486】 E24. 一種特異性結合於人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中當與人類CD137結合時，該經分離單株抗體或其抗原結合部分：(i)與mAb1或mAb1之抗原結合片段結合之胺基酸殘基中之至少一者結合，及(ii)促效人類CD137。

【0487】 E25. 如實施例23至24中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中包含由該抗體結合之抗原決定基的胺基酸殘基位於內包含該mAb1抗體之互補位的胺基酸殘基的4埃內。

【0488】 E26. 如實施例23至25中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中由該抗體結合之抗原決定基的突變抑制、減少或阻斷與該抗體及與抗體mAb1兩者之結合。

【0489】 E27. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約40至100 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。

【0490】 E28. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約40至100 nM之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXXXXLXXXXYXYYX，其中X為任何胺基酸。

【0491】 E29. 一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中

(i)該抗體或抗原結合部分以約40至100 nM之親和力(K_D)結合人類CD137；及

(ii)該抗體或抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$，其中$X_1$為任何胺基酸，其中$X_2$為非極性胺基酸，其中$X_3$為非極性胺基酸，其中$X_4$為任何胺基酸，其中$X_5$為極性胺基酸，其中$X_6$為任何胺基酸，其中$X_7$為任何胺基酸，其中$X_8$為極性胺基酸，其中$X_9$為極性胺基酸且其中$X_{10}$為任何胺基酸。

【0492】 E30. 如實施例27之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈CDR3，其包含胺基酸序列DXPFXLDXXYYYYYX，其中X為任何胺基酸。

【0493】 E31. 如實施例28至30中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該重鏈CDR3之殘基D95、L100、Y100E、Y100G、Y100H或其組合的突變導致喪失與人類CD137之結合。

【0494】 E32. 如實施例28至31中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成丙胺酸導致與人類CD137之結合減少。

【0495】 E33. 如實施例28至31中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中殘基P97、F98、D100A、Y100D、Y100F或其組合突變成除丙胺酸之外的任何殘基導致與人類CD137之結合增加。

【0496】 E34. 如實施例28及29至33中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中X為除丙胺酸之外的任何胺基酸。

【0497】 E35. 如實施例29及31至33中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中X_2為脯胺酸，其中X_3為苯丙胺酸或色胺酸，其中

X_5為天冬胺酸或麩胺酸，其中X_8為酪胺酸且其中X_9為酪胺酸。

【0498】 E36. 如前述實施例中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或抗原結合部分以約45至95 nM、50至90 nM、55至85 nM、60至80 nM、65至75 nM、55至75 nM、40至70 nM、50至80 nM或60至90 nM之親和力(K_D)結合人類CD137。

【0499】 E37. 如實施例27至36中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈CDR，其中重鏈CDR3包含SEQ ID NO: 68中所示之胺基酸序列。

【0500】 E38. 如實施例27至37中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含選自由以下組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a) 分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；及

(b) 分別在SEQ ID NO: 51、108及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【0501】 E39. 如實施例27至37中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含選自由SEQ ID NO: 4及101組成之群的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含SEQ ID NO: 6之胺基酸序列。

【0502】 E40. 如實施例27至37中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，該等

重鏈及輕鏈可變區包含選自由以下組成之群的胺基酸序列：

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及6；及

(d) 分別為SEQ ID NO: 101及6。

【0503】 E41. 如實施例27至37中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，其中該重鏈可變區包含與選自由SEQ ID NO: 4及101組成之群之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列；且其中該輕鏈可變區包含與SEQ ID NO: 6之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列。

【0504】 E42. 如實施例27至37中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈可變區，該等重鏈及輕鏈可變區包含與選自由以下組成之群之胺基酸序列至少90%一致的胺基酸序列：

(c) 分別為SEQ ID NO: 4及6；及

(b) 分別為SEQ ID NO: 101及6。

【0505】 E43. 如前述實施例中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分特異性結合於且促效人類CD137。

【0506】 E44. 如前述實施例中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分展現以下特性中之至少一或多者：

(a) 誘導或增強CD137三聚體之二聚化；

(b) 誘導或增強CD137三聚體之多聚化；

(c) 誘導或增強人類CD137介導之T細胞活化；

(d) 誘導或增強人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應；

(e) 誘導或增強人類CD137介導之T細胞增殖；

(f) 誘導或增強人類CD137介導之細胞介素產生；

(g) 不顯著誘導或增強肝內及/或脾內T細胞活化及/或T細胞增殖；

(h) 以1×10^{-6}或更小之平衡解離常數K_D結合於人類CD137；或

(i) 特性(a)至(h)之任何組合。

【0507】 E45. 如實施例44之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞活化，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞活化。

【0508】 E46. 如實施例44之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應。

【0509】 E47. 如實施例44之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分誘導腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞增殖，但不顯著誘導脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞增殖。

【0510】 E48. 如實施例44之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之細胞介素產生，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之細胞介素產生。

【0511】 E49. 如實施例44至48中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分之特性並非Fc受體結合依賴性

的。

【0512】 E50. 如實施例44至49中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分之特性係藉由Fc受體結合而增強。

【0513】 E51. 如前述實施例中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分與食蟹獼猴CD137及/或小鼠CD137交叉反應。

【0514】 E52. 一種經分離促效性單株抗體，其結合於人類CD137且展現以下特性中之至少一者：

(a) 誘導或增強人類CD137三聚體之二聚化；

(b) 誘導或增強人類CD137三聚體之多聚化；

(c) 誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞活化，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞活化；

(d) 誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應；

(e) 誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之細胞介素產生，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之細胞介素產生；

(f) 誘導或增強腫瘤微環境中人類CD137介導之T細胞增殖，但不顯著誘導或增強脾臟及/或肝臟中人類CD137介導之T細胞增殖；

(g) 以1×10^{-6}或更小之平衡解離常數K_D結合於人類CD137；或

(h) 特性(a)至(g)之任何組合。

【0515】 E53. 如前述實施例中任一項之經分離單株抗體或其抗原

結合部分，其中該抗體係選自由以下組成之群：IgG1、IgG2、及IgG3、IgG4、及IgM、及IgA1、及IgA2、及IgD、及IgE抗體。

【0516】 E54. 如實施例53之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體為IgG1抗體或IgG4抗體。

【0517】 E55. 一種醫藥組合物，其包含如前述實施例中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分及醫藥學上可接受之載劑。

【0518】 E56. 一種核酸，其包含編碼如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分之輕鏈、重鏈或輕鏈及重鏈兩者的核苷酸序列。

【0519】 E57. 一種表現載體，其包含如實施例56之核酸。

【0520】 E58. 一種細胞，其經如實施例57之表現載體轉型。

【0521】 E59. 一種用於產生特異性結合人類CD137之單株抗體或其抗原結合部分的方法，該方法包含在允許表現該單株抗體或其抗原結合部分之條件下維持如實施例58之細胞。

【0522】 E60. 如實施例59之方法，其進一步包含獲得該單株抗體或其抗原結合部分。

【0523】 E61. 一種用於誘導或增強受試者中人類CD137三聚體二聚化之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0524】 E62. 一種用於誘導或增強受試者中人類CD137三聚體多聚化之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0525】 E63. 一種用於誘導或增強受試者中人類CD137介導之T

細胞活化之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0526】 E64. 如實施例63之方法，其中該T細胞活化係發生在腫瘤微環境中。

【0527】 E65. 如實施例63之方法，其中該T細胞活化不顯著發生在該受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0528】 E66. 一種用於誘導或增強受試者中人類CD137介導之細胞毒性T細胞反應之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0529】 E67. 如實施例66之方法，其中該細胞毒性T細胞反應係發生在腫瘤微環境中。

【0530】 E68. 如實施例66之方法，其中該細胞毒性T細胞反應不顯著發生在該受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0531】 E69. 一種用於誘導或增強受試者中人類CD137介導之細胞介素產生之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0532】 E70. 如實施例69之方法，其中該產生之細胞介素為IL-2、TNFα、IL-13、IFNγ或其組合。

【0533】 E71. 如實施例69或實施例70之方法，其中該細胞介素產生係發生在腫瘤微環境中。

【0534】 E72. 如實施例69或實施例70之方法，其中該細胞介素產生不顯著發生在該受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0535】 E73. 一種用於誘導或增強受試者中人類CD137介導之T細胞增殖之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0536】 E74. 如實施例73之方法，其中該T細胞增殖係發生在腫瘤微環境中。

【0537】 E75. 如實施例73之方法，其中該T細胞增殖不顯著發生在該受試者之脾臟及/或肝臟中。

【0538】 E76. 一種用於減少或抑制腫瘤生長之方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0539】 E77. 一種用於治療受試者之由人類CD137介導之病症的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0540】 E78. 一種用於治療受試者之癌症的方法，其包含向有需要之受試者投與有效量之如實施例1至54中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分或如實施例55之醫藥組合物。

【0541】 E79. 如實施例78之方法，其中該癌症係選自由黑色素瘤、神經膠質瘤、腎癌及頭頸癌組成之群。

【0542】 E80. 如實施例76至79中任一項之方法，其中該抗體或其抗原結合部分結合Fcγ受體。

【0543】 E81. 如實施例76至80中任一項之方法，其中CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、自然殺手細胞或其組合之耗竭降低該抗體或其抗原結合部分之功效。

【0544】 E82. 一種用於偵測生物樣品中存在或不存在人類CD137之方法，其包含：

(i) 使生物樣品與如實施例1至54中任一項之抗體接觸，其中該抗體經可偵測物質標記；及

偵測與人類CD137結合之抗體，從而偵測該生物樣品中人類CD137之存在或不存在。

【0545】

實例

雖然本發明已參考其具體實施例加以描述，但熟習此項技術者應理解，在不脫離本發明之真實精神及範疇的情況下，可進行各種改變且可替代等效物。此外，可進行許多修改以使特定情況、材料、物質組成、方法、處理步驟或步驟適合本發明之目標、精神及範疇。所有此類修改意欲在本發明之範疇內。

【0546】

實例1：在酵母中產生之合成人類單株抗體展現與重組人類CD137結合

使用EZ-Link Sulfo-NHS-生物素化套組(Thermo Scientific)將經純化之CD137蛋白質抗原生物素化。將CD137抗原濃縮至~1 mg/mL且將緩衝液更換成PBS，隨後添加1:7.5莫耳比生物素化試劑(EZ-Link Sulfo-NHS-生物素化套組，Thermo Scientific，目錄號21425)。混合物在4℃下保持隔夜，隨後進行另一次緩衝液更換以移除溶液中之游離生物素。生物素化

係經由ForteBio上經標記蛋白質之抗生蛋白鏈菌素感測器結合來確認。根據製造商的指南(資料未展示)，CD137蛋白質抗原之成功生物素化係經由與ForteBio Octet™ Red384干涉儀(Pall ForteBio, Menlo Park, CA)上安裝之抗生蛋白鏈菌素連接之生物感測器的可偵測結合來確認。

【0547】 如先前所述，設計、產生及繁殖八個基於酵母之初始人類合成抗體文庫，每個~10^9多樣性(參見例如WO2009036379；WO2010105256；WO2012009568；Xu等人, Protein Eng Des Sel. 2013年10月;26(10):663-70)。使用八個針對生物素化之人類CD137-Fc融合物的初始文庫進行八次平行選擇。

【0548】 對於前兩輪選擇，基本上如所述(Siegel等人, J Immunol Methods. 2004年3月;286(1-2):141-53)進行利用Miltenyi MACS系統之磁珠分選技術。簡言之，將酵母細胞(~10^{10}個細胞/文庫)與10 mL 10 nM生物素化之人類CD137-Fc融合物抗原在室溫下在具有0.1% BSA之FACS洗滌緩衝液PBS中培育15分鐘。在用50 mL冰冷的洗滌緩衝液洗滌一次後，將細胞集結粒再懸浮於40 mL洗滌緩衝液中，且將500 µl抗生蛋白鏈菌素微珠(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany. 目錄號130-048-101)添加至酵母中並在4℃下培育15分鐘。接著，將酵母集結，再懸浮於5 mL洗滌緩衝液中且裝載於MACS LS管柱(Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany. 目錄號130-042-401)上。裝載5毫升後，用3 mL FACS洗滌緩衝液洗滌管柱三次。隨後自磁場移出管柱，用5 mL生長培養基洗脫酵母且隨後生長隔夜。

【0549】 在兩輪MACS之後，使用流動式細胞測量術(FACS)進行三輪分選，其描述於以下三段中。

【0550】

採用8次平行選擇與Fc抗原之選擇策略

來自MACS選擇之八個文庫通過三輪FACS選擇。將每個文庫約1×10^8個酵母集結，用洗滌緩衝液洗滌三次，且在室溫下分別與10 nM生物素化之人類CD137-Fc融合物及10 nM生物素化之鼠類CD137-Fc融合物抗原一起培育10分鐘。酵母隨後洗滌兩次且用1:100稀釋之山羊抗人類$F(ab')_2$ κ-FITC (Southern Biotech, Birmingham, Alabama, 目錄號2062-02)及1:500稀釋之抗生蛋白鏈菌素-Alexa Fluor 633 (Life Technologies, Grand Island, NY, 目錄號S21375)或1:50稀釋之Extravidin-藻紅蛋白Sigma-Aldrich, St Louis, 目錄號E4011)、輔助試劑在4℃下染色15分鐘。用冰冷的洗滌緩衝液洗滌兩次後，將細胞集結粒再懸浮於0.4 mL洗滌緩衝液中且轉移至過濾器加蓋的分選管中。使用FACS ARIA分選儀(BD Biosciences)進行分選，且確定分選門僅選擇CD137結合。來自第一輪FACS之經選擇之鼠類及人類群體提前進入下一輪。

【0551】 針對上述經選擇之群體的第二輪及第三輪FACS涉及對人類及/或鼠類CD137試劑之結合物的陽性分類；或減少多特異性試劑結合物之陰性分類(Xu等人, PEDS. 2013年10月;26(10):663-70)。視特定選擇輸出之多特異性結合或靶結合之量而定，陽性分類接著陰性分類或反之亦然，以富集具有有限量之多特異性結合的完全結合群體。亦用來自文獻之對照mAb進行競爭選擇。對於競爭選擇，將mAb4 (烏瑞魯單抗；Bristol-Myers Squibb；CAS編號：934823-49-1)及mAb5 (烏圖木單抗；Pfizer；CAS編號：1417318-27-4)與生物素化之人類CD137-Fc融合物預複合。在FACS上選擇在對照mAb存在下結合及不結合之抗體。塗覆此等輪之輸出

物且挑選分離株進行定序及表徵。

【0552】

在初始選擇中鑑定之純系的親和力成熟

來自針對生物素化之人類CD137 Fc融合物之第一輪FACS分選輸出物的重鏈用於製備用於額外四輪選擇之輕鏈多樣化文庫。此等選擇輪中之第一輪利用與10 nM生物素化之人類CD137-Fc融合物結合的Miltenyi MAC珠粒作為抗原。

【0553】 在MAC珠粒選擇之後，進行三輪FACS分選。此等輪中之第一輪使用10 nM生物素化之人類CD137-Fc融合物。上述第二輪FACS涉及對小鼠CD137試劑結合物之陽性分類，與先前提及之對照mAb的競爭分類或減少如上所述之多特異性試劑結合物的陰性分類。使用10 nM生物素化之鼠類CD137 Fc融合物或50 nM生物素化之人類單體CD137進行第三輪及最後一輪FACS選擇。挑選來自上述每一輪FACS選擇之個別菌落進行定序表徵。

【0554】

IgG及Fab產生及純化

使酵母純系生長至飽和且隨後在30℃下在振盪下誘導48小時。誘導後，使酵母細胞集結且收穫清液層用於純化。使用蛋白質A管柱純化IgG且用乙酸pH 2.0溶離。Fab片段係藉由番木瓜蛋白酶消化來產生，且經CaptureSelect IgG-CH1親和力基質(LifeTechnologies，目錄號1943200250)純化。

【0555】

實例2：抗原決定基分組及確定人類抗CD137抗體對重組CD137之親和力

使用標準夾心型式分組分析，在Forte Bio Octet Red384系統(Pall Forte Bio Corporation, Menlo Park, CA)上進行實例1中分離之抗體的抗原決定基分組。將CD137對照抗體IgG裝載於AHQ感測器上，且用非相關人類IgG1抗體阻斷感測器上未佔據之Fc結合位點。感測器隨後暴露於100 nM靶抗原，接著暴露於如實例1中所述鑑定之經分離抗體。使用ForteBio之資料分析軟體7.0處理資料。抗原締合後第二抗體之額外結合表明未佔據之抗原決定基(非競爭者)，而無結合表明抗原決定基阻斷(競爭者) (資料未展示)。

【0556】 CD137抗體之親和力係藉由量測其在ForteBio Octet上之動力學常數(k_a，k_d，K_D)來確定。一般如先前所述進行ForteBio親和力量測(Estep等人, MAbs. 2013 5(2):270-8)。簡言之，ForteBio親和力量測係藉由將抗體(IgG)在線裝載於AHQ感測器上來進行。將感測器在分析緩衝液中離線平衡30分鐘且隨後在線監測60秒以確立基線。對於親合結合量測，將裝載有IgG之感測器暴露於100 nM抗原(人類、食蟹獼猴或鼠類CD137) 3分鐘，隨後將其轉移至分析緩衝液3分鐘以量測解離速率。單價結合量測係藉由將人類CD137-Fc融合物裝載於AHQ感測器上，隨後暴露於溶液中之200 nM抗體Fab來獲得。在ForteBio提供之資料分析軟體中使用1:1結合模型擬合動力學資料(資料未展示)。

【0557】 亦評定抗體是否為配體阻斷之判定。具體而言，在Octet HTX (ForteBio)及無標記MX96 SPRi (Caterra)上進行配體阻斷實驗。在Octet感測器或MX96晶片感測器上捕捉mAb1。將CD137及CD137L依次施用於預載有mAb1之感測器。暴露於CD137L後響應之增加表明mAb1與CD137L之間不競爭結合於CD137。另一方面，信號缺乏變化表明競爭，

對照抗體mAb5情況即是如此。mAb1不抑制CD137L與CD137之結合(資料未展示)，且因此視為非配體阻斷抗體。

【0558】

實例3：親和力成熟之抗CD137抗體的結合親和力分佈

使用2個突變體文庫產生親和力成熟之抗CD137抗體。第一文庫含有重鏈突變且第二文庫含有輕鏈突變，其中產生輕鏈CDR1、CDR2及CDR3中之供體多樣性。突變體文庫經歷3輪噬菌體淘選，旨在增加親和力且維持與小鼠CD137之交叉反應性。在每輪中，在初始結合於生物素化抗原後採用解離速率競爭步驟(亦即，在37℃下與過量未標記抗原或親本IgG一起培育1小時)。

【0559】 將來自不同選擇輪次之所得抗CD137抗體標繪於k_d/k_a雙對數圖上。在SPRi讀取器(MX96, Carterra)上在PBS-T 0.01%之運行緩衝液中確定表觀締合及解離動力學速率常數(k_a及k_d值)。將抗人類CD137抗體共價印刷於CFM (Carterra)上之羧甲基葡聚糖水凝膠50L晶片(Xantec bioanalytics)上。使用新混合之活化試劑(含150 ml 0.4 M EDC及150 ml 0.1 M sulfo-NHS之H2O)活化SPR基板之表面7分鐘。使用乙酸緩衝液pH 4.5中之10 mg/ml抗體印刷15分鐘。隨後將所印刷之晶片在SPRi讀取器(MX96, Carterra)上用1 M乙醇胺淬滅15分鐘。對於動力學分析，依次注射經純化之重組加his標籤的人類CD137 (0、2.05、5.12、12.8、32、80、200、500 nM)。對於各濃度，存在5分鐘之締合，隨後為10分鐘之解離。在SPR Inspection Tool及Scrubber軟體中處理及分析資料。用間隙參考點參考動力學資料且雙重參考緩衝液循環，且隨後全局擬合1:1結合模型以確定其表觀締合及解離動力學速率常數(k_a及k_d值)。比率k_d/k_a用於推

導各抗原/mAb相互作用之K_D值，亦即$K_D=k_d/k_a$。

【0560】 K_D (k_d/k_a)在10至20 nM之間的抗體顯示為直立三角形，而K_D低於10 nM之抗體顯示為倒置三角形(**圖1**)。僅重鏈(上圖)或僅輕鏈(下圖)之親和力成熟均導致具有比親本抗體(mAb1)更高之結合親和力之抗CD137抗體的分離(**圖1**)。mAb1之重鏈及輕鏈可變區分別在SEQ ID NO: 4及6中示出。

【0561】

實例4：鑑定包含抗CD137抗體之重鏈CDR3 (CDRH3)的關鍵結合殘基

為確定CDRH3內之哪些胺基酸殘基對於mAb1與小鼠及人類CD137多肽之結合為關鍵的，進行丙胺酸掃描。產生編碼mAb1開放閱讀框架之衍生物的一組多核苷酸，其中各衍生物在包含CDRH3之野生型胺基酸殘基位置含有單個丙胺酸殘基取代。藉由用丙胺酸密碼子GCC替換野生型密碼子，將SEQ ID NO: 4之位置D95至M100I各自突變成丙胺酸。各mAb1經丙胺酸取代之衍生物之各CDRH3的胺基酸序列在SEQ ID NO: 111至125中示出。編碼15種mAb1經丙胺酸取代之衍生物中之每一者的多核苷酸經由Gibson Assembly分別選殖至表現載體(去糖基化IgG1，DID-2600)中。使用此項技術中已知的標準技術表現及純化各mAb1經丙胺酸取代之衍生物。經由人類CD137 (huCD137)之Wasatch SPR動力學量測或小鼠CD137 (mCD137)之平衡細胞結合分析，確定各mAb1經丙胺酸取代之衍生物對人類及小鼠CD137的結合親和力。

【0562】 **表1**提供各突變體之計算解離常數(K_D)。當在表中標註「*弱*」時，存在高於背景之可量測結合，但在曲線擬合中沒有足夠的置信度來指定精確的K_D值。在表1中，「**NB**」表示在確定結合親和力期間未觀

察到結合，且表明CDRH3中哪些丙胺酸取代產生不結合於CD137之抗體。

表1：丙胺酸掃描純系對人類及小鼠CD137之結合親和力(K_D)

取代	huCD137	mCD137	取代	huCD137	mCD137
D95A	**NB**	**NB**	Y(100C)A	1nM	25nM
S96A	1.8nM	40nM	Y(100D)A	*弱*	170nM
P97A	*弱*	*弱*	Y(100E)A	**NB**	**NB**
F98A	*弱*	*弱*	Y(100F)A	*弱*	*弱*
L99A	2.7nM	33nM	Y(100G)A	**NB**	**NB**
L100A	**NB**	**NB**	Y(100H)A	**NB**	**NB**
D(100A)A	*弱*	*弱*	M(100I)A	1.8nM	21nM
D(100B)A	1.3nM	54nM	WT K_D	1nM	11nM

【0563】 由突變成丙胺酸導致的結合親和力的保留、減弱或喪失告知確定CD137結合需要哪些殘基及哪些殘基耐受突變。**圖2**彙總在各位置指示的具有野生型胺基酸一致性之CDRH3之丙胺酸掃描的結合資料。如所示，CDRH3位置基於使位置突變成丙胺酸之效應進行顏色編碼。此分析產生以下共同序列：**DX*PF*XL*D*XX*Y*Y*Y*YX**。當共同序列中之**加粗**殘基突變成丙胺酸時，結合完全喪失，因此此等殘基為mAb1結合於CD137所必需的。當共同序列中之*斜體*殘基突變成丙胺酸時，抗體仍能夠結合CD137但具有較弱親和力，表明此等殘基在結合中發揮部分作用，但並非絕對必需的。當共同序列中用X表示之殘基位置突變成丙胺酸時，結合親和力幾乎沒有變化。因此，此等殘基耐受突變且對結合相互作用並非關鍵的。

【0564】

實例5：藉由掃描飽和突變誘發及同源物比較之抗原決定基定位

藉由掃描飽和突變誘發文庫及同源性比較進行CD137抗原決定基之功能定位，以鑑定對抗體與CD137之結合重要的殘基。產生CD137突變體

之組合文庫，其在所有殘基位置具有突變成除半胱胺酸之外的每一可能胺基酸取代的單點突變，且測試其結合於mAb1、mAb4及mAb5之能力。由供應商合成由編碼CD137之各點突變之基因組成的文庫，且選殖至哺乳動物呈現表現載體中。哺乳動物呈現用於展現變體人類CD137胞外結構域之文庫，其中各變體相對於野生型人類CD137具有至少一個點突變。

【0565】 呈現CD137變體之細胞文庫用非重疊抗體(i) mAb4及mAb1或(ii) mAb4及mAb5染色。藉由FACS富集與一種抗體結合減少但與另一種抗體結合未減少的細胞群。藉由Illumina定序對各群體進行定序，以鑑定特異性破壞與各抗體結合但不影響CD137之正確摺疊或與非重疊抗體結合之位置的突變。

【0566】 對於mAb1，K114鑑定為對結合於CD137最重要的殘基，觀察到之所有突變的34%發生在該位置，且觀察到所有胺基酸取代。E111、T113及P135對於結合亦為重要的，在彼等位置中之每一者觀察到10%之突變。另外，在對mAb1之結合部分減少之群體中觀察到N126及I132。**圖3A**顯示包含mAb1、mAb4及mAb5之抗原決定基的殘基。mAb4及mAb5具有不同於mAb1之結合抗原決定基。對於mAb4，N42為最重要的殘基，在該位置觀察到所有突變之50%，其次為R41及D38。對於mAb5，I132為最重要的，所有突變之32%發生在該位置，其次為N126、G96、K114及L95。

【0567】 將自文庫篩選分離之點突變體表現為可溶性蛋白質且測試與mAb1之結合。在K114測試之所有4個突變(R、E、N、T)均消除與mAb1之結合。在T113及P135之突變亦破壞結合。在E111之1/2點突變體、在N126之1/3突變體及在I132之1/4突變體顯示無結合。同樣，在N42

之3/3突變體不結合於mAb4，且在I132之3/4突變體不結合於mAb5。

【0568】 另外，測試CD137同源物與mAb1之結合。mAb1能夠結合於小鼠CD137，但不結合於大鼠CD137，如**圖3B**中所示。為確定在小鼠CD137與大鼠CD137之間包含mAb1抗原決定基之殘基是否存在差異，將來自人類、食蟹獼猴、大鼠及小鼠之CD137同源物的胺基酸序列比對用於比較。包含mAb1抗原決定基之所有胺基酸殘基均存在於人類、食蟹獼猴及小鼠中，但不存在於大鼠中。人類CD137序列之離胺酸114 (K114)以及食蟹獼猴及小鼠CD137序列中之相應離胺酸為大鼠CD137序列中之麩胺酸(E)，進一步表明人類CD137序列之K114為mAb1之關鍵結合殘基中之至少一者。

