



(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 I579298 B

(45)公告日：中華民國 106 (2017) 年 04 月 21 日

(21)申請案號：101134792

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 09 月 21 日

(51)Int. Cl. : C07K14/435 (2006.01)

C07K16/28 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/09/22 美國

61/538,024

(71)申請人：安美基公司(美國) AMGEN INC. (US)

美國

(72)發明人：迪藍尼 約翰M DELANEY, JOHN M. (US)；凡斯羅三世 威廉 克利斯汀
FANSLOW III, WILLIAM CHRISTIAN (US)；金恩 伽德維克 泰倫斯 KING,
CHADWICK TERENCE (CA)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2006/113909A2

WO 2008/074004A2

審查人員：莊智惠

申請專利範圍項數：69 項 圖式數：11 共 224 頁

(54)名稱

C D 2 7 L 抗原結合蛋白質

CD27L ANTIGEN BINDING PROTEINS

(57)摘要

本發明係關於 CD27L 抗原結合蛋白質(諸如抗體)、編碼該等 CD27L 抗原結合蛋白質之聚核苷酸、抗體藥物共軛物組合物，及診斷及治療與 CD27L 表現相關之疾病的方法。

The present invention relates to CD27L antigen binding proteins, such as antibodies, polynucleotides encoding said CD27L antigen binding proteins, antibody drug conjugate compositions, and methods for diagnosing and treating diseases associated with CD27L expression.

指定代表圖：

	抗原決定基結合	親和力：人類 Biacore K _D nM	原生細胞 親合力 EC50 nM	食蟹猴細胞 親合力 EC50 nM	ADCC EC50 nM	ADCP EC50 pM	CDC # EC50 nM	內化 T½ {小時}
嵌合小鼠 抗人 CD27L	3	1.25	0.60	2.22	0.195	2.17	2.64	0.41
Ab1	1	0.62	0.32	0.05	0.023	1.12	1.0	1.63
Ab2	1	0.59	0.24	0.24	0.034	1.19	1.17	0.59
Ab3	1	4.35	4.18	2.80	0.715	64.8	10.6	0.49
Ab4	3	3.05	0.25	0.48	0.332	1.55	1.54	0.30
Ab5	2	10.4	0.66	1.40	0.422	2.36	5.28	0.75
Ab6	4	6.06	0.87	0.87	0.167	1.88	4.20	1.08
Ab7	4	0.71	0.18	0.43	0.076	0.80	0.64	0.43
Ab8	2	10.8	0.09	0.34	> 67	1.60	> 67	1.81

圖1

發明專利說明書

公告本

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101134792

※申請日：101.9.21

※IPC 分類：C07K 14/435 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

CD27L抗原結合蛋白質

CD27L ANTIGEN BINDING PROTEINS

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

二、中文發明摘要：

本發明係關於CD27L抗原結合蛋白質(諸如抗體)、編碼該等CD27L抗原結合蛋白質之聚核苷酸、抗體藥物共軛物組合物，及診斷及治療與CD27L表現相關之疾病的方法。

三、英文發明摘要：

The present invention relates to CD27L antigen binding proteins, such as antibodies, polynucleotides encoding said CD27L antigen binding proteins, antibody drug conjugate compositions, and methods for diagnosing and treating diseases associated with CD27L expression.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明領域係關於能夠結合CD27L之抗原結合蛋白質(包括抗體)之組合物，以及相關方法。

本申請案主張2011年9月22日申請之美國臨時申請案第61/538,024號之權益，該案之內容藉此以全文引用的方式併入。

【先前技術】

CD27L (CD70, TNFSF7)為II型整合膜蛋白質，其在正常組織上的表現是高度受限於經活化T細胞及B細胞、樹突狀細胞之子組及受限於胸腺上皮中之細胞的小型子組。CD27L之生物功能(包括免疫反應之加強或調控)係經由結合至其受體(CD27)所介導，該受體主要表現於淋巴樣細胞上。CD27L/CD27相互作用可調控B細胞增殖及分化以及T細胞協同刺激/活化。破壞CD27缺乏的小鼠中之CD27L/CD27相互作用在沒有免疫激發情況下不會產生任何表型。(Grewal, *Expert Opin. Ther. Targets*. 12, 341-351 (2008))。

CD27L除了在正常組織上極其受限表現以外，其在一些B細胞非霍奇金氏淋巴瘤(B cell non-Hodgkin's lymphoma, B-NHL)腫瘤亞型、前B細胞急性淋巴球性白血病(ALL)及B細胞型慢性淋巴球性白血病(B-CLL)中係以相對較高量表現。在腎細胞癌(RCC)中亦觀測到CD27L之異常表現，但在正常腎臟或其他正常組織中則未觀測到。因此，CD27L

呈現出的特性與「腫瘤特異性抗原」的特性接近一致性 (Grewal, *Expert Opin. Ther. Targets*. 12, 341-351 (2008))。

在美國，每年約有49,000名患者會逐漸顯露出RCC，略超過40,000名患者會診斷出患有ccRCC(American Cancer Society: Cancer Facts and Figures final (2008))。儘管一些較新治療劑在過去4年中已獲准用於RCC，但患有轉移性RCC之患者的5年存活率仍保持在10-20%之低位(National Cancer Institute. SEER cancer statistics fact sheet: cancer of the kidney and renal pelvis--2008年存取)且顯著未得到滿足之醫療需要仍存在。估計預期會表現CD27L之新診斷ccRCC患者(美國)每年人數約36,000名。據估計目前有64,000名ccRCC患者患有活動性疾病。

在據報導異常表現CD27L之B細胞惡性疾病中，彌漫性大細胞B細胞淋巴瘤(DLBCL)及濾泡性淋巴瘤(FL)之B-NHL子組顯示在33%(對於FL)至71%(對於DLBCL)範圍內之最高表現發生率，如藉由使用經驗證之抗體對冷凍切片進行IHC所評估(Lens等人，*Brit. J. Hematol.* 106, 491-503 (1999))。50-89%之B-CLL腫瘤亦表現CD27L，如藉由對冷凍腫瘤切片進行IHC或藉由對循環腫瘤細胞進行流動式細胞測量術所評估(Ranheim等人，*Blood* 85, 3556-3565 (1995)；Trentin等人，*Cancer Res.* 57, 4940-4947 (1997))。

在美國普遍患有活動性B-NHL之127,000名患者中，約50%之此等患者伴有DLBCL(中度)亞型(Morton等人，*Blood* 107, 265-276 (2002))。儘管美羅華(Rituxan)加上環

磷醯胺、阿黴素(adriamycin)、長春新鹼(vincristine)、潑尼松(prednisone)(CHOP)標準照護療法用於DLBCL患者，但幾乎50%會復發。因此，未得到滿足之醫療需要在此疾病中同樣仍存在。

【發明內容】

本發明提供抗CD27L抗原結合蛋白質(例如抗體)及其功能片段。抗CD27L抗原結合蛋白質尤其適用於治療與異常細胞增殖相關之疾病及病症(例如癌症)及/或與發炎相關之疾病及病症的方法中。

在第一態樣中，CD27L抗原結合蛋白質包含a)與SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70所示之胺基酸序列具有至少90%一致性、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致之輕鏈可變域；b)與SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24所示之胺基酸序列具有至少90%一致性、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致之重鏈可變域；或c) a)之輕鏈可變域及b)之重鏈可變域。

第一態樣之較佳抗原結合蛋白質包括包含以下者：與SEQ ID NO:63所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致之輕鏈可變域及與SEQ ID NO:17所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致之重鏈可變域；包含以下者：與SEQ

ID NO:64所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:18所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:65所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:19所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:65所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:19所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:66所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:20所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:67所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:21所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:68所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:22所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:69所示之胺基酸序列

具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:23所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域；及包含以下者：與SEQ ID NO:70所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:24所示之胺基酸序列具有至少90%、至少95%一致性或與該胺基酸序列一致的重鏈可變域。

在第二態樣中，CD27L抗原結合蛋白質包含a)與SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域；b)與SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；或c) a)之輕鏈可變域及b)之重鏈可變域。

第二態樣之較佳抗原結合蛋白質包括包含以下者：與SEQ ID NO:63所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:17所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:64所示之胺基酸序列相比具有不超過十

個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:18所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:65所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:19所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:66所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:20所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:67所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:21所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:68所示之胺基酸序列中具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:22所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；包含以下者：與SEQ ID NO:69所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域及與SEQ ID NO:23所示之胺基酸序列相比具有不超過十個或不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；及包含以下者：與SEQ ID NO:70所示之胺

基 酸 序 列 相 比 具 有 不 超 過 十 個 或 不 超 過 五 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 輕 鏈 可 變 域 及 與 SEQ ID NO:24 所 示 之 胺 基 酸 序 列 相 比 具 有 不 超 過 十 個 或 不 超 過 五 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 重 鏈 可 變 域 。

在 第 三 態 樣 中 ， CD27L 抗 原 結 合 蛋 白 質 含 有 包 含 以 下 之 輕 鏈 可 變 域 ： a) 與 SEQ ID NO:71 所 示 之 LCDR1 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR1 ； 與 SEQ ID NO:79 所 示 之 LCDR2 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR2 ； 及 與 SEQ ID NO:87 所 示 之 LCDR3 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR3 ； b) 與 SEQ ID NO:72 所 示 之 LCDR1 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR1 ； 與 SEQ ID NO:80 所 示 之 LCDR2 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR2 ； 及 與 SEQ ID NO:88 所 示 之 LCDR3 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR3 ； c) 與 SEQ ID NO:73 所 示 之 LCDR1 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR1 ； 與 SEQ ID NO:81 所 示 之 LCDR2 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR2 ； 及 與 SEQ ID NO:89 所 示 之 LCDR3 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR3 ； d) 與 SEQ ID NO:74 所 示 之 LCDR1 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR1 ； 與 SEQ ID NO:82 所 示 之 LCDR2 序 列 相 比 具 有 不 超 過 三 個 胺 基 酸 添 加 、 缺 失 或 取 代 的 LCDR2 ； 及 與 SEQ ID NO:90 所 示 之

LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；e)與SEQ ID NO:75所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:83所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:91所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；f)與SEQ ID NO:76所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:84所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:92所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；g)與SEQ ID NO:77所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:85所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:93所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；或h)與SEQ ID NO:78所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:86所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:94所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；及包含以下之重鏈可變域：i)與SEQ ID NO:25所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:33所示之HCDR2序列相

比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:41所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；j)與SEQ ID NO:26所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:34所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:42所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；k)與SEQ ID NO:27所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:35所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:43所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；l)與SEQ ID NO:28所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:36所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:44所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；m)與SEQ ID NO:29所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:37所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:45所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；n)與SEQ ID NO:30所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取

代的HCDR1；與SEQ ID NO:38所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:46所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；o)與SEQ ID NO:31所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:39所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:47所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；或p)與SEQ ID NO:32所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:40所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:48所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3。

第三態樣之較佳CD27L抗原結合蛋白質包括包含以下者：a)之輕鏈可變域及i)之重鏈可變域；包含以下者：b)之輕鏈可變域及j)之重鏈可變域；包含以下者：c)之輕鏈可變域及k)之重鏈可變域；包含以下者：d)之輕鏈可變域及l)之重鏈可變域；包含以下者：e)之輕鏈可變域及m)之重鏈可變域；包含以下者：f)之輕鏈可變域及n)之重鏈可變域；包含以下者：g)之輕鏈可變域及o)之重鏈可變域；及包含以下者：h)之輕鏈可變域及p)之重鏈可變域。

在本發明之第四態樣中，第一、第二或第三態樣之CD27L抗原結合蛋白質以小於或等於 2×10^{-11} M之親和力結

合於人類CD27L。

在本發明之第五態樣中，第一、第二、第三或第四態樣之CD27L抗原結合蛋白質抑制CD27L與CD27之結合。

在本發明之第六態樣中，第一、第二、第三、第四或第五態樣之CD27L抗原結合蛋白質為抗體，諸如人類抗體。較佳抗體包括包含具有SEQ ID NO:56所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:10所示之胺基酸序列之重鏈的抗體；包含具有SEQ ID NO:57所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:11所示之胺基酸序列之重鏈的抗體；包含具有SEQ ID NO:58所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:12所示之胺基酸序列之重鏈的抗體；包含具有SEQ ID NO:59所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:13所示之胺基酸序列之重鏈的抗體；包含具有SEQ ID NO:60所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:14所示之胺基酸序列之重鏈的抗體；包含具有SEQ ID NO:61所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:15所示之胺基酸序列之重鏈的抗體；及包含具有SEQ ID NO:62所示之胺基酸序列之輕鏈及SEQ ID NO:16所示之胺基酸序列之重鏈的抗體。

在第七態樣中，第一、第二、第三、第四、第五或第六態樣之CD27L抗原結合蛋白質結合至藥物或化學治療劑。在較佳實施例中，藥物或化學治療劑係使用連接子結合至抗原結合蛋白質，例如抗體。較佳連接子包括不可裂解連接子，諸如MCC。較佳化學治療劑為DM1。因此，在尤其較佳實施例中，第七態樣提供經連接於一或多個離胺酸殘

基之MCC連接子而結合至DM1的第一、第二、第三、第四、第五或第六態樣之CD27L抗原結合蛋白質。

使DM1結合至CD27L抗原結合蛋白質(例如抗體)之過程將產生包含DM1結合之抗體群體的組合物，其中每個抗體具有一定範圍之DM1分子。可針對組合物量測平均數。在較佳實施例中，針對每個CD27L抗原結合蛋白質(例如抗體)之DM1分子的平均數介於1與10之間，介於3與7之間，或介於4與6之間。在較佳實施例中，本發明之第一、第二、第三、第四、第五、第六或第七態樣之CD27L抗原結合蛋白質之組合物中針對每個CD27L抗原結合蛋白質之DM1分子的平均數為約4.0、約4.1、約4.2、約4.3、約4.4、約4.5、約4.6、約4.7、約4.8、約4.9、約5.0、約5.1、約5.2、約5.3、約5.4、約5.5、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9或約6.0。此種組合物可含有治療有效量之CD27L抗原結合蛋白質且可經凍乾。

在第八態樣中，本發明提供經分離核酸，其編碼CD27L抗原結合蛋白質之一或多種多肽組分，例如抗體輕鏈或抗體重鏈。在較佳實施例中，該核酸編碼包含以下之多肽：

a)與SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70所示之胺基酸序列具有至少95%一致性的輕鏈可變域；

b)與SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID

NO:23或SEQ ID NO:24所示之胺基酸序列具有至少95%一致性的重鏈可變域；

c)與SEQ ID NO:63、SEQ ID NO:64、SEQ ID NO:65、SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:67、SEQ ID NO:68、SEQ ID NO:69或SEQ ID NO:70所示之胺基酸序列相比具有不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的輕鏈可變域；

d)與SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:24所示之胺基酸序列相比具有不超過五個胺基酸添加、缺失或取代的重鏈可變域；

e)包含以下之輕鏈可變域：

i)與SEQ ID NO:71所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:79所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:87所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；

ii)與SEQ ID NO:72所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:80所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:88所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；

iii)與SEQ ID NO:73所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:81所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失

或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:89所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；

iv)與SEQ ID NO:74所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:82所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:90所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；

v)與SEQ ID NO:75所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:83所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:91所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；

vi)與SEQ ID NO:76所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:84所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:92所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；

vii)與SEQ ID NO:77所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:85所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:93所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；或

viii)與SEQ ID NO:78所示之LCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR1；與SEQ ID NO:86

所示之LCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR2；及與SEQ ID NO:94所示之LCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的LCDR3；或
f)包含以下之重鏈可變域：

i)與SEQ ID NO:25所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:33所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:41所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；

ii)與SEQ ID NO:26所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:34所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:42所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；

iii)與SEQ ID NO:27所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:35所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:43所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；

iv)與SEQ ID NO:28所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:36所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添

加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:44所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；

v)與SEQ ID NO:29所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:37所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:45所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；

vi)與SEQ ID NO:30所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:38所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:46所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；

vii)與SEQ ID NO:31所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:39所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:47所示之HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3；或

viii)與SEQ ID NO:32所示之HCDR1序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR1；與SEQ ID NO:40所示之HCDR2序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR2；及與SEQ ID NO:48所示之

HCDR3序列相比具有不超過三個胺基酸添加、缺失或取代的HCDR3。

在第八態樣之某些實施例中，多肽編碼抗體輕鏈且與SEQ ID NO:49、SEQ ID NO:50、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:52、SEQ ID NO:53、SEQ ID NO:54或SEQ ID NO:55所示之核苷酸序列至少80%、至少90%、至少95%或100%一致。在第八態樣之其他實施例中，多肽編碼抗體重鏈且與SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8或SEQ ID NO:9所示之核苷酸序列至少80%、至少90%、至少95%或100%一致。