【0569】 **圖3C及3D**顯示與CD137L結合之人類CD137的晶體結構(Bitra A等人, J Biol Chem 2018, 293(26):9958-9969)，其中殘基E111、T113、K114及P135顯示為球體。可以看出，此等殘基遠離以灰色顯示之CD137配體(CD137L)結合結構域。

【0570】

實例6：抗CD137抗體對小鼠免疫調節因子及CD8+ T細胞之效應

進一步分析實例1中產生之三種抗CD137抗體mAb1、mAb2及mAb3的功效。此等抗體為小鼠交叉反應性的且包含含有S228P突變之人類IgG4同型的恆定區以防止Fab改組。已知活體內刺激小鼠CD137信號傳導且引發抗腫瘤免疫之3H3單株抗體(Melero等人 (1997) Nature Medicine 3(6):682-685；Uno等人 (2006) Nature Medicine 12(6):693-696)用作比較物(BioXcell目錄號BE0239；批次號5926/1115)。值得注意的是，抗體3H3具有與烏瑞魯單抗(Bristol-Myers Squibb；CAS編號：934823-49-1)

類似的特性，其為一種靶向CD137之細胞外結構域，但不阻斷配體結合之完全人類IgG4-S228P促效性抗體。另外，抗大鼠IgG4用作同型對照(BioXcell目錄號BE0089；批次號5533/5679-316J1)。如所指示，在PBS中進行稀釋以達到每隻小鼠所需的劑量，注射體積為100 μL。

【0571】 在第0、3、6天向非腫瘤攜帶雌性Balb/c小鼠腹膜內投與抗體(100 μg)，且在第9天收穫脾臟。藉由流動式細胞測量術量測CD8+CD44+ T細胞上PD-1及TIGIT之表現量。具體而言，藉由機械破碎且通過40 μm細胞過濾器獲得來自脾臟之單細胞懸浮液。使用ACK緩衝液溶解紅血球。細胞懸浮液用以下抗體染色：CD45 (純系30-F11，eBioscience)、CD8 (純系53-6.7，BD Biosciences)、CD4 (純系RM-45，BD Biosciences)、CD44 (純系IM7，eBioscience)、PD-1 (RMP1-30，eBioscience)及TIGIT (GIGD7，eBioscience)。在MACSQuant Analyzer流式細胞儀(Milenyi)上進行資料獲取，且使用FlowJo軟體版本10分析資料。

【0572】 抗體3H3引起PD-1及TIGIT之表現顯著增加，而與mAb2及mAb3相比，僅抗體mAb1表現增加(**圖4A及4B**)。另外，藉由分析脾CD45+細胞之百分比或每個脾臟之CD8+ T細胞數目來評定CD8+ T細胞之擴增。類似地，抗體3H3引起CD8+ T細胞之最高擴增，mAb1相對於mAb2及mAb3導致最高水準之CD8+ T細胞擴增(**圖4C**)。因此，選擇mAb1用於進一步測試。

【0573】

實例7：抗CD137抗體在負載腫瘤小鼠中之功效

鑒於mAb1增強CD8+ T細胞擴增之能力，如實例6中所示，使用同基

因型結腸癌之皮下模型進一步分析mAb1的抗腫瘤活性。具體而言，將CT26腫瘤細胞(第3代)維持在無菌條件下之DMEM培養基(Gibco目錄號11965-092)中，該培養基含有10% 56℃加熱不活化之FBS (Gibco 10438-034)、1 mM丙酮酸鈉(Gibco目錄號11360-070)、1× NEAA (Gibco目錄號11140-050)及1× MEM維生素溶液(Gibco目錄號11120-052)。將細胞維持在37℃及5% CO_2下。在達到50-70%匯合後，在活體內植入之前，將細胞以1:10之比率繼代，總共繼代兩次。收穫細胞且使用血球計(Hausser Scientific Bright-Line #1492)計數。

【0574】 Balb/c雌性小鼠購自Charles River Laboratories且在研究開始時為9週齡。將CT26腫瘤細胞(每隻小鼠1×10^5個細胞，在0.1 mL PBS中)皮下注射至各小鼠之右側腹中，且每週兩次使用刻度測徑規計算腫瘤體積(長度*(寬度^2)/2)。在腫瘤接種後第7天，將動物分成八組，且開始處理。在研究期間每週記錄三次體重。

【0575】 mAb1以三種不同劑量(100、50或25微克/小鼠)投與，3H3以兩種不同劑量(50或10微克/小鼠)投與且同型對照抗體以50微克/小鼠之劑量投與。所有小鼠在第0、3、6及9天腹膜內給藥。

【0576】 對於mAb1及3H3抗體，活體內證實腫瘤中CD8+ T細胞之擴增(資料未展示)。各個腫瘤體積顯示於**圖5A**中且平均腫瘤體積顯示於**圖5B**中。在所有三種劑量下，與對照組相比，mAb1處理導致腫瘤生長之抑制。此外，用mAb1處理導致在25 μg劑量下8隻小鼠中之6隻，在50 μg劑量下8隻小鼠中之5隻及在100 μg劑量下8隻小鼠中之3隻完全消退。

【0577】 各處理組之總存活率顯示於**圖5C**中。mAb1針對CT26腫瘤之強抗腫瘤活性反映為延長的總存活期。在25 μg劑量下80%之小鼠、在

50 μg劑量下62%之小鼠及在100 μg劑量下38%之小鼠觀察到長期存活(>60天)。

【0578】 在第70天無可觸知腫瘤之小鼠視為治癒的且在相對側腹皮下注射CT26細胞再攻擊。具體而言，在腫瘤根除之小鼠的左側腹再次注射1×10^5個CT26細胞，且每週兩次使用刻度測徑規計算腫瘤體積(長度*(寬度^2)/2)。分別以與對照相同的方式注射五隻未免疫(初始)小鼠。再攻擊實驗之結果顯示於**圖5D**中。皮下注射CT26細胞後22天，再攻擊之小鼠均未形成腫瘤。相反，所有注射相同細胞之初始小鼠均形成腫瘤。因此，所有視為治癒之小鼠均排斥CT26腫瘤，表明mAb1可誘導長期保護性記憶。

【0579】

實例8：親和力成熟之抗CD137抗體在負載腫瘤小鼠中之功效

基本上如實例7中所述，使用同基因型結腸癌(CT26)之相同皮下模型分析實例4中產生之親和力成熟之單株抗體的抗腫瘤活性。具體而言，產生具有IgG4恆定區之6個親和力成熟的純系(mAb7-mAb12)且進行相應測試。重鏈及輕鏈可變區之序列連同其對小鼠CD137 (藉由ForteBio Octet測定，描述於實例2中)及人類CD137 (藉由Carterra測定,描述於實例4中)之K_D值提供於下表中。

抗體	**V_H鏈**	**V_L鏈**	**與小鼠CD137結合之K_D (nM)**	**與人類CD137結合之K_D (nM)**
mAb7	SEQ ID NO: 8	SEQ ID NO: 6	4	6
mAb8	SEQ ID NO: 101	SEQ ID NO: 6	72	3.2
mAb9	SEQ ID NO: 103	SEQ ID NO: 6	50	80
mAb10	SEQ ID NO: 26	SEQ ID NO: 6	3	23
mAb11	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 28	7	5
mAb12	SEQ ID NO: 4	SEQ ID NO: 105	60	22

【0580】 親本mAb1、3H3抗體(資料未展示)及IgG4同型抗體用作對

照。在第0、3、7及10天，所有小鼠腹膜內給與50 μg mAb/小鼠。在療法開始後第13天收穫脾臟及肝臟。

【0581】 各個腫瘤體積顯示於**圖6A**中且平均腫瘤體積顯示於**圖6B**中。與實例7之結果一致，用親本mAb1處理導致腫瘤體積減小。另外，與用同型對照抗體處理之小鼠相比，向負載腫瘤小鼠投與源自mAb1之所有親和力成熟的純系(mAb7-mAb12)導致腫瘤生長之抑制。

【0582】

實例9：抗CD137抗體對負載腫瘤小鼠之T細胞的效應

為確定抗CD137抗體(亦即3H3及mAb1)對負載腫瘤小鼠之T細胞含量的效應，如實例7中所述具有CT26腫瘤之Balb/c小鼠在第0天及第3天腹膜內注射抗體，且在第7天收穫組織。mAb1以三種不同劑量(100、50或25微克/小鼠)投與，3H3以兩種不同劑量(50或10微克/小鼠)投與且同型對照抗體以50微克/小鼠之劑量投與。

【0583】 如實例6中所述獲得來自脾臟之單細胞懸浮液，且使用腫瘤解離套組(Miltenyi目錄號130-096-730)藉由酶促及機械消化獲得腫瘤細胞懸浮液。細胞懸浮液用完全培養基處理以使酶不活化，且隨後通過40 μm細胞過濾器。使用ACK緩衝液溶解紅血球。細胞用針對CD45、CD8及CD4之抗體染色，且如實例6中所述進行分析。

【0584】 **圖7**以CD45+細胞之百分比形式顯示在脾臟及腫瘤中發現之CD4+及CD8+ T細胞的數目。此等結果表明，與脾CD8+ T細胞相比，mAb1選擇性擴增腫瘤浸潤性CD8+ T細胞。

【0585】

實例10：CD4+、CD8+或NK淋巴細胞耗竭對活體內抗CD137抗體之抗腫

瘤功效的效應

為評定抗CD137抗體之作用機制，如實例7中所述具有CT26腫瘤之Balb/c小鼠腹膜內注射mAb1單獨或與抗CD4 (GK1.5)、抗CD8 (YTS169.4)或抗脫唾液酸GM1 (靶向NK細胞)抗體之組合，以消耗動物之此等特定淋巴細胞亞群。僅用mAb1抗體處理之小鼠在第6、9、12、19及26天投與150 μg抗體。用150 μg mAb1與500 μg抗CD4、抗CD8或50 uL抗脫唾液酸GM1抗體之組合處理的小鼠在第-1、0、5、10、15及20天投與。藉由FACS分析確認有效消耗(資料未展示)。

【0586】 個體腫瘤體積顯示於**圖8**中。與實例7之結果一致，用親本mAb1處理導致腫瘤體積減小。另外，投與mAb1與消耗淋巴細胞之抗CD4、抗CD8或抗脫唾液酸GM1抗體之組合降低mAb1抗體之抗腫瘤活性。此等結果表明本文所述之抗CD137抗體的抗腫瘤功效在先天性及適應性免疫之間的協作。

【0587】

實例11：抗CD137抗體在各種腫瘤模型中之抗腫瘤功效

為確定抗CD137抗體在不同腫瘤模型中是否具有抗腫瘤功效，將mAb8投與具有CT26腫瘤(結腸癌；如上所述)、EMT-6腫瘤(乳癌)、A20腫瘤(B細胞淋巴瘤)或MC38腫瘤(結腸癌)之小鼠。

【0588】 對於所有腫瘤模型，雌性小鼠購自Charles River Laboratories且在研究開始時為7至9週齡。對於各腫瘤類型，使用適當的同基因型小鼠品系(Balb/c用於CT26、EMT-6及A20；C57BL/6用於MC38)。將EMT6腫瘤細胞(每隻小鼠5×10^4)個細胞，在0.05 mL PBS中)注射至各小鼠之右乳脂肪墊中。將CT26腫瘤細胞(每隻小鼠1×10^5個細

胞)、A20腫瘤細胞(每隻小鼠5×10^6個細胞)及MC38腫瘤細胞(每隻小鼠5×10^5個細胞)皮下注射至各小鼠之右側腹中，每週兩次使用刻度測徑規計算腫瘤體積(長度*(寬度^2)/2)。在達到50至100 mm^3大小的腫瘤後，將小鼠隨機分組以接受mAb8或同型對照(第0天)。具有正視EMT6腫瘤之小鼠在第0、3、6及9天接受12.5 μg。具有A20 (200 μg/小鼠)及MC38 (12.5 μg/小鼠)腫瘤之小鼠每週接受5次劑量。所有小鼠腹膜內給藥。

【0589】 如**圖9**所示，mAb8在所有四種測試的腫瘤模型中均有效，表明對於不同癌症類型具有廣泛的功效。用mAb8處理導致攜帶8/8 CT26、3/8 EMT6、5/8 A20腫瘤之小鼠的腫瘤消退，且在大部分攜帶EMT6、A20及MC38之剩餘小鼠中延遲生長。

【0590】

實例12：抗CD137抗體之劑量效應

為進一步表徵抗CD137抗體之抗腫瘤功效，基本上如實例7中所述，使用同基因型結腸癌(CT26)之相同皮下模型進行劑量研究。具體而言，親本mAb1及親和力成熟之抗體mAb8及mAb10在第0、3、6及9天以每隻小鼠150 μg (高劑量)或20 μg (低劑量)之劑量腹膜內投與，每個處理組8隻小鼠。一組小鼠(n=8)以150 μg之劑量投與IgG4同型對照。

【0591】 以150 μg處理之小鼠的個體腫瘤體積、平均腫瘤體積及存活百分比分別顯示於**圖10A、圖10B及圖10C**中。以20 μg處理之小鼠的個體腫瘤體積、平均腫瘤體積及存活百分比分別顯示於**圖11A、圖11B及圖11C**中。此等結果表明，用親本mAb1及親和力成熟之mAb8及mAb10抗體處理導致腫瘤體積減小以及小鼠在高劑量及低劑量下之存活率增加。

【0592】 在利用CT26腫瘤模型之另一劑量研究中，測試額外劑量之

親本mAb1。具體而言，mAb1以如下劑量腹膜內投與：12.5 μg、25 μg、50 μg、100 μg及200 μg。**圖12**顯示劑量研究之結果，表明在寬劑量範圍內之功效。用mAb1處理導致各劑量中至少3/8小鼠的腫瘤消退，其中最佳劑量範圍(50至100 μg/小鼠)導致7/8小鼠根除腫瘤。

【0593】

實例13：Fc-受體結合對抗CD137抗體之抗腫瘤功效的效應

為確定Fc-受體結合對抗CD137抗體之抗腫瘤活性的貢獻，產生去糖基化之IgG1及IgG4型式的mAb1。如實例7中所述在小鼠中建立CT26腫瘤。小鼠接受150 ug (a)同型對照；(b)呈IgG4形式之mAb1；(c)呈IgG4形式之去糖基化mAb1；或(d)呈IgG1形式之去糖基化mAb1。

【0594】 如**圖13A及13B**中所示，與mAb1相比，親本mAb1抗體之去糖基化IgG4及IgG1同型對腫瘤體積之效應降低。然而功效未完全消除。因此，此等結果表明，雖然mAb1之抗腫瘤功效並非完全Fc依賴性的，但其藉由Fc受體結合而增強。

【0595】

實例14：抗CD137抗體之種間交叉親和力

進一步測試抗CD137抗體與來自多個物種之CD137的結合。具體而言，分析mAb1、mAb8及mAb10與人類、小鼠、食蟹獼猴及犬類CD137之結合。在Octet HTX (ForteBio)上在動力學緩衝液(1×PBS pH 7.4，0.1 mg/ml BSA及0.002% Tween 20)中進行動力學實驗。將加Fc、小鼠IgG2a或His標籤之CD137 (人類、小鼠、食蟹獼猴或犬類)分別裝載於預水合之生物感測器、AHC、AMC或NTA上5分鐘。隨後將感測器浸入Fab (0、5.12、12.8、32、80、200及500 nM)中進行5分鐘締合，接著進行15分鐘

解離。使用ForteBio Data Analysis 9.0分析結果且全局擬合至1:1結合模型以確定表觀K_D。藉由使用來自不同來源(ACRO Biosystems、Sino Biological及internal)之抗原確認人類及小鼠CD137結合之K_D。結果顯示於下表2中。

表2：種間交叉親和力

CD137之物種	mAb1	mAb8	mAb10
人類	50-70 nM	3-5 nM	0.9 nM
小鼠	300-500 nM	50-90 nM	10-30 nM
食蟹獼猴	30-100 nM	3-7 nM	1.8 nM
犬類	擬合不良	擬合不良	擬合不良

【0596】

實例15：腫瘤大小對抗CD137抗體之抗腫瘤功效的效應

為進一步表徵抗CD137抗體之抗腫瘤功效，評定針對大腫瘤之抗腫瘤功效。在處理之前使CT26腫瘤生長至約500mm^3。親本mAb1及親和力成熟之mAb8及mAb10抗體在腫瘤建立後第0、3、6及9天以150 μg/小鼠(n=6隻小鼠/處理組)投與。IgG4同型對照抗體用作比較物。

【0597】 如**圖14A至14C**所示，親本mAb1以及親和力成熟之mAb8及mAb10相對於同型對照減小腫瘤體積(**圖14A至14B**)且增加小鼠存活率(**圖14C**)。與mAb1及mAb10相比，mAb8產生顯著更大的抗腫瘤功效。除在第0、7及14天投與25 μg抗體之外，藉由使用相同研究設計比較mAb8及3H3針對大腫瘤之功效來進行另一研究。**圖14D**提供結果，顯示3H3對大腫瘤無功效，而mAb8誘導腫瘤消退。

【0598】 如實例14中所述，mAb8對小鼠CD137之親和力與mAb1對人類CD137之親和力相當。雖然本發明不受任何特定理論或作用機制束縛，但咸信具有中等親和力之促效劑抗CD137抗體可能甚至更有用於治療

癌症。

【0599】 在第70天無可觸知腫瘤之小鼠視為治癒的且在相對側腹皮下注射CT26細胞再攻擊。具體而言，在腫瘤根除之小鼠的左側腹再次注射1×10^5個CT26細胞，且每週兩次使用刻度測徑規計算腫瘤體積(長度*(寬度^2)/2)。分別以與對照相同的方式注射五隻未免疫(初始)小鼠。再攻擊實驗之結果顯示於**圖15**中。皮下注射CT26細胞後八十天，再攻擊之小鼠均未形成腫瘤。相反，所有注射相同細胞之初始小鼠均形成腫瘤。因此，所有視為治癒之小鼠均排斥CT26腫瘤，表明mAb1可誘導長期保護性記憶免疫。

【0600】

實例16：抗CD137抗體在負載腫瘤小鼠中之毒性

為確定抗CD137抗體(亦即3H3及mAb1)對負載腫瘤小鼠肝內T細胞含量之效應，分析實例7之小鼠。收集肝淋巴細胞且經由流動式細胞測量術分析。具體而言，使用肝臟解離套組(Miltenyi目錄號130-105-807)及溫和的MACS解離劑(Miltenyi)獲得來自肝臟之單細胞懸浮液。細胞懸浮液用完全培養基處理以使酶不活化，且隨後通過40 μm細胞過濾器。使用ACK緩衝液溶解紅血球。細胞用針對CD45、CD8及CD4之抗體染色，且如實例3中所述進行分析。

【0601】 **圖16A及16B**以CD45+細胞之百分比形式顯示經處理之小鼠的肝臟中發現的CD4+及CD8+ T細胞之數目。結果表明mAb1不誘導肝內T細胞之浸潤，證明相對於抗體3H3之毒性較低。

【0602】

實例17：親和力成熟之抗CD137抗體在負載腫瘤小鼠中之毒性

為評定由抗CD137抗體(亦即3H3、mAb1及mAb7-mAb12)介導之毒性相關效應，在抗體投與後分析來自實例8之負載腫瘤小鼠之脾臟及肝臟的細胞組成。

【0603】 收集來自實例8之負載腫瘤小鼠地肝內(肝)及脾內(脾) T細胞且經由流動式細胞測量術分析。如所指示，在投與抗CD137抗體或同型對照抗體後，評定來自肝臟及脾臟之CD45+細胞的CD3+、CD4+或CD8+表現。結果顯示於**圖17A** (脾)及**17B** (肝)中。結果表明，相對於同型對照抗體之投與，親本mAb1以及親和力成熟之抗體(mAb7-mAb12)的投與對肝內或脾內T細胞之百分比幾乎沒有效應。相反，相對於同型對照抗體，特別是CD3+ T細胞及CD8+ T細胞，投與3H3抗體導致脾臟及肝臟中之T細胞升高。

【0604】 另外，在投與抗CD137抗體或同型對照抗體後，評定來自經處理小鼠之肝臟及脾臟的CD45+ CD8+ T細胞及CD45+CD4+ T細胞的TIGIT、PD-1或LAG-3共抑制受體的表現，作為T細胞活化或耗竭的指標。如先前實例中所述，藉由流動式細胞測量術量測CD8+ T細胞及CD4+ T細胞上TIGIT、PD-1及LAG-3之表現量。**圖18A-18B及19A-19B**顯示3H3抗體之投與引起CD8+ T細胞及CD4+ T細胞中此等共抑制受體表現的顯著增加，而親本mAb1或親和力成熟之mAb7-mAb12抗體的投與導致TIGIT、PD-1或LAG-3之表現達到與同型對照抗體投與後所見類似的程度。此等結果表明親和力成熟之抗體不誘導系統性CD8+ T細胞或CD4+ T細胞活化。

【0605】 總之，此等結果表明親本mAb1及親和力成熟之mAb7-mAb12抗體相對於3H3比較抗體展現較低的活體內毒性可能性。在用

mAb1及親和力成熟之mAb7-mAb12抗體處理後，缺乏系統性T細胞活化及擴增，特別是在肝臟中，可能解釋為患者肝毒性(轉胺酶升高)之可能性較低。

【0606】

實例18：多劑量之抗CD137抗體在負載腫瘤小鼠中的毒性

為證實不存在由mAb1誘導之毒性，進行重複劑量毒性研究。具體而言，每週向小鼠投與抗CD137抗體mAb1、mAb8或3H3，持續4週。mAb1及mAb8以10、20、40或80 mg/kg投與，而3H3以10或80 mg/kg投與。在第35天，根據製造商說明書，使用螢光活性分析(Sigma，目錄號MAK052)測定血漿中之丙胺酸胺基轉胺酶(ALT)含量，使用流動式細胞測量術(如上所述)測定肝臟中之CD8+ T細胞，且使用電化學發光分析(Meso Scale Discovery，自定義套組)測定血漿中TNFα之濃度。

【0607】 **圖20A**顯示在所有4個劑量下投與mAb1及mAb8之小鼠肝臟中的CD8+ T細胞含量低，而3H3在低(10 mg/kg)及高(80 mg/kg)劑量下誘導高CD8+ T細胞含量 **圖20B**顯示在所有4個劑量下投與mAb1及mAb8之小鼠血漿中的ALT活性水準低，而3H3在80 mg/kg劑量下誘導高水準之ALT。**圖20C**顯示在低(10 mg/kg)及高(80 mg/kg)劑量下投與mAb1 mAb8之小鼠血漿中的TNFα含量低，而3H3在低(10 mg/kg)及高(80 mg/kg)劑量下誘導高TNFα含量。

【0608】 另外，將來自接受80 mg/kg抗CD137促效性抗體之經處理小鼠的肝臟切片且用H&E染色。將各動物之一半肝葉包埋於OCT中且在液氮中新鮮冷凍。切片及H&E染色係由組織病理學實驗室(Mass Histology Service, Inc)根據標準程序進行。**圖21**提供結果，其顯示接受

3H3 (參見箭頭)而非mAb1或親和力成熟之mAb1之小鼠的炎性小葉中心灶。

【0609】

實例19：使用抗CD137抗體之免疫再程式化

為確定抗CD137抗體在腫瘤微環境中對免疫細胞之作用，利用CT26腫瘤模型。具體而言，如實例7中所述建立CT26腫瘤。mAb8在第0、3、6及9天以25 ug之劑量投與小鼠。如實例16中所述，在第11天分析腫瘤。

【0610】 藉由量測CD45+活細胞之數量來確定免疫細胞向腫瘤微環境中之總體浸潤。如**圖22A**所示，mAb8顯著增加免疫細胞向腫瘤微環境中之浸潤。

【0611】 藉由量測CD25+ FOXP-3+ CD4+腫瘤浸潤性淋巴細胞之數量來確定腫瘤微環境中Treg細胞之含量。如**圖22B**所示，mAb8顯著降低腫瘤微環境中之Treg含量。

【0612】 藉由量測CD8+或CD4+腫瘤浸潤性淋巴細胞(TIL)上之PD-1+TIGIT+表現量來確定mAb8對T細胞耗竭之效應。**圖22C**顯示CD8+ TIL之結果，其中當投與mAb8時，PD-1+TIGIT+細胞在腫瘤微環境中減少。對於CD4+ TIL觀察到類似結果(資料未展示)。此等結果表明mAb8保護及/或逆轉T細胞耗竭。

【0613】 另外，分析mAb8對腫瘤相關巨噬細胞之效應。具體而言，量測F4/80+CD11b+CD45+細胞且用mAb8處理觀察到腫瘤相關巨噬細胞之減少。

【0614】 在另一項研究中，評定抗CD137抗體(亦即mAb1及3H3)對外周免疫細胞之效應。具體而言，在第7天分析在第0天及第3天以150 ug

之劑量用mAb1或3H3處理之負載CT26腫瘤之小鼠的脾臟。如**圖23**所示，抗CD137抗體3H3誘導CD8+及CD4+ T細胞上之TIGIT及PD-1表現以及增加CD8+CD25+及CD4+Foxp3+細胞。另外，3H3誘導CD8+及CD4+效應記憶細胞。相反，抗CD137抗體mAb1不顯著誘導CD8+TIGIT+PD-1+、CD8+CD25+及CD4+Foxp3+ T細胞。另外，mAb1不誘導CD8+或CD4+效應記憶細胞。

【0615】 總體而言，此等結果表明抗CD137抗體mAb1及mAb8在腫瘤微環境內誘導顯著的免疫再程式化，且對外周免疫細胞具有較小的效應(若存在)。

【0616】

實例20：藉由抗CD137抗體增強鼠類T細胞活化

抗CD137抗體之促效活性係藉由在鼠類卵白蛋白刺激分析中評定IL-2產生之刺激來進一步分析。在96孔盤中，將JAWS-II樹突狀細胞樣細胞以10^4個細胞/孔塗覆且在鼠類IFNγ (10 ng/mL)存在下培育隔夜。細胞與2 μg/mL OVA/A2肽一起培育且在37℃下培育2小時，隨後與自OT-I小鼠脾臟分離之10^5個CD8+ T細胞一起培育，其表現OVA。同時添加抗體。阿特珠單抗(抗PD-L1抗體)及小鼠抗PD-1抗體(RMP1-14)連同IgG4同型對照用作比較物。藉由Meso Scale Discovery (MSD)測定IL-2濃度。

【0617】 如**圖24**所示，mAb8及mAb10顯著增強IL-2產生。

【0618】 除量測IL-2產生之外，使用相同鼠類卵白蛋白刺激分析分析CD25+CD8+ T細胞及TIGIT+CD8+ T細胞之百分比。包括抗體3H3作為比較物。**圖25A及25B**顯示mAb8及mAb10增強CD25 (一種活化標記物)之表現，且不受TIGIT (一種耗竭標記物)之誘導。相反，3H3增強TIGIT

之表現。

【0619】

實例21：抗CD137抗體對細胞介素誘導之效應

為確定抗CD137抗體對由T細胞誘導細胞介素之效應，利用培養盤結合之抗體。三種抗體用作比較物：mAb4，對應於烏瑞魯單抗(Bristol-Myers Squibb；CAS編號：934823-49-1)，一種完全人類IgG4-S228P促效性抗體，其靶向CD137之細胞外結構域，但不阻斷配體結合；mAb5，對應於烏圖木單抗(Pfizer；CAS編號：1417318-27-4)，一種完全人類IgG2-S228P促效性抗體，其靶向CD137之細胞外結構域且阻斷配體結合；及mAb6，一種完全人類IgG4-S228P促效性抗體，選自與mAb1相同的文庫且靶向CD137之細胞外結構域。mAb6抗體不阻斷配體結合。

【0620】人類CD3+ T細胞係經由陰性選擇分離，且添加至與抗CD137抗體及1 μg/ml抗CD3結合之盤中。以1 nM、10 nM、50 nM或100 nM添加抗CD137抗體。抗體在4℃下塗佈隔夜。

【0621】在T細胞添加後72小時，按照製造商說明書，藉由Luminex套組(Luminex Corporation, Austin, TX)評定IL-2、IFNγ、TNFα及IL-13之含量。可溶性抗CD28 (2 μg/mL)用作T細胞活化對照，且使用培養盤結合之抗CD3設定活化基線。**圖26**顯示與活化基線相關之各細胞介素含量的倍數變化。mAb4 (烏瑞魯單抗)顯示各細胞介素之最高誘導水準，mAb1顯示較低水準之誘導，但相對於mAb5 (烏圖木單抗)及mAb6較高。此等結果表明，在相同濃度下，mAb1促效CD137不如mAb4 (烏瑞魯單抗)。

【0622】

實例22：藉由抗CD137抗體誘導干擾素γ (IFNγ)

為進一步評定抗CD137抗體之促效活性，在混合淋巴細胞反應(MLR)中分析IFNγ之產生。mAb2、mAb4 (烏瑞魯單抗)、mAb5 (烏圖木單抗)及Keytruda，一種阻斷PD-1 (Merck)且已知誘導IFNγ產生之人類化抗體，用作比較物。

【0623】自來源於三個獨立人類供體(D985、D7603及D5004)之leukopak (HemaCare, Van Nuys, CA)分離外周血液單核細胞(PBMC)。藉由使用免疫磁性細胞分離(EasySep™；Stemcell Technologies, Vancouver BC)之陰性選擇自PBMC富集總T細胞。使用免疫磁性細胞分離(EasySep™；Stemcell Technologies, Vancouver BC)自PBMC分離單核球。分別將T細胞以1×10^6個細胞/毫升濃度再懸浮於完全RPMI中，且將單核球調節至5×10^5個細胞/毫升。在96孔盤中，將100 µl含有T細胞之培養基以1×10^5個細胞/孔之密度塗覆，隨後添加100 µl單核球細胞懸浮液(E:T比為2:1)。接著，添加50 µl含有各種稀釋度之CD137抗體的培養基。培養盤在37℃下在CO_2培育箱中培育五天。在培育期結束時，收集培養物清液層且藉由MSD分析(Mesoscale Diagnostics, Rockville, MD)分析IFNγ含量。**圖27A至27C**顯示如所指示，在測試抗體之最終濃度下以pg/mL為單位之IFNγ的濃度。此等結果表明在相同濃度下，mAb1促效CD137不如mAb4 (烏瑞魯單抗)，但與mAb5 (烏圖木單抗)之程度類似。

【0624】在另一項研究中，藉由利用經工程改造以表現CD32(FCyRIIb)之CHO細胞(CHO-CD32細胞)量測IFNγ誘導。具體而言，在可溶性抗CD3及抗CD137抗體mAb1、mAb8、mAb4及mAb5存在下，將CHO-CD32細胞與人類T細胞共培養。

【0625】 將冷凍的PBMC融化且在T細胞培養基(TCM)中在潮濕的37℃ 5% CO2培育箱中靜置隔夜。第二天，用未接觸的CD3 T細胞分離套組(Stemcell # 17951)分離CD3+ T細胞，隨後與經轉導以表現人類CD32之CHO細胞(Gibco # A29127) (CHO-CD32)、250 ng/ml抗CD3 (純系OKT3)及抗CD137或對照抗體一起混合。將100,000個T細胞與50,000個CHO-CD32細胞一起混合。在37℃下培育3天後，收集清液層用於經由MesoScale Discovery (MSD)分析分泌的干擾素γ (IFNγ)。

【0626】 **圖28**提供結果，顯示mAb4在低劑量下誘導IFNγ達到最高含量。相反，mAb5幾乎不誘導IFNγ產物。值得注意的是，mAb1及mAb8提供劑量依賴性反應且誘導在mAb4及mAb5誘導之水準之間的IFNγ產生。總體而言，此等結果表明mAb4具有超促效劑活性，mAb5具有較弱活性，且mAb1及mAb8與mAb4及mAb5相比具有中間活性。

【0627】

實例23：抗CD137抗體對Treg細胞之效應

為進一步表徵抗CD137抗體之作用機制，確定抗體對Treg細胞之效應。使用EasySep™人類CD4+CD127lowCD25+調節性T細胞分離套組(Stemcell Technologies，目錄號18063)分離人類Treg，且藉由在具有10% FBS之完全T細胞培養基中免疫培養抗CD3/28 (Stemcell # 10971)而擴增13天。具體而言，將實例21中描述之CHO-CD32細胞與擴增的人類Treg細胞共培養，其在可溶性抗CD3 (純系OKT3)及抗CD137抗體mAb1、mAb8、mAb4、mAb5及同型對照存在下用Cell-trace紫色染料(Thermo Fisher，目錄號C34557)標記。在第4天測定Treg細胞之增殖。

【0628】 **圖29**提供結果，顯示即使在低濃度下，mAb4仍強烈誘導

Treg增殖。相反，mAb5對Treg增殖具有非常弱的效應。值得注意的是，mAb1及mAb8顯示Treg增殖之中度增加。總體而言，此等結果證實mAb4具有超促效劑活性，mAb5具有弱活性，且mAb1及mAb8具有中間活性。

【0629】

實例24：抗CD137抗體對胞內信號傳導之效應

為進一步評定抗CD137促效性抗體之間的差異，活體外評定胞內信號傳導。具體而言，用250 ng/mL培養盤結合之抗CD3 (純系OKT3)連同不同濃度之培養盤結合之mAb1、mAb8、mAb4、mAb5及同型對照刺激慢病毒轉染有NFkβ (Qiagen；目錄號CLS-013L-1)或SRF (Qiagen；目錄號CLS-010L-1)之CCL-119 T細胞(ATCC；目錄號ATCC CCL-119)。在不含添加劑之RPMI培養基中刺激16小時後，將細胞溶解於螢光素酶緩衝液(Promega；目錄號E263B)中，且在BioTek Synergy H1微量盤讀取器(目錄號11-120-533)上獲得相對光單位(RLU)。隨後將原料RLU資料導出至Microsoft Excel，且藉由將RLU除以未刺激對照之刺激條件來計算倍數誘導。

【0630】 **圖30**提供結果，顯示mAb4及mAb5相對於mAb1及其親和力成熟變體mAb8的最小NFkβ及SRF活性。總體而言，此等結果表明mAb1以與mAb4及mAb5不同的方式誘導胞內信號傳導。

【0631】

實例25：抗CD137抗體對巨噬細胞活化及分化之效應

先前已表明，抗mCD137促效性抗體3H3誘導之肝毒性與肝臟中巨噬細胞及CD8+ T細胞的擴增以及血清中細胞介素含量及ALT活性的增加相關聯。另外，抗體3H3已表徵為具有與烏瑞魯單抗類似的特性。如本文所

述，mAb1不誘導肝毒性。因此，分析抗CD137促效性抗體對活體外巨噬細胞活化之效應。

【0632】具體而言，自10週齡雌性C57BL/6小鼠(Charles River Laboratories)建立鼠類骨髓來源的小鼠巨噬細胞。自小鼠之肌肉組織提取股骨及脛骨，且用PBS將骨髓沖洗至冰上的15 mL錐形管中。將細胞以1500 rpm離心5分鐘且棄去清液層。破碎細胞集結粒且添加培養基(RPMI，20% FBS，50 μg/mL M-CSF (Shenandoah Biotechnology, Inc.；目錄號200-08-100)及pen/strep)。將細胞在40微米篩網過濾器上過濾且塗覆至非組織培養物處理之培養皿中。3天後，將10 mL培養基添加至各皮氏培養皿中。在培養的第7天，移除培養基且用PBS (10 mL)洗滌細胞兩次。向各培養皿中添加MACS緩衝液(PBS，2 μM EDTA及0.5% FBS)，且在37℃下培育10分鐘。自培養皿收集細胞且以1500 rpm離心5分鐘。隨後，在50 nm 抗CD137抗體mAb1、3H3或LOB12.3 (小鼠特異性CD137促效劑抗體)存在下，用TLR9促效劑CpG刺激此等骨髓來源的巨噬細胞。根據製造商的說明書，使用電化學發光分析(Meso Scale Discovery，自定義套組)在48小時後自培養清液層評定鼠類骨髓來源的巨噬細胞產生IL-6、TNFα及IL-27。**圖31**提供的結果表明mAb1不誘導巨噬細胞分泌促炎性細胞介素，而抗體3H3及LOB12.3誘導。

【0633】藉由使用抗CD14微珠(Miltenyi Biotech，目錄號130-050-201)磁性分離$CD14^+$細胞且在50 ng/mL m-CSF存在下成熟7天來產生人類單核球來源的巨噬細胞。隨後，在5 nm 抗CD137抗體mAb1、mAb4或mAb5存在下，用10 ng/mL LPS刺激人類單核球來源的巨噬細胞。根據製造商的說明書，使用電化學發光分析(Meso Scale Discovery，自定義套

組)在48小時後評定TNFα之產生。**圖32**提供之結果表明mAb4及mAb5誘導巨噬細胞活化顯著高於mAb1。

【0634】 另外，將THP1單核球用2 μM佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(PMA；Sigma；P1585)分化成巨噬細胞隔夜。隨後在50 nm抗CD137抗體mAb1、mAb4或mAb5存在下培養巨噬細胞，且在48小時後使用流動式細胞測量術(APC抗人類CD64抗體純系10.1；BioLegend；目錄號305013)量測CD64表現。**圖33**提供之結果表明mAb4及mAb5誘導巨噬細胞分化顯著高於mAb1。

【0635】 雖然本發明不受任何特定理論或作用機制束縛，但總體而言，此等結果表明mAb1由於巨噬細胞活化之可能性降低而免於肝毒性。

【0636】

實例26：藉由抗CD137促效性抗體活體內擴增人類CD8+ T細胞

為活體內測試CD137促效性抗體對人類細胞之效應，將人類PBMC (7×10^6)靜脈內注射至免疫功能不全之NSG小鼠(NOD.Cg-*Prkdc*^{scid} *Il2rg*^{tm1Wjl}/SzJ；Jackson Laboratory；目錄號005557)。將小鼠隨機分成8組，且在第0、7及14天接受CD137抗體(200 μg/小鼠)或媒劑對照。在第10、20及29天收集各小鼠之外周血以便使用流動式細胞測量術確定人類CD45$^+$ (FITC抗人類CD45純系HI30；BioLegend；目錄號304038)、CD8$^+$ (Alexa Fluor® 647抗人類CD8a純系HIT8a；BioLegend；目錄號300918)及CD4$^+$ (APC-Cy7抗人類CD4純系RPA-T4；Bd；目錄號557871)移植。

【0637】 **圖34A-34C**顯示在以人類CD4+ T細胞為代價接受mAb4之小鼠中hCD45$^+$細胞數目及人類CD8+ T細胞全身性過度擴增的總體增加。

值得注意的是，mAb1不誘導人類T細胞之過度活化。降低mAb1活化人類T細胞之可能性可能有助於降低毒性之可能性。

表3：抗體組合表

V_H	V_L	V_H CDR			V_L CDR		
		CDR1	CDR2	CDR3	CDR1	CDR2	CDR3
4	6	48	56	68	69	78	89
4	28	48	56	68	70	79	90
4	30	48	56	68	71	80	91
4	32	48	56	68	72	81	92
4	34	48	56	68	73	82	91
4	36	48	56	68	74	83	93
4	38	48	56	68	75	84	91
4	40	48	56	68	74	85	94
4	42	48	56	68	76	86	95
4	44	48	56	68	77	87	93
4	46	48	56	68	69	88	90
4	105	48	56	68	109	110	92
8	6	49	57	68	69	78	89
10	6	49	58	68	69	78	89
12	6	49	59	68	69	78	89
14	6	49	60	68	69	78	89
16	6	50	61	68	69	78	89
18	6	50	58	68	69	78	89
20	6	51	62	68	69	78	89
22	6	52	63	68	69	78	89
24	6	50	64	68	69	78	89
26	6	50	65	68	69	78	89
101	6	51	108	68	69	78	89
103	6	107	56	68	69	78	89
8	28	49	57	68	70	79	90
8	30	49	57	68	71	80	91
8	32	49	57	68	72	81	92
8	34	49	57	68	73	82	91
8	36	49	57	68	74	83	93
8	38	49	57	68	75	84	91
8	40	49	57	68	74	85	94
8	42	49	57	68	76	86	95
8	44	49	57	68	77	87	93

8	46	49	57	68	69	88	90
8	105	49	57	68	109	110	92
10	28	49	58	68	70	79	90
10	30	49	58	68	71	80	91
10	32	49	58	68	72	81	92
10	34	49	58	68	73	82	91
10	36	49	58	68	74	83	93
10	38	49	58	68	75	84	91
10	40	49	58	68	74	85	94
10	42	49	58	68	76	86	95
10	44	49	58	68	77	87	93
10	46	49	58	68	69	88	90
10	105	49	58	68	109	110	92
12	28	49	59	68	70	79	90
12	30	49	59	68	71	80	91
12	32	49	59	68	72	81	92
12	34	49	59	68	73	82	91
12	36	49	59	68	74	83	93
12	38	49	59	68	75	84	91
12	40	49	59	68	74	85	94
12	42	49	59	68	76	86	95
12	44	49	59	68	77	87	93
12	46	49	59	68	69	88	90
12	105	49	59	68	109	110	92
14	28	49	60	68	70	79	90
14	30	49	60	68	71	80	91
14	32	49	60	68	72	81	92
14	34	49	60	68	73	82	91
14	36	49	60	68	74	83	93
14	38	49	60	68	75	84	91
14	40	49	60	68	74	85	94
14	42	49	60	68	76	86	95
14	44	49	60	68	77	87	93
14	46	49	60	68	69	88	90
14	105	49	60	68	109	110	92
16	28	50	61	68	70	79	90
16	30	50	61	68	71	80	91
16	32	50	61	68	72	81	92
16	34	50	61	68	73	82	91
16	36	50	61	68	74	83	93
16	38	50	61	68	75	84	91

16	40	50	61	68	74	85	94
16	42	50	61	68	76	86	95
16	44	50	61	68	77	87	93
16	46	50	61	68	69	88	90
16	105	50	61	68	109	110	92
18	28	50	58	68	70	79	90
18	30	50	58	68	71	80	91
18	32	50	58	68	72	81	92
18	34	50	58	68	73	82	91
18	36	50	58	68	74	83	93
18	38	50	58	68	75	84	91
18	40	50	58	68	74	85	94
18	42	50	58	68	76	86	95
18	44	50	58	68	77	87	93
18	46	50	58	68	69	88	90
18	105	50	58	68	109	110	92
20	28	51	62	68	70	79	90
20	30	51	62	68	71	80	91
20	32	51	62	68	72	81	92
20	34	51	62	68	73	82	91
20	36	51	62	68	74	83	93
20	38	51	62	68	75	84	91
20	40	51	62	68	74	85	94
20	42	51	62	68	76	86	95
20	44	51	62	68	77	87	93
20	46	51	62	68	69	88	90
20	105	51	62	68	109	110	92
22	28	52	63	68	70	79	90
22	30	52	63	68	71	80	91
22	32	52	63	68	72	81	92
22	34	52	63	68	73	82	91
22	36	52	63	68	74	83	93
22	38	52	63	68	75	84	91
22	40	52	63	68	74	85	94
22	42	52	63	68	76	86	95
22	44	52	63	68	77	87	93
22	46	52	63	68	69	88	90
22	105	52	63	68	109	110	92
24	28	50	64	68	70	79	90
24	30	50	64	68	71	80	91
24	32	50	64	68	72	81	92

24	34	50	64	68	73	82	91
24	36	50	64	68	74	83	93
24	38	50	64	68	75	84	91
24	40	50	64	68	74	85	94
24	42	50	64	68	76	86	95
24	44	50	64	68	77	87	93
24	46	50	64	68	69	88	90
24	105	50	64	68	109	110	92
26	28	50	65	68	70	79	90
26	30	50	65	68	71	80	91
26	32	50	65	68	72	81	92
26	34	50	65	68	73	82	91
26	36	50	65	68	74	83	93
26	38	50	65	68	75	84	91
26	40	50	65	68	74	85	94
26	42	50	65	68	76	86	95
26	44	50	65	68	77	87	93
26	46	50	65	68	69	88	90
26	105	50	65	68	109	110	92
101	28	51	108	68	70	79	90
101	30	51	108	68	71	80	91
101	32	51	108	68	72	81	92
101	34	51	108	68	73	82	91
101	36	51	108	68	74	83	93
101	38	51	108	68	75	84	91
101	40	51	108	68	74	85	94
101	42	51	108	68	76	86	95
101	44	51	108	68	77	87	93
101	46	51	108	68	69	88	90
101	105	51	108	68	109	110	92
103	28	107	56	68	70	79	90
103	30	107	56	68	71	80	91
103	32	107	56	68	72	81	92
103	34	107	56	68	73	82	91
103	36	107	56	68	74	83	93
103	38	107	56	68	75	84	91
103	40	107	56	68	74	85	94
103	42	107	56	68	76	86	95
103	44	107	56	68	77	87	93
103	46	107	56	68	69	88	90
103	105	107	56	68	109	110	92

表4：序列表

SEQ ID NO	描述	序列
1	人類IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
2	人類IgG4突變體(S228P/C端K截短)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCP**P**CPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYT LPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSLG
3	人類CD137(寄存編號NP_001552)	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICS PCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGF HCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTN CSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHS PQIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFMR PVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL
4	V_H1胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
5	V_H1核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACTTTTAGTTC GTATGCAATGTCGTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGAGTGCTATTTCCGGCTCTGGCGGATCTACCTATTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
6	V_L1胺基酸序列	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGH LFPITFGGGTKVEIK
7	V_L1核酸序列	GATATTCAGATGACACAGAGCCCGTCATCAGTAAGTGCAAGCGTCG GAGATCGGGTTACAATAACATGTCGTGCCTCGCAAGGAATTTCCTC CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCTGGCAAAGCCCCCAAATTA CTAATTTATGCCGCAAGCTCTCTGCAATCGGGTGTTCCTTCGCGGT TTTCTGGCTCTGGAAGTGGCACCGACTTCACGCTTACTATCTCTAG CCTTCAGCCGGAGGATTTTGCTACCTACTACTGCCAACAAGGCCAT TTATTCCCTATTACCTTTGGGGGCGGTACAAAAGTCGAGATCAAGC GTACG

8	V_H2胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLE WVSAIDGSGDNTTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
9	V_H2 核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAACTA TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTGCAATCGATGGTTCTGGTGATAACACTACTTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
10	V_H3胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGSGDGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
11	V_H3 核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAACTA TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGATGGTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
12	V_H4 胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
13	V_H4 核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAACTA TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGATTCTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
14	V_H5胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGGGDATYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
15	V_H5 核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAACTA TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGGCAGCAATCTCTGGTGGTGGTGATGCAACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
16	V_H6胺基酸序	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLE WVSSISGSGDVTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA

	列	VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
17	V_H6 核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTTATGG TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTTCTATCTCTGGTTCTGGTGATGTTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
18	V_H7胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGSGDGTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
19	V_H7核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTTATGG TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGATGGTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
20	V_H8胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGFGESTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
21	V_H8核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGAAA CTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTTTGGTGAATCTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
22	V_H9胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNYYAMNWVRQAPGKGLE WVAAISGSGGRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
23	V_H9核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAACTA TTACGCAATGAACTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTAGAACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
24	V_H10胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGNTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS

25	V_H10核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTTATGG TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTAACACTTCTTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
26	V_H11胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
27	V_H11核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTTATGG TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGGCAGCAATCTCTGGTTCTGGTGATTCTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
28	V_L2胺基酸序列	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIHNWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASGLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQQGD RFPLTFGGGTKVEIK
29	V_L2核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAATATTCATAA CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAAAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTC CTGATCTATAAGGCGTCTGGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGAT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAACCTGATGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGGGTGAC AGATTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GTACG
30	V_L3胺基酸序列	DIQMTQSPSILSASVGDRVTITCRASQSISRWLAWYQQKPGKPPKL LIFKASALESGVPSRFSGSGYGTDFTLTISNLQPEDFATYFCQQGN SFPLTFGGGTKVDIK
31	V_L3核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCATCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACTATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATCAGTAG GTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAACCCCCTAAACTC CTGATCTTTAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCGAGGT TCAGCGGCAGTGGATATGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAA CCTGCAGCCTGAAGACTTTGCAACTTACTTCTGTCAACAGGGTAAT AGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAAC GTACG
32	V_L4胺基酸序列	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQNIDIWLAWYQWKPGKAPKL LIYKASGLETGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQGN QFPLTFGQGTRLEIK
33	V_L4核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAATATTGATAT CTGGTTGGCCTGGTATCAGTGGAAACCAGGGAAGGCCCCTAAACTC CTGATCTATAAGGCGTCTGGTTTAGAAACTGGGGTCCCTTCAAGGT

		TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACTATCAGCAG CCTGCAGCCAGAGGATTTTGCGACTTACTATTGTCAACAGGGTAAC CAGTTCCCGCTCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAAC GTACG
34	V_L5胺基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSIGRWLAWYQQKPGKAPKL LIFKASALEVGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGN SFPLTFGGGTKVDIK
35	V_L5核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATCGGTAG GTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTC CTGATCTTTAAGGCGTCTGCTTTAGAAGTTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGGTCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAAC AGTTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAAGTGGATATCAAAC GTACG
36	V_L6胺基酸序列	DIQLTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASALQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGD SFPLTFGGGTKVEIK
37	V_L6核酸序列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAG CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTC CTGATCTATGCTGCATCCGCTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGCGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACTATCAGCAG CCTGCAGCCCGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGAC AGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GTACG
38	V_L7胺基酸序列	DIQMTQSPSTLSASVGDTVTFSCRASQSINTWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASALENGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQGN SFPLTFGGGTKVEIK
39	V_L7核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCCACCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACACAGTCACCTTCAGTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAACAC CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAAAAGCCAGGGAAAGCCCCTAAACTC CTTATCTATAAGGCGTCTGCTTTAGAAAATGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAGTTCACTCTCACAATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGGAAC AGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GTACG
40	V_L8胺基酸序列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASALESGVPSRFSGGGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQGH SFPLTFGGGTKLEIK
41	V_L8核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTAG CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAACTC CTCATCTATAAGGCGTCTGCTTTAGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCGGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTCAC AGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGGAGATCAAAC GTACG
42	V_L9胺基酸序	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISDWLAWYQQKPGKAPKL LIFKASALEGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGN

	列	SFPITFGQGTRLEIK
43	V_L9核酸序列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTATTAGTGA CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGTAAAGCCCCTAAACTC CTGATCTTTAAGGCTTCTGCTTTAGAAGGTGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTAAC AGTTTCCCGATCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAGATTAAAC GTACG
44	V_L10胺基酸序列	DIQMTQSPATLSASVGDRVTITCRASQSVDRWLAWYQQKPGKAPNL LIYEASALQGGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGD SFPLTFGGGTKVEIK
45	V_L10核酸序列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCAGCCACCCTGTCTGCATCTGTTG GAGACAGGGTCACCATCACTTGCCGGGCCAGTCAGAGTGTTGATAG GTGGTTGGCCTGGTACCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAACCTC CTAATCTATGAGGCGTCTGCCTTACAAGGTGGGGTCCCGTCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGAT AGTTTCCCTCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GTACG
46	V_L11胺基酸序列	DIQLTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASGLQNGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGD RFPLTFGGGTKVEIK
47	V_L11核酸序列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGGGCGAGTCAGGGTATTAGCAG CTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTC CTGATCTATGCTGCATCCGGTTTGCAAAATGGGGTCCCATCAAGGT TCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAG CCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGGTGAC AGGTTCCCGCTCACTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAAC GTACG
48	V_H CDR1	FTFSSYAMS
49	V_H CDR1.1	FTFNYYAMS
50	V_H CDR1.2	FTFYGYAMS
51	V_H CDR1.3	FTFRNYAMS
52	V_H CDR1.4	FTFNYYAMN
53	V_H CDR1.5	FTFNYYAMXaa_1，其中Xaa_1 = S或N
54	V_H CDR1.6	FTFXaa_1Xaa_2YAMS，其中Xaa1 = S、N、Y、R；Xaa2 = S、N、Y、G
55	V_H CDR1.7	FTFXaa_1Xaa_2YAMXaa_3，其中Xaa1 = S、N、Y、R；Xaa2 = S、N、Y、G；Xaa3 = S或N。
56	V_H CDR2	SAISGSGGSTYY
57	V_H CDR2.1	SAIDGSGDNTTY
58	V_H CDR2.2	AAISGSGDGTYY
59	V_H CDR2.3	SAISGSGDSTYY
60	V_H CDR2.4	AAISGGGDATYY