在第九態樣中，本發明提供一種表現載體，其包含第八態樣之一或多種經分離核酸。在某些實施例中，該表現載體編碼抗體輕鏈、抗體重鏈或抗體輕鏈與重鏈兩者。

在第十態樣中，本發明提供一種包含第八態樣之一或多種經分離核酸可操作地連接於啟動子之重組宿主細胞，包括包含本發明第九態樣之一或多種表現載體之重組宿主細胞。在較佳實施例中，該重組宿主細胞分泌結合CD27L之抗體。較佳宿主細胞為哺乳動物宿主細胞，包括CHO細胞株。

在第十一態樣中，本發明提供製備第七態樣之CD27L抗體藥物共軛物之方法，其係藉由使連接子及藥物(例如化學治療劑)結合至第一、第二、第三、第四、第五或第六態樣之CD27L抗原結合蛋白質中之任一者來達成。連接子與藥物可首先連接，接著結合至CD27L抗原結合蛋白質；

或連接子可首先結合至CD27L抗原結合蛋白質，接著連接至藥物。在較佳實施例中，連接子為MCC且藥物為DM1。在尤其較佳實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為包含如SEQ ID NO:63所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:17所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab1)、包含如SEQ ID NO:64所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:18所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab2)、包含如SEQ ID NO:65所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:19所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab3)、包含如SEQ ID NO:66所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:20所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab4)、包含如SEQ ID NO:67所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:21所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab5)、包含如SEQ ID NO:68所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:22所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab6)、包含如SEQ ID NO:69所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:23所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab7)，或包含如SEQ ID NO:70所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:24所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab8)，其係經MCC藉由使該抗體內之一或多個離胺酸殘基與MCC或MCC-DM1發生化學反應而結合至DM1。

在第十二態樣中，本發明提供治療癌症之方法，其包含投與患者治療有效量之包含治療有效量之第一、第二、第

三、第四、第五或第六態樣之CD27L抗原結合蛋白質的組合物。在較佳實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為包含如SEQ ID NO:63所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:17所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab1)、包含如SEQ ID NO:64所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:18所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab2)、包含如SEQ ID NO:65所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:19所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab3)、包含如SEQ ID NO:66所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:20所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab4)、包含如SEQ ID NO:67所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:21所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab5)、包含如SEQ ID NO:68所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:22所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab6)、包含如SEQ ID NO:69所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:23所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab7)，或包含如SEQ ID NO:70所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:24所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab8)。在尤其較佳實施例中，CD27L抗原結合蛋白質係經連接子(MCC)結合至化學治療劑(例如DM1)。在第十二態樣之其他較佳實施例中，抗體包含經增強之效應子功能。

在一些實施例中，將CD27L抗原結合蛋白質投與患有以下疾病之患者：腎細胞癌(RCC)、透明細胞RCC、頭頸

癌、膠質母細胞瘤、乳癌、腦腫瘤、鼻咽癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)、急性淋巴球性白血病(ALL)、慢性淋巴球性白血病(CLL)、伯基特氏淋巴瘤(Burkitt's lymphoma)、退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)、多發性骨髓瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、結節性小裂細胞淋巴瘤、淋巴球性淋巴瘤、周邊T細胞淋巴瘤、倫納特淋巴瘤(Lennert's lymphoma)、免疫母細胞淋巴瘤、T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)、成人T細胞白血病(T-ALL)、中心母細胞性/中心細胞性(cb/cc)濾泡性淋巴瘤癌、B譜系彌漫性大細胞淋巴瘤、血管免疫母細胞淋巴腺病(AILD)樣T細胞淋巴瘤、HIV相關之以體腔為主的淋巴瘤、胚胎癌、鼻咽型未分化癌、卡斯爾曼氏病(Castleman's disease)、卡波西氏肉瘤(Kaposi's Sarcoma)、多發性骨髓瘤、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症(Waldenstrom's macroglobulinemia)或其他B細胞淋巴瘤。

在某些實施例中，在投與CD27L抗原結合蛋白質之前測試來自患者之樣品的CD27L表現。可藉由在樣品中測試CD27L編碼RNA的存在或測試CD27L蛋白質的存在來測定CD27L表現。該樣品可為血液樣品或活組織切片(biopsy)。

在第十三態樣中，本發明提供治療自體免疫或發炎病症之方法，該方法包含將治療有效量之第一、第二、第三、第四、第五或第六態樣中之任一者之CD27L抗原結合蛋白質投與有需要之患者。在較佳實施例中，CD27L抗原結合

蛋白質為包含如SEQ ID NO:63所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:17所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab1)、包含如SEQ ID NO:64所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:18所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab2)、包含如SEQ ID NO:65所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:19所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab3)、包含如SEQ ID NO:66所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:20所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab4)、包含如SEQ ID NO:67所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:21所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab5)、包含如SEQ ID NO:68所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:22所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab6)、包含如SEQ ID NO:69所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:23所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab7)，或包含如SEQ ID NO:70所示之輕鏈可變域胺基酸序列及如SEQ ID NO:24所示之重鏈可變域胺基酸序列的抗體(例如Ab8)。在較佳實施例中，CD27L抗原結合蛋白質抑制CD27與CD27L之結合。在尤其較佳實施例中，自體免疫或發炎病症為全身性紅斑狼瘡(SLE)、胰島素依賴性糖尿病(IDDM)、發炎性腸病(IBD)、多發性硬化症(MS)、牛皮癬、自體免疫甲狀腺炎、類風濕性關節炎(RA)或絲球體腎炎。在其他實施例中，治療抑制或預防患者之移植排斥反應或移植物抗宿主疾病。

【實施方式】

本文所用之章節標題僅出於組織目的且不應被視為限制所述主題。本說明書之主體中所引用之所有參考文獻均以全文引用的方式明確併入。

標準技術可用於重組DNA、寡核苷酸合成、組織培養及轉型、蛋白質純化等。酶促反應及純化技術可根據製造商之說明書或如此項技術中通常所實行或如本文所述來進行。以下程序及技術一般可根據此項技術中熟知之習知方法且如本說明書通篇所引用及論述之各種一般性參考文獻及更具體參考文獻中所述來進行。參見例如 Sambrook 等人，2001, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第3版，Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.，其出於任何目的以引用的方式併入本文中。除非提供具體定義，否則本文所述之與分析化學、有機化學及醫藥化學相關聯使用之命名法以及分析化學、有機化學及醫藥化學之實驗室程序與技術為此項技術中熟知且常用之命名法及程序與技術。標準技術可用於化學合成、化學分析、醫藥製備、調配及傳遞以及患者治療。

CD27L

抗原結合蛋白質結合於CD27L(亦稱為CD70及TNFSF7)。CD27L首次描述於美國專利第5,573,924號中。例示性人類CD27L胺基酸序列在本文中以SEQ ID NO:1提供，其對應於NCBI參考序列NP_001423.1 (GI:4507605)。在某些實施例中，抗原結合蛋白質阻斷CD27L與其受體

CD27之相互作用。例示性CD27胺基酸序列以SEQ ID NO:2提供，其對應於Swiss-Prot: P26842.2 (GI:269849546)。成熟CD27胺基酸序列對應於SEQ ID NO:2之胺基酸20-260。

CD27L抗原結合蛋白質

本發明提供特異性結合CD27L之抗原結合蛋白質。抗原結合蛋白質之實施例包含特異性結合CD27L之肽及/或多肽。該等肽或多肽可視情況包括一或多個轉譯後修飾。抗原結合蛋白質之實施例包含如本文以不同方式定義之特異性結合CD27L之抗體及其片段。此等抗體包括特異性地結合人類CD27L之抗體，其包括抑制CD27L結合及/或活化CD27之抗體。

本發明之抗原結合蛋白質特異性結合於CD27L。如本文所用之「特異性結合」意謂抗原結合蛋白質優先於其他蛋白質結合CD27L。在一些實施例中，「特異性結合」意謂CD27L抗原結合蛋白質與對其他蛋白質相比對CD27L具有較高親和力。特異性結合CD27L之CD27L抗原結合蛋白質對人類CD27L之結合親和力可小於或等於 1×10^{-7} M，小於或等於 2×10^{-7} M，小於或等於 3×10^{-7} M，小於或等於 4×10^{-7} M，小於或等於 5×10^{-7} M，小於或等於 6×10^{-7} M，小於或等於 7×10^{-7} M，小於或等於 8×10^{-7} M，小於或等於 9×10^{-7} M，小於或等於 1×10^{-8} M，小於或等於 2×10^{-8} M，小於或等於 3×10^{-8} M，小於或等於 4×10^{-8} M，小於或等於 5×10^{-8} M，小於或等於 6×10^{-8} M，小於或等於 7×10^{-8} M，小於或等於 8×10^{-8} M，小於或等於 9×10^{-8} M，小於或等於 1×10^{-9} M。

M，小於或等於 2×10^{-9} M，小於或等於 3×10^{-9} M，小於或等於 4×10^{-9} M，小於或等於 5×10^{-9} M，小於或等於 6×10^{-9} M，小於或等於 7×10^{-9} M，小於或等於 8×10^{-9} M，小於或等於 9×10^{-9} M，小於或等於 1×10^{-10} M，小於或等於 2×10^{-10} M，小於或等於 3×10^{-10} M，小於或等於 4×10^{-10} M，小於或等於 5×10^{-10} M，小於或等於 6×10^{-10} M，小於或等於 7×10^{-10} M，小於或等於 8×10^{-10} M，小於或等於 9×10^{-10} M，小於或等於 1×10^{-11} M，小於或等於 2×10^{-11} M，小於或等於 3×10^{-11} M，小於或等於 4×10^{-11} M，小於或等於 5×10^{-11} M，小於或等於 6×10^{-11} M，小於或等於 7×10^{-11} M，小於或等於 8×10^{-11} M，小於或等於 9×10^{-11} M，小於或等於 1×10^{-12} M，小於或等於 2×10^{-12} M，小於或等於 3×10^{-12} M，小於或等於 4×10^{-12} M，小於或等於 5×10^{-12} M，小於或等於 6×10^{-12} M，小於或等於 7×10^{-12} M，小於或等於 8×10^{-12} M，或小於或等於 9×10^{-12} M。量測抗原結合蛋白質之結合親和力之方法在此項技術中為熟知的。實例1提供例示性方法。

應瞭解，當本文中提及CD27L結合抗體之各種實施例時，其亦涵蓋其CD27L結合片段。CD27L結合片段包含本文所述之保留特異性結合於CD27L之能力的任何抗體片段或結構域。CD27L結合片段可在本文所述之任何骨架中。

在某些治療性實施例中，CD27L抗原結合蛋白質抑制CD27L與CD27之結合及/或抑制一或多種與CD27L與CD27之結合相關的生物活性，例如CD27介導之信號傳導。該等抗原結合蛋白質被稱為具有「中和性」。在某些實施例

中，中和性CD27L抗原結合蛋白質特異性結合CD27L且使CD27L與CD27之結合的抑制程度在10%與100%之間，諸如抑制至少約20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或99%以上。舉例而言，可藉由測定CD27L抗原結合蛋白質阻斷CD27-Fc結合於MP-1細胞之能力來測試該等抗原結合蛋白質之中和能力(Slack等人，Int. Immunol. (1995) 7(7): 1087-1092))。

抗原結合蛋白質之實施例包含如本文以不同方式定義之具有一或多個互補決定區(CDR)之骨架結構。實施例另外包括包含具有一或多個抗體可變域(重鏈或輕鏈)之骨架結構的抗原結合蛋白質。實施例包括包含以下之抗體：選自由Ab1輕鏈可變域(LCv)、Ab2 LCv、Ab3 LCv、Ab4 LCv、Ab5 LCv、Ab6 LCv、Ab7 LCv及Ab8 LCv (分別為SEQ ID NO:63-70)組成之群之輕鏈可變域及/或選自由Ab1重鏈可變域(HCv)、Ab2 HCv、Ab3 HCv、Ab4 HCv、Ab5 HCv、Ab6 HCv、Ab7 HCv及Ab8 HCv (分別為SEQ ID NO:17-24)

組成之群之重鏈可變域，及該等抗體之片段、衍生物、突變體及變異體。

包含 Ab1 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:56 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab2 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:57 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab4 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:58 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab5 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:59 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab6 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:60 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab7 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:61 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab8 LCv 之例示性輕鏈為包含 SEQ ID NO:62 所示之胺基酸序列之輕鏈。

包含 Ab1 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:10 所示之胺基酸序列之重鏈。

包含 Ab2 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:11 所示之胺基酸序列之重鏈。

包含 Ab4 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:12 所示之胺基酸序列之重鏈。

包含 Ab5 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:13 所示之胺基酸序列之重鏈。

包含 Ab6 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:14 所示之胺基酸序列之重鏈。

包含 Ab7 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:15 所示之胺基酸序列之重鏈。

包含 Ab8 HCv 之例示性重鏈為包含 SEQ ID NO:16 所示之胺基酸序列之重鏈。

所預想之骨架的其他實例包括：纖維結合蛋白 (fibronectin)、新制癌菌素 (neocarzinostatin) CBM4-2、脂質運載蛋白 (lipocalin)、T 細胞受體、蛋白質 A 域 (蛋白質 Z)、Im9、TPR 蛋白質、鋅指域、pVIII、禽胰多肽、GCN4、WW 域 Src 同源域 3、PDZ 域、TEM-1 β -內醯胺酶、硫氧還蛋白 (thioredoxin)、葡萄球菌核酸酶 (staphylococcal nuclease)、PHD 指域、CL-2、BPTI、APPI、HPSTI、大腸桿菌素 (ecotin)、LACI-D1、LDTI、MTI-II、蠍毒素、昆蟲防禦素 A 肽 (insect defensin-A peptide)、EETI-II、Min-23、CBD、PBP、細胞色素 b-562、Ldl 受體域、 γ -晶狀體球蛋白 (gamma-crystallin)、泛素 (ubiquitin)、轉鐵蛋白 (transferrin) 及/或 C 型凝集素樣域。非抗體骨架及其作為治療劑之用途評述於 Gebauer 及 Skerra, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 13:245-255 (2009) 及 Binz 等人, *Nat. Biotech.*, 23(10):1257-1268 (2005) 中，該等文獻以全文引用的方式併入本文中。

本發明之態樣包括包含以下可變域之抗體：Ab1 LCv/Ab1 HCv (SEQ ID NO:63/SEQ ID NO:17)、Ab2

LCv/Ab2 HCv (SEQ ID NO:64/SEQ ID NO:18)、Ab3
 LCv/Ab3 HCv (SEQ ID NO:65/SEQ ID NO:19)、Ab4
 LCv/Ab4 HCv (SEQ ID NO:66/SEQ ID NO:20)、Ab5
 LCv/Ab5 HCv (SEQ ID NO:67/SEQ ID NO:21)、Ab6
 LCv/Ab6 HCv (SEQ ID NO:68/SEQ ID NO:22)、Ab7
 LCv/Ab7 HCv (SEQ ID NO:69/SEQ ID NO:23)、Ab8
 LCv/Ab8 HCv (SEQ ID NO:70/SEQ ID NO:24)及其組合，
 以及該等抗體之片段、衍生物、突變體及變異體。

本發明之例示性抗體包括Ab1 (SEQ ID NO:56/SEQ ID NO:10)、Ab2 (SEQ ID NO:57/SEQ ID NO:11)、Ab4 (SEQ ID NO:58/SEQ ID NO:12)、Ab5 (SEQ ID NO:59/SEQ ID NO:13)、Ab6 (SEQ ID NO:60/SEQ ID NO:14)、Ab7 (SEQ ID NO:61/SEQ ID NO:15)、Ab8 (SEQ ID NO:62/SEQ ID NO:16)。

通常，抗體輕鏈或重鏈之各可變域包含三個CDR。重鏈可變域包含重鏈CDR1 (HCDR1)、重鏈CDR2 (HCDR2)及重鏈CDR3 (HCDR3)。輕鏈可變域包含輕鏈CDR1 (LCDR1)、輕鏈CDR2 (LCDR2)及輕鏈CDR3 (LCDR3)。在某些實施例中，抗原結合蛋白質包含本文所述之較佳可變域內所含之一或多個CDR。

該等CDR之實例包括(但不限於)：

Ab1 LCv之CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:71)、LCDR2 (SEQ ID NO:79)及LCDR3 (SEQ ID NO:87)；

Ab2 LCv之CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:72)、LCDR2

(SEQ ID NO:80)及LCDR3 (SEQ ID NO:88)；

Ab3 LC_v 之 CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:73)、LCDR2 (SEQ ID NO:81)及LCDR3 (SEQ ID NO:89)；

Ab4 LC_v 之 CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:74)、LCDR2 (SEQ ID NO:82)及LCDR3 (SEQ ID NO:90)；

Ab5 LC_v 之 CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:75)、LCDR2 (SEQ ID NO:83)及LCDR3 (SEQ ID NO:91)；