61	V_H CDR2.5	SSISGSGDVTYY
62	V_H CDR2.6	SAISGFGESTYY
63	V_H CDR2.7	AAISGSGGRTYY
64	V_H CDR2.8	SAISGSGGNTSY
65	V_H CDR2.9	AAISGSGDSTYY
66	V_H CDR2.10	AAISGXaa1GXaa2Xaa3TYY，其中Xaa1 = S或G；Xaa2 = D或G，Xaa3 = S、R、G、A
67	V_H CDR2.11	$Xaa_1Xaa_2IXaa_3GXaa_4GXaa_5Xaa_6TXaa_7Y$
68	V_H CDR3	AKDSPFLLDDYYYYYYMD
69	V_L CDR1	RASQGISSWLAW
70	V_L CDR1.1	RASQNIHNWLAW
71	V_L CDR1.2	RASQSISRWLAW
72	V_L CDR1.3	RASQNIDIWLAW
73	V_L CDR1.4	RASQSIGRWLAW
74	V_L CDR1.5	RASQSISSWLAW
75	V_L CDR1.6	RASQSINTWLAW
76	V_L CDR1.7	RASQSISDWLAW
77	V_L CDR1.8	RASQSVDRWLAW
78	V_L CDR2	YAASSLQS
79	V_L CDR2.1	YKASGLES
80	V_L CDR2.2	FKASALES
81	V_L CDR2.3	YKASGLET
82	V_L CDR2.4	FKASALEV
83	V_L CDR2.5	YAASALQS
84	V_L CDR2.6	YKASALEN
85	V_L CDR2.7	YKASALES
86	V_L CDR2.8	FKASALEG
87	V_L CDR2.9	YEASALQG
88	V_L CDR2.10	YAASGLQN
89	V_L CDR3	QQGHLFPITF
90	V_L CDR3.1	QQGDRFPLTF
91	V_L CDR3.2	QQGNSFPLTF
92	V_L CDR3.3	QQGNQFPLTF
93	V_L CDR3.4	QQGDSFPLTF
94	V_L CDR3.5	QQGHSFPLTF
95	V_L CDR3.6	QQGNSFPITF
96	V_L CDR3.7	$QQGXaa_1Xaa_2FPXaa_3TF$
97	人類CD137L Uniprot ID - P41273	MEYASDASLDPEAPWPPAPRARACRVLPWALVAGLLLLLLLAAACA VFLACPWAVSGARASPGSAASPRLREGPELSPDDPAGLLDLRQGMF AQLVAQNVLLIDGPLSWYSDPGLAGVSLTGGLSYKEDTKELVVAKA GVYYVFFQLELRRVVAGEGSGSVSLALHLQPLRSAAGAAALALTVD LPPASSEARNSAFGFQGRLLHLSAGQRLGVHLHTEARARHAWQLTQ

		GATVLGLFRVTPEIPAGLPSPRSE
98	FLAG	DYKDDDDK
99	6-His	HHHHHH
100	HA	YPYDVPDYA
101	V_H12胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
102	V_H12核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTAGAAA CTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGATACTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
103	V_H13胺基酸序列	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
104	V_H13核酸序列	GAAGTGCAATTATTGGAATCCGGCGGCGGTTTAGTTCAGCCAGGTG GCTCTTTGAGGCTGAGTTGCGCAGCCTCTGGATTCACCTTTGGTTC TTACGCAATGTCTTGGGTTCGCCAGGCGCCCGGTAAGGGTCTGGAG TGGGTGTCTGCAATCTCTGGTTCTGGTGGTTCTACTTACTACGCCG ACTCTGTGAAAGGTCGTTTTACCATAAGCCGCGACAATTCTAAGAA TACTTTATATCTTCAAATGAATTCGCTGCGGGCAGAAGACACGGCC GTCTATTACTGCGCAAAGGACTCACCTTTTCTATTAGACGACTACT ACTACTACTACTACATGGACGTATGGGGCAAGGGTACAACTGTCAC CGTCTCCTCAGCTAGC
105	V_L12胺基酸序列	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDIGDWLAWYQQKPGKAPKL LIYKASGLQSGVPSRFSGSGSGTEFTLTISNLQPEDFATYYCQQGN QFPLTFGQGTRLE
106	V_L12核酸序列	GACATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAG GAGACAGAGTAACCATCACTTGCCGGGCAAGTCAGGATATTGGTGA CTGGTTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCTGGGAAAGCCCCTAAGCTC CTGATCTATAAGGCGTCTGGTTTACAAAGTGGGGTCCCATCAAGAT TCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCACTCTCACTATCAGCAA CCTGCAGCCAGAGGATTTTGCGACTTACTATTGTCAACAGGGTAAC CAGTTCCCGCTCACCTTCGGCCAAGGGACACGACTGGAG
107	V_H CDR1.8	FTFGWYAMS
108	V_H CDR2.12	SAISGSGDTTYY
109	V_L CDR1.9	RASQDIGDWLAW
110	V_L CDR2.11	YKASGLQS
111	V_H CDR3.1	AKASPFLLDDYYYYYYMD
112	V_H CDR3.2	AKDAPFLLDDYYYYYYMD
113	V_H CDR3.3	AKDSAFLLDDYYYYYYMD
114	V_H CDR3.4	AKDSPALLDDYYYYYYMD
115	V_H CDR3.5	AKDSPFALDDYYYYYYMD

116	V_H CDR3.6	AKDSPFLADDYYYYYYMD
117	V_H CDR3.7	AKDSPFLLADYYYYYYMD
118	V_H CDR3.8	AKDSPFLLDAYYYYYYMD
119	V_H CDR3.9	AKDSPFLLDDAYYYYYMD
120	V_H CDR3.10	AKDSPFLLDDYAYYYYMD
121	V_H CDR3.11	AKDSPFLLDDYYAYYYMD
122	V_H CDR3.12	AKDSPFLLDDYYYAYYMD
123	V_H CDR3.13	AKDSPFLLDDYYYYAYMD
124	V_H CDR3.14	AKDSPFLLDDYYYYYAMD
125	V_H CDR3.15	AKDSPFLLDDYYYYYYAD
126	V_H CDR3.16	DXXXXLXXXXYXYYX
127	V_H CDR3.17	DXPFXLDXXYYYYYYX
128	V_H CDR3.18	$DX_1X_2X_3X_4LX_5X_6X_7X_8YX_9YYX_{10}$
129	mAb1重鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
130	mAb8重鏈V1	GTEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKG LEWVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAED TAVYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
131	mAb8重鏈V2	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRNYAMSWVRQAPGKGLE WVSAISGSGDTTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
132	mAb10重鏈	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGYAMSWVRQAPGKGLE WVAAISGSGDSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCAKDSPFLLDDYYYYYYMDVWGKGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGP

		PCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQED PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS RLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
133	mAb1、 mAb8及 mAb10輕鏈	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGH LFPITFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【序列表】

<110> 美商坎伯斯治療有限責任公司(COMPASS THERAPEUTICS LLC)

<120> 結合人類CD137之促效劑抗體及其用途

<130> CTN-006TW

<140> TW 107123988
<141> 2018-07-11

<150> US 62/531,259
<151> 2017-07-11

<150> US 62/577,257
<151> 2017-10-26

<150> US 62/531,190
<151> 2017-07-11

<150> US 62/568,231
<151> 2017-10-04

<150> US 62/577,259
<151> 2017-10-26

<160> 133

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(330)
<223> 人類IgG1

<400> 1

```
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1               5                  10                  15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
            20                  25                  30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
```

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 2
<211> 326
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(326)
<223> 人類IgG4突變體(S228P/C端K截短)

<400> 2

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 3
<211> 255
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(255)
<223> 人類CD137

<400> 3

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys
35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly
85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu
180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu
195 200 205

Arg Phe Ser Val Val Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe
210 215 220

Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly
225 230 235 240

Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
245 250 255

<210> 4
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH1胺基酸序列

<400> 4

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 5
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH1核酸序列

<400> 5
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacttttagt tcgtatgcaa tgtcgtgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgagtgct atttccggct ctggcggatc tacctattac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 6
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL1胺基酸序列

<400> 6

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Leu Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 7
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL1核酸序列

<400> 7
gatattcaga tgacacagag cccgtcatca gtaagtgcaa gcgtcggaga tcgggttaca 60

ataacatgtc gtgcctcgca aggaatttcc tcctggttgg cctggtatca gcagaaacct 120

ggcaaagccc ccaaattact aatttatgcc gcaagctctc tgcaatcggg tgttccttcg 180

cggttttctg gctctggaag tggcaccgac ttcacgctta ctatctctag ccttcagccg 240

gaggattttg ctacctacta ctgccaacaa ggccatttat tccctattac ctttgggggc 300

ggtacaaaag tcgagatcaa gcgtacg 327

<210> 8
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH2胺基酸序列

<400> 8

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asp Gly Ser Gly Asp Asn Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr

100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 9
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH2核酸序列

<400> 9
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atcgatggtt ctggtgataa cactacttac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 10
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH3胺基酸序列

<400> 10

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 11
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH3核酸序列

<400> 11
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtgatgg tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 12
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH4胺基酸序列

<400> 12

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH4核酸序列

<400> 13
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtgattc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 14
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH5胺基酸序列

<400> 14

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Gly Gly Asp Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH5核酸序列

<400> 15
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtg gtggtgatgc aacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 16
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH6胺基酸序列

<400> 16

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Val Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 17
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH6核酸序列

<400> 17
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtcttct atctctggtt ctggtgatgt tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 18
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH7胺基酸序列

<400> 18

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 19
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH7核酸序列

<400> 19
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtgatgg tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 20
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH8胺基酸序列

<400> 20

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Glu Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 21
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH8核酸序列

<400> 21
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaga aactacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ttggtgaatc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 22
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH9胺基酸序列

<400> 22

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

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

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 23
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH9核酸序列

<400> 23
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaac tattacgcaa tgaactgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtggtag aacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 24
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH10胺基酸序列

<400> 24

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 25

<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH10核酸序列

<400> 25
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtggtaa cacttcttac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 26
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH11胺基酸序列

<400> 26

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 27
<211> 384

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH11核酸序列

<400> 27
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt caccttttat ggttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtggcagca atctctggtt ctggtgattc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 28
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL2胺基酸序列

<400> 28

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile His Asn Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Arg Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 29
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL2核酸序列

<400> 29
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gaatattcat aactggttgg cctggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctggtt tggaaagtgg ggtcccatca 180

agattcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcaacct 240

gatgattttg caacttacta ctgtcaacag ggtgacagat tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 30
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL3胺基酸序列

<400> 30

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 31
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL3核酸序列

<400> 31
gacatccaga tgacccagtc tccttccatc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcact 60

atcacttgcc gggccagtca gagtatcagt aggtggttgg cctggtatca gcagaagcca 120

gggaaacccc ctaaactcct gatctttaag gcgtctgctt tagaaagtgg ggtcccatcg 180

aggttcagcg gcagtggata tgggacagat ttcactctca ccatcagcaa cctgcagcct 240

gaagactttg caacttactt ctgtcaacag ggtaatagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaaag tggatatcaa acgtacg 327

<210> 32
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL4胺基酸序列

<400> 32

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Ile Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Trp Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 33
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL4核酸序列

<400> 33
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gaatattgat atctggttgg cctggtatca gtggaaacca 120

gggaaggccc ctaaactcct gatctataag gcgtctggtt tagaaactgg ggtcccttca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ctatcagcag cctgcagcca 240

gaggattttg cgacttacta ttgtcaacag ggtaaccagt tcccgctcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa acgtacg 327

<210> 34
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL5胺基酸序列

<400> 34

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Val Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 35
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL5核酸序列

<400> 35
gacatccaga tgacccagtc tccttcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtatcggt aggtggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctttaag gcgtctgctt tagaagttgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtgggtc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtaacagtt tcccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaaag tggatatcaa acgtacg 327

<210> 36
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成：VL6胺基酸序列

<400> 36

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ala Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 37
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL6核酸序列

<400> 37
gacatccagt tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccgctt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagcggatc tgggacagat ttcactctca ctatcagcag cctgcagccc 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtgacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 38
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL7胺基酸序列

<400> 38

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

Asp Thr Val Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 39
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL7核酸序列

<400> 39
gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgtaggaga cacagtcacc 60

ttcagttgcc gggccagtca gagtattaac acctggttgg cctggtatca gcaaaagcca 120

gggaaagccc ctaaactcct tatctataag gcgtctgctt tagaaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gggaacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 40
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL8胺基酸序列

<400> 40

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 41
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL8核酸序列

<400> 41
gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct catctataag gcgtctgctt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcggtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtcacagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagc tggagatcaa acgtacg 327

<210> 42
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL9胺基酸序列

<400> 42

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 43
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL9核酸序列

<400> 43
gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtattagt gactggttgg cctggtatca gcagaagcca 120

ggtaaagccc ctaaactcct gatctttaag gcttctgctt tagaaggtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtaacagtt tcccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa acgtacg 327

<210> 44
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL10胺基酸序列

<400> 44

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Ala Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Ser Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 45
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL10核酸序列

<400> 45
gacatccaga tgacccagtc tccagccacc ctgtctgcat ctgttggaga cagggtcacc 60

atcacttgcc gggccagtca gagtgttgat aggtggttgg cctggtacca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaacctcct aatctatgag gcgtctgcct tacaaggtgg ggtcccgtca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtgatagtt tccctctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 46
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL11胺基酸序列

<400> 46

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Gly Leu Gln Asn Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asp Arg Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 47
<211> 327
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL11核酸序列

<400> 47
gacatccagt tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca gggtattagc agctggttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccggtt tgcaaaatgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag ggtgacaggt tccccgctcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa acgtacg 327

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1

<400> 48

Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 49
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.1

<400> 49

Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 50
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.2

<400> 50

Phe Thr Phe Tyr Gly Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 51
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成：VH CDR1.3

<400> 51

Phe Thr Phe Arg Asn Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 52
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.4

<400> 52

Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Ala Met Asn
1 5

<210> 53
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.5

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> X = S或N

<400> 53

Phe Thr Phe Asn Tyr Tyr Ala Met Xaa
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.6

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> X = S、N、Y、R；

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> X = S、N、Y、G

<400> 54

Phe Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 55
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.7

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> X = S、N、Y、R

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> X = S、N、Y、G

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> X = S或N

<400> 55

Phe Thr Phe Xaa Xaa Tyr Ala Met Xaa
1 5

<210> 56
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2

<400> 56

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 57
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.1

<400> 57

Ser Ala Ile Asp Gly Ser Gly Asp Asn Thr Thr Tyr
1 5 10

<210> 58
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.2

<400> 58

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

<210> 59
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.3

<400> 59

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

<210> 60
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.4

<400> 60

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

<210> 61
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.5

<400> 61

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Asp Val Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 62
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.6

<400> 62

Ser Ala Ile Ser Gly Phe Gly Glu Ser Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 63
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成：VH CDR2.7

<400> 63

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

<210> 64
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.8

<400> 64

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Asn Thr Ser Tyr
1 5 10

<210> 65
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.9

<400> 65

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

<210> 66
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.10

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> X = S或G

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> X = D或G

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> X = S、R、G、A

<400> 66

Ala Ala Ile Ser Gly Xaa Gly Xaa Xaa Thr Tyr Tyr
1 5 10

<210> 67

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.11

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(2)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (6)..(6)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(9)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<400> 67

Xaa Xaa Ile Xaa Gly Xaa Gly Xaa Xaa Thr Xaa Tyr
1 5 10

<210> 68
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3

<400> 68

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 69
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1

<400> 69

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 70
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.1

<400> 70

Arg Ala Ser Gln Asn Ile His Asn Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 71
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.2

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Arg Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 72
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.3

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Ile Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.4

<400> 73

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Arg Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 74
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.5

<400> 74

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 75
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.6

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Asn Thr Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 76
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.7

<400> 76

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 77
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.8

<400> 77

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2

<400> 78

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 79
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.1

<400> 79

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Ser
1 5

<210> 80
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.2

<400> 80

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser
1 5

<210> 81
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.3

<400> 81

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Glu Thr
1 5

<210> 82
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.4

<400> 82

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Val
1 5

<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.5

<400> 83

Tyr Ala Ala Ser Ala Leu Gln Ser
1 5

<210> 84

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.6

<400> 84

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Asn
1 5

<210> 85
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.7

<400> 85

Tyr Lys Ala Ser Ala Leu Glu Ser
1 5

<210> 86
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.8

<400> 86

Phe Lys Ala Ser Ala Leu Glu Gly
1 5

<210> 87
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.9

<400> 87

Tyr Glu Ala Ser Ala Leu Gln Gly
1 5

<210> 88
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.10

<400> 88

Tyr Ala Ala Ser Gly Leu Gln Asn
1 5

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3

<400> 89

Gln Gln Gly His Leu Phe Pro Ile Thr Phe
1 5 10

<210> 90
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.1

<400> 90

Gln Gln Gly Asp Arg Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 91
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.2

<400> 91

Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 92
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.3

<400> 92

Gln Gln Gly Asn Gln Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 93
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.4

<400> 93

Gln Gln Gly Asp Ser Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 94
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.5

<400> 94

Gln Gln Gly His Ser Phe Pro Leu Thr Phe
1 5 10

<210> 95
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.6

<400> 95

Gln Gln Gly Asn Ser Phe Pro Ile Thr Phe
1 5 10

<210> 96
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR3.7

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(5)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<400> 96

Gln Gln Gly Xaa Xaa Phe Pro Xaa Thr Phe
1 5 10

<210> 97
<211> 254
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(254)

<223> 人類CD137L Uniprot ID P41273

<400> 97

Met Glu Tyr Ala Ser Asp Ala Ser Leu Asp Pro Glu Ala Pro Trp Pro
1 5 10 15

Pro Ala Pro Arg Ala Arg Ala Cys Arg Val Leu Pro Trp Ala Leu Val
20 25 30

Ala Gly Leu Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala Cys Ala Val Phe
35 40 45

Leu Ala Cys Pro Trp Ala Val Ser Gly Ala Arg Ala Ser Pro Gly Ser
50 55 60

Ala Ala Ser Pro Arg Leu Arg Glu Gly Pro Glu Leu Ser Pro Asp Asp
65 70 75 80

Pro Ala Gly Leu Leu Asp Leu Arg Gln Gly Met Phe Ala Gln Leu Val
85 90 95

Ala Gln Asn Val Leu Leu Ile Asp Gly Pro Leu Ser Trp Tyr Ser Asp
100 105 110

Pro Gly Leu Ala Gly Val Ser Leu Thr Gly Gly Leu Ser Tyr Lys Glu
115 120 125

Asp Thr Lys Glu Leu Val Val Ala Lys Ala Gly Val Tyr Tyr Val Phe
130 135 140

Phe Gln Leu Glu Leu Arg Arg Val Val Ala Gly Glu Gly Ser Gly Ser
145 150 155 160

Val Ser Leu Ala Leu His Leu Gln Pro Leu Arg Ser Ala Ala Gly Ala
165 170 175

Ala Ala Leu Ala Leu Thr Val Asp Leu Pro Pro Ala Ser Ser Glu Ala
180 185 190

Arg Asn Ser Ala Phe Gly Phe Gln Gly Arg Leu Leu His Leu Ser Ala
195 200 205

Gly Gln Arg Leu Gly Val His Leu His Thr Glu Ala Arg Ala Arg His
210 215 220

Ala Trp Gln Leu Thr Gln Gly Ala Thr Val Leu Gly Leu Phe Arg Val
225 230 235 240

Thr Pro Glu Ile Pro Ala Gly Leu Pro Ser Pro Arg Ser Glu
245 250

<210> 98
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：FLAG

<400> 98

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
1 5

<210> 99
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：6-His

<400> 99

His His His His His His
1 5

<210> 100
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：HA

<400> 100

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
1 5

<210> 101
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH12胺基酸序列

<400> 101

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 102
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH12核酸序列

<400> 102
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttaga aactacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtgatac tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 103
<211> 126
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH13胺基酸序列

<400> 103

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 104
<211> 384
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH13核酸序列

<400> 104
gaagtgcaat tattggaatc cggcggcggt ttagttcagc caggtggctc tttgaggctg 60

agttgcgcag cctctggatt cacctttggt tcttacgcaa tgtcttgggt tcgccaggcg 120

cccggtaagg gtctggagtg ggtgtctgca atctctggtt ctggtggttc tacttactac 180

gccgactctg tgaaaggtcg ttttaccata agccgcgaca attctaagaa tactttatat 240

cttcaaatga attcgctgcg ggcagaagac acggccgtct attactgcgc aaaggactca 300

ccttttctat tagacgacta ctactactac tactacatgg acgtatgggg caagggtaca 360

actgtcaccg tctcctcagc tagc 384

<210> 105
<211> 105
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL12胺基酸序列

<400> 105

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asp Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asn Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Gln Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu
100 105

<210> 106
<211> 315
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL12核酸序列

<400> 106
gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtaacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggatattggt gactggttgg cctggtatca gcagaagcct 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcgtctggtt tacaaagtgg ggtcccatca 180

agattcagtg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ctatcagcaa cctgcagcca 240

gaggattttg cgacttacta ttgtcaacag ggtaaccagt tcccgctcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggag 315

<210> 107
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR1.8

<400> 107

Phe Thr Phe Gly Trp Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 108
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR2.12

<400> 108

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

<210> 109
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR1.9

<400> 109

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Gly Asp Trp Leu Ala Trp
1 5 10

<210> 110
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VL CDR2.11

<400> 110

Tyr Lys Ala Ser Gly Leu Gln Ser
1 5

<210> 111
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.1

<400> 111

Ala Lys Ala Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 112
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.2

<400> 112

Ala Lys Asp Ala Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 113
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.3

<400> 113

Ala Lys Asp Ser Ala Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 114
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.4

<400> 114

Ala Lys Asp Ser Pro Ala Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 115
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.5

<400> 115

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Ala Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 116
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.6

<400> 116

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Ala Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 117
<211> 18
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.7

<400> 117

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Ala Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 118
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.8

<400> 118

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 119
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.9

<400> 119

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Ala Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 120
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.10

<400> 120

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Ala Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 121
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.11

<400> 121

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Ala Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 122
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.12

<400> 122

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Ala Tyr Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 123
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.13

<400> 123

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Tyr
1 5 10 15

Met Asp

<210> 124
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.14

<400> 124

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ala

1 5 10 15

Met Asp

<210> 125
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.15

<400> 125

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Ala Asp

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.16

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(5)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(10)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<400> 126

Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Tyr Tyr Xaa
1 5 10 15

<210> 127
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.17

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(9)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<400> 127

Asp Xaa Pro Phe Xaa Leu Asp Xaa Xaa Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Xaa
1 5 10 15

<210> 128
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：VH CDR3.18

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (3)..(3)
<223> Xaa為非極性胺基酸或脯胺酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (4)..(4)
<223> Xaa為非極性胺基酸或苯丙胺酸或色胺酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (7)..(7)
<223> Xaa為極性胺基酸或天冬胺酸或麩胺酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa為極性胺基酸或酪胺酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa為極性胺基酸或酪胺酸

<220>
<221> misc_feature
<222> (15)..(15)
<223> Xaa可為任何天然存在之胺基酸

<400> 128

Asp Xaa Xaa Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr Xaa Tyr Tyr Xaa
1 5 10 15

<210> 129
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：mAb1重鏈

<400> 129

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly
450

<210> 130
<211> 454
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：mAb8重鏈VH

<400> 130

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

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg
20 25 30

Asn Tyr Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Val Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
130 135 140

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
145 150 155 160

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
165 170 175

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
180 185 190

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
195 200 205

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
210 215 220

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
225 230 235 240

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
245 250 255

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
260 265 270

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
275 280 285

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
290 295 300

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
305 310 315 320

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
325 330 335

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
340 345 350

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
355 360 365

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
370 375 380

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
385 390 395 400

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
405 410 415

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
420 425 430

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
450

<210> 131
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：mAb8重鏈V2

<400> 131

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly
450

<210> 132
<211> 452
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成：mAb10重鏈

<400> 132

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

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Pro Phe Leu Leu Asp Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
115 120 125

Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
130 135 140

Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
145 150 155 160

Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
165 170 175

His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr
195 200 205

Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val
210 215 220

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
225 230 235 240

Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
245 250 255

Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
260 265 270

Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
275 280 285

Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
290 295 300

Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
305 310 315 320

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
325 330 335

Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
340 345 350

Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
355 360 365

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
370 375 380

Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
385 390 395 400

Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
405 410 415

Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
420 425 430

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
435 440 445

Leu Ser Leu Gly
450

<210> 133
<211> 214
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成：mAb1、mAb8和mAb10重鏈

<400> 133

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly His Leu Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含選自由以下組成之群的重鏈及輕鏈CDR：

(a)　分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列。

【請求項2】

如請求項1之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體包含IgG1重鏈恆定區。

【請求項3】

如請求項2之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該IgG1重鏈恆定區為野生型人類IgG1重鏈恆定區。

【請求項4】

如請求項2之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該IgG1重鏈恆定區包含相對於野生型人類IgG1重鏈恆定區之胺基酸取代。

【請求項5】

如請求項1之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該經分離抗體包含IgG4重鏈恆定區。

【請求項6】

如請求項5之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該IgG4重鏈恆定區為野生型人類IgG4重鏈恆定區。

【請求項7】

如請求項5經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該IgG4重鏈恆定區包含依據EU編號之Ser228處之胺基酸取代。

【請求項8】

如請求項7之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該胺基酸取代係S228P。

【請求項9】

如請求項1之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體為人類抗體。

【請求項10】

一種特異性結合人類CD137之經分離單株抗體，

其中該抗體包含分別在SEQ ID NO: 48、56及68中所示之重鏈CDR1、CDR2及CDR3序列，及分別在SEQ ID NO: 69、78及89中所示之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3序列；且

其中該抗體包含：野生型人類IgG4重鏈恆定區或包含依據EU編號之Ser228處之胺基酸取代之IgG4重鏈恆定區。

【請求項11】

如請求項10之經分離單株抗體，其中該胺基酸取代係S228P。

【請求項12】

如請求項10之經分離單株抗體，其中該抗體為人類抗體。

【請求項13】

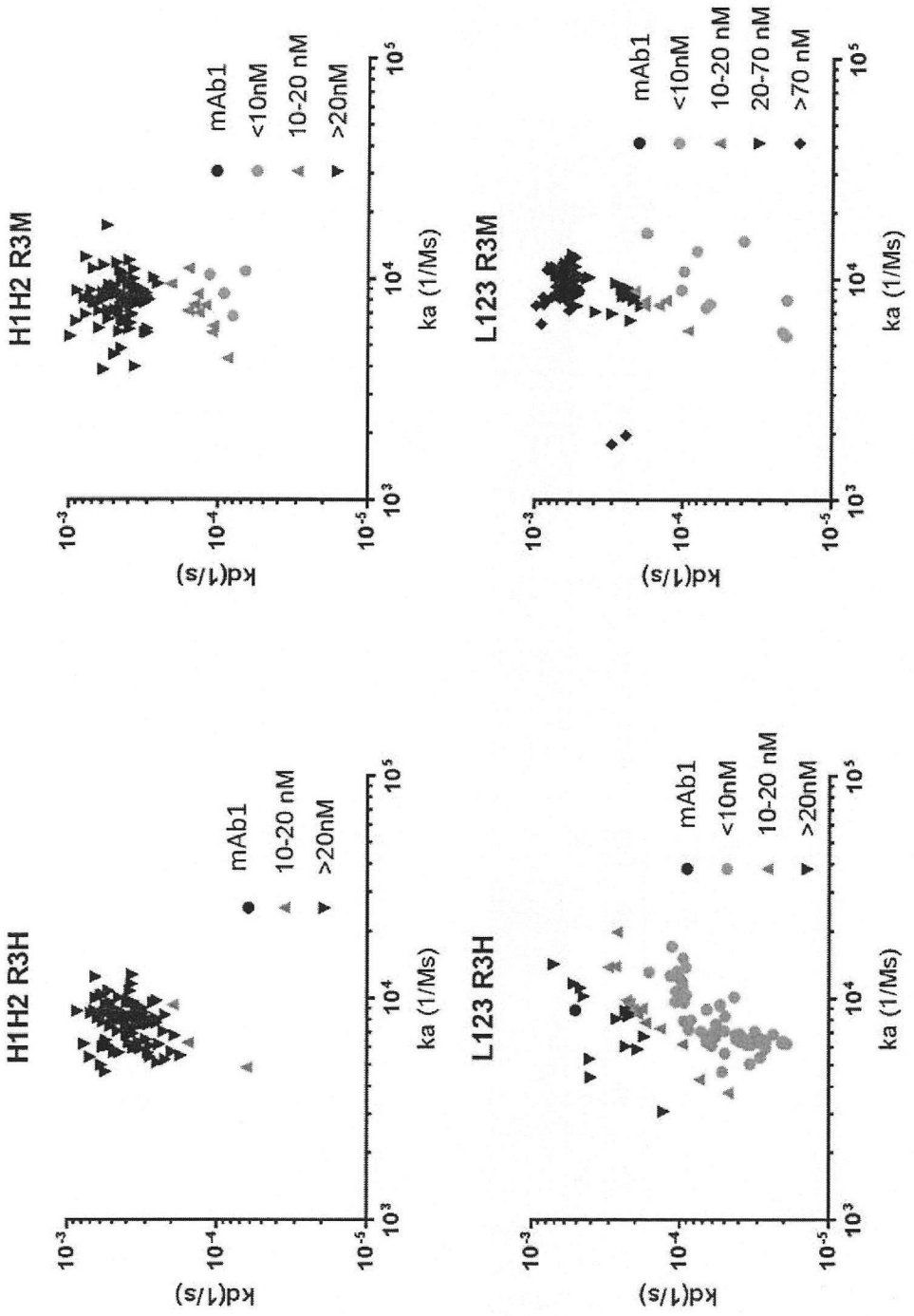
一種醫藥組合物，其包含特異性結合人類CD137之經分離單株抗體或其抗原結合部分，其中該抗體或其抗原結合部分包含重鏈及輕鏈序列，

其分別如SEQ ID NO: 129及133所示。

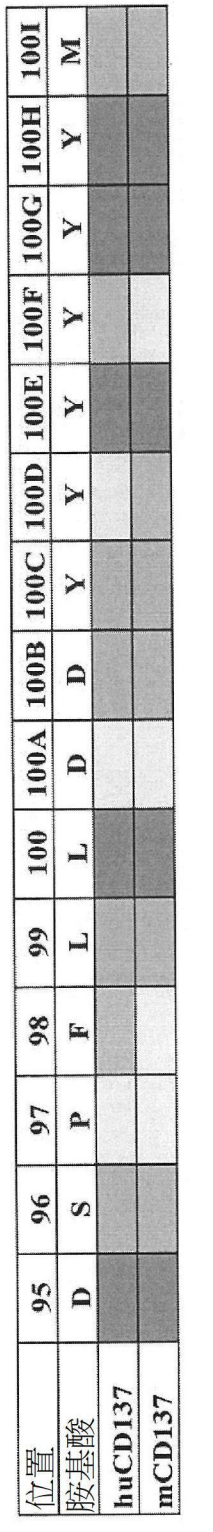
【請求項14】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1、2及5中任一項之經分離單株抗體或其抗原結合部分及醫藥學上可接受之載劑。

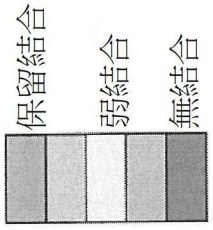
【發明圖式】


H1H2 R3M
mAb1
<10nM
10-20 nM
>20nM
kd(1/s)
ka (1/Ms)
L123 R3M
mAb1
<10nM
10-20 nM
20-70 nM
>70 nM
kd(1/s)
ka (1/Ms)
H1H2 R3H
mAb1
10-20 nM
>20nM
kd(1/s)
ka (1/Ms)
L123 R3H
mAb1
<10nM
10-20 nM
>20nM
kd(1/s)
ka (1/Ms)

【圖1】



位置	95	96	97	98	99	100	100A	100B	100C	100D	100E	100F	100G	100H	100I
胺基酸	D	S	P	F	L	L	D	D	Y	Y	Y	Y	Y	Y	M
huCD137															
mCD137															



【圖2】

LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC

SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC

DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK

DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCG

mAb1

LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC

SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC

DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK

DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCG

mAb4

LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQIC

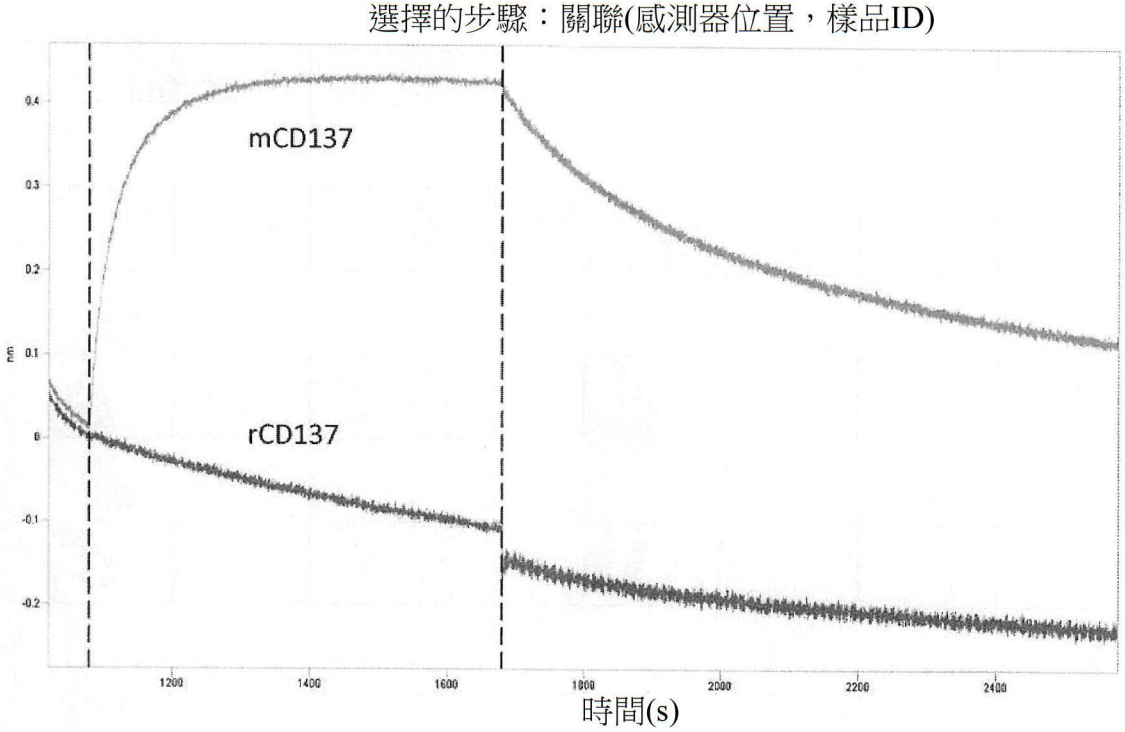
SPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAEC

DCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCK

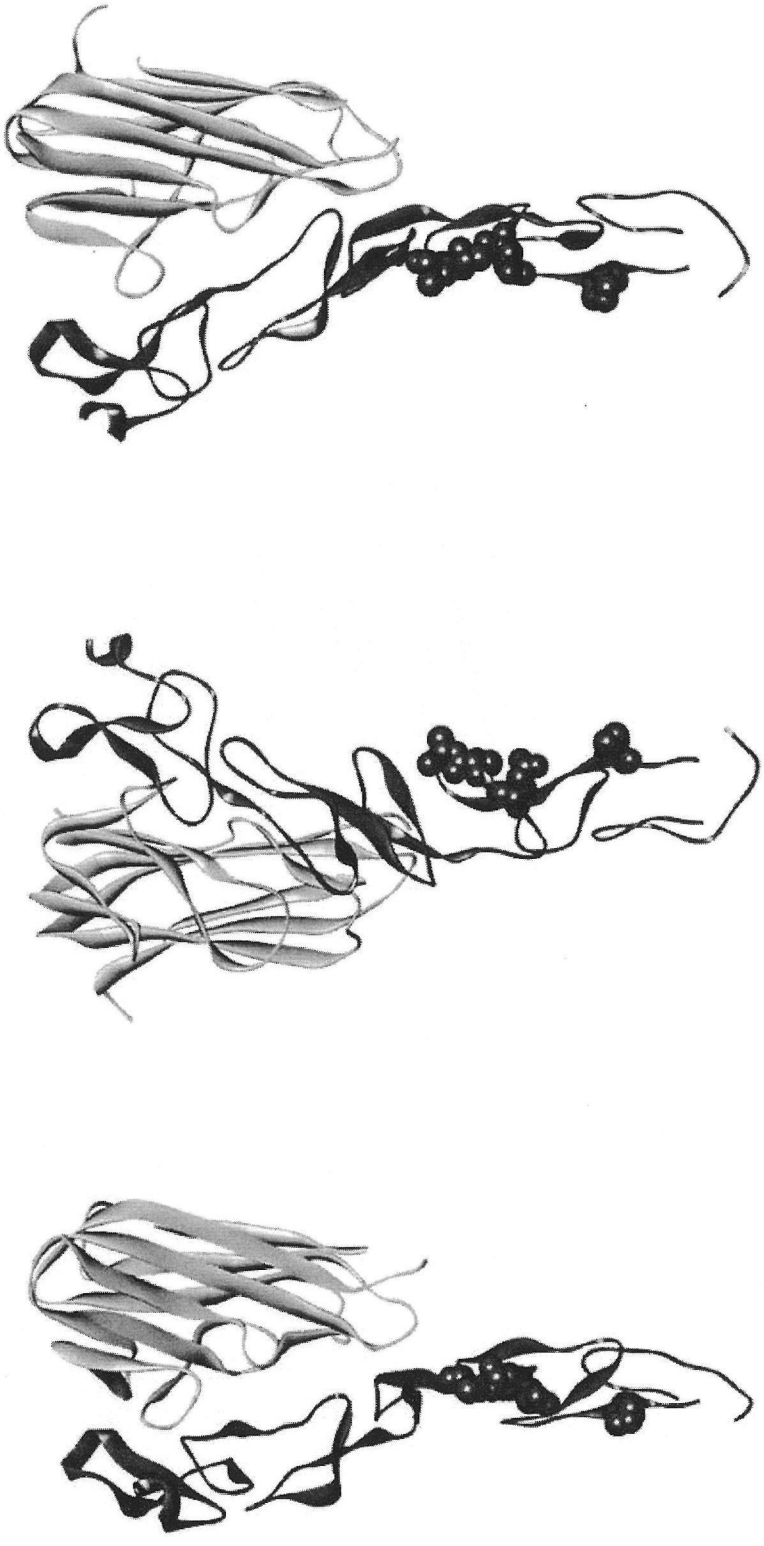
DCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCG

mAb5

【圖3A】



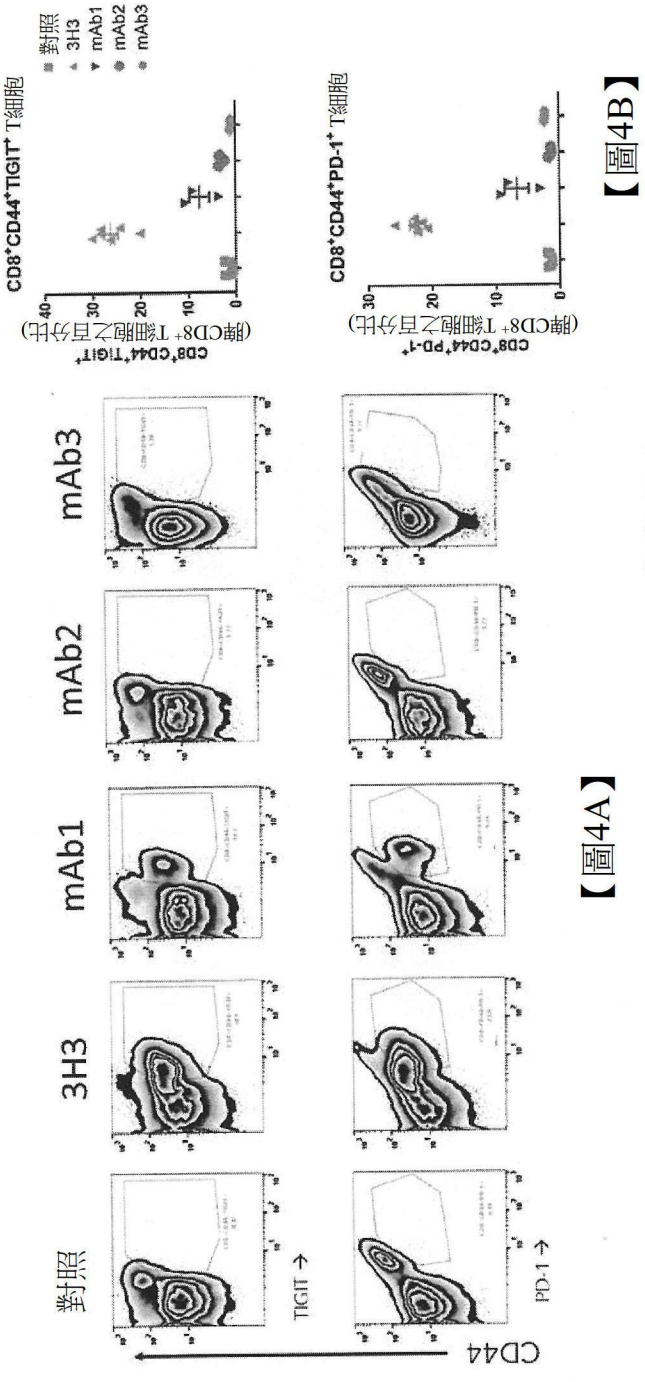
【圖3B】



【圖3C】

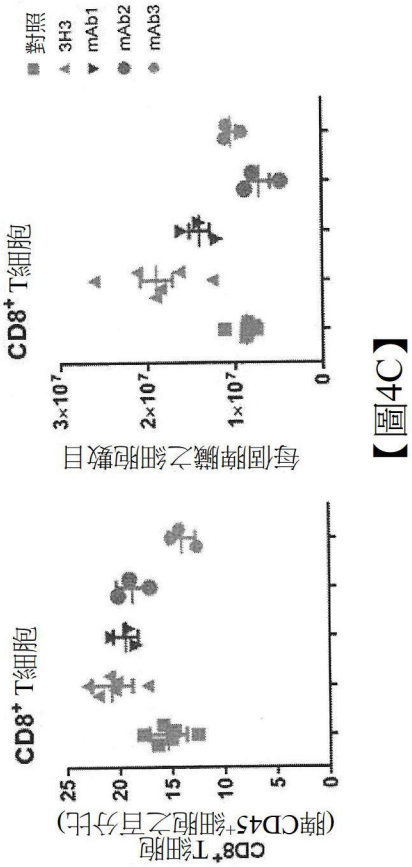


【圖3D】

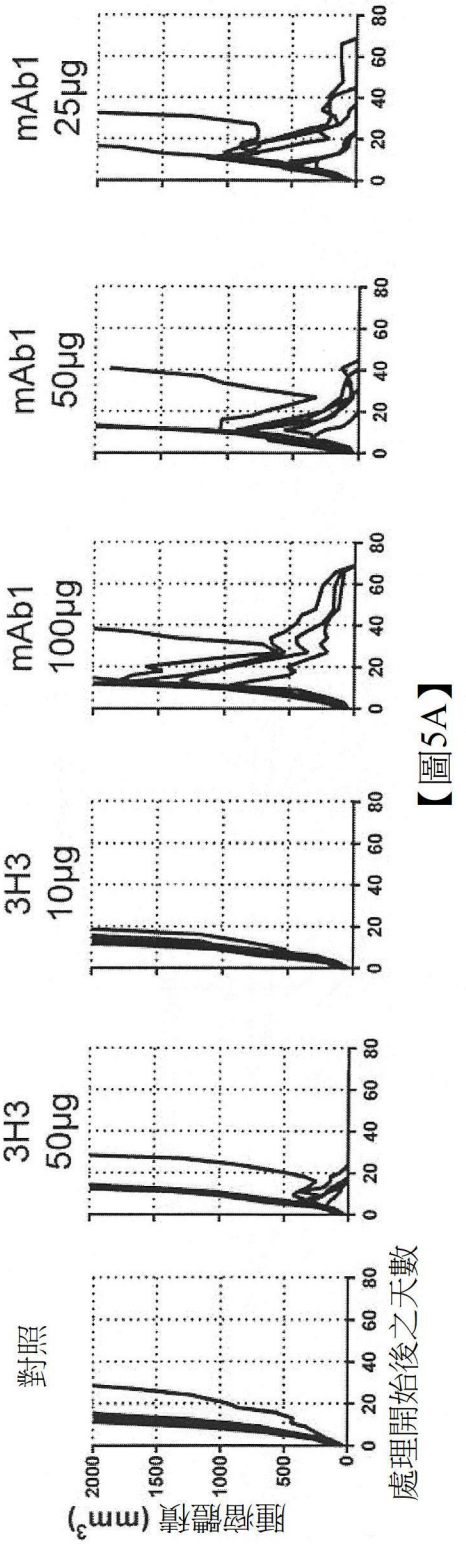

對照
3H3
mAb1
mAb2
mAb3
CD44
TIGIT →
PD-1 →
CD8+CD44+TIGIT+ T細胞
(脾CD8+ T細胞之百分比)
CD8+CD44+PD-1+ T細胞
(脾CD8+ T細胞之百分比)

【圖4A】

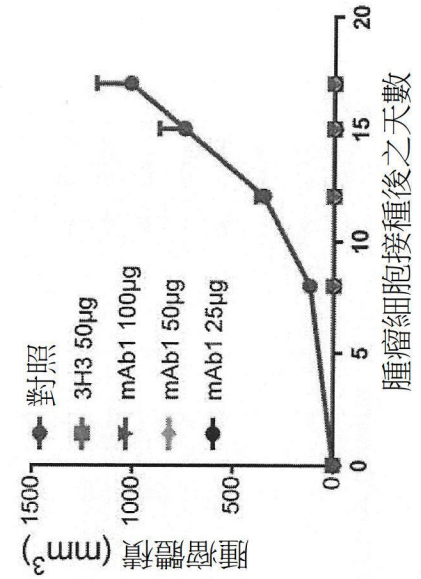
【圖4B】


對照
3H3
mAb1
mAb2
mAb3
CD8+ T細胞
(脾CD45+細胞之百分比)
CD8+ T細胞
每個脾臟之細胞數目

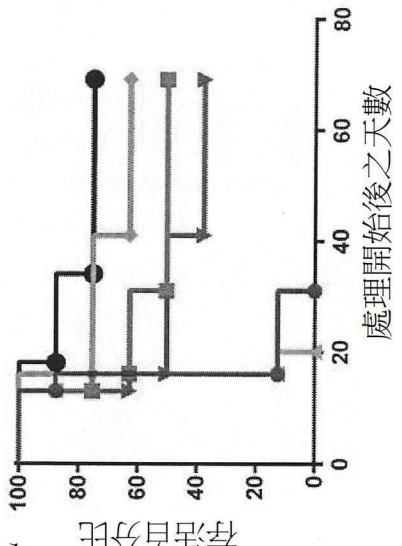
【圖4C】



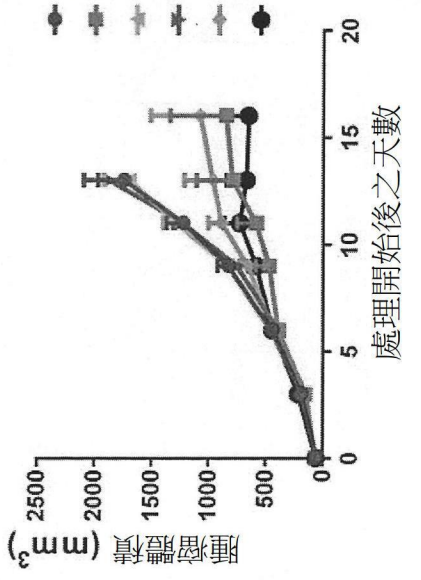
【圖5A】



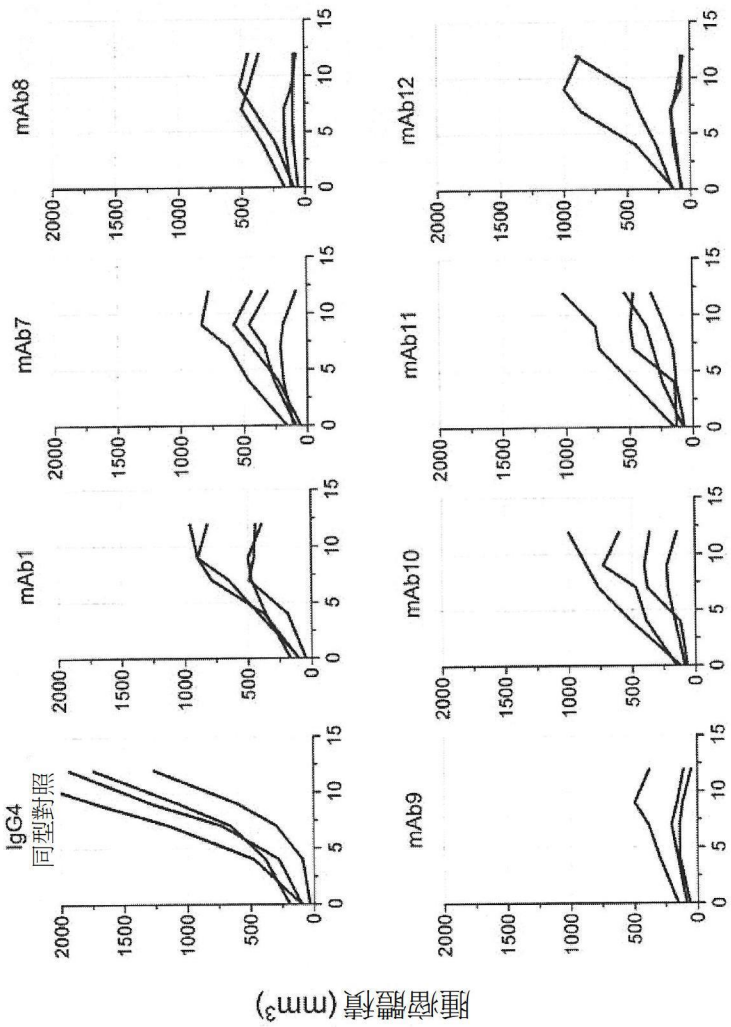
【圖5D】



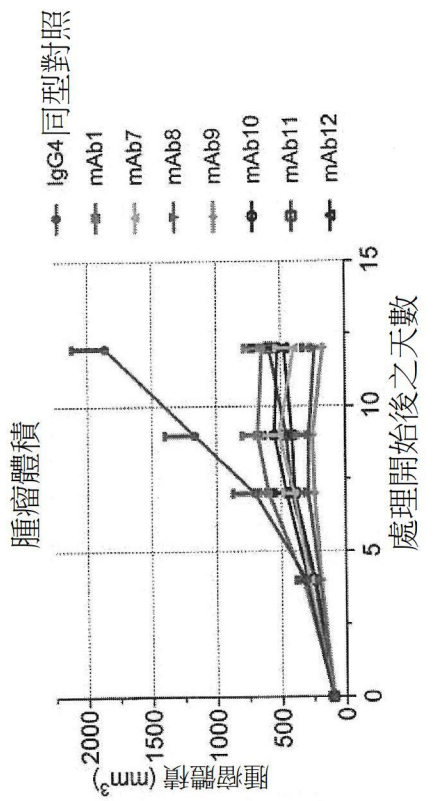
【圖5C】



【圖5B】


IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
腫瘤體積 (mm³)
處理後之天數

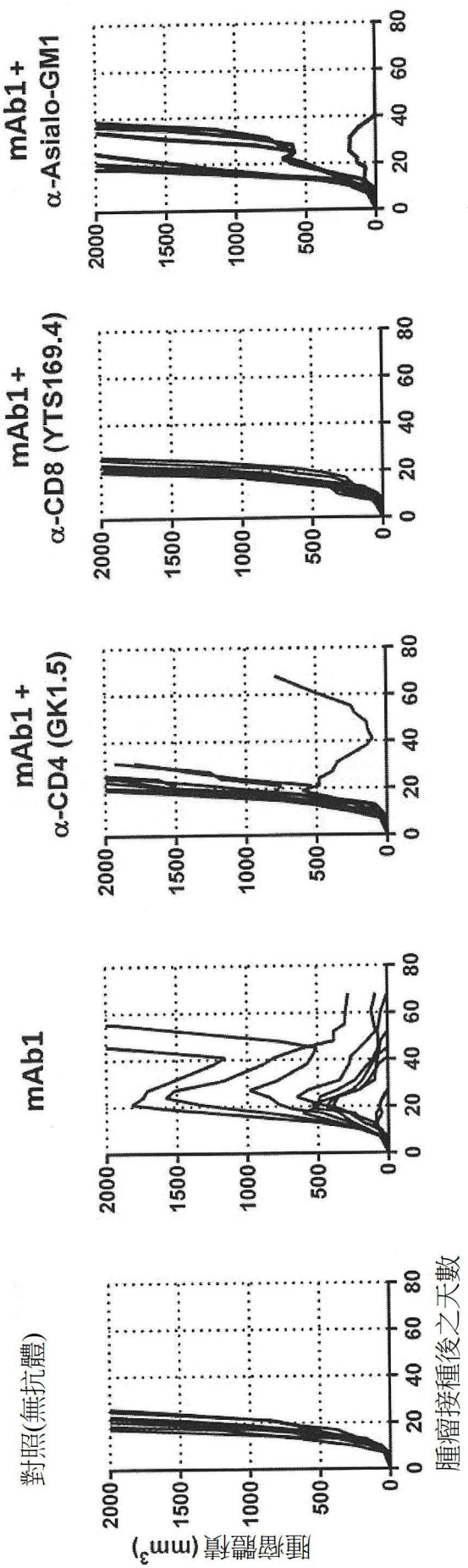
【圖6A】


IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
腫瘤體積
腫瘤體積 (mm³)
處理開始後之天數

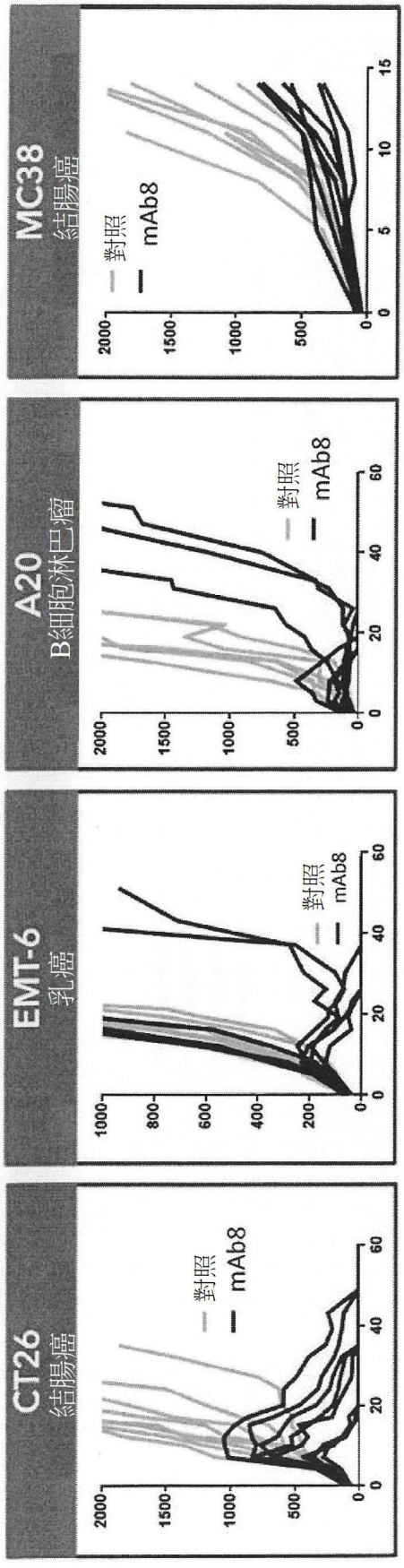
【圖6B】

對照
3H3 50μg
3H3 10μg
mAb1 100μg
mAb1 50μg
mAb1 25μg
CD4+T細胞
(脾CD45+細胞之百分比)
CD4+T細胞
(CD45+細胞之百分比)
CD8+T細胞
(脾CD45+細胞之百分比)
CD8+T細胞
(CD45+ TIL之百分比)
脾
TIL