Ab6 LC_v 之 CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:76)、LCDR2 (SEQ ID NO:84)及LCDR3 (SEQ ID NO:92)；

Ab7 LC_v 之 CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:77)、LCDR2 (SEQ ID NO:85)及LCDR3 (SEQ ID NO:93)；

Ab8 LC_v 之 CDR：LCDR1 (SEQ ID NO:78)、LCDR2 (SEQ ID NO:86)及LCDR3 (SEQ ID NO:94)；

Ab1 HC_v 之 CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:25)、HCDR2 (SEQ ID NO:33)及HCDR3 (SEQ ID NO:41)；

Ab2 HC_v 之 CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:26)、HCDR2 (SEQ ID NO:34)及HCDR3 (SEQ ID NO:42)；

Ab3 HC_v 之 CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:27)、HCDR2 (SEQ ID NO:35)及HCDR3 (SEQ ID NO:43)；

Ab4 HC_v 之 CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:28)、HCDR2 (SEQ ID NO:36)及HCDR3 (SEQ ID NO:44)；

Ab5 HC_v 之 CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:29)、HCDR2 (SEQ ID NO:37)及HCDR3 (SEQ ID NO:45)；

Ab6 HC_v 之 CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:30)、HCDR2

(SEQ ID NO:38)及HCDR3 (SEQ ID NO:46)；

Ab7 HC_v之CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:31)、HCDR2 (SEQ ID NO:39)及HCDR3 (SEQ ID NO:47)；及

Ab8 HC_v之CDR：HCDR1 (SEQ ID NO:32)、HCDR2 (SEQ ID NO:40)及HCDR3 (SEQ ID NO:48)。

在一些實施例中，抗原結合蛋白質包含：A)多肽(例如輕鏈)，其包含具有選自由SEQ ID NO:71、72、73、74、75、76、77及78組成之群之胺基酸序列的LCDR1；具有選自由SEQ ID NO: 79、80、81、82、83、84、85及86組成之群之胺基酸序列的LCDR2；及/或具有選自由SEQ ID NO:87、88、89、90、91、92、93及94組成之群之胺基酸序列的LCDR3；及/或B)多肽(例如重鏈)，其包含具有選自由SEQ ID NO:25、26、27、28、29、30、31及32組成之群之胺基酸序列的HCDR1；具有選自由SEQ ID NO:33、34、35、36、37、38、39及40組成之群之胺基酸序列的HCDR2；及/或具有選自由SEQ ID NO:41、42、43、44、45、46、47及48組成之群之胺基酸序列的HCDR3。

在其他實施例中，抗原結合蛋白質包含A)輕鏈胺基酸序列，其包含Ab1 LC_v、Ab2 LC_v、Ab3 LC_v、Ab4 LC_v、Ab5 LC_v、Ab6 LC_v、Ab7 LC_v及Ab8 LC_v中之任一者之LCDR1、LCDR2及LCDR3；及B)重鏈胺基酸序列，其包含Ab1 HC_v、Ab2 HC_v、Ab3 HC_v、Ab4 HC_v、Ab5 HC_v、Ab6 HC_v、Ab7 HC_v及Ab8 HC_v中之任一者之HCDR1、HCDR2及HCDR3。

在某些實施例中，CDR在本文所示之例示性CDR中包括不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個或不超過六個胺基酸添加、缺失或取代。

本發明之態樣包括包含選自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69及70組成之群之輕鏈可變域的抗體。本發明之態樣包括包含選自由SEQ ID NO:17、18、19、20、21、22、23及24組成之群之重鏈可變域的抗體。本發明之其他態樣包括包含以下之抗體：A)選自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69及70組成之群之輕鏈可變域；及B)選自由SEQ ID NO:17、18、19、20、21、22、23及24組成之群之重鏈可變域。

本發明之抗體可包含此項技術中已知之任何恆定區。輕鏈恆定區可為例如 κ 型或 λ 型輕鏈恆定區，例如人類 κ 型或 λ 型輕鏈恆定區。重鏈恆定區可為例如 α 型、 δ 型、 ϵ 型、 γ 型或 μ 型重鏈恆定區，例如人類 α 型、 δ 型、 ϵ 型、 γ 型或 μ 型重鏈恆定區。在一個實施例中，輕鏈或重鏈恆定區為天然存在之恆定區之片段、衍生物、變異體或突變體。

本發明之態樣包括包含選自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69及70組成之群之輕鏈可變區的抗體，該輕鏈可變區具有不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個、不超過六個、不超過七個、不超過八個、不超過九個或不超過十個胺基酸添加、缺失或取代。本發明之態樣包括包含選自由SEQ ID NO:17、18、19、20、21、22、23及24組成之群之重鏈可變區的抗體，

該重鏈可變區具有不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個、不超過六個、不超過七個、不超過八個、不超過九個或不超過十個胺基酸添加、缺失或取代。本發明之其他態樣包括包含以下之抗體：A) 包含選自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69及70組成之群之輕鏈可變區，該輕鏈可變區具有不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個、不超過六個、不超過七個、不超過八個、不超過九個或不超過十個胺基酸添加、缺失或取代；及B)選自由SEQ ID NO:17、18、19、20、21、22、23及24組成之群之重鏈可變區，該重鏈可變區具有不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個、不超過六個、不超過七個、不超過八個、不超過九個或不超過十個胺基酸添加、缺失或取代。舉例而言，在某些例示性實施例中，抗體包含1) SEQ ID NO:66所示之輕鏈可變域之變異體，其中位置51處之苯丙胺酸突變為白胺酸及/或位置105處之脯胺酸突變為甘胺酸或麩醯胺酸；2) SEQ ID NO:20所示之重鏈可變域之變異體，其中位置1處之麩醯胺酸突變為麩胺酸及/或位置16處之精胺酸突變為甘胺酸；或SEQ ID NO:66所示之輕鏈可變域之變異體，其中位置51處之苯丙胺酸突變為白胺酸及/或位置105處之脯胺酸突變為甘胺酸或麩醯胺酸，與SEQ ID NO:20所示之重鏈可變域之變異體，其中位置1處之麩醯胺酸突變為麩胺酸及/或位置16處之精胺酸突變為甘胺酸。

在一個變型中，抗原結合蛋白質包含與選自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69及70組成之群之輕鏈胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。在另一變型中，抗原結合蛋白質包含與選自由SEQ ID NO:17、18、19、20、21、22、23及24組成之群之重鏈胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。在另一實施例中，抗原結合蛋白質包含A)與選自由SEQ ID NO:63、64、65、66、67、68、69及70組成之群之輕鏈胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列；及B)與選自由SEQ ID NO:17、18、19、20、21、22、23及24組成之群之重鏈胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少

96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。

在某些實施例中，抗原結合蛋白質包含輕鏈及/或重鏈 CDR3。在一些實施例中，抗原結合蛋白質包含選自 SEQ ID NO:87、88、89、90、91、92、93、94、41、42、43、44、45、46、47及48所示之序列之群的胺基酸序列。在某些實施例中，胺基酸序列在SEQ ID NO:87、88、89、90、91、92、93、94、41、42、43、44、45、46、47及48所示之例示性序列中包括不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個或不超過六個胺基酸添加、缺失或取代。因此，本發明之實施例包括抗原結合蛋白質，其包含與選自SEQ ID NO:87、88、89、90、91、92、93、94、41、42、43、44、45、46、47及48所示之序列之群之胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。

在某些實施例中，抗原結合蛋白質包含輕鏈及/或重鏈 CDR2。在一些實施例中，抗原結合蛋白質包含選自 SEQ ID NO:79、80、81、82、83、84、85、86、33、34、35、36、37、38、39及40所示之序列之群的胺基酸序列。在某些實施例中，胺基酸序列在SEQ ID NO: 79、80、81、82、83、84、85、86、33、34、35、36、37、38、39及40所示之例示性序列中包括不超過一個、不超過兩個、不超

過三個、不超過四個、不超過五個或不超過六個胺基酸添加、缺失或取代。因此，本發明之實施例包括抗原結合蛋白質，其包含與選自 SEQ ID NO: 79、80、81、82、83、84、85、86、33、34、35、36、37、38、39及40所示之序列之群之胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%一致的胺基酸序列。

在某些實施例中，抗原結合蛋白質包含輕鏈及/或重鏈 CDR1。在一些實施例中，抗原結合蛋白質包含選自 SEQ ID NO:71、72、73、74、75、76、77、78、25、26、27、28、29、30、31及32所示之序列之群的胺基酸序列。在某些實施例中，胺基酸序列在 SEQ ID NO: 71、72、73、74、75、76、77、78、25、26、27、28、29、30、31及32所示之例示性序列中包括不超過一個、不超過兩個、不超過三個、不超過四個、不超過五個或不超過六個胺基酸添加、缺失或取代。因此，本發明之實施例包括抗原結合蛋白質，其包含與選自 SEQ ID NO: 71、72、73、74、75、76、77、78、25、26、27、28、29、30、31及32所示之序列之群之胺基酸序列至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少

98%或至少99%一致的胺基酸序列。

本發明之抗原結合蛋白質包含傳統抗體之骨架，包括人類及單株抗體、雙特異性抗體、雙功能抗體(diabody)、微型抗體(minibody)、域抗體、合成抗體(在本文中有時稱作「抗體模擬物」)、嵌合抗體、抗體融合物(有時稱作「抗體共軛物」)及分別各者之片段。上文所述之CDR(包括各種CDR組合)可接枝至以下任何骨架中。

如本文所用之術語「抗體」係指如本文以不同方式描述之各種形式之單體或多聚蛋白質，其包含一或多個特異性結合於抗原之多肽鏈。在某些實施例中，抗體係藉由重組DNA技術產生。在其他實施例中，抗體係藉由天然存在之抗體的酶促或化學裂解而產生。在另一態樣中，抗體係選自由以下組成之群：a)人類抗體；b)人類化抗體；c)嵌合抗體；d)單株抗體；e)多株抗體；f)重組抗體；g)抗原結合片段；h)單鏈抗體；i)雙功能抗體；j)三功能抗體(triobody)；k)四功能抗體(tetrabody)；l) Fab片段；m) F(ab')₂片段；n) IgA抗體；o) IgD抗體；p) IgE抗體；q) IgG1抗體；r) IgG2抗體；s) IgG3抗體；t) IgG4抗體；及u) IgM抗體。

可變區包含至少三個嵌入構架區(指定為構架區FR1、FR2、FR3及FR4)內之重鏈或輕鏈CDR。Kabat等人，1991, *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Public Health Service N.I.H., Bethesda, MD。傳統抗體結構單元通常包含四聚體。各四聚體通常由兩個相同對之多肽鏈構

成，各對具有一個「輕」鏈及一個「重」鏈。各鏈之胺基端部分包括具有約100至110個或多於110個胺基酸且主要負責抗原識別之可變區。各鏈之羧基端部分界定主要負責效應子功能之恆定區。人類輕鏈歸類為 κ 或 λ 輕鏈。重鏈歸類為 μ 、 δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，且將抗體之同型分別定義為IgM、IgD、IgG、IgA及IgE。IgG具有若干子類，包括(但不限於)IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。IgM具有子類，包括(但不限於)IgM1及IgM2。本發明之實施例包括如本文所述之併有抗原結合蛋白質之可變域或CDR之抗體的所有該等類別及子類。

一些天然存在之抗體(諸如存在於駱駝及駱馬中之抗體)為由兩個重鏈組成之二聚體且不包括輕鏈。本發明涵蓋可結合於CD27L之具有兩個重鏈之二聚抗體或其片段。

重鏈及輕鏈之可變域通常展現由三個高變區(亦即互補決定區或CDR)接合之相對保守構架區(FR)的相同一般結構。CDR主要負責抗原識別及結合。各對之兩個鏈之CDR係由構架區對準，以使其能夠結合於特異性抗原決定基。自N端至C端，輕鏈與重鏈均包含結構域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及FR4。根據Kabat之定義將胺基酸指派給各結構域。

CDR構成用於抗原結合之主要表面接觸點。CDR3或輕鏈且特定言之重鏈之CDR3可構成輕鏈及重鏈可變區內抗原結合之最重要決定子。在一些抗體中，重鏈CDR3似乎構成抗原與抗體之間接觸的主要區域。改變單獨CDR3之

活體外選擇方案可用於改變抗體之結合特性或確定哪些殘基促成抗原結合。

天然存在之抗體通常包括信號序列，其將抗體引導至蛋白質分泌之細胞路徑中且通常不存在於成熟抗體中。編碼本發明抗體之聚核苷酸可編碼天然存在之信號序列或如下文所述之異源信號序列。

在一個實施例中，抗原結合蛋白質為包含一至六個本文所述之例示性CDR之抗體。本發明之抗體可為任何類型，包括IgM、IgG(包括IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)、IgD、IgA或IgE抗體。在一特定實施例中，抗原結合蛋白質為IgG型抗體，例如IgG1抗體。

在一些實施例中，例如當抗原結合蛋白質為具有完整重鏈及輕鏈之抗體時，CDR全部來自同一物種，例如人類。或者，例如在抗原結合蛋白質含有少於六個來自上文所概述序列之CDR的實施例中，其他CDR可來自其他物種或可為與例示性序列中所描繪之CDR不同的人類CDR。舉例而言，來自本文所鑑別之適當序列之HCDR3及LCDR3區可與視情況選自替代性物種或不同人類抗體序列之HCDR1、HCDR2、LCDR1及LCDR2或其組合一起使用。舉例而言，本發明之CDR可置換商業上相關之嵌合抗體或人類化抗體之CDR區。

特定實施例利用抗原結合蛋白質中作為人類組分之骨架組分。在一些實施例中，然而，骨架組分可為來自不同物種之混合物。因此，若抗原結合蛋白質為抗體，則該抗體

可為嵌合抗體及/或人類化抗體。一般而言，「嵌合抗體」與「人類化抗體」均係指組合來自一個以上物種之區域的抗體。舉例而言，「嵌合抗體」傳統上包含來自小鼠(在一些狀況下，或為大鼠)及來自人類之恆定區。

「人類化抗體」一般係指可變域構架已用存在於人類抗體中之序列交換的非人類抗體。一般而言，在人類化抗體中，除一或多個CDR以外之整個抗體係由源於人類之聚核苷酸編碼或除一或多個CDR以外與此種抗體相同。將其中一些或全部由來源於非人類生物體之核酸編碼的CDR接枝至人類抗體可變區之 β 片構架中，以產生一種抗體，其特异性係由接枝之CDR決定。該等抗體的產生描述於例如WO 92/11018, Jones 1986, *Nature* 321:522-525, Verhoeyen 等人, 1988, *Science* 239:1534-1536中。人類化抗體亦可使用具有經遺傳工程改造之免疫系統之小鼠來產生。Roque 等人, 2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654。在本文所述之例示性實施例中，所鑑別之CDR為人類CDR，且因此人類化抗體與嵌合抗體在此情形中均包括一些非人類CDR；舉例而言，可產生包含HCDR3及LCDR3區之人類化抗體，其中一或多個其他CDR區源於不同物種。

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為多特异性抗體，且特別為雙特异性抗體，有時亦稱作「雙功能抗體」。此等抗體為結合於兩個或兩個以上不同抗原或單一抗原上之不同抗原決定基的抗體。在某些實施例中，雙特异性抗體結合CD27L及人類效應子細胞(例如T細胞)上之抗

原。該等抗體適用於靶向針對CD27L表現細胞(諸如腫瘤細胞)之效應子細胞反應。在較佳實施例中，人類效應子細胞抗原為CD3。美國專利第7,235,641號。製備雙特異性抗體之方法在此項技術中為已知的。一個此種方法涉及對重鏈之Fc部分進行工程改造，以產生「杵(knob)」及「白(hole)」，其促進在細胞中共同表現時重鏈之雜二聚體形成。U.S. 7,695,963。另一種方法亦涉及對重鏈之Fc部分進行工程改造，但使用靜電操控(electrostatic steering)促使在細胞中共同表現時重鏈之雜二聚體形成，同時阻礙其均二聚體形成。WO 09/089,004，其以全文引用的方式併入本文中。

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為微型抗體。微型抗體為最小化之類抗體蛋白質，其包含接合至CH3域之scFv。Hu等人，1996, *Cancer Res.* 56:3055-3061.