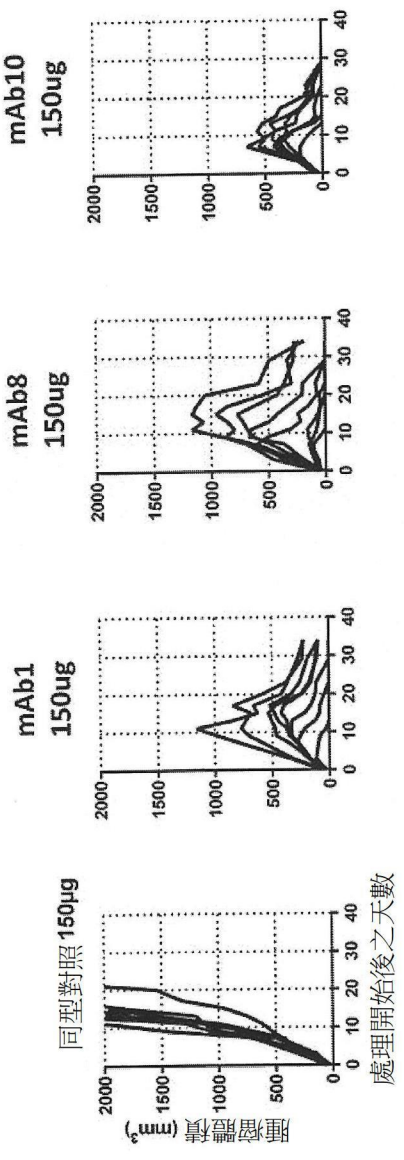
【圖7】


對照(無抗體)
mAb1
mAb1 + α-CD4 (GK1.5)
mAb1 + α-CD8 (YTS169.4)
mAb1 + α-Asialo-GM1
腫瘤體積 (mm³)
腫瘤接種後之天數
0
500
1000
1500
2000
0
20
40
60
80

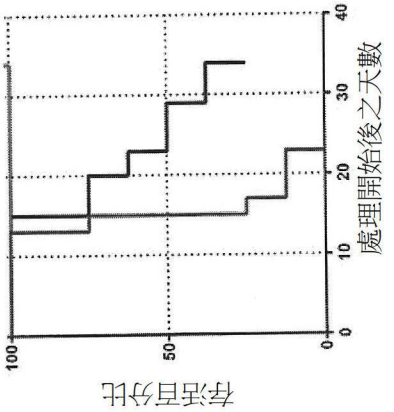
【圖8】


CT26
結腸癌
對照
mAb8
EMT-6
乳癌
對照
mAb8
A20
B細胞淋巴瘤
對照
mAb8
MC38
結腸癌
對照
mAb8

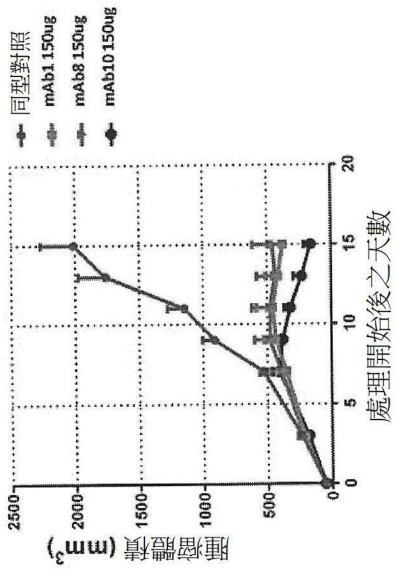
【圖9】



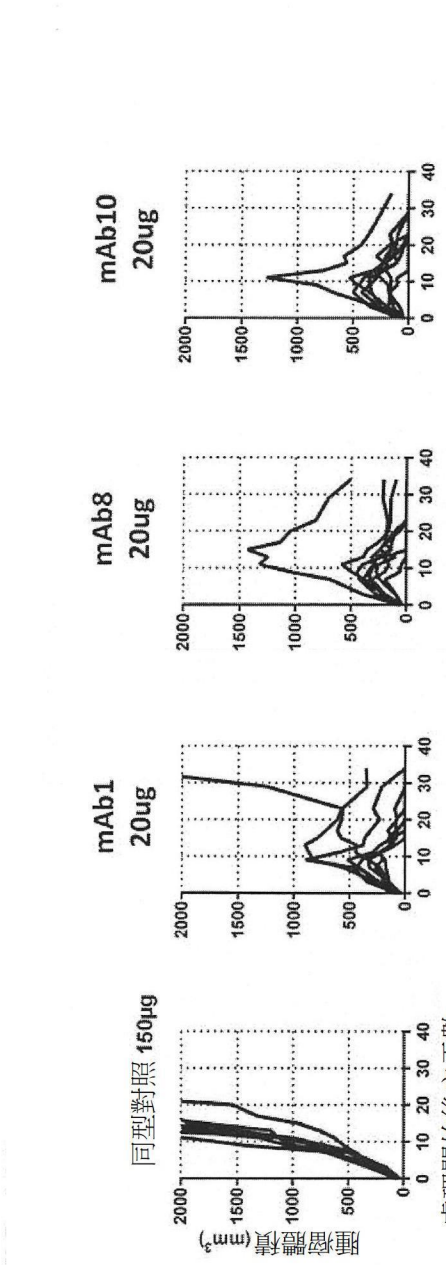
【圖10A】



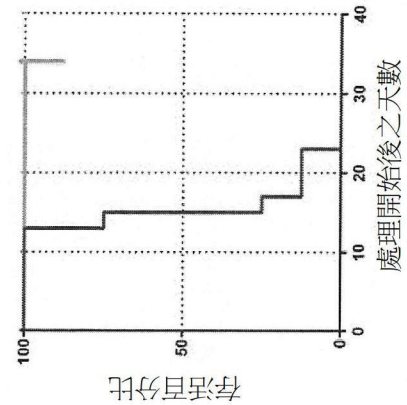
【圖10C】



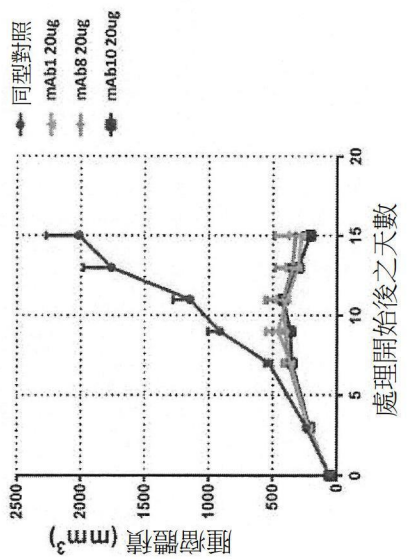
【圖10B】



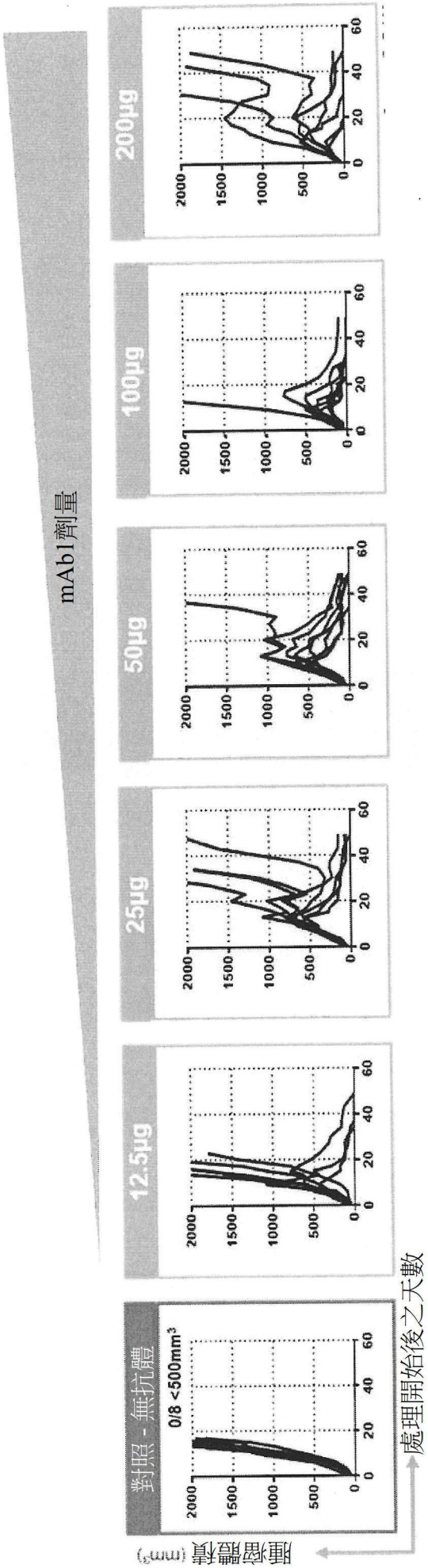
【圖11A】



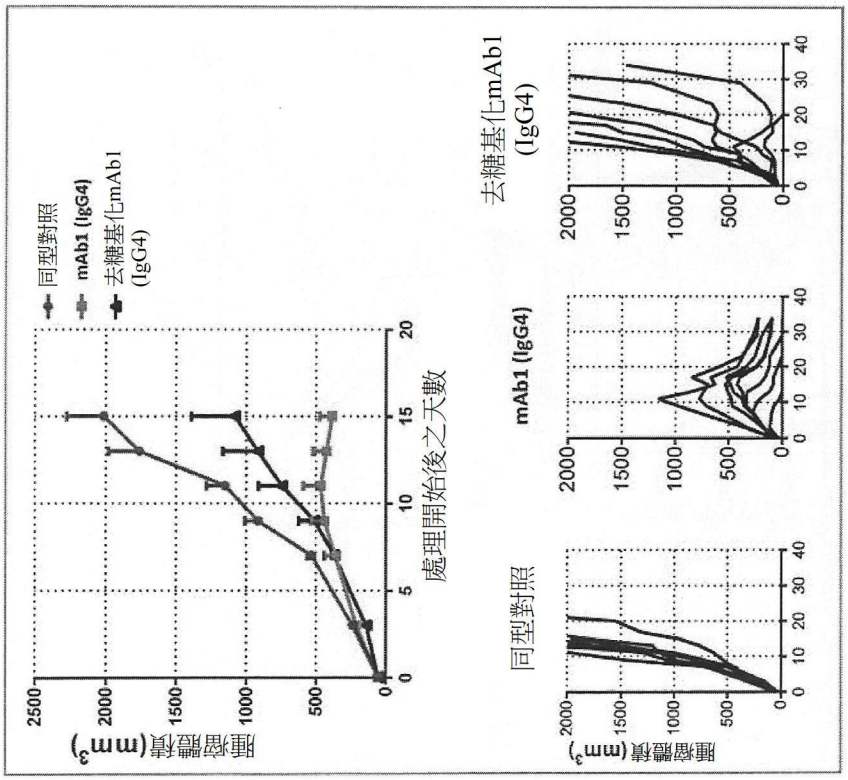
【圖11C】



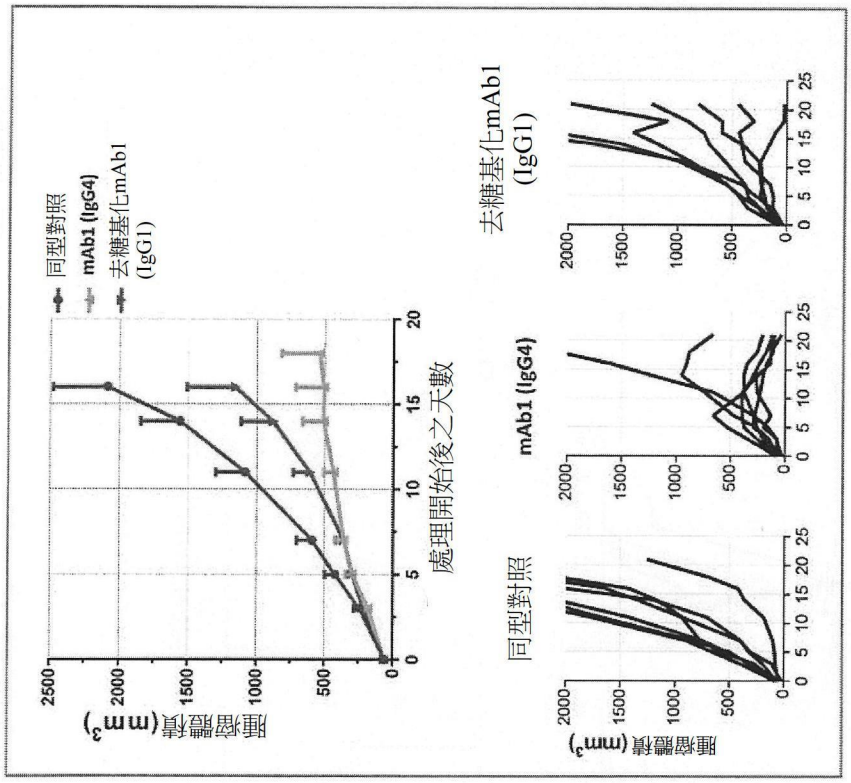
【圖11B】


mAb1劑量
對照 - 無抗體
0/8 <500mm³
12.5µg
25µg
50µg
100µg
200µg
腫瘤體積 (mm³)
處理開始後之天數

【圖12】

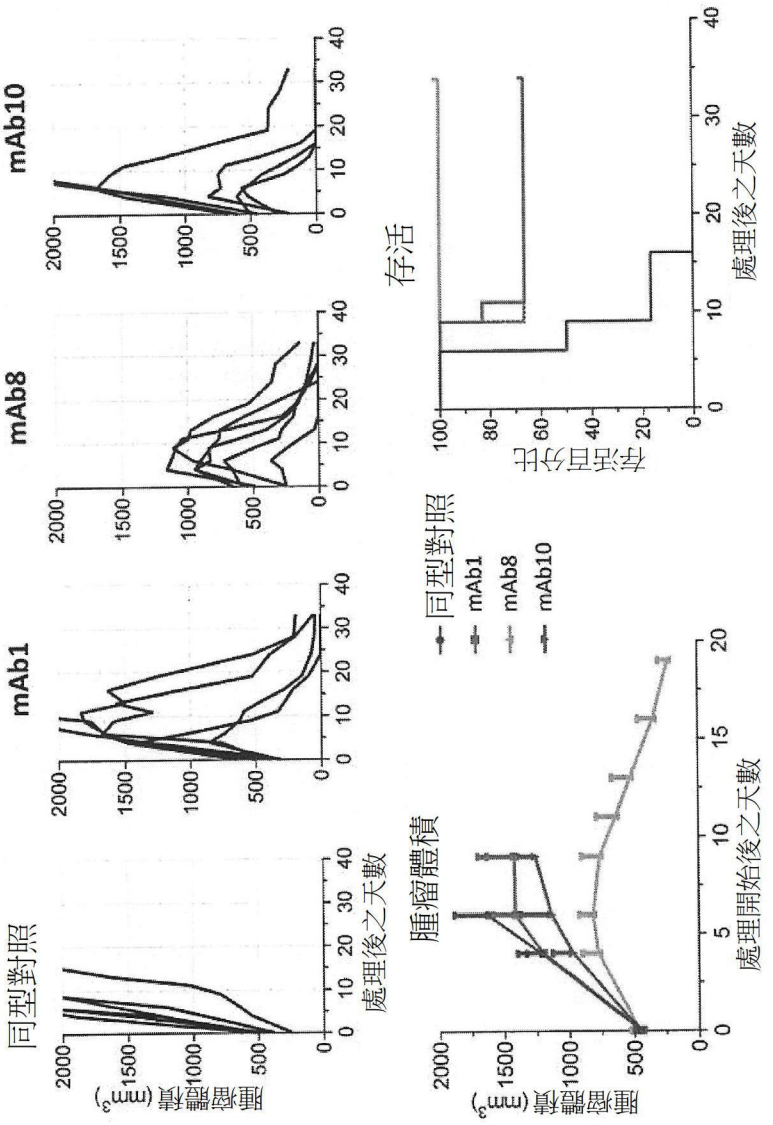

同型對照
mAb1 (IgG4)
去糖基化mAb1 (IgG1)
腫瘤體積(mm³)
處理開始後之天數
去糖基化mAb1 (IgG4)

【圖13A】


同型對照
mAb1 (IgG4)
去糖基化mAb1 (IgG1)
腫瘤體積(mm³)
處理開始後之天數
去糖基化mAb1 (IgG1)

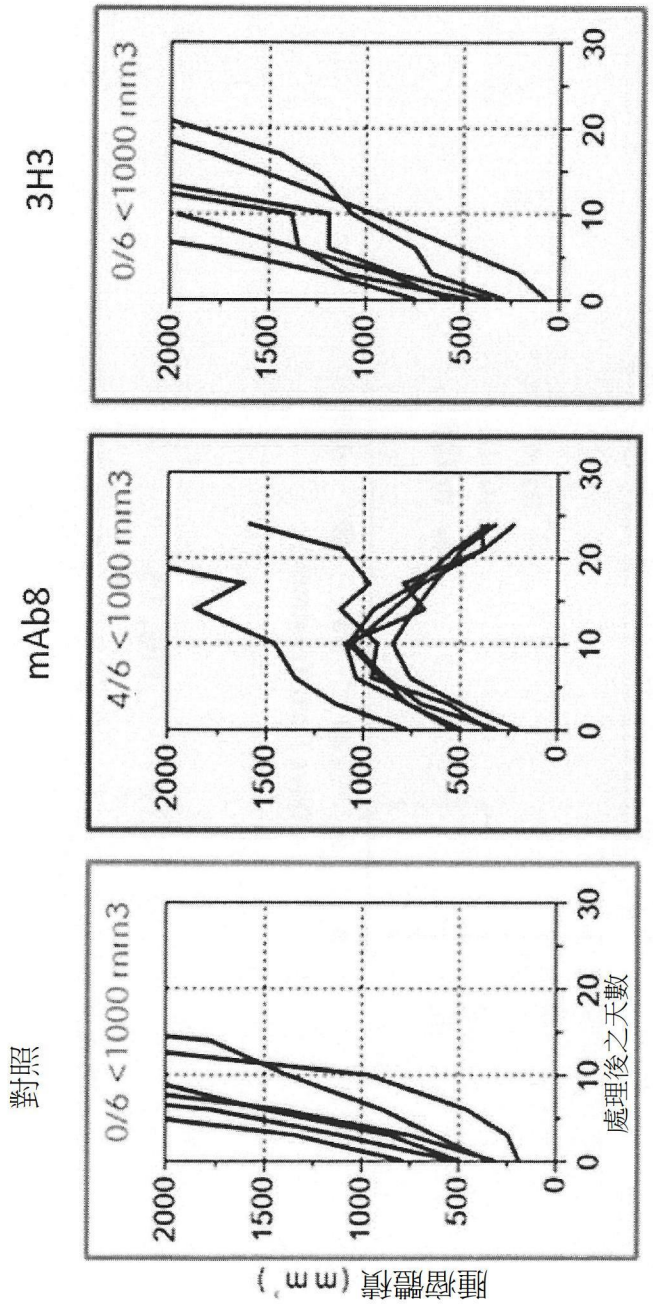
【圖13B】

【圖14A】

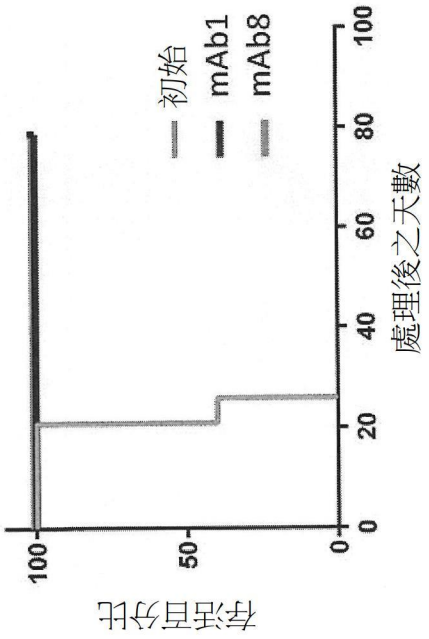


【圖14B】

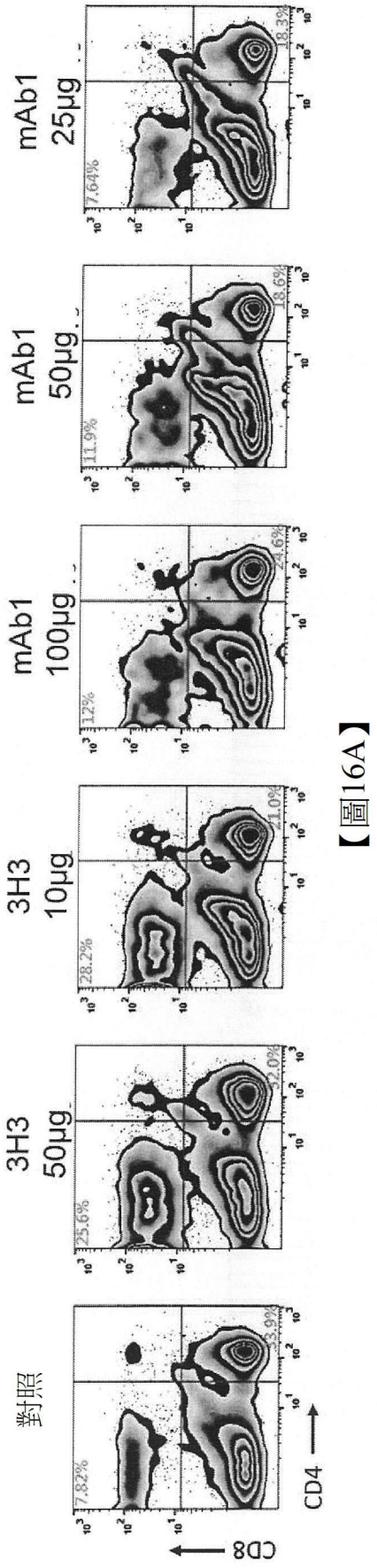
【圖14C】


對照
mAb8
3H3
腫瘤體積 (mm³)
處理後之天數
0/6 <1000 mm3
4/6 <1000 mm3
0/6 <1000 mm3
0
500
1000
1500
2000
0
10
20
30