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為域抗體；參見例如美國專利第6,248,516號。域抗體(dAb)為抗體之功能結合域，其對應於人類抗體之重(VH)鏈或輕(VL)鏈之可變區。dAB具有約13 kDa之分子量，或小於完整抗體尺寸之十分之一。dAB良好表現於多種宿主中，包括細菌、酵母及哺乳動物細胞系統。另外，dAb高度穩定且甚至在經受苛刻條件(諸如冷凍乾燥或熱變性)之後仍保留活性。參見例如美國專利6,291,158、6,582,915、6,593,081、6,172,197；美國專利第2004/0110941號；歐洲專利0368684；美國專利6,696,245；WO 04/058821、WO

04/003019及WO 03/002609。

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為抗體片段，其為本文所概述之任何抗體中保留對CD27L之結合特異性的片段。在多個實施例中，抗體結合蛋白質包含(但不限於)F(ab)、F(ab')、F(ab')₂、Fv或單鏈Fv片段。在最小程度上，如本文所意謂，抗體包含可特異性結合於CD27L且包含全部或一部分輕鏈或重鏈可變區(諸如一或多個CDR)之多肽。

CD27L結合抗體片段之其他實例包括(但不限於)(i)由VL、VH、CL及CH1域組成之Fab片段；(ii)由VH及CH1域組成之Fd片段；(iii)由單一抗體之VL及VH域組成之Fv片段；(iv)由單一可變域組成之dAb片段(Ward等人，1989, *Nature* 341:544-546)；(v)經分離CDR區；(vi)包含兩個連接之Fab片段之F(ab')₂片段(二價片段)；(vii)單鏈Fv分子(scFv)，其中VH域與VL域係由可使得該兩個域締合形成抗原結合位點之肽連接子連接(Bird等人，1988, *Science* 242:423-426；Huston等人，1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:5879-5883)；(viii)雙特異性單鏈Fv二聚體(PCT/US92/09965)；及(ix)藉由基因融合而構築之「雙功能抗體」或「三功能抗體」多價或多特異性片段(Tomlinson等人，2000, *Methods Enzymol.* 326:461-479；WO 94/13804；Holliger等人，1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:6444-6448)。抗體片段可經修飾。舉例而言，可藉由併有連接VH域與VL域之二硫橋鍵來穩定分子(Reiter

等人，1996, *Nature Biotech.* 14:1239-1245)。本發明之態樣包括此等片段之非CDR組分為人類序列之實施例。

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為完全人類抗體。在此實施例中，如上文所概述，特定結構包含所描繪之包含CDR區之完整重鏈及輕鏈。其他實施例利用一或多個本發明CDR，且其他CDR、構架區、J及D區、恆定區等來自其他人類抗體。舉例而言，本發明之CDR可置換許多人類抗體、尤其商業上相關之抗體的CDR。

單鏈抗體可藉由經胺基酸橋鍵(短肽連接子)連接重鏈及輕鏈可變域(Fv區)片段，從而得到單一多肽鏈而形成。該等單鏈Fv (scFv)已藉由使編碼肽連接子之DNA在編碼兩個可變域多肽(V_L及V_H)之DNA之間融合來製備。所得多肽可自身對折形成抗原結合單體，或其可形成多聚體(例如二聚體、三聚體或四聚體)，視兩個可變域之間的可撓性連接子之長度而定(Kortt等人，1997, *Prot. Eng.* 10:423；Kortt等人，2001, *Biomol. Eng.* 18:95-108)。藉由組合不同的包含V_L及V_H之多肽，吾人可形成結合於不同抗原決定基之多聚scFv (Kriangkum等人，2001, *Biomol. Eng.* 18:31-40)。經開發用於產生單鏈抗體之技術包括美國專利第4,946,778號；Bird, 1988, *Science* 242:423；Huston等人，1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879；Ward等人，1989, *Nature* 334:544；de Graaf等人，2002, *Methods Mol Biol.* 178:379-87中所述之技術。本發明涵蓋來源於本文所提供之抗體的單鏈抗體(包括(但不限於)包含Ab1 LCv/Ab1

HCv (SEQ ID NO:63/SEQ ID NO:17)、Ab2 LCv/Ab2 HCv (SEQ ID NO:64/SEQ ID NO:18)、Ab3 LCv/Ab3 HCv (SEQ ID NO:65/SEQ ID NO:19)、Ab4 LCv/Ab4 HCv (SEQ ID NO:66/SEQ ID NO:20)、Ab5 LCv/Ab5 HCv (SEQ ID NO:67/SEQ ID NO:21)、Ab6 LCv/Ab6 HCv (SEQ ID NO:68/SEQ ID NO:22)、Ab7 LCv/Ab7 HCv (SEQ ID NO:69/SEQ ID NO:23)、Ab8 LCv/Ab8 HCv (SEQ ID NO:70/SEQ ID NO:24)之可變域組合及其組合之scFv)。

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為抗體融合蛋白質(在本文中有時稱作「抗體共軛物」)。結合搭配物可為蛋白質性或非蛋白質性的，後者一般係使用抗原結合蛋白質上及結合搭配物上之官能基產生。在某些實施例中，抗體結合至非蛋白質性化學品(藥物)以形成抗體藥物共軛物。例示性抗體藥物共軛物及製備該等共軛物之方法論述於下文中。

在一個實施例中，CD27L抗原結合蛋白質為抗體類似物，有時稱作「合成抗體」。舉例而言，多種工作利用替代性蛋白質骨架或具有接枝CDR之人工骨架。該等骨架包括(但不限於)經引入以穩定結合蛋白質之三維結構之突變以及由例如生物相容性聚合物組成之整個合成骨架。參見例如Korndorfer等人，2003, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*，第53卷，第1期:121-129。Roque等人，2004, *Biotechnol. Prog.* 20:639-654。另外，可使用肽抗體模擬物(「PAM」)，以及基於利用纖維結合蛋白組分

作為骨架之抗體模擬物的工作。

如本文所用之「蛋白質」意謂至少兩個共價連接之胺基酸，包括蛋白質、多肽、寡肽及肽。在一些實施例中，兩個或兩個以上共價連接之胺基酸係由肽鍵連接。蛋白質可由天然存在之胺基酸及肽鍵構成，例如當如下文所概述，使用表現系統及宿主細胞重組製備蛋白質時。或者，蛋白質可包括合成胺基酸(例如高苯丙胺酸、瓜胺酸、鳥胺酸及正白胺酸)或肽模擬結構，亦即「肽或蛋白質類似物」，諸如可對蛋白酶或其他生理條件及/或儲存條件具抗性之類肽(peptoid)(參見Simon等人，1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89:9367，其以引用的方式併入本文中)。可併入該等合成胺基酸，尤其當藉由此項技術中熟知之習知方法活體外合成抗原結合蛋白質時。另外，可使用肽模擬、合成及天然存在之殘基/結構之任何組合。「胺基酸」亦包括亞胺基酸殘基，諸如脯胺酸及羥脯胺酸。胺基酸「R基團」或「側鏈」可呈(L)或(S)組態。在一特定實施例中，胺基酸呈(L)或(S)組態。

在某些態樣中，本發明提供重組抗原結合蛋白質，其結合CD27L，且在一些實施例中，結合重組人類CD27L或其部分。在此情形中，「重組蛋白質」為使用重組技術，使用此項技術中已知之任何技術及方法，亦即藉由表現如本文所述之重組核酸而製備之蛋白質。用於產生重組蛋白質之方法及技術在此項技術中為熟知的。本發明之實施例包括結合野生型CD27L之重組抗原結合蛋白質及其變異體。

如本文所述，「基本上由…組成」意謂胺基酸序列相對於所述 SEQ ID NO: 序列可改變約 1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14% 或 15% 且仍保留生物活性。

在一些實施例中，本發明之抗原結合蛋白質為經分離蛋白質或實質上純之蛋白質。「分離」之蛋白質不伴有通常在天然狀態中與其締合之至少一些物質，例如該蛋白質佔既定樣品中總蛋白質之至少約 5 重量% 或至少約 50 重量%。應瞭解，視環境而定，經分離蛋白質可佔總蛋白質含量之 5 重量% 至 99.9 重量%。舉例而言，可藉由使用誘導性啟動子或高表現啟動子以顯著較高濃度製備蛋白質，使得在增加之濃度水準下製備蛋白質。定義包括在此項技術中已知之多種生物體及/或宿主細胞中產生抗原結合蛋白質。對於胺基酸序列，序列一致性及/或相似性係藉由使用此項技術中已知之標準技術來確定，該等技術包括(但不限於)Smith及Waterman, 1981, *Adv. Appl. Math.* 2:482之局部序列一致性演算法，Needleman及Wunsch, 1970, *J. Mol. Biol.* 48:443之序列一致性比對演算法，Pearson及Lipman, 1988, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2444之相似性搜尋方法，此等演算法之電腦化實施(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Drive, Madison, Wis. 中之 GAP、BESTFIT、FASTA 及 TFASTA)，Devereux 等人，1984, *Nucl. Acid Res.* 12:387-395 所述之最佳擬合序列程式，較佳使用預設設置或藉由

檢查來達成。一致性百分比較佳藉由基於以下參數之FastDB來計算：錯配罰分1；空隙罰分1；空隙尺寸罰分0.33；及接合罰分(joining penalty)30，「Current Methods in Sequence Comparison and Analysis」，Macromolecule Sequencing and Synthesis, Selected Methods and Applications，第127-149頁 (1988), Alan R. Liss, Inc.。

有用演算法之一個實例為PILEUP。PILEUP使用漸進式成對比對來產生一組相關序列之多序列比對。其亦可繪製展示用於產生比對之叢集關係的樹。PILEUP使用Feng及Doolittle, 1987, *J. Mol. Evol.* 35:351-360之漸進式比對方法之簡化法；該方法類似於Higgins及Sharp, 1989, *CABIOS* 5:151-153所述之方法。有用之PILEUP參數包括預設空隙權數3.00、預設空隙長度權數0.10及加權末端空隙。

有用演算法之另一實例為BLAST演算法，描述於以下文獻中：Altschul等人，1990, *J. Mol. Biol.* 215:403-410；Altschul等人，1997, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-3402；及Karin等人，1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873-5877。尤其有用之BLAST程式為WU-BLAST-2程序，其獲自Altschul等人，1996, *Methods in Enzymology* 266:460-480。WU-BLAST-2使用若干搜尋參數，其中大多數參數設定為預設值。可調參數按以下值設定：重疊間隔=1，重疊分率=0.125，字閾值(T)=II。HSP S及HSP S2參數為動態值且由程式本身確定，視特定序列之組成及搜尋相關序列所針對之特定資料組之組成而定；然而，可調整該等值以增

加敏感度。

另一有用演算法為如 Altschul 等人，1993, *Nucl. Acids Res.* 25:3389-3402 所報導之空隙 BLAST。空隙 BLAST 使用 BLOSUM-62 取代得分；閾值 T 參數設定為 9；兩命中點法 (two-hit method) 用以觸發無空隙擴展，將空隙長度 k 記入 10+k 中； X_u 設定為 16；且 X_g 設定為 40 (對於資料庫搜尋階段) 及 67 (對於演算法輸出階段)。空隙演算法係由對應於約 22 個位元之得分觸發。

一般而言，個別變異 CDR 之間的胺基酸同源性、相似性或一致性相對於本文所描繪之序列為至少 80%，且更通常，較佳具有至少 85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 及幾乎 100% 之漸增同源性或一致性。以類似方式，關於本文所鑑別之結合蛋白質之核酸序列的「核酸序列一致性百分比(%)」定義為候選序列中與抗原結合蛋白質之編碼序列中之核苷酸殘基一致的核苷酸殘基百分比。特定方法利用設定為預設參數之 WU-BLAST-2 之 BLASTN 模組，其中重疊間隔及重疊分率分別設定為 1 及 0.125。

一般而言，編碼個別變異 CDR 之核苷酸序列與本文所描繪之核苷酸序列之間的核酸序列同源性、相似性或一致性為至少 80%，且更通常，較佳具有至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99% 及幾乎 100% 之漸增同源性或一致性。

因此，「變異 CDR」為與本發明之親本 CDR 具有指定同源性、相似性或一致性之 CDR，且共有生物功能，包括（但不限於）親本 CDR 之特異性及 / 或活性之至少 80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或 99%。

儘管引入胺基酸序列變化之位點或區域經預定，但突變本身無需預定。舉例而言，為了最佳化既定位點處突變之效能，在目標密碼子或區域處進行隨機突變誘發，且針對所要活性之最佳組合篩選經表現之抗原結合蛋白質 CDR 變異體。在具有已知序列之 DNA 中之預定位點處產生取代突變的技術為熟知的，例如 M13 引子突變誘發及 PCR 突變誘發。突變體之篩選係使用抗原結合蛋白質活性之分析來進行，諸如 CD27L 結合。

胺基酸取代通常為單一殘基之取代；插入通常將大致為約一(1)個至約二十(20)個胺基酸殘基，但可能容許顯著較大的插入。缺失在約一(1)個至約二十(20)個胺基酸殘基之範圍內，但在一些狀況下缺失可能大得多。

可使用取代、缺失、插入或其任何組合來獲得最終衍生物或變異體。一般而言，對數個胺基酸進行此等變化以使分子之改變、尤其抗原結合蛋白質之免疫原性及特異性之改變最小。然而，在某些環境中可容許較大變化。一般根據以表 1 描繪之以下圖表來進行保守性取代。

表 1

原始殘基	例示性取代
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln、His
Asp	Glu
Cys	Ser
Gln	Asn
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn、Gln
Ile	Leu、Val
Leu	Ile、Val
Lys	Arg、Gln、Glu
Met	Leu、Ile
Phe	Met、Leu、Tyr
Ser	Thr
Thr	Ser
Trp	Tyr
Tyr	Trp、Phe
Val	Ile、Leu

藉由選擇與表 1 中所示之取代相比保守性較小之取代來進行功能或免疫一致性之實質性變化。舉例而言，可進行較顯著地影響以下者之取代：改變之區域中多肽骨架之結構，例如 α 螺旋或 β 螺旋結構；目標位點處分子之電荷或疏水性；或側鏈大小。一般預期產生多肽特性之最大變化的取代為如下取代：(a)親水性殘基(例如絲胺醯基或蘇胺醯基)取代(或被取代為)疏水性殘基(例如白胺醯基、異白胺醯基、苯丙胺醯基、纈胺醯基或丙胺醯基)；(b)半胱胺酸或脯胺酸取代(或被取代為)任何其他殘基；(c)具有正電性側鏈之殘基(例如離胺醯基、精胺醯基或組胺醯基)取代(或

被取代為)負電性殘基(例如麩胺醯基或天冬胺醯基);或(d)具有大側鏈之殘基(例如苯丙胺酸)取代(或被取代為)不具有側鏈之殘基(例如甘胺酸)。

變異體通常展現與天然存在之類似物相同的定性生物活性且將引發相同免疫反應,但亦視需要選擇變異體以改變抗原結合蛋白質之特徵。或者,可設計變異體以使得抗原結合蛋白質之生物活性改變。舉例而言,可如本文所論述改變或移除糖基化位點。

在本發明之範疇內CD27L抗體之其他衍生物包括CD27L抗體或其片段與其他蛋白質或多肽之共價或聚集共軛物,諸如藉由表現包含異源多肽融合於CD27L抗體多肽之N端或C端的重組融合蛋白質。舉例而言,結合之肽可為異源信號(或前導)多肽(例如酵母 α -因子前導序列),或肽(諸如抗原決定基標籤)。含有CD27L抗體之融合蛋白質可包含經添加以有助於純化或鑑別CD27L抗體之肽(例如poly-His)。如Hopp等人,*Bio/Technology* 6:1204, 1988及美國專利5,011,912中所述,CD27L抗體多肽亦可連接於FLAG肽。FLAG肽具高度抗原性且提供由特異性單株抗體(mAb)可逆地結合之抗原決定基,從而能夠快速分析且容易地純化經表現之重組蛋白質。適用於製備FLAG肽融合於既定多肽之融合蛋白質的試劑可購得(Sigma, St. Louis, MO)。

可採用含有一或多個CD27L抗體多肽之寡聚物作為CD27L拮抗劑。寡聚物可呈共價連接或非共價連接之二聚體、三聚體或更高級寡聚物之形式。預期使用包含兩個或

兩個以上CD27L抗體多肽之寡聚物，其中一個實例為均二聚體。其他寡聚物包括雜二聚體、均三聚體、雜三聚體、均四聚體、雜四聚體等。

一個實施例係有關包含經由融合於CD27L抗體多肽之肽部分之間的共價或非共價相互作用而接合之多個CD27L抗體多肽的寡聚物。該等肽可為肽連接子(間隔子)，或具有促進寡聚合之特定的肽。來源於抗體之白胺酸拉鏈及某些多肽包括於可促進連接於其之CD27L抗體多肽寡聚合之肽中，如下文更詳細描述。

在特定實施例中，寡聚物包含兩個至四個CD27L抗體多肽。寡聚物之CD27L抗體部分可呈上文所述之任何形式，例如變異體或片段。寡聚物較佳包含具有CD27L結合活性之CD27L抗體多肽。

在一個實施例中，使用來源於免疫球蛋白之多肽製備寡聚物。製備包含某些異源多肽融合於源自抗體之多肽之各種部分(包括Fc域)的融合蛋白質已例如由Ashkenazi等人，1991, PNAS USA 88:10535；Byrn等人，1990, Nature 344:677；及Hollenbaugh等人，1992「Construction of Immunoglobulin Fusion Proteins」，*Current Protocols in Immunology*，增刊4，第10.19.1-10.19.11頁描述。