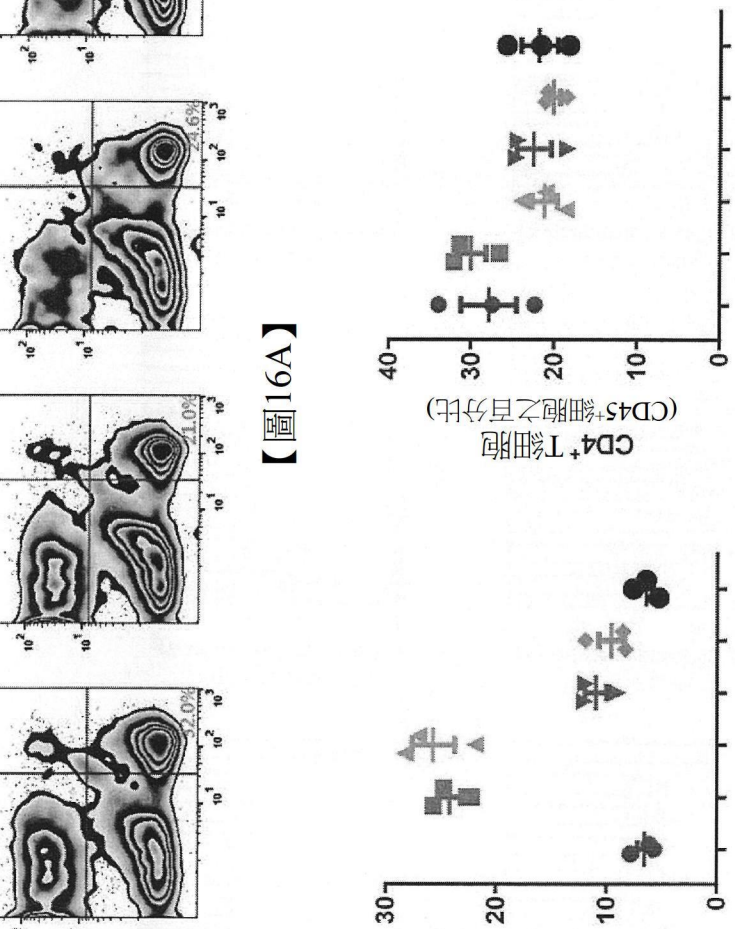
【圖14D】



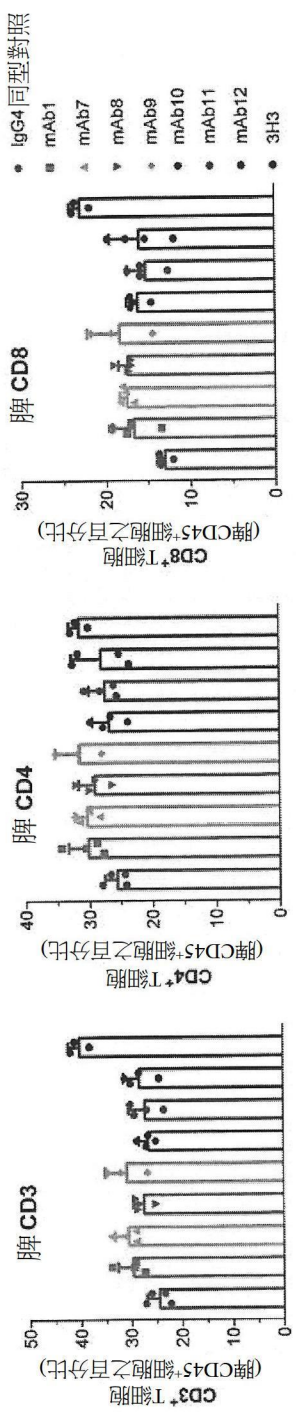
【圖15】


對照
3H3 50μg
3H3 10μg
mAb1 100μg
mAb1 50μg
mAb1 25μg
CD8
CD4
7.82%
25.6%
28.2%
12%
11.9%
7.64%
23.9%
22.0%
1.0%
24.6%
18.6%
18.3%

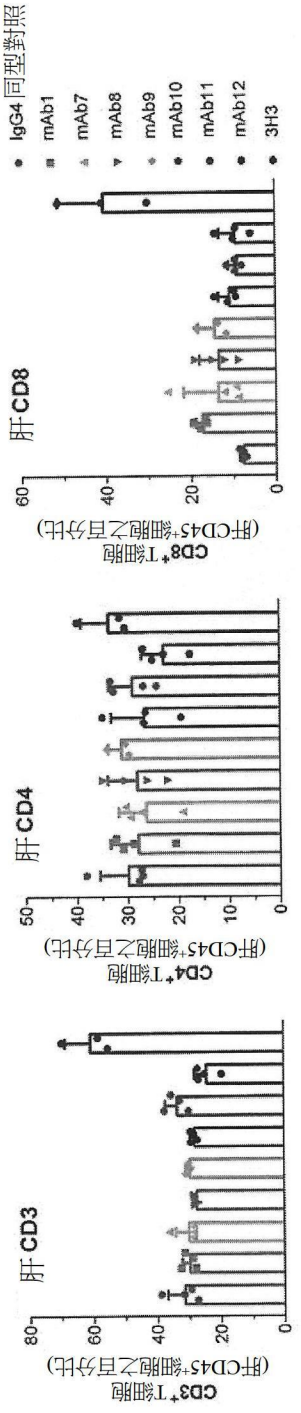
【圖16A】


對照
3H3 50μg
3H3 10μg
mAb1 100μg
mAb1 50μg
mAb1 25μg
CD8+ T細胞
(CD45+細胞之百分比)
CD4+ T細胞
(CD45+細胞之百分比)
0
10
20
30
40

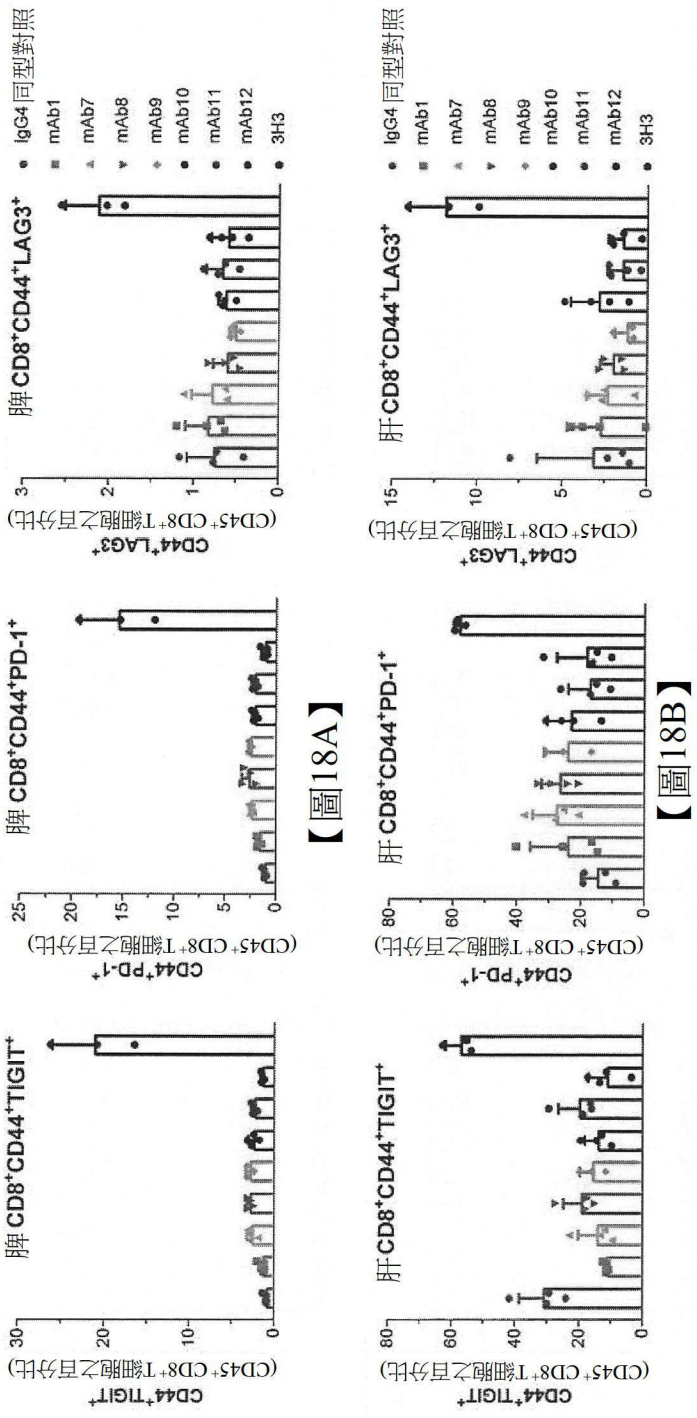
【圖16B】


脾 CD3
CD3+ T細胞
(脾CD45+細胞之百分比)
脾 CD4
CD4+ T細胞
(脾CD45+細胞之百分比)
脾 CD8
CD8+ T細胞
(脾CD45+細胞之百分比)
IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

【圖17A】

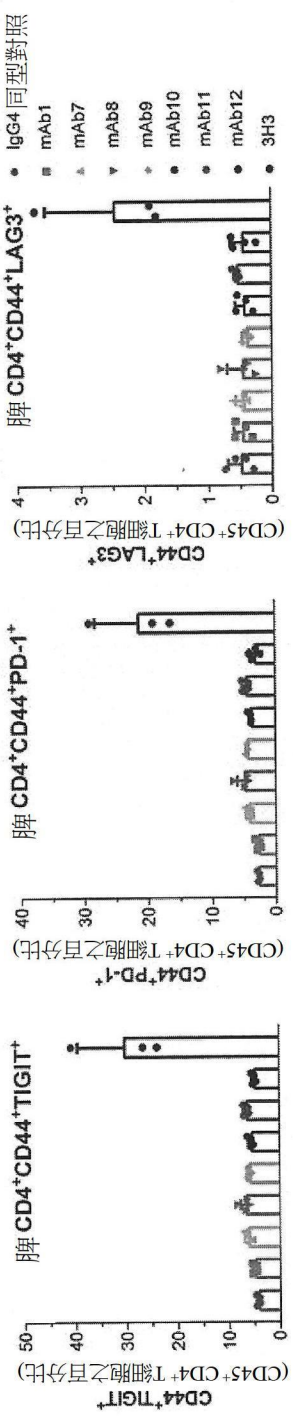

肝 CD3
CD3+ T細胞
(肝CD45+細胞之百分比)
肝 CD4
CD4+ T細胞
(肝CD45+細胞之百分比)
肝 CD8
CD8+ T細胞
(肝CD45+細胞之百分比)
IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

【圖17B】

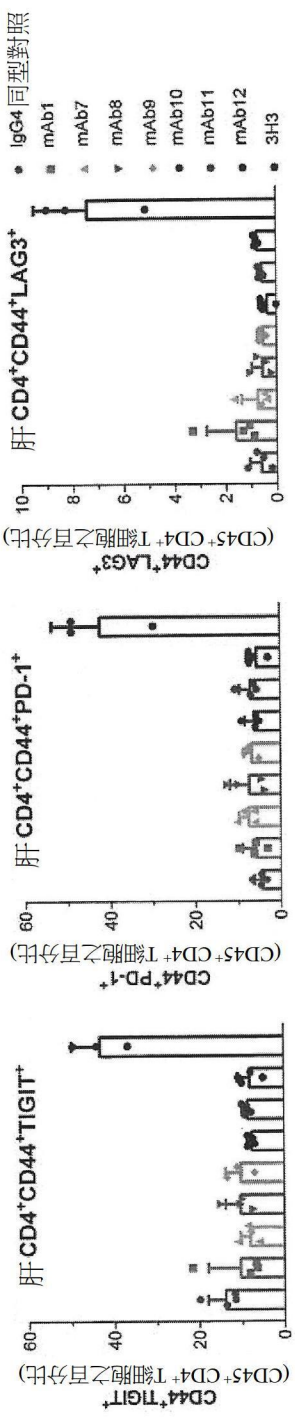

脾 CD8+CD44+TIGIT+
脾 CD8+CD44+PD-1+
脾 CD8+CD44+LAG3+
肝 CD8+CD44+TIGIT+
肝 CD8+CD44+PD-1+
肝 CD8+CD44+LAG3+
CD44+TIGIT+ (CD45+ CD8+ T細胞之百分比)
CD44+PD-1+ (CD45+ CD8+ T細胞之百分比)
CD44+LAG3+ (CD45+ CD8+ T細胞之百分比)
IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

【圖18A】

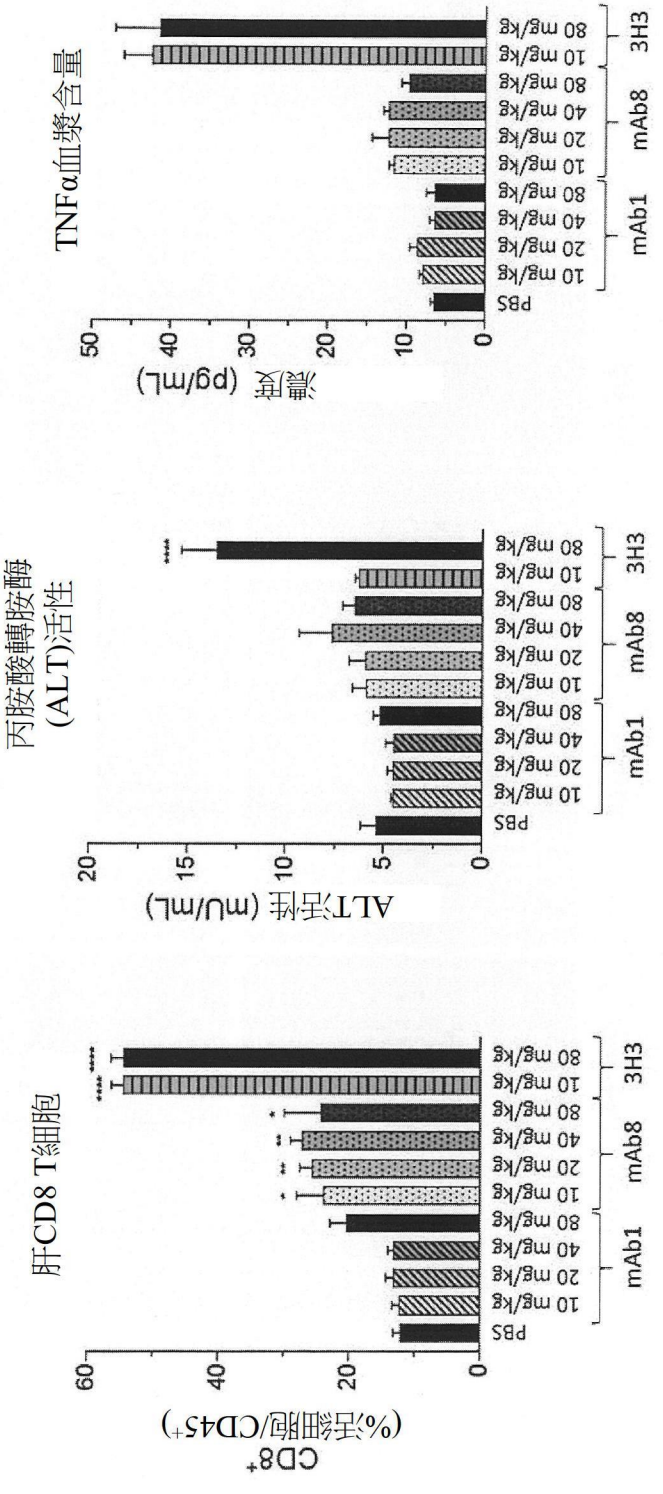
【圖18B】


脾 CD4+CD44+TIGIT+
CD44+TIGIT+ (CD45+ CD4+ T細胞之百分比)
脾 CD4+CD44+PD-1+
CD44+PD-1+ (CD45+ CD4+ T細胞之百分比)
脾 CD4+CD44+LAG3+
CD44+LAG3+ (CD45+ CD4+ T細胞之百分比)
IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

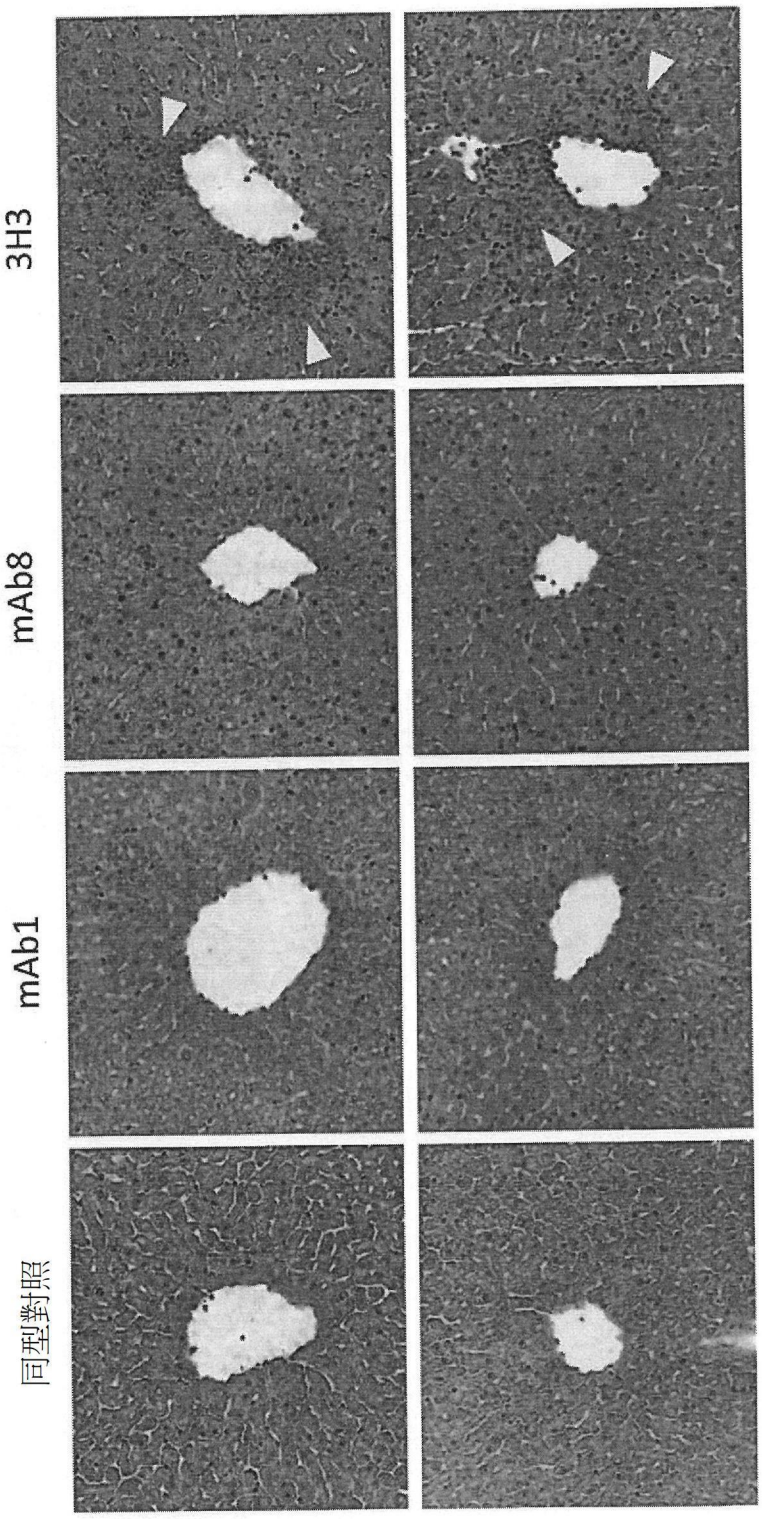
【圖19A】


肝 CD4+CD44+TIGIT+
CD44+TIGIT+ (CD45+ CD4+ T細胞之百分比)
肝 CD4+CD44+PD-1+
CD44+PD-1+ (CD45+ CD4+ T細胞之百分比)
肝 CD4+CD44+LAG3+
CD44+LAG3+ (CD45+ CD4+ T細胞之百分比)
IgG4 同型對照
mAb1
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
3H3

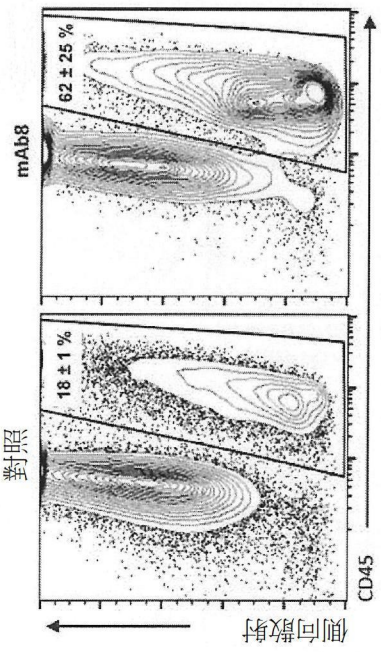
【圖19B】



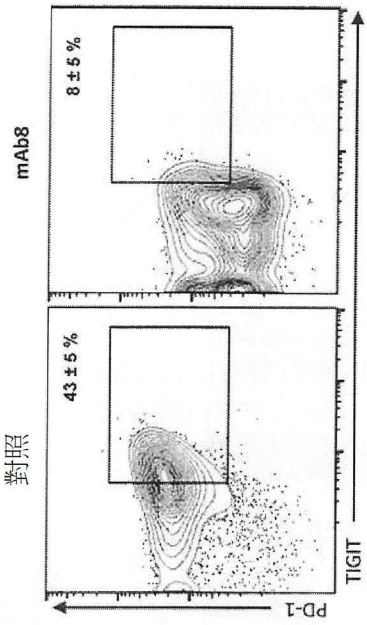
【圖20A】 【圖20B】 【圖20C】



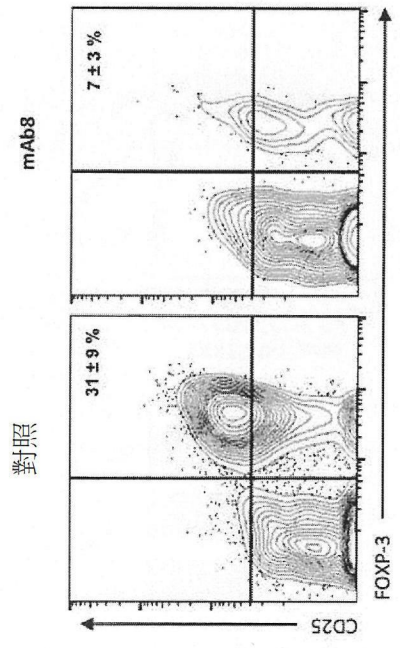
【圖21】



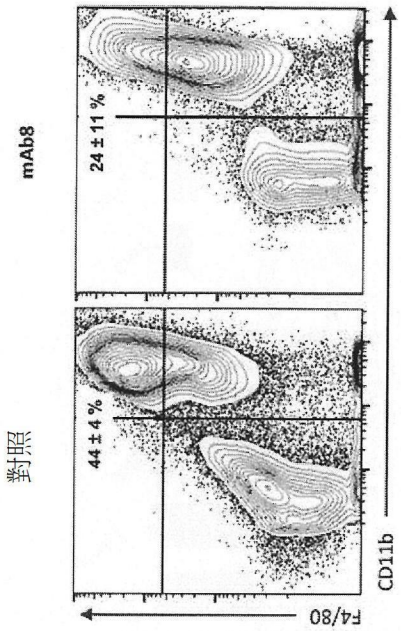
【圖22A】



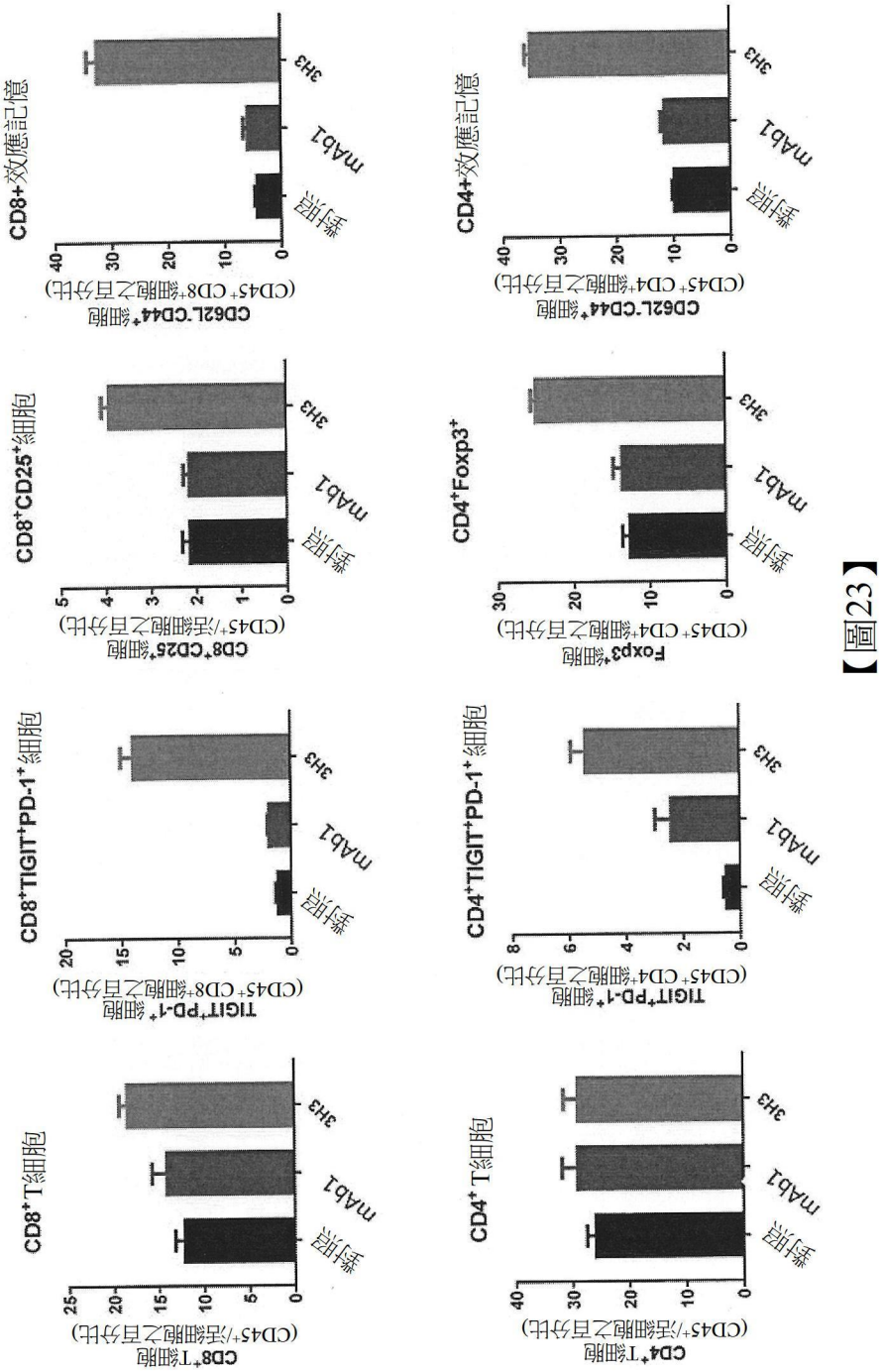
【圖22C】



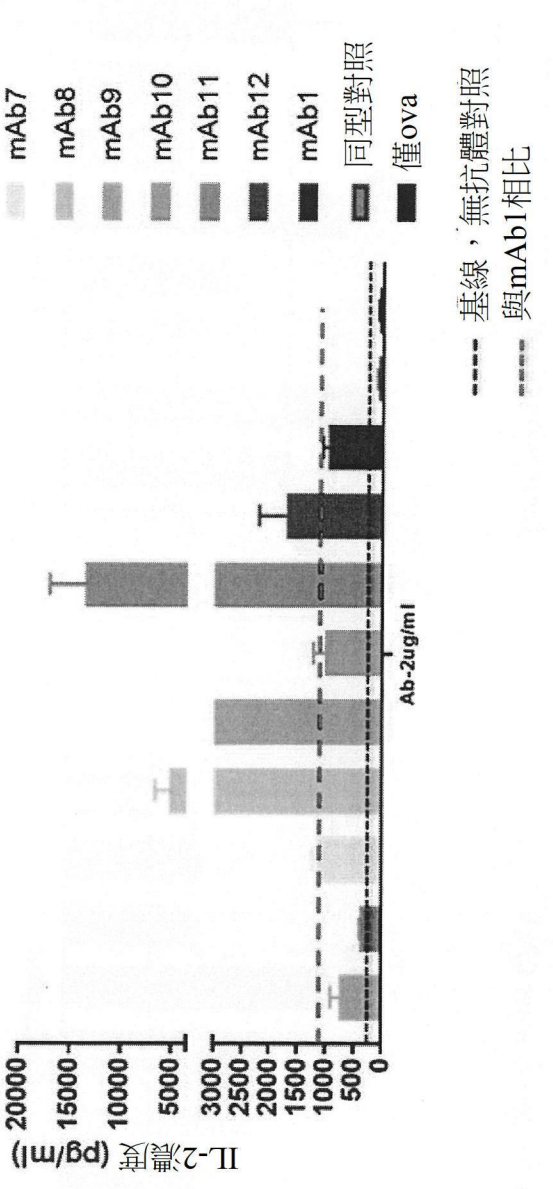
【圖22B】



【圖22D】

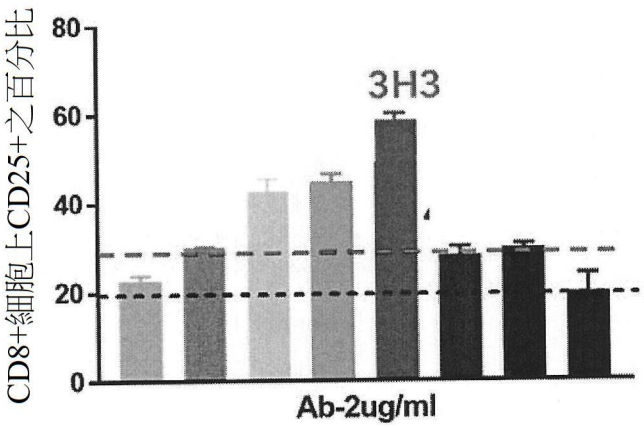

CD8+效應記憶
CD62L-CD44+細胞
(CD45+ CD8+細胞之百分比)
CD8+CD25+細胞
CD8+CD25+細胞
(CD45+/活細胞之百分比)
CD8+TIGIT+PD-1+細胞
TIGIT+PD-1+細胞
(CD45+ CD8+細胞之百分比)
CD8+T細胞
CD8+T細胞
(CD45+/活細胞之百分比)
CD4+效應記憶
CD62L-CD44+細胞
(CD45+ CD4+細胞之百分比)
CD4+Foxp3+
Foxp3+細胞
(CD45+ CD4+細胞之百分比)
CD4+TIGIT+PD-1+細胞
TIGIT+PD-1+細胞
(CD45+ CD4+細胞之百分比)
CD4+T細胞
CD4+T細胞
(CD45+/活細胞之百分比)
對照
mAb1
3H3