本發明之一個實施例係有關包含藉由使CD27L抗體之CD27L結合片段融合於抗體之Fc區而產生之兩個融合蛋白質的二聚體。該二聚體可如下製備：例如將編碼融合蛋白

質之基因融合物插入適當表現載體中，在經重組表現載體轉型之宿主細胞中表現基因融合物，及使經表現之融合蛋白質極像抗體分子般組裝，隨之在Fc部分之間形成鏈間二硫鍵來得到二聚體。

如本文所用之術語「Fc多肽」包括來源於抗體Fc區之多肽的原生及突變形成。亦包括該等多肽之含有促進二聚之鉸鏈區的截短形式。包含Fc部分之融合蛋白質(及由其形成之寡聚物)提供藉由在蛋白質A或蛋白質G管柱上進行親和層析而容易地純化之優勢。

PCT申請案WO 93/10151(藉此以引用的方式併入)中所述之一種適合之Fc多肽為自N端鉸鏈區延伸至人類IgG抗體之Fc區之原生C端的單鏈多肽。另一種適用之Fc多肽為美國專利5,457,035及Baum等人，1994, *EMBO J.* 13:3992-4001中所述之Fc突變體。除胺基酸19由Leu變為Ala，胺基酸20由Leu變為Glu且胺基酸22由Gly變為Ala以外，此突變體之胺基酸序列與WO 93/10151中所呈現之原生Fc序列之胺基酸序列一致。突變體對Fc受體展現降低之親和力。

在其他實施例中，CD27L抗體之重鏈及/或輕鏈之可變部分可取代抗體重鏈及/或輕鏈之可變部分。

或者，寡聚物為包含多個CD27L抗體多肽且具有或不具有肽連接子(間隔肽)之融合蛋白質。適合之肽連接子包括有美國專利4,751,180及4,935,233中所述之肽連接子。

另一種製備寡聚CD27L抗體衍生物之方法涉及使用白胺酸拉鏈。白胺酸拉鏈域為促進其中存在該等白胺酸拉鏈域

之蛋白質之寡聚合的肽。白胺酸拉鏈最初在若干DNA結合蛋白質中鑑別出(Landschulz等人, 1988, *Science* 240:1759), 且此後在多種不同蛋白質中發現。已知白胺酸拉鏈包括有二聚或三聚之天然存在之肽及其衍生物。適於產生可溶性寡聚蛋白質之白胺酸拉鏈域之實例描述於PCT申請案WO 94/10308中, 且來源於肺界面活性蛋白質D(SPD)之白胺酸拉鏈描述於Hoppe等人, 1994, *FEBS Letters* 344:191中, 該等文獻藉此以引用的方式併入。可使得融合於其之異源蛋白質穩定三聚之經修飾白胺酸拉鏈的用途描述於Fanslow等人, 1994, *Semin. Immunol.* 6:267-78中。在一種方法中, 於適合之宿主細胞中表現包含CD27L抗體片段或衍生物融合於白胺酸拉鏈肽之重組融合蛋白質, 且自培養物上清液中回收所形成之可溶性寡聚CD27L抗體片段或衍生物。

抗原結合蛋白質之共價修飾包括於本發明之範疇內, 且一般但不總是在轉譯後進行。舉例而言, 藉由使抗原結合蛋白質之特定胺基酸殘基與能夠與所選側鏈或N端或C端殘基反應之有機衍生劑反應而將抗原結合蛋白質之若干類型之共價修飾引入分子中。

半胱胺醯基殘基最常與 α -鹵乙酸酯(及相應胺)(諸如氯乙酸或氯乙醯胺)反應, 得到羧甲基或羧醯胺甲基衍生物。亦藉由使半胱胺醯基殘基與溴三氟丙酮、 α -溴- β -(5-咪唑基)丙酸、氯乙醯基磷酸酯、N-烷基順丁烯二醯亞胺、3-硝基-2-吡啶基二硫化物、甲基2-吡啶基二硫化物、對氯汞

基苯甲酸酯、2-氯汞基-4-硝基苯酚或氯-7-硝基苯并-2-氧雜-1,3-二唑反應而使半胱胺醯基殘基衍生化。

組胺醯基殘基係藉由在pH 5.5-7.0下與焦碳酸二乙酯反應而衍生化，因為此試劑對組胺醯基側鏈相對具有特異性。對溴苯甲醯甲基溴亦適用；反應較佳在pH 6.0下於0.1 M二甲胂酸鈉中進行。

使離胺醯基及胺基端殘基與丁二酸酐或其他羧酸酐反應。用此等試劑進行衍生化具有逆轉離胺醯基殘基之電荷的作用。使含 α -胺基之殘基衍生化之其他適合試劑包括醯亞胺酯類，諸如甲基吡啶醯亞胺甲酯 (methyl picolinimide)；磷酸吡哆醛；吡哆醛；氯硼氫化物 (chloroborohydride)；三硝基苯磺酸；O-甲基異脲；2,4-戊二酮；及與乙醛酸酯之轉胺酶催化反應。

精胺醯基殘基係藉由與一種或數種習知試劑(其中有苯基乙二醛、2,3-丁二酮、1,2-環己二酮及節滿三酮)反應而修飾。由於胍官能基具有高 pK_a ，因此精胺酸殘基之衍生化需要在鹼性條件下進行反應。此外，此等試劑可與離胺酸之基團以及精胺酸 ϵ -胺基反應。

可對酪胺醯基殘基進行特定修飾，其中尤其關注藉由與芳族重氮化合物或四硝基甲烷反應而將光譜標記引入酪胺醯基殘基中。最通常分別使用N-乙醯基咪唑及四硝基甲烷來形成O-乙醯基酪胺醯基物質及3-硝基衍生物。使用 ^{125}I 或 ^{131}I 來碘化酪胺醯基殘基以製備經標記之蛋白質用於放射性免疫分析，上文所述之氯胺T方法為適合的。

羧基側基(天冬胺鹽基或麩胺鹽基)係藉由與碳化二亞胺($R-N=C=N-R'$)反應而選擇性地修飾，其中R及R'為視情況存在之不同烷基，諸如1-環己基-3-(2-嗎啉基-4-乙基)碳化二亞胺或1-乙基-3-(4-氮鎗-4,4-二甲基戊基)碳化二亞胺。此外，天冬胺鹽基及麩胺鹽基殘基係藉由與銨離子反應而轉化成天冬鹽胺鹽基及麩鹽胺鹽基殘基。

用雙官能試劑進行衍生化適用於使抗原結合蛋白質與不溶於水之支撐物基質或表面交聯以用於多種方法中。常用交聯劑包括例如1,1-雙(重氮乙鹽基)-2-苯基乙烷；戊二醛；N-羥基丁二鹽亞胺酯，例如與4-疊氮基水楊酸形成之酯；同雙官能鹽亞胺酯，包括二丁二鹽亞胺酯，諸如3,3'-二硫基雙(丙酸丁二鹽亞胺酯)；及雙官能順丁烯二鹽亞胺，諸如雙-N-順丁烯二鹽亞胺基-1,8-辛烷。諸如3-[(對疊氮基苯基)二硫基]丙鹽亞胺甲酯之衍生劑產生能夠在光存在下形成交聯之可光活化中間物。或者，不溶於水之反應性基質，諸如美國專利第3,969,287號、第3,691,016號、第4,195,128號、第4,247,642號、第4,229,537號及第4,330,440號中所述之溴化氰活化之碳水化合物及反應性受質，用於蛋白質固定。

常常使麩鹽胺鹽基及天冬鹽胺鹽基殘基脫去鹽胺基以分別得到相應麩胺鹽基及天冬胺鹽基殘基。或者，在適度酸性條件下使該等殘基脫去鹽胺基。此等殘基之任一形式均處於本發明之範疇內。

其他修飾包括脯胺酸及離胺酸之羥基化，絲胺鹽基或蘇

胺醯基殘基之羥基的磷酸化，離胺酸、精胺酸及組胺酸側鏈之 α -胺基的甲基化(T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, 1983, 第79-86頁)，N端胺之乙醯化，及任何C端羧基之醯胺化。

本發明範疇內所包括之抗原結合蛋白質之另一種類型的共價修飾包含改變蛋白質之糖基化模式。如此項技術中所知，糖基化模式可視蛋白質之序列(例如存在或不存在下文所論述之特定糖基化胺基酸殘基)或其中產生蛋白質之宿主細胞或生物體而定。下文論述特定表現系統。

多肽的糖基化通常不是N連接就是O連接。N連接係指碳水化合物部分連接於天冬醯胺殘基之側鏈。三肽序列天冬醯胺酸-X-絲胺酸及天冬醯胺酸-X-蘇胺酸(其中X為除脯胺酸以外之任何胺基酸)是碳水化合物部分酶促連接於天冬醯胺酸側鏈之識別序列。因此，此等三肽序列中之任一者存在於多肽中會產生潛在糖基化位點。O連接之糖基化係指糖類N-乙醯基半乳胺糖、半乳糖或木糖其中之一連接於羥基胺基酸，最常為絲胺酸或蘇胺酸，但亦可使用5-羥基脯胺酸或5-羥基離胺酸。

向抗原結合蛋白質中添加糖基化位點宜藉由改變胺基酸序列以使得其含有一或多個上述三肽序列來實現(對於N-連接糖基化位點)。亦可藉由向起始序列中添加一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基或經一或多個絲胺酸或蘇胺酸殘基取代來進行改變(對於O-連接糖基化位點)。為簡易起見，抗

原結合蛋白質胺基酸序列較佳係藉由在DNA層面上變化而改變，尤其係藉由使在預選鹼基處編碼目標多肽之DNA突變，從而產生將轉譯成所要胺基酸之密碼子。

另一種增加抗原結合蛋白質上碳水化合物部分之數目的方式是使糖苷化學或酶促偶合於蛋白質。此等程序的有利之處在於其不需要在宿主細胞中產生具有糖基化能力之蛋白質來進行N-連接及O-連接糖基化。視所用偶合模式而定，可使糖連接於(a)精胺酸及組胺酸；(b)游離羧基；(c)游離巰基，諸如半胱胺酸之巰基；(d)游離羥基，諸如絲胺酸、蘇胺酸或羥基脯胺酸之羥基；(e)芳族殘基，諸如苯丙胺酸、酪胺酸或色胺酸之芳族殘基；或(f)麩醯胺酸之醯胺基。此等方法描述於1987年9月11日公開之WO 87/05330中及Aplin及Wriston, 1981, *CRC Crit. Rev. Biochem.*, 第259-306頁中。

移除起始抗原結合蛋白質上所存在之碳水化合物部分可以化學方式或以酶促方式實現。化學去糖基化需要使蛋白質暴露於化合物三氟甲烷磺酸或等效化合物。此處理使得除連接糖(N-乙醯基葡糖胺或N-乙醯基半乳胺糖)以外之大多數或所有糖裂解，同時使多肽保持完整。化學去糖基化係由Hakimuddin等人，1987, *Arch. Biochem. Biophys.* 259:52及Edge等人，1981, *Anal. Biochem.* 118:131描述。如Thotakura等人，1987, *Meth. Enzymol.* 138:350所述，多肽上之碳水化合物部分的酶促裂解可藉由使用多種內切糖苷酶及外切糖苷酶來達成。如Duskin等人，1982, *J. Biol.*

Chem. 257:3105所述，潛在糖基化位點處之糖基化可藉由使用化合物衣黴素(tunicamycin)來阻止。衣黴素阻礙蛋白質-N-糖苷鍵形成。

抗原結合蛋白質之另一種類型之共價修飾包含以美國專利第4,640,835號、第4,496,689號、第4,301,144號、第4,670,417號、第4,791,192號或第4,179,337號中所闡述之方式，使抗原結合蛋白質連接於多種多元醇(諸如聚乙二醇、聚丙二醇或聚環氧烷)。另外，如此項技術中所知，可在抗原結合蛋白質之多個位置處進行胺基酸取代以有助於添加聚合物(諸如PEG)。

在一些實施例中，本發明抗原結合蛋白質之共價修飾包含添加一或多個標記。

術語「標記基團」意謂任何可偵測標記。適合標記基團之實例包括(但不限於)以下：放射性同位素或放射性核種(例如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、螢光基團(例如FITC、若丹明(rhodamine)、鐳系元素磷光體)、酶類基團(例如辣根過氧化酶、 β -半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶)、化學發光基團、生物素基團，或由二次報導體識別之預定多肽抗原決定基(例如白胺酸拉鏈對序列、二次抗體之結合位點、金屬結合域、抗原決定基標籤)。在一些實施例中，標記基團係經由各種長度之間隔臂偶合於抗原結合蛋白質以降低潛在位阻。用於對蛋白質作標記之各種方法在此項技術中為已知的且可用於執行本發明。

一般而言，標記視偵測其之分析而定可分成多個類別：

a)同位素標記，其可為放射性同位素或重同位素；b)磁性標記(例如磁性粒子)；c)氧化還原活性部分；d)光學染料；酶類基團(例如辣根過氧化酶、 β -半乳糖苷酶、螢光素酶、鹼性磷酸酶)；e)生物素標記基團；及f)由二次報導體識別之預定多肽抗原決定基(例如白胺酸拉鏈對序列、二次抗體之結合位點、金屬結合域、抗原決定基標籤等)。

在一些實施例中，標記基團係經由各種長度之間隔臂偶合於抗原結合蛋白質以降低潛在位阻。用於對蛋白質作標記之各種方法在此項技術中為已知的且可用於執行本發明。

特定標記包括光學染料，包括(但不限於)發色團、磷光體及螢光團，其中螢光團在許多情況下具特異性。螢光團可為「小分子」螢光團或蛋白質性螢光團。

「螢光標記」意謂可經由其固有螢光特性而偵測之任何分子。適合之螢光標記包括(但不限於)螢光素、若丹明、四甲基若丹明(tetramethylrhodamine)、曙紅(eosin)、紅螢素(erythrosin)、香豆素、甲基香豆素、芪、孔雀綠(Malachite green)、芪、螢光黃(Lucifer Yellow)、喀斯喀特藍 J(Cascade BlueJ)、德克薩斯紅(Texas Red)、IAEDANS、EDANS、BODIPY FL、LC Red 640、Cy 5、Cy 5.5、LC Red 705、俄勒岡綠(Oregon green)、Alexa-Fluor染料(Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 430、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660、Alexa Fluor

680)、喀斯喀特藍(Cascade Blue)、喀斯喀特黃(Cascade Yellow)及 R-藻紅素(R-phycoerythrin, PE)(Molecular Probes, Eugene, OR)、FITC、若丹明及德克薩斯紅(Pierce, Rockford, IL)、Cy5、Cy5.5、Cy7 (Amersham Life Science, Pittsburgh, PA)。適合之光學染料(包括螢光團)由 Richard P. Haugland 描述於 Molecular Probes Handbook 中，該文獻藉此以引用的方式明確併入。

適合之蛋白質性螢光標記亦包括(但不限於)綠色螢光蛋白質，包括 GFP 之海腎(Renilla)、海筆(Ptilosarcus)或水母(Aequorea)物質(Chalfie 等人，1994, *Science* 263:802-805)、EGFP (Clontech Laboratories, Inc., Genbank 寄存編號 U55762)；藍色螢光蛋白質(BFP, Quantum Biotechnologies, Inc. 1801 de Maisonneuve Blvd. West, 8th Floor, Montreal, Quebec, Canada H3H 1J9；Stauber, 1998, *Biotechniques* 24:462-471；Heim 等人，1996, *Curr. Biol.* 6:178-182)；增強型黃色螢光蛋白質(EYFP, Clontech Laboratories, Inc.)；螢光素酶(Ichiki 等人，1993, *J. Immunol.* 150:5408-5417)； β 半乳糖苷酶(Nolan 等人，1988, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85:2603-2607)；及海腎(WO 92/15673，WO 95/07463，WO 98/14605，WO 98/26277，WO 99/49019，美國專利第 5292658 號、第 5418155 號、第 5683888 號、第 5741668 號、第 5777079 號、第 5804387 號、第 5874304 號、第 5876995 號、第 5925558 號)。上文所引用之所有參考文獻均以引用的方式明確併入本文中。

編碼 CD27L 抗原結合蛋白質之聚核苷酸

本發明涵蓋編碼如本文所定義之 CD27L 抗原結合蛋白質 (包括抗體) 之核酸。較佳核酸包括編碼本文所述之例示性輕鏈及重鏈之核酸。

編碼 Ab1 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:49 所示之序列的核酸。

編碼 Ab2 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:50 所示之序列的核酸。

編碼 Ab4 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:51 所示之序列的核酸。

編碼 Ab5 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:52 所示之序列的核酸。

編碼 Ab6 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:53 所示之序列的核酸。

編碼 Ab7 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:54 所示之序列的核酸。

編碼 Ab8 LC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:55 所示之序列的核酸。

編碼 Ab1 HC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:3 所示之序列的核酸。

編碼 Ab2 HC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:4 所示之序列的核酸。

編碼 Ab4 HC 之例示性核酸為包含 SEQ ID NO:5 所示之序列的核酸。

編碼 Ab5 HC之例示性核酸為包含SEQ ID NO:6所示之序列的核酸。

編碼 Ab6 HC之例示性核酸為包含SEQ ID NO:7所示之序列的核酸。

編碼 Ab7 HC之例示性核酸為包含SEQ ID NO:8所示之序列的核酸。

編碼 Ab8 HC之例示性核酸為包含SEQ ID NO:9所示之序列的核酸。

本發明之態樣包括編碼本文所述之胺基酸序列之聚核苷酸變異體(例如因簡併而產生)。

本發明之態樣包括多種實施例，包括(但不限於)以下例示性實施例。

經分離聚核苷酸，其中該聚核苷酸編碼一或多個包含選自由以下組成之群之胺基酸序列的多肽：

A. 1.與SEQ ID NO:63-70所示之輕鏈可變域序列至少90%一致之輕鏈可變域序列；

2.與SEQ ID NO:17-24所示之重鏈可變域序列至少90%一致之重鏈可變域序列；

3. (1)之輕鏈可變域及(2)之重鏈可變域；及

B. 包含CDR1、CDR2、CDR3之輕鏈可變域及/或包含CDR1、CDR2、CDR3之重鏈可變域，其與來自以下序列之各CDR之不同之處為不超過總共三個胺基酸添加、取代及/或缺失：

1. Ab1之輕鏈CDR1 (SEQ ID NO:71)、CDR2 (SEQ ID

NO:79)、CDR3 (SEQ ID NO:87)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:25)、CDR2 (SEQ ID NO:33)、CDR3 (SEQ ID NO:41)；

2. Ab2之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:72)、CDR2 (SEQ ID NO:80)、CDR3 (SEQ ID NO:88)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:26)、CDR2 (SEQ ID NO:34)、CDR3 (SEQ ID NO:42)；

3. Ab3之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:73)、CDR2 (SEQ ID NO:81)、CDR3 (SEQ ID NO:89)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:27)、CDR2 (SEQ ID NO:35)、CDR3 (SEQ ID NO:43)；

4. Ab4之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:74)、CDR2 (SEQ ID NO:82)、CDR3 (SEQ ID NO:90)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:28)、CDR2 (SEQ ID NO:36)、CDR3 (SEQ ID NO:44)；

5. Ab5之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:75)、CDR2 (SEQ ID NO:83)、CDR3 (SEQ ID NO:91)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:29)、CDR2 (SEQ ID NO:37)、CDR3 (SEQ ID NO:45)；

6. Ab6之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:76)、CDR2 (SEQ ID NO:84)、CDR3 (SEQ ID NO:92)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:30)、CDR2 (SEQ ID NO:38)、CDR3 (SEQ ID NO:46)；

7. Ab7之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:77)、CDR2 (SEQ ID

NO:85)、CDR3 (SEQ ID NO:93)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:31)、CDR2 (SEQ ID NO:39)、CDR3 (SEQ ID NO:47); 及

8. Ab8之輕鏈 CDR1 (SEQ ID NO:78)、CDR2 (SEQ ID NO:86)、CDR3 (SEQ ID NO:94)或重鏈 CDR1 (SEQ ID NO:32)、CDR2 (SEQ ID NO:40)、CDR3 (SEQ ID NO:48)。

在較佳實施例中，由經分離核酸編碼之多肽為結合 CD27L之抗原結合蛋白質之組分。

在另一實施例中，由經分離核酸編碼之多肽具有輕鏈可變域及/或重鏈可變域，該輕鏈可變域包含具 R1K-S3G 突變之 SEQ ID NO:74 之 LCDR1；具 L1I-Y4F 突變之 SEQ ID NO:82 之 LCDR2 序列；及具 Q2N-T3S 突變之 SEQ ID NO:90 之 LCDR3 序列；且該重鏈可變域包含具 N1S-I4M 修飾之 SEQ ID NO:28 之 HCDR1；如 SEQ ID NO:36 所示之 HCDR2 序列；及如 SEQ ID NO:44 所示之 HCDR3 序列。

對應於本文所述之胺基酸序列且欲用作核酸分離之探針或引子或用作資料庫搜尋之查詢序列的核苷酸序列可藉由自胺基酸序列「回譯(back-translation)」或藉由鑑別與已鑑別編碼 DNA 序列之多肽具有胺基酸一致性之區域來獲得。可採用熟知之聚合酶鏈反應(PCR)程序來分離及擴增編碼 CD27L 抗原結合蛋白質或 CD27L 抗原結合蛋白質多肽片段之所要組合的 DNA 序列。採用界定 DNA 片段組合之所要末端的寡核苷酸作為 5' 及 3' 引子。寡核苷酸可另外含有限制性核酸內切酶之識別位點，以有助於將經擴增之 DNA 片段組合插入表現載體中。PCR 技術描述於 Saiki 等人，*Science* 239:487 (1988)；*Recombinant DNA Methodology*, Wu 等人編，Academic Press, Inc., San Diego (1989)，第 189-196 頁；及 *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Innis 等人編，Academic Press, Inc. (1990) 中。

本發明之核酸分子包括呈單股形式與雙股形式之DNA及RNA，以及相應互補序列。DNA包括例如cDNA、基因組DNA、經化學合成之DNA、由PCR擴增之DNA及其組合。本發明之核酸分子包括全長基因或cDNA分子以及其片段組合。本發明之核酸優先來源於人類來源，但本發明亦包括來源於非人類物種之核酸。

在自天然存在之來源分離核酸之狀況下，「經分離核酸」為與分離出核酸之生物體之基因組中所存在之相鄰遺傳序列分離的核酸。在以酶促方式自模板合成或以化學方式合成核酸(諸如PCR產物、cDNA分子或寡核苷酸)之狀況下，應瞭解，由該等過程產生之核酸為經分離核酸。經分離核酸分子係指呈獨立片段形式或作為較大核酸構築體之組分的核酸分子。在一個較佳實施例中，核酸實質上不含污染性內源物質。核酸分子較佳來源於至少一次以實質上純形式且以一定量或濃度經分離DNA或RNA，該量或濃度使得其組分核苷酸序列能夠藉由標準生物化學方法鑑別、操作及回收(諸如 Sambrook 等人，*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*，第2版，Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY (1989)中概述之方法)。該等序列較佳以開放閱讀框架之形式提供及/或構築，該開放閱讀框架不間雜有通常存在於真核基因中之內部非轉譯序列或內含子。非轉譯DNA之序列可存在於自開放閱讀框架之5'或3'方向，其不干擾編碼區之操作或表現。

本發明亦包括在中等嚴苛條件下且更佳在高度嚴苛條件

下與編碼如本文所述之CD27L抗原結合蛋白質之核酸雜交的核酸。影響雜交條件選擇之基本參數及設計適合條件之導則係由 Sambrook, Fritsch及 Maniatis (1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 第9章及第11章；及 Current Protocols in Molecular Biology, 1995, Ausubel等人編, John Wiley & Sons, Inc., 章節2.10及6.3-6.4)闡述，且可易於由一般技術者基於例如DNA之長度及/或鹼基組成來確定。一種達成中等嚴苛條件之方式涉及使用含有5×SSC、0.5% SDS、1.0 mM EDTA (pH 8.0)之預洗滌溶液，約50%甲醯胺、6×SSC之雜交緩衝液，及約55°C之雜交溫度(或其他類似雜交溶液，諸如含有約50%甲醯胺之雜交溶液，約42°C之雜交溫度)，及在約60°C下於0.5×SSC、0.1% SDS中之洗滌條件。一般而言，高度嚴苛條件定義為如同上述之雜交條件，但在約68°C下用0.2×SSC、0.1% SDS洗滌。可用SSPE (1×SSPE為0.15 M NaCl、10 mM NaH₂PO₄及1.25 mM EDTA, pH 7.4)替代雜交及洗滌緩衝液中之SSC (1×SSC為0.15 M NaCl及15 mM 檸檬酸鈉)；在雜交完成之後進行15分鐘洗滌。應瞭解，必要時可調整洗滌溫度及洗滌鹽濃度以藉由應用主導雜交反應及雙螺旋體穩定性之基本原理來達成所要嚴苛程度，如此項技術者所知及下文進一步描述(參見例如 Sambrook等人, 1989)。當使核酸與具有未知序列之目標核酸雜交時，假定雜交體長度為雜交核酸之長度。當使具有已知序

列之核酸雜交時，雜交體長度可藉由比對核酸序列且鑑別最佳序列互補性之區域來確定。預期長度小於50個鹼基對之雜交體之雜交溫度應比雜交體之熔融溫度(T_m)低 5°C 至 10°C ，其中 T_m 係根據以下方程式測定。對於長度小於18個鹼基對之雜交體， $T_m(^{\circ}\text{C})=2(A+T\text{鹼基之}\#)+4(\#G+C\text{鹼基之}\#)$ 。對於長度大於18個鹼基對之雜交體， $T_m(^{\circ}\text{C})=81.5+16.6(\log_{10}[\text{Na}^+])+0.41(\%G+C)-(600/N)$ ，其中 N 為雜交體中鹼基之數目，且 $[\text{Na}^+]$ 為雜交緩衝液中鈉離子之濃度($1\times\text{SSC}$ 之 $[\text{Na}^+]=0.165\text{ M}$)。較佳地，各該雜交核酸之長度為至少15個核苷酸(或更佳至少18個核苷酸，或至少20個核苷酸，或至少25個核苷酸，或至少30個核苷酸，或至少40個核苷酸，或最佳至少50個核苷酸)，或為與其雜交之本發明核酸之長度的至少25% (更佳至少50%，或至少60%，或至少70%，且最佳至少80%)，且與其雜交之本發明核酸具有至少60%序列一致性(更佳至少70%、至少75%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或至少99%，且最佳至少99.5%)，其中序列一致性係如上文更詳細描述藉由比較雜交核酸之序列(當比對時使重疊及一致性達到最大)同時使序列空隙達到最小來確定。

如本文所概述，本發明之變異體通常藉由使用卡匣或PCR突變誘發或此項技術中熟知之其他技術，在編碼抗原

結合蛋白質之DNA中進行核苷酸之位點特異性突變誘發以產生編碼變異體之DNA，且此後在細胞培養物中表現重組DNA來製備。然而，包含具有至多約100-150個殘基之變異CDR的抗原結合蛋白質片段可藉由使用已確立之技術進行活體外合成來製備。變異體通常展現與天然存在之類似物相同的定性生物活性(例如結合於CD27L)，但亦可選擇具有如下文更全面概述之經修飾特徵之變異體。

如熟習此項技術者應瞭解，由於遺傳密碼之簡併，可製得極大數目之核酸，其所有均編碼本發明之CDR(及抗原結合蛋白質之重鏈及輕鏈或其他組分)。因此，在已鑑別特定胺基酸序列之情況下，熟習此項技術者可藉由以不改變經編碼蛋白質之胺基酸序列的方式簡單修飾一或多個密碼子之序列來製得許多不同核酸。

本發明亦提供呈包含至少一個如同上述之聚核苷酸之質體、表現載體、轉錄或表現卡匣形式的表現系統及構築體。另外，本發明提供包含該等表現系統或構築體之宿主細胞。

通常，任何宿主細胞中所用之表現載體將含有用於質體維持及用於選殖及表現外源核苷酸序列之序列。在某些實施例中統稱為「側接序列」之該等序列通常將包括以下核苷酸序列中之一或多者：啟動子、一或多個強化子序列、複製起點、轉錄終止序列、含有供體及接受體剪接位點之完整內含子序列、編碼用於多肽分泌之前導序列的序列、核糖體結合位點、聚腺苷酸化序列、用於插入編碼待表現

多肽之核酸的多酶切點接頭區域(polylinker region)，及可選擇標記元件。下文論述此等序列中之每一者。

載體可視情況含有「標籤」編碼序列，亦即，位於CD27L抗原結合蛋白質編碼序列之5'端或3'端處之寡核苷酸分子；寡核苷酸序列編碼多聚組胺酸(polyHis)(諸如六聚組胺酸(hexaHis))，或可存在針對其之市售抗體的另一「標籤」，諸如FLAG、HA (血凝素流感病毒)或myc。此標籤通常融合於多肽表現時之多肽，且可充當用於親和純化或偵測宿主細胞中之CD27L抗原結合蛋白質的手段。親和純化可例如藉由使用針對標籤之抗體作為親和基質進行管柱層析來實現。視情況，可隨後藉由各種方式，諸如使用某些用於裂解之肽酶，自經純化之CD27L抗原結合蛋白質中移除標籤。

側接序列可為同源(亦即來自與宿主細胞相同之物種及/或品系)、異源(亦即來自除宿主細胞物種或品系以外之物種)、雜交(亦即來自一個以上來源之側接序列之組合)、合成或原生的。因此，側接序列之來源可為任何原核或真核生物體、任何脊椎動物或無脊椎動物生物體或任何植物，其限制條件為側接序列在宿主細胞機構中具有功能且可由宿主細胞機構活化。

適用於本發明載體中之側接序列可藉由此項技術中熟知之若干方法中之任一者獲得。通常，適用於本文之側接序列先前已藉由定位及/或限制性核酸內切酶消化而鑑別且因此可使用適當限制性核酸內切酶自適當組織來源中分

離。在一些狀況下，側接序列之完整核苷酸序列可為已知的。此處，可使用本文所述用於核酸合成或選殖之方法來合成側接序列。

無論已知側接序列之全部抑或僅一部分，其均可使用聚合酶鏈反應(PCR)及/或藉由用適合探針(諸如來自相同或另一物種之寡核苷酸及/或側接序列片段)篩選基因組文庫來獲得。當側接序列未知時，含有側接序列之DNA片段可自可含有例如編碼序列或甚至其他基因之較大DNA片中分離。分離可藉由限制性核酸內切酶消化產生適當DNA片段，繼而使用瓊脂糖凝膠純化、Qiagen[®]管柱層析(Chatsworth, CA)或熟習此項技術者已知之其他方法分離來達成。選擇適合酶來達成此目的將為一般技術者顯而易知。

複製起點通常為可購得之彼等原核表現載體之一部分，且該起點幫助載體在宿主細胞中擴增。若所選載體不含複製起點位點，則其可基於已知序列化學合成且接合至載體中。舉例而言，來自質體pBR322 (New England Biolabs, Beverly, MA)之複製起點適合於大多數革蘭氏陰性細菌，且各種病毒起點(例如SV40、多瘤病毒、腺病毒、水泡性口炎病毒(VSV)或乳頭狀瘤病毒(諸如HPV或BPV))適用於在哺乳動物細胞中選殖載體。一般而言，哺乳動物表現載體不需要複製起點組分(例如常常僅使用SV40起點，因為其亦含有病毒早期啟動子)。

轉錄終止序列通常位於多肽編碼區末端之3'方向且用以

終止轉錄。通常，原核細胞中之轉錄終止序列為富含G-C之片段，其後為多聚T序列。儘管序列易於自文庫選殖或甚至作為載體之一部分可購得，但其亦可使用核酸合成方法(諸如本文所述之方法)輕易地合成。

可選擇標記基因編碼在選擇性培養基中生長之宿主細胞之存活及生長所必需的蛋白質。典型選擇標記基因編碼如下蛋白質：(a)賦予對例如用於原核宿主細胞之安比西林(ampicillin)、四環素(tetracycline)或康黴素(kanamycin)之抗生素或其他毒素的抗性；(b)補充細胞之營養缺陷；或(c)供應無法自複合培養基或限定培養基獲得之關鍵營養物。特定可選擇標記物為康黴素抗性基因、安比西林抗性基因及四環素抗性基因。有利的是，新黴素(neomycin)抗性基因亦可用於原核宿主細胞與真核宿主細胞中之選擇。

其他可選擇基因可用於擴增欲表現之基因。擴增為使產生對生長或細胞存活至關重要之蛋白質所需之基因在連續數代重組細胞之染色體中串聯重複的過程。適合於哺乳動物細胞之可選擇標記物之實例包括二氫葉酸還原酶(DHFR)及無啟動子胸苷激酶基因。將哺乳動物細胞轉型體置於選擇壓力下，在該壓力下由於載體中存在可選擇基因而使僅轉型體唯一適應得以存活。藉由在連續增加培養基中選擇劑之濃度的條件下培養經轉型之細胞來施加選擇壓力，從而使得可選擇基因與編碼另一基因(諸如結合於CD27L多肽之抗原結合蛋白質抗體)之DNA擴增。因此，自經擴增之DNA合成增加量之多肽，諸如CD27L抗原結合

蛋白質。

核糖體結合位點通常為rnRNA之轉譯啟始所必需且特徵為夏因-達爾加諾序列(Shine-Dalgarno sequence)(原核生物)或科紫克序列(Kozak sequence)(真核生物)。該元件通常位於啟動子之3'方向及待表現多肽之編碼序列之5'方向。在某些實施例中，一或多個編碼區可操作地連接於內部核糖體結合位點(IRES)，從而使得兩個開放閱讀框架自單一RNA轉錄物轉譯。

在一些狀況下，諸如當在真核宿主細胞表現系統中需要糖基化時，吾人可操作各種前序列或原序列以改良糖基化或產率。舉例而言，吾人可改變特定信號肽之肽酶裂解位點，或添加原序列，其亦可能會影響糖基化。最終蛋白質產物可在-1位置(相對於成熟蛋白質之第一胺基酸)處具有一或多個易於表現之其他胺基酸，該等胺基酸可能尚未被完全移除。舉例而言，最終蛋白質產物可具有在肽酶裂解位點處所見之一或兩個胺基酸殘基，其連接於胺基端。或者，使用一些酶裂解位點可產生所要多肽之稍截短形式，條件為該酶在成熟多肽內之該區域處切割。

本發明之表現及選殖載體通常將含有由宿主生物體識別且可操作地連接於編碼CD27L抗原結合蛋白質之分子的啟動子。啟動子為位於結構基因之起始密碼子上游(亦即5')之非轉錄序列(一般在約100至1000 bp內)，其控制該結構基因之轉錄。啟動子習知地分為兩類之一：誘導性啟動子及組成性啟動子。誘導性啟動子對培養條件之一些變化

(諸如存在或不存在營養物或溫度變化)作出反應而引發在其控制下自DNA之轉錄量增加。另一方面，組成性啟動子均勻地轉錄可操作地連接於其之基因，亦即，對基因表現具有極小控制或無控制。由多種潛在宿主細胞識別之大量啟動子為熟知的。藉由以限制性酶消化自源DNA移除啟動子且將所要啟動子序列插入載體中，而使適合啟動子可操作地連接於編碼包含本發明CD27L抗原結合蛋白質之重鏈或輕鏈之DNA。

適用於酵母宿主之啟動子在此項技術中亦為熟知的。酵母強化子宜與酵母啟動子一起使用。適用於哺乳動物宿主細胞之啟動子為熟知的且包括(但不限於)自病毒(諸如多瘤病毒、禽痘病毒、腺病毒(諸如2型腺病毒)、牛乳頭狀瘤病毒、禽類肉瘤病毒、細胞巨大病毒、反轉錄病毒、B型肝炎病毒且最佳為猿猴病毒-40(SV40))之基因組獲得之啟動子。其他適合之哺乳動物啟動子包括異源哺乳動物啟動子，例如熱休克啟動子及肌動蛋白啟動子。

可能受關注之其他啟動子包括(但不限於)：SV40早期啟動子(Benoist及 Chambon, 1981, *Nature* 290:304-310)；CMV啟動子(Thornsen等人，1984, *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 81:659-663)；勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)之3'長末端重複序列中所含之啟動子(Yamamoto等人，1980, *Cell* 22:787-797)；疱疹病毒胸苷激酶啟動子(Wagner等人，1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78:1444-1445)；來自金屬硫蛋白基因之啟動子及調控序列(Prinster等人，1982,

Nature 296:39-42)；及原核啟動子，諸如 β -內鹼胺酶啟動子 (Villa-Kamaroff 等人，1978, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 75:3727-3731)；或 tac 啟動子 (DeBoer 等人，1983, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 80:21-25)。亦關注以下動物轉錄控制區，其展現組織特異性且已用於轉殖基因動物中：在胰腺腺泡細胞中具活性之彈性蛋白酶I基因控制區 (Swift 等人，1984, *Cell* 38:639-646；Ornitz 等人，1986, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 50:399-409；MacDonald, 1987, *Hepatology* 7:425-515)；在胰腺 β 細胞中具活性之胰島素基因控制區 (Hanahan, 1985, *Nature* 315:115-122)；在淋巴樣細胞中具活性之免疫球蛋白基因控制區 (Grosschedl 等人，1984, *Cell* 38:647-658；Adames 等人，1985, *Nature* 318:533-538；Alexander 等人，1987, *Mol. Cell. Biol.* 7:1436-1444)；在睪丸細胞、乳房細胞、淋巴樣細胞及肥大細胞中具活性之小鼠乳腺腫瘤病毒控制區 (Leder 等人，1986, *Cell* 45:485-495)；在肝中具活性之白蛋白基因控制區 (Pinkert 等人，1987, *Genes and Devel.* 1:268-276)；在肝中具活性之 α -胎蛋白基因控制區 (Krumlauf 等人，1985, *Mol. Cell. Biol.* 5:1639-1648；Hammer 等人，1987, *Science* 253:53-58)；在肝中具活性之 α 1-抗胰蛋白酶基因控制區 (Kelsey 等人，1987, *Genes and Devel.* 1:161-171)；在骨髓細胞中具活性之 β -血球蛋白基因控制區 (Mogam 等人，1985, *Nature* 315:338-340；Kollias 等人，1986, *Cell* 46:89-94)；在腦中之寡樹突神經

膠質細胞中具活性之髓磷脂鹼性蛋白質基因控制區 (Readhead等人, 1987, *Cell* 48:703-712); 在骨骼肌中具活性之肌凝蛋白輕鏈-2基因控制區 (Sani, 1985, *Nature* 314:283-286); 及在下丘腦中具活性之促性腺激素釋放激素基因控制區 (Mason等人, 1986, *Science* 234:1372-1378)。

可將強化子序列插入載體中以增加由高等真核生物對編碼包含本發明CD27L抗原結合蛋白質之輕鏈或重鏈之DNA的轉錄。強化子為DNA之順式作用元件, 通常長度為約10-300 bp, 其作用於啟動子以增加轉錄。強化子相對不依賴於定向及位置, 已發現其處於轉錄單元之5'與3'方向的位置處。可自哺乳動物基因獲得之若干強化子序列為已知的(例如血球蛋白、彈性蛋白酶、白蛋白、 α -胎蛋白及胰島素)。然而, 通常使用來自病毒之強化子。此項技術中已知之SV40強化子、細胞巨大病毒早期啟動子強化子、多瘤病毒強化子及腺病毒強化子為用於活化真核啟動子之例示性強化元件。儘管強化子可位於載體中編碼序列之5'或3'方向, 其通常位於自啟動子之5'方向之位點處。可將編碼適當原生或異源信號序列(前導序列或信號肽)之序列併入表現載體中, 以促進抗體之細胞外分泌。信號肽或前導序列之選擇視待產生抗體之宿主細胞的類型而定, 且異源信號序列可置換原生信號序列。在哺乳動物宿主細胞中具有功能之信號肽的實例包括以下: 美國專利第4,965,195號

中所述之介白素-7(IL-7)之信號序列；Cosman等人，1984, *Nature* 312:768中所述之介白素-2受體之信號序列；EP專利第0367 566號中所述之介白素-4受體信號肽；美國專利第4,968,607號中所述之I型介白素-1受體信號肽；EP專利第0 460 846號中所述之II型介白素-1受體信號肽。

載體可含有一或多個元件，當將該載體整合至宿主細胞基因組中時該一或多個元件有助於表現。實例包括EASE元件(Aldrich等人，2003 *Biotechnol Prog.* 19:1433-38)及基質連接區(MAR)。MAR介導染色質之結構組織化且可使經整合之載體自「位置」效應隔離。因此，當載體用於產生穩定轉染體時，MAR尤其適用。許多天然及合成之含MAR核酸在此項技術中為已知的，例如美國專利第6,239,328號、第7,326,567號、第6,177,612號、第6,388,066號、第6,245,974號、第7,259,010號、第6,037,525號、第7,422,874號、第7,129,062號。

本發明之表現載體可自起始載體(諸如市售載體)構築。該等載體可能含有或可能不含所有所要側接序列。當本文所述之一或多個側接序列尚不存在於載體中時，其可個別地獲得且接合至載體中。用於獲得各側接序列之方法為熟習此項技術者所熟知。

在已構築載體且已將編碼包含CD27L抗原結合序列之輕鏈、重鏈或輕鏈與重鏈之核酸分子插入該載體之適當位點中之後，可將完成之載體插入適合宿主細胞中以供擴增及/或多肽表現。將CD27L抗原結合蛋白質之表現載體轉型至

所選宿主細胞中可藉由熟知方法來實現，包括轉染、感染、磷酸鈣共沈澱、電穿孔、顯微注射、脂質體轉染、DEAE-葡聚糖介導之轉染或其他已知技術。所選方法將部分地隨所用宿主細胞之類型而變。此等方法及其他適合方法為熟習此項技術者所熟知，且闡述於例如 Sambrook 等人，2001 (同上) 中。

宿主細胞當在適當條件下培養時合成 CD27L 抗原結合蛋白質，其隨後可自培養基中收集(若宿主細胞將其分泌至培養基中)或直接自產生其之宿主細胞中收集(若其未被分泌)。適當宿主細胞之選擇將視多種因素而定，諸如所要表現量、活性所需或必需之多肽修飾(諸如糖基化或磷酸化)及摺疊成生物活性分子之容易度。宿主細胞可為真核細胞或原核細胞。

可用作供表現用之宿主的哺乳動物細胞株在此項技術中為熟知的且包括(但不限於)可自美國菌種保藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)獲得之永生化細胞株，且此項技術中已知之表現系統中所用之任何細胞株均可用於製備本發明之重組多肽。一般而言，用包含編碼所要抗 CD27L 抗體多肽之 DNA 之重組表現載體轉型宿主細胞。可採用之宿主細胞包括有原核生物、酵母或高等真核生物細胞。原核生物包括革蘭氏陰性或革蘭氏陽性生物體，例如大腸桿菌或細菌。高等真核生物細胞包括昆蟲細胞及源於哺乳動物之已確立細胞株。適合哺乳動物宿主細胞株之實例包括 COS-7 猴腎細胞株(ATCC CRL 1651)

(Gluzman 等人，1981, Cell 23:175)、L細胞、293細胞、C127細胞、3T3細胞(ATCC CCL 163)、中國倉鼠卵巢(CHO)細胞或其衍生物(諸如Veggie CHO)及在無血清培養基中生長之相關細胞株(Rasmussen等人，1998, *Cytotechnology* 28: 31)、海拉細胞(HeLa cell)、BHK (ATCC CRL 10)細胞株，及如McMahan等人，1991, EMBO J. 10: 2821所述之來源於非洲綠猴腎細胞株CVI (ATCC CCL 70)之CVI/EBNA細胞株、人類胚腎細胞(諸如293、293 EBNA或MSR 293)、人類表皮A431細胞、人類Colo205細胞、其他經轉型之靈長類動物細胞株、正常二倍體細胞、來源於原代組織、原代外植體之活體外培養物之細胞品系、HL-60、U937、HaK或猶卡細胞(Jurkat cell)。視情況，當在多種信號轉導或報導體分析中需要使用多肽時，諸如HepG2/3B、KB、NIH 3T3或S49之哺乳動物細胞株可用於表現該多肽。或者，可在諸如酵母之低等真核生物中或諸如細菌之原核生物中產生多肽。適合酵母包括釀酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、克魯維酵母(*Kluyveromyces*)菌株、假絲酵母(*Candida*)或能夠表現異源多肽之任何酵母菌株。適合細菌菌株包括大腸桿菌(*Escherichia coli*)、枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)、鼠傷寒沙門氏桿菌(*Salmonella typhimurium*)或能夠表現異源多肽之任何細菌菌株。若多肽係在酵母或細菌中製得，則可能需要例如藉由適當位點之磷酸化或糖基化來修飾其中產生之多肽，以獲得功能性多肽。該等共價連接可使用已知

化學或酶促方法來實現。多肽亦可藉由使本發明之分離核酸可操作地連接於一或多個昆蟲表現載體中之適合控制序列且採用昆蟲表現系統來產生。用於桿狀病毒/昆蟲細胞表現系統之物質及方法可以套組形式自例如 Invitrogen, San Diego, Calif., U.S.A. 購得 (MaxBac® 套組)，且該等方法在此項技術中為熟知的，如 Summers 及 Smith, Texas Agricultural Experiment Station Bulletin 第 1555 期 (1987)，及 Luckow 及 Summers, *Bio/Technology* 6:47 (1988) 中所述。亦可採用無細胞轉譯系統以使用來源於本文所揭示之核酸構築體之 RNA 來產生多肽。用於細菌、真菌、酵母及哺乳動物細胞宿主之適當選殖及表現載體係由 Pouwels 等人 (*Cloning Vectors: A Laboratory Manual*, Elsevier, New York, 1985) 描述。包含較佳可操作地連接於至少一個表現控制序列之本發明分離核酸之宿主細胞為「重組宿主細胞」。

在某些實施例中，可藉由確定哪些細胞株具有高表現量且組成性地產生具有 CD27L 結合特性之抗原結合蛋白質來選擇細胞株。在另一實施例中，可選擇來自不產生其自身抗體但具有產生及分泌異源抗體之能力的 B 細胞譜系之細胞株。

抗體藥物共軛物

本發明之實施例包括抗體藥物共軛物 (ADC)。一般而言，ADC 包含抗體結合至化學治療劑，例如化學毒性劑、細胞抑制劑、毒素或放射性藥劑。可使用連接分子使藥物

結合至抗體。適用於ADC技術中之多種連接子及藥物在此項技術中為已知的且可用於本發明之實施例中。(參見US 20090028856；US 2009/0274713；US 2007/0031402；WO 2005/084390；WO 2009/099728；US 5208020；US 5416064；US 5475092、5585499、6436931、6372738及6340701，所有文獻均以引用的方式併入本文中)。

抗體藥物共軛物可藉由活體外方法製備。為使藥物或前藥連接於抗體，使用連接基團。適合之連接基團在此項技術中為熟知的且包括二硫基、酸不穩定基團、光不穩定基團、肽酶不穩定基團及酯酶不穩定基團。較佳連接基團為二硫基。舉例而言，可使用抗體與藥物或前藥之間的二硫化物交換反應來構築共軛物。亦可經諸如血清白蛋白之中間載體分子使藥物分子連接於細胞結合劑。

在某些實施例中，藉由使雙功能交聯試劑與細胞結合劑反應，從而使得連接分子共價連接於細胞結合劑來修飾該細胞結合劑。如本文所用之「雙功能交聯試劑」或「連接子」為使細胞結合劑共價連接於藥物(諸如本文所述之藥物)之任何化學部分。在本發明之一特定實施例中，一部分連接部分係由藥物提供。就此而言，藥物包含作為用於使細胞結合劑接合至藥物之較大連接分子之一部分的連接部分。舉例而言，為形成類美登素(maytansinoid) DM1，美登素(maytansine)之C-3羥基處之側鏈經修飾而具有游離巯基(SH)。美登素之此硫醇化形式可與經修飾之細胞結合劑反應形成共軛物。因此，最終連接子由兩個組分組裝，

其中一者由交聯試劑提供，而另一者由來自DM1之側鏈提供。

任何適合之雙功能交聯試劑均可與本發明相結合使用，只要該連接試劑分別保留藥物及細胞結合劑之治療(例如細胞毒性)及靶向特徵即可。連接分子較佳使藥物經化學鍵接合至細胞結合劑(如上文所述)，使得藥物與細胞結合劑彼此化學偶合(例如共價鍵結)。

連接子

在某些實施例中，ADC包含由一或多個連接組分構成之連接子。藥物較佳經二硫鍵連接於細胞結合劑。連接分子包含可與細胞結合劑反應之反應性化學基團。與細胞結合劑反應之較佳反應性化學基團為N-丁二醯亞胺酯及N-磺基丁二醯亞胺酯。另外，連接分子包含可與藥物反應形成二硫鍵之反應性化學基團，較佳為二硫吡啶基。例示性連接分子包括例如3-(2-吡啶基二硫基)丙酸N-丁二醯亞胺酯(SPDP)(參見例如Carlsson等人，Biochem. J., 173, 723-737 (1978))、4-(2-吡啶基二硫基)丁酸N-丁二醯亞胺酯(SPDB)(參見例如美國專利第4,563,304號)及4-(2-吡啶基二硫基)戊酸N-丁二醯亞胺酯(SPP)(參見例如CAS註冊號341498-08-6)。其他例示性連接組分包括6-順丁烯二醯亞胺基己醯基、順丁烯二醯亞胺基丙醯基、纈胺酸-瓜胺酸、丙胺酸-苯丙胺酸、對胺基苯甲氧羰基，及與連接試劑結合所產生者，包括(但不限於)4-(2-吡啶基硫基)戊酸N-丁二醯亞胺酯(「SPP」)、4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環

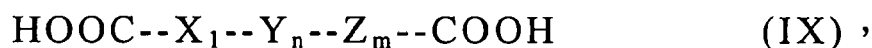
己烷-1-甲酸N-丁二醯亞胺酯(「SMCC」, 本文中亦稱作「MCC」)及(4-碘-乙醯基)胺基苯甲酸N-丁二醯亞胺酯(「SIAB」)。

連接子可為「可裂解」連接子或「不可裂解」連接子(Ducry及Stump, *Bioconjugate Chem.* 2010, 21, 5-13; 其以全文引用的方式併入本文中)。可裂解連接子經設計以當藥物經受某些環境因素時(例如內化至靶細胞中時)釋放該藥物。可裂解連接子包括酸不穩定連接子、蛋白酶敏感性連接子、光不穩定連接子、二甲基連接子或含二硫化物之連接子。不可裂解連接子傾向於與由靶細胞內化且在靶細胞內降解之後的抗體及藥物之至少一個胺基酸保持共價締合。不可裂解連接子為能夠使諸如類美登素(例如DM1及其類似物)、紫杉烷(taxane)或CC-1065類似物之藥物以穩定的共價方式連接於細胞結合劑之任何化學部分。因此, 不可裂解連接子在藥物或細胞結合劑保持活性之條件下實質上對酸誘導之裂解、光誘導之裂解、肽酶誘導之裂解、酯酶誘導之裂解及二硫鍵裂解具抗性。

形成藥物與細胞結合劑之間的不可裂解連接子之適合交聯試劑在此項技術中為熟知的。不可裂解連接子之實例包括具有以下部分之連接子: 與細胞結合劑反應之N-丁二醯亞胺酯或N-磺基丁二醯亞胺酯部分, 以及與藥物反應之基於順丁烯二醯亞胺基或鹵乙醯基之部分。包含基於順丁烯二醯亞胺基之部分的交聯連接試劑包括4-(順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷甲酸N-丁二醯亞胺酯(SMCC)、4-(N-順丁烯

二醯亞胺基甲基)-環己烷-1-羧基-(6-醯胺基己酸N-丁二醯亞胺酯)(其為SMCC之「長鏈」類似物(LC--SMCC))、 α -順丁烯二醯亞胺基十一烷酸N-丁二醯亞胺酯(KMUA)、 γ -順丁烯二醯亞胺基丁酸N-丁二醯亞胺酯(GMBS)、 ϵ -順丁烯二醯亞胺基己酸N-羥基丁二醯亞胺酯(EMCS)、間順丁烯二醯亞胺基苯甲醯基-N-羥基丁二醯亞胺酯(MBS)、N-(α -順丁烯二醯亞胺基乙醯氧基)-丁二醯亞胺酯(AMAS)、6-(β -順丁烯二醯亞胺基丙醯胺基)己酸丁二醯亞胺酯(SMPH)、4-(對順丁烯二醯亞胺基苯基)-丁酸N-丁二醯亞胺酯(SMPB)及N-(對順丁烯二醯亞胺基苯基)異氰酸酯(PMPI)。包含基於鹵乙醯基之部分的交聯試劑包括4-(碘乙醯基)-胺基苯甲酸N-丁二醯亞胺酯(SIAB)、碘乙酸N-丁二醯亞胺酯(SIA)、溴乙酸N-丁二醯亞胺酯(SBA)及3-(溴乙醯胺基)丙酸N-丁二醯亞胺酯(SBAP)。例示性較佳不可裂解連接子為MCC。

在本發明方法中亦可使用形成不可裂解連接子之缺乏硫原子之其他交聯試劑連接子。該等連接子可來源於基於二羧酸之部分。適合之基於二羧酸之部分包括(但不限於)通式(IX)之 α,ω -二羧酸：



其中X為具有2至20個碳原子之直鏈或分支鏈烷基、烯基或炔基，Y為具有3至10個碳原子之環烷基或環烯基，Z為經取代或未經取代之具有6至10個碳原子之芳族基或經取代或未經取代之雜環基，其中雜原子係選自N、O或S，且其

中 l 、 m 及 n 各自為 0 或 1，其限制條件為 l 、 m 及 n 不同時均為 0。

本文所揭示之許多不可裂解連接子詳細描述於美國專利申請公開案 2005/0169933 A1 中。

適合可裂解連接子之實例包括二硫化物連接子、酸不穩定連接子、光不穩定連接子、肽酶不穩定連接子及酯酶不穩定連接子。含二硫化物之連接子為可經可在生理條件下發生之二硫化物交換而裂解之連接子。酸不穩定連接子為可在酸性 pH 值下裂解之連接子。舉例而言，諸如核內體及溶酶體之某些細胞內區室具有酸性 pH 值 (pH 4-5)，且提供適合於使酸不穩定連接子裂解之條件。光不穩定連接子適用於體表處及光可達及之許多體腔中。此外，紅外光可穿透組織。肽酶不穩定連接子可用於使細胞內部或外部之某些肽裂解 (參見例如 Trouet 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 626-629 (1982)；及 Umemoto 等人，Int. J. Cancer, 43, 677-684 (1989))。

藥物

在某些實施例中，抗體結合至化學治療劑。化學治療劑之實例包括烷基化劑，諸如噻替派 (thiotepa) 及環磷醯胺 (CYTOXAN.TM.)；磺酸烷酯，諸如白消安 (busulfan)、英丙舒凡 (improsulfan) 及哌泊舒凡 (pipsulfan)；氮丙啶 (aziridine)，諸如苯唑多巴 (benzodopa)、卡波醯 (carboquone)、米特多巴 (meturedopa) 及尤利多巴 (uredopa)；伸乙基亞胺及甲基三聚氰胺，包括六甲蜜胺 (altretamine)、三伸乙基

三聚氰胺、三伸乙基磷醯胺、三伸乙基硫代磷醯胺及羥甲基三聚氰胺；乙醯精寧 (acetogenin)(尤其布拉他辛 (bullatacin) 及布拉他辛酮 (bullatacinone))；喜樹鹼 (camptothecin)(包括合成類似物拓朴替康 (topotecan))；苔蘚蟲素 (bryostatin)；卡利斯他汀 (callystatin)；CC-1065(包括其阿多來新 (adozelesin)、卡折來新 (carzelesin) 及比折來新 (bizelesin) 合成類似物)；念珠藻環肽 (cryptophycin)(尤其念珠藻環肽 1 及念珠藻環肽 8)；海兔毒素 (dolastatin)；多卡黴素 (duocarmycin)(包括合成類似物 KW-2189 及 CBI-TMI)；艾榴塞洛素 (eleutherobin)；水鬼蕉鹼 (pancratistatin)；沙考地汀 (sarcodictyin)；海綿抑素 (spongistatin)；氮芥，諸如苯丁酸氮芥 (chlorambucil)、荼氮芥 (chlomaphazine)、氯磷醯胺、雌莫司汀 (estramustine)、異環磷醯胺 (ifosfamide)、二氯甲基二乙胺 (mechlorethamine)、氧化二氯甲基二乙胺鹽酸鹽 (mechlorethamine oxide hydrochloride)、美法侖 (melphalan)、新恩比興 (novembichin)、芬司特瑞 (phenesterine)、潑尼莫司汀 (prednimustine)、曲洛磷胺 (trofosfamide)、尿嘧啶氮芥 (uracil mustard)；亞硝基脲 (nitrosurea)，諸如卡莫司汀 (carmustine)、氯脲菌素 (chlorozotocin)、福莫司汀 (fotemustine)、洛莫司汀 (lomustine)、尼莫司汀 (nimustine)、拉甯司汀 (ranimustine)；抗生素，諸如烯二炔抗生素(例如刺孢黴素 (calicheamicin)，尤其刺孢黴素 γ 1 及刺孢黴素 θ I，參見例

如 Angew Chem. Intl. Ed. Engl. 33:183-186 (1994)；達內黴素 (dynemicin)，包括達內黴素 A；埃斯培拉黴素 (esperamicin)；以及新制癌菌素發色團及相關色蛋白烯二炔抗生素發色團)、阿克拉黴素 (aclacinomycin)、放線菌素 (actinomycin)、胺苄黴素 (authramycin)、重氮絲胺酸 (azaserine)、博來黴素 (bleomycin)、放線菌素 C (cactinomycin)、卡柔比星 (carubicin)、洋紅黴素 (caminomycin)、嗜癌菌素 (carzinophilin)；色黴素 (chromomycin)、放線菌素 D (dactinomycin)、道諾黴素 (daunorubicin)、地托比星 (detorubicin)、6-重氮基-5-側氧基-L-正白胺酸、小紅莓 (doxorubicin)(包括嗎啉基-小紅莓、氬基嗎啉基-小紅莓、2-吡咯啉基-小紅莓及去氧小紅莓)、表柔比星 (epirubicin)、依索比星 (esorubicin)、伊達比星 (idarubicin)、麻西羅黴素 (marcellomycin)、絲裂黴素 (nitomycin)、黴酚酸 (mycophenolic acid)、諾加黴素 (nogalamycin)、橄欖黴素 (olivomycin)、培洛黴素 (peplomycin)、泊非黴素 (potfiromycin)、嘌呤黴素 (puromycin)、奎那黴素 (quelamycin)、羅多比星 (rodorubicin)、鏈黑黴素 (streptonigrin)、鏈脲黴素 (streptozocin)、殺結核菌素 (tubercidin)、烏苯美司 (ubenimex)、淨司他丁 (zinostatin)、左柔比星 (zorubicin)；抗代謝物，諸如甲胺喋呤 (methotrexate) 及 5-氟尿嘧啶 (5-FU)；葉酸類似物，諸如二甲葉酸 (denopterin)、甲胺喋呤、蝶羅呤 (pteropterin)、三甲曲沙 (trimetrexate)；嘌呤類

似物，諸如氟達拉濱(fludarabine)、6-巰基嘌呤、噻咪嘌呤(thiamiprine)、硫鳥嘌呤(thioguanine)；嘧啶類似物，諸如安西他濱(ancitabine)、阿紫胞苷(azacitidine)、6-氮雜尿苷(6-azauridine)、卡莫氟(carmofur)、阿糖胞苷(cytarabine)、二去氧尿苷(dideoxyuridine)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、依諾他濱(enocitabine)、氟尿苷(floxuridine)、5-FU；雄激素，諸如卡普甾酮(calusterone)、丙酸屈他雄酮(dromostanolone propionate)、環硫雄醇(epitiostanol)、美雄烷(mepitiostane)、甾內酯(testolactone)；抗腎上腺素，諸如胺魯米特(aminogluthimide)、米托坦(mitotane)、曲洛司坦(trilostane)；葉酸補充劑，諸如夫羅林酸(frolic acid)；醋葡醛內酯(aceglatone)；醛磷醯胺糖苷(aldophosphamide glycoside)；胺基乙醯丙酸(aminolevulinic acid)；安吖啶(amsacrine)；倍思塔布(bestrabucil)；比生群(bisantrene)；艾達曲克(edatraxate)；得弗伐胺(defofamine)；秋水仙胺(demecolcine)；地吖醌(diaziquone)；艾弗利散(elfomithine)；依利醋鉍(elliptinium acetate)；埃博黴素(epothilone)；依託格魯(etoglucid)；硝酸鎂；羥基脲；香菇多糖(lentinan)；羅尼達寧(lonidamine)；類美登素，諸如美登素及安絲菌素(ansamitocin)；米托胍脲(mitoguazone)；米托蒽醌(mitoxantrone)；莫哌達醇(mopidamol)；尼曲吖啶(nitracrine)；噴司他丁(pentostatin)；噴那美特(phenamet)；吡柔比星(pirarubicin)；足葉草酸

(podophyllinic acid) ; 2- 乙 醯 肼 ; 丙 卡 巴 肼 (procarbazine) ; PSK.RTM. ; 雷 佐 生 (razoxane) ; 根 瘤 菌 素 (rhizoxin) ; 西 佐 喃 (sizofuran) ; 鎢 螺 胺 (spirogermanium) ; 細 交 鏈 孢 菌 酮 酸 (tenuazonic acid) ; 三 亞 胺 醌 (triaziquone) ; 2,2',2''- 三 氯 三 乙 胺 ; 單 端 孢 黴 烯 族 毒 素 (trichothecene)(尤 其 T-2 毒 素 、 黏 液 黴 素 A(verrucarin A)、 桿 孢 菌 素 A(roridin A) 及 胺 癸 汀 (anguidine)) ; 烏 拉 坦 (urethan) ; 長 春 地 辛 (vindesine) ; 達 卡 巴 嗪 (dacarbazine) ; 甘 露 莫 司 汀 (mannomustine) ; 二 溴 甘 露 醇 (mitobronitol) ; 二 溴 衛 矛 醇 (mitolactol) ; 哌 泊 溴 烷 (pipobroman) ; 甲 托 辛 (gacytosine) ; 阿 拉 伯 糖 苷 (arabinoside)(「 Ara-C 」) ; 環 磷 醯 胺 ; 噻 替 派 ; 紫 杉 類 (taxoid) , 例 如 太 平 洋 紫 杉 醇 (paclitaxel)(TAXOL.TM. ; Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.) 及 多 烯 紫 杉 醇 (doxetaxel)(TAXOTERE. RTM. ; Rhone-Poulenc Rorer, Antony, France) ; 苯 丁 酸 氮 芥 ; 吉 西 他 濱 (gemcitabine) ; 6- 硫 鳥 嘌呤 ; 巯 基 嘌 呤 ; 甲 胺 喋 呤 ; 鉑 類 似 物 , 諸 如 順 鉑 及 卡 鉑 ; 長 春 鹼 (vinblastine) ; 鉑 ; 依 託 泊 苷 (etoposide)(VP-16) ; 異 環 磷 醯 胺 ; 絲 裂 黴 素 C(mitomycin C) ; 米 托 蒽 醌 ; 長 春 新 鹼 (vincristine) ; 長 春 瑞 賓 (vinorelbine) ; 溫 諾 平 (navelbine) ; 諾 消 靈 (novantrone) ; 替 尼 泊 苷 (teniposide) ; 柔 紅 黴 素 (daunomycin) ; 胺 基 喋 呤 (aminopterin) ; 截 瘤 達 (xeloda) ; 伊 班 膦 酸 鹽 (ibandronate) ; CPT-11 ; 拓 撲 異 構 酶 抑 制 劑 RFS 2000 ; 二 氟 甲 基 鳥 胺 酸 (difluoromethylomithine ,

DMFO)；視黃酸(retinoic acid)；卡培他濱(capecitabine)；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。此定義中亦包括用以調控或抑制激素對腫瘤之作用的抗激素劑，諸如抗雌激素，包括例如他莫昔芬(tamoxifen)、雷洛昔芬(raloxifene)、芳香酶抑制性4(5)-咪唑、4-羥基他莫昔芬(4-hydroxytamoxifen)、曲沃昔芬(trioxifene)、鹽酸雷洛昔芬(keoxifene)、LY117018、奧那司酮(onapristone)及托瑞米芬(toremifene)(法樂通(Fareston))；及抗雄激素，諸如氟他胺(flutamide)、尼魯胺(nilutamide)、比卡魯胺(bicalutamide)、亮丙立德(leuprolide)及戈舍瑞林(goserelin)；siRNA；及上述任一者之醫藥學上可接受之鹽、酸或衍生物。可用於本發明之其他化學治療劑揭示於美國公開案第20080171040號或美國公開案第20080305044號中且該等公開案以全文引用的方式併入。

預期抗體可結合至兩種或兩種以上不同化學治療劑，或醫藥組合物可包含抗體混合物，其中抗體組分除了結合至不同化學治療劑以外均相同。該等實施例可適用於靶向具有靶細胞之多個生物路徑。

在較佳實施例中，ADC包含抗體結合至一或多個類美登素分子，類美登素為藉由抑制微管蛋白聚合而起作用之有絲分裂抑制劑。包括各種修飾之類美登素描述於美國專利第3896111號、第4151042號、第4137230號、第4248870號、第4256746號、第4260608號、第4265814號、第4294757號、第4307016號、第4308268號、第4309428號、

第 4313946 號、第 4315929 號、第 4317821 號、第 4322348 號、第 4331598 號、第 4361650 號、第 4364866 號、第 4424219 號、第 4450254 號、第 4362663 號、第 4371533 號及 WO 2009/099728 中。類美登素藥物部分可自天然來源分離，使用重組技術產生，或以合成方式製備。例示性類美登素包括 C-19-去氯(美國專利第 4256746 號)、C-20-羥基(或 C-20-去甲基)+/-C-19-去氯(美國專利第 4307016 號及第 4361650 號)、C-20-去甲氧基(或 C-20-醯氧基(-OCOR))+/-去氯(美國專利第 4294757 號)、C-9-SH (美國專利第 4,424,219 號)、C-14-烷氧基甲基(去甲氧基/CH₂OR)(美國專利第 4,331,598 號)、C-14-羥甲基或醯氧基甲基(CH₂OH 或 CH₂OAc)(美國專利第 4,450,254 號)、C-15-羥基/醯氧基(美國專利第 4,364,866 號)、C-15-甲氧基(美國專利第 4,313,946 號及第 4,315,929 號)、C-18-N-去甲基(美國專利第 4,362,663 號及第 4,322,348 號)及 4,5-去氧