【圖23】


CD8+IL2-MSD
IL-2濃度 (pg/ml)
20000
15000
10000
5000
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Ab-2ug/ml
RMP1-14
阿特珠單抗
mAb7
mAb8
mAb9
mAb10
mAb11
mAb12
mAb1
同型對照
僅ova
基線，無抗體對照
與mAb1相比

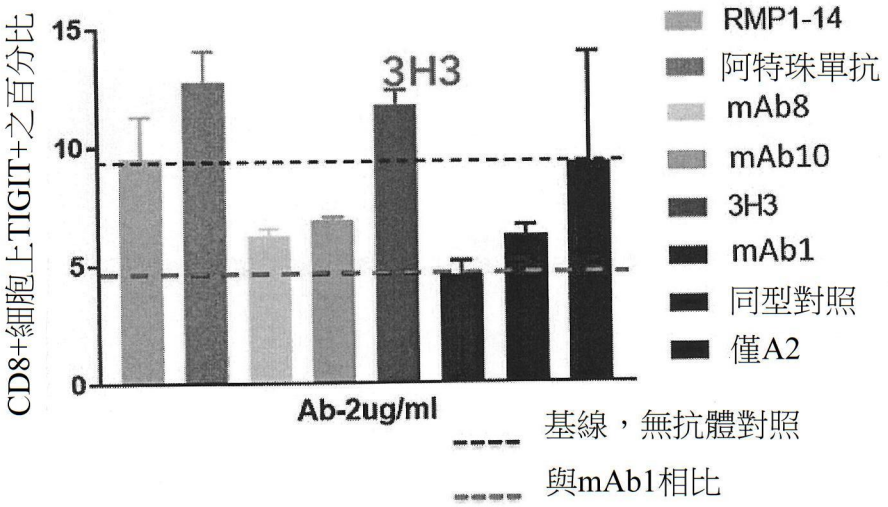
【圖24】

活化標記物CD25之表現

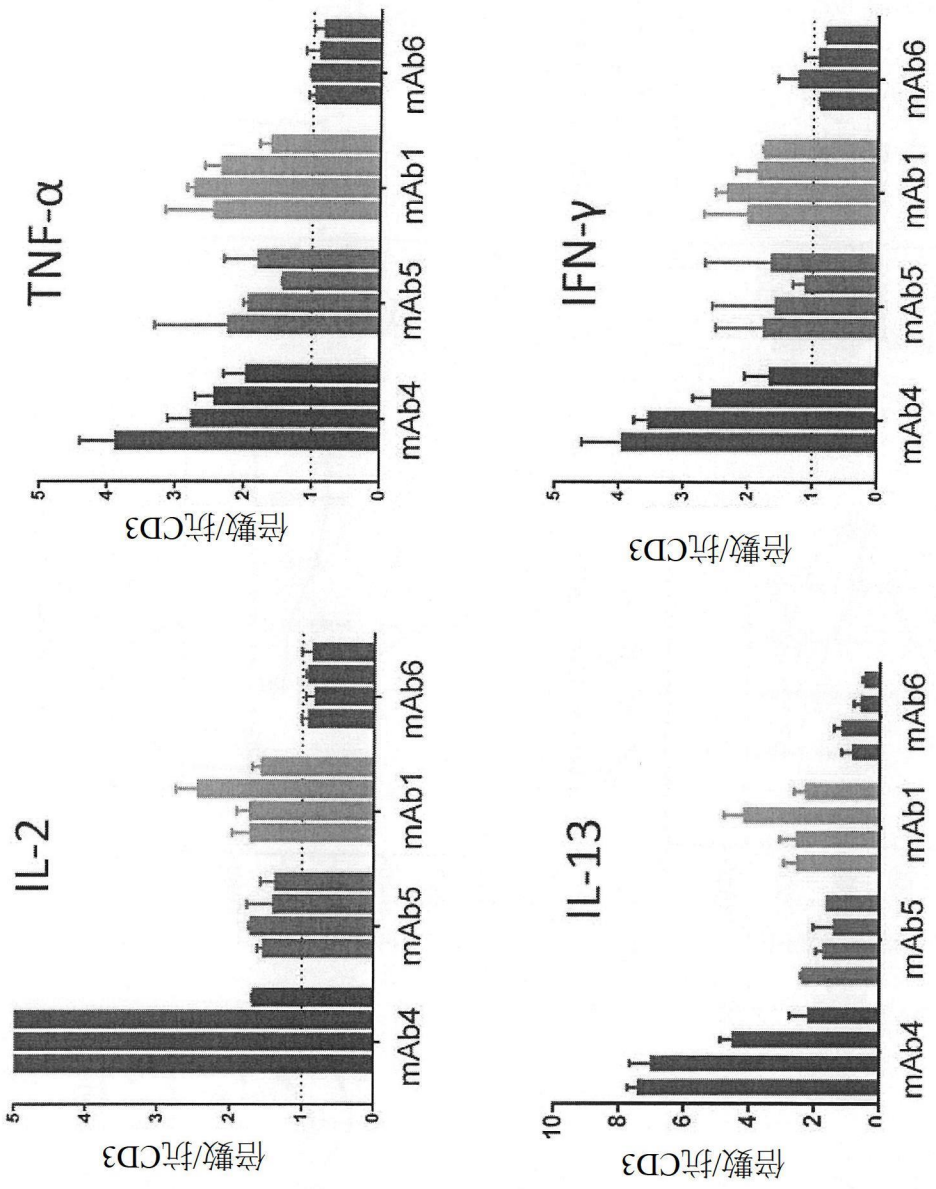


【圖25A】

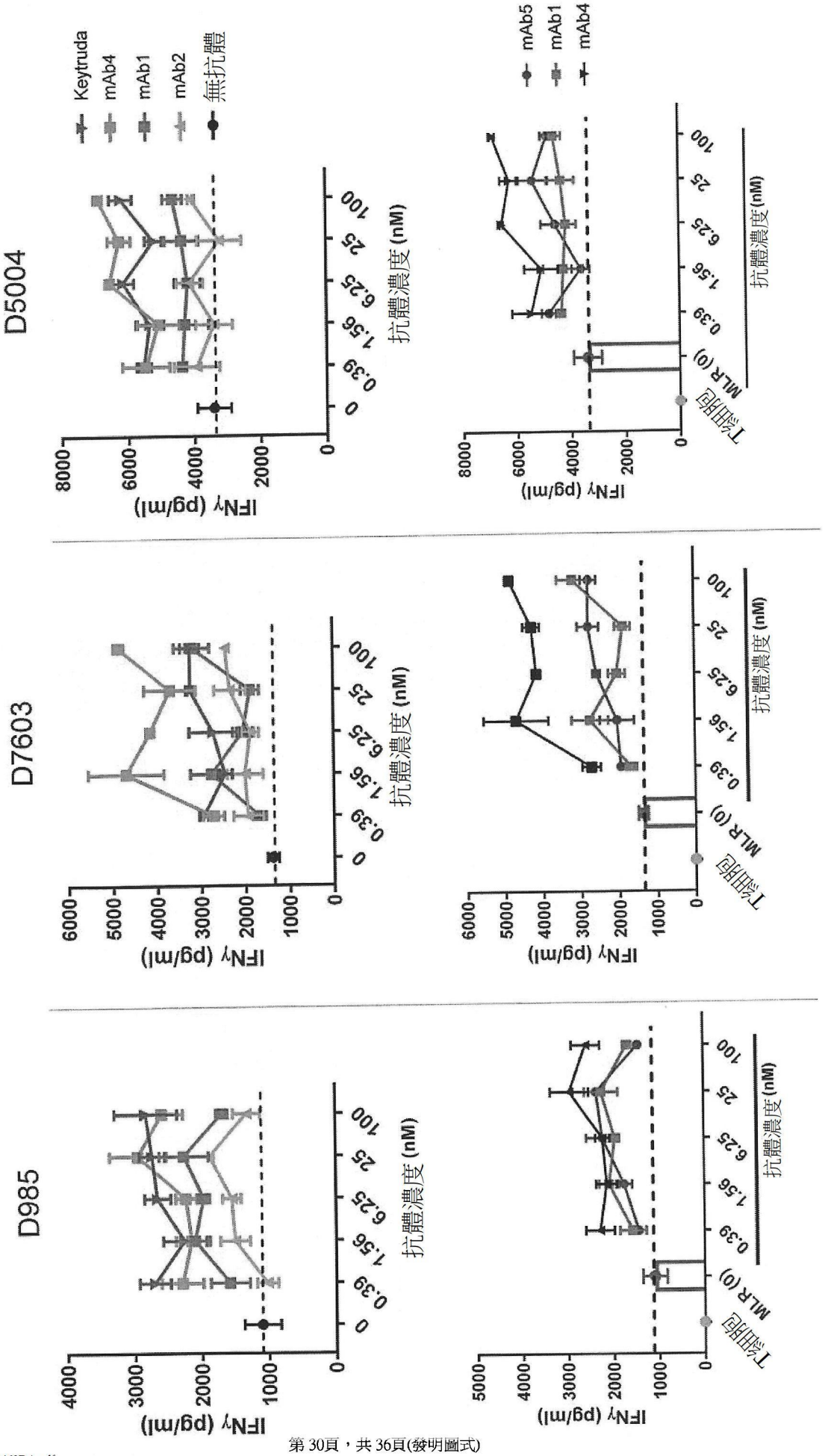
耗竭標記物TIGIT之表現



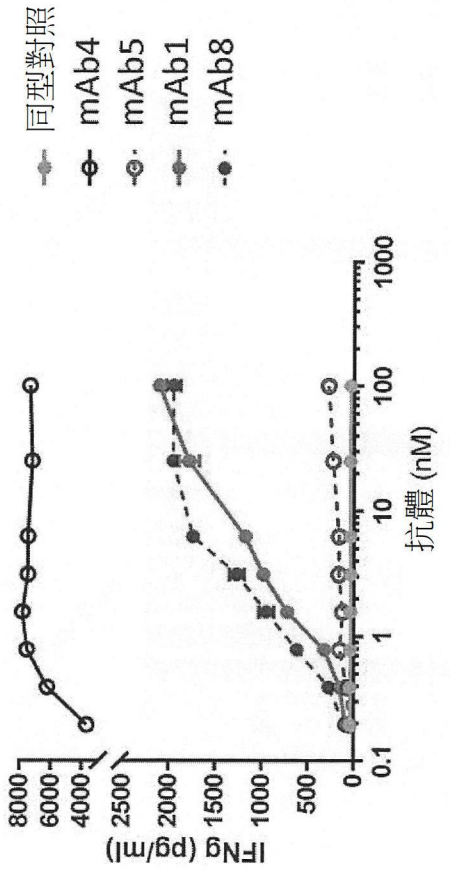
【圖25B】



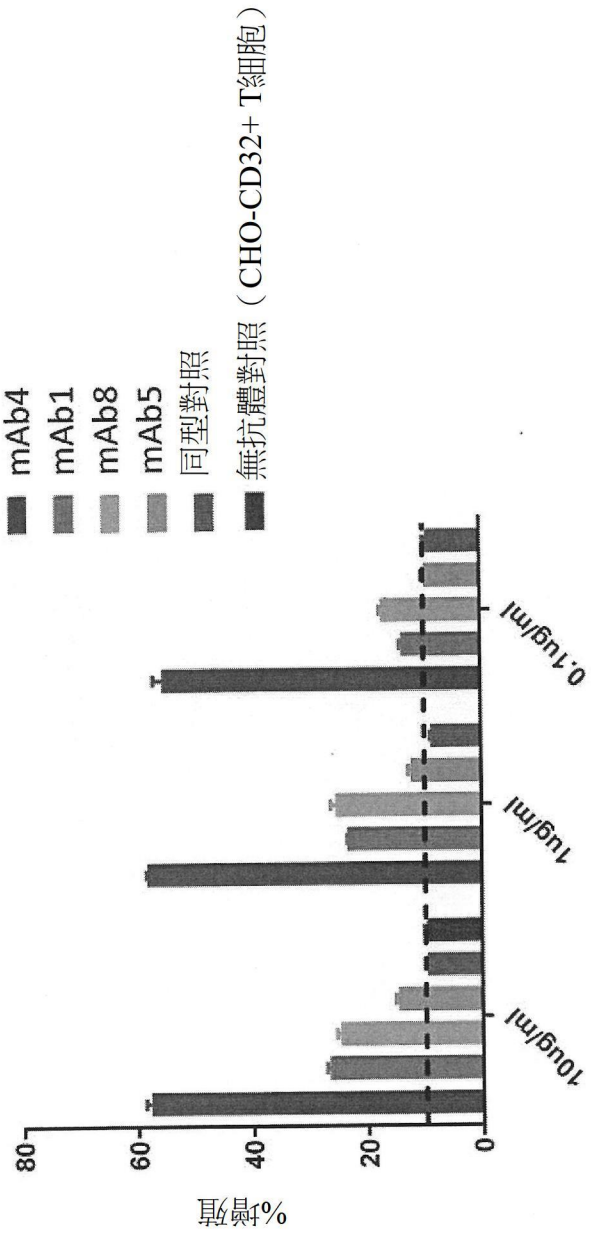
【圖26】



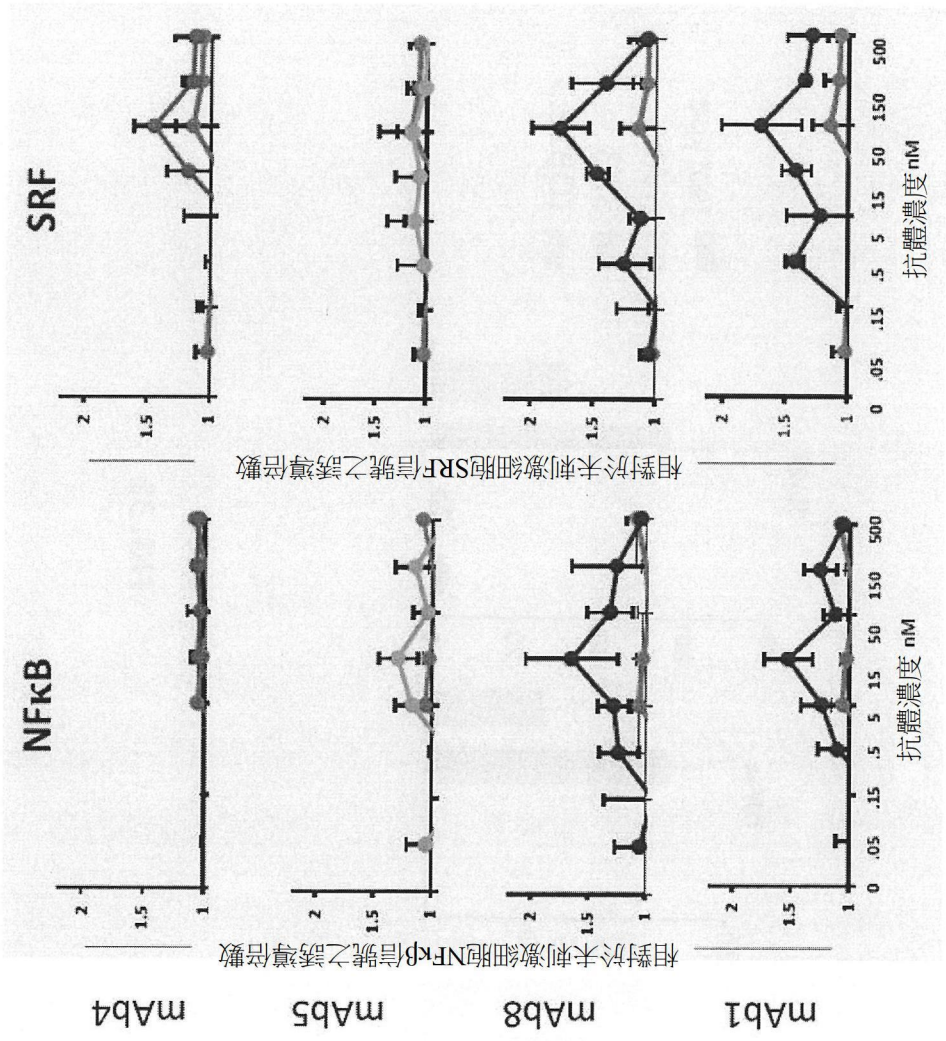
【圖27A】 【圖27B】 【圖27C】


同型對照
mAb4
mAb5
mAb1
mAb8
IFNg (pg/ml)
8000
6000
4000
2500
2000
1500
1000
500
0
0.1
1
10
100
1000
抗體 (nM)

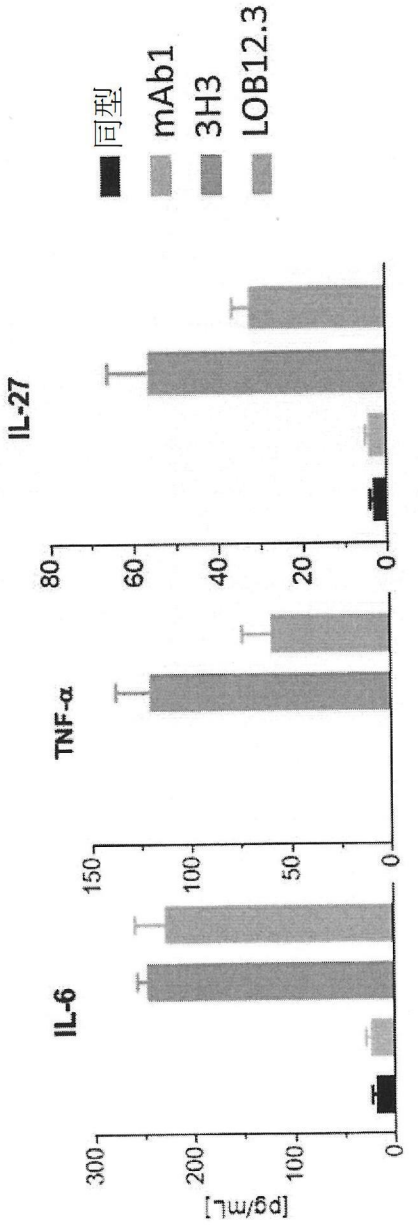
【圖28】


mAb4
mAb1
mAb8
mAb5
同型對照
無抗體對照（CHO-CD32+ T細胞）
%增殖
0
20
40
60
80
10ug/ml
1ug/ml
0.1ug/ml

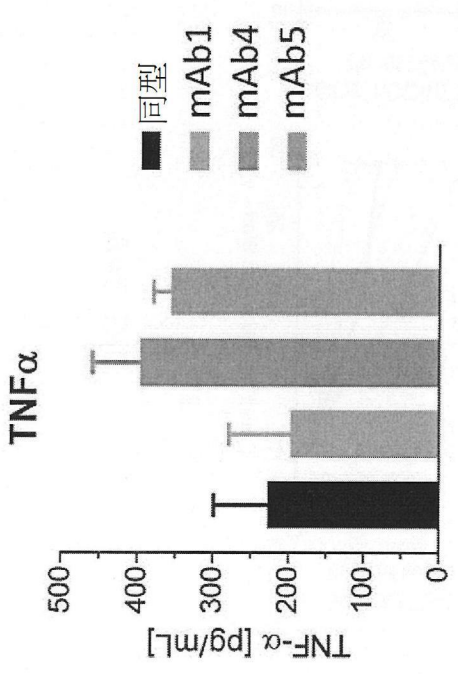
【圖29】


NFκB
SRF
相對於未刺激細胞NFκB信號之誘導倍數
相對於未刺激細胞SRF信號之誘導倍數
抗體濃度 nM
mAb1
mAb8
mAb5
mAb4

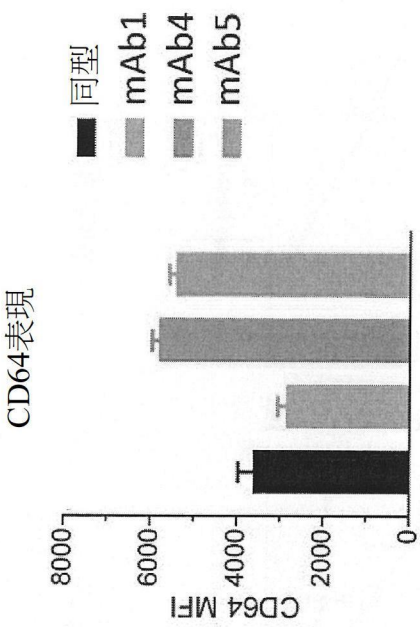
【圖30】


同型
mAb1
3H3
LOB12.3
IL-27
TNF-α
IL-6
[pg/mL]
0
20
40
60
80
0
50
100
150
0
100
200
300

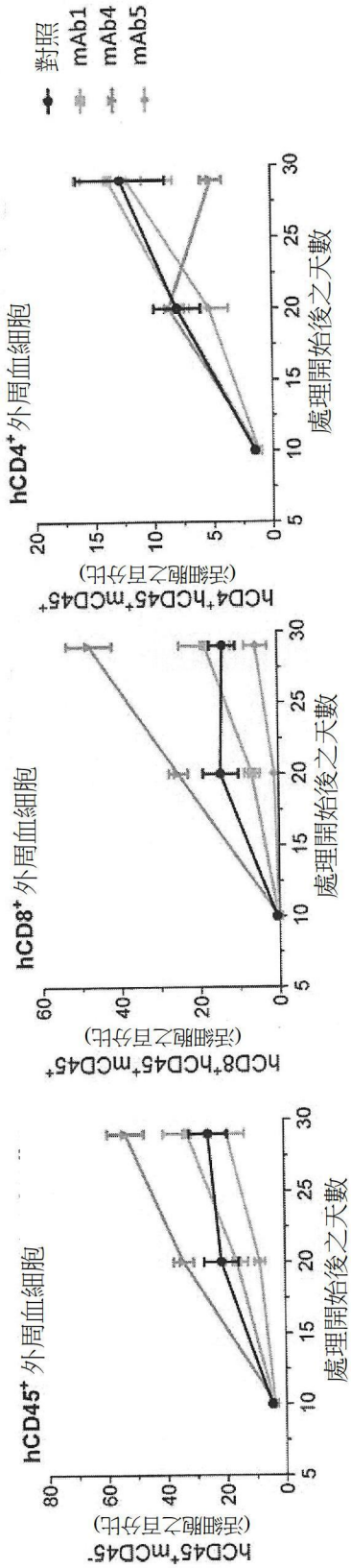
【圖31】


TNFα
同型
mAb1
mAb4
mAb5
TNF-α [pg/mL]
500
400
300
200
100
0

【圖32】


CD64表現
同型
mAb1
mAb4
mAb5
CD64 MFI
8000
6000
4000
2000
0

【圖33】



【圖34A】

【圖34B】

【圖34C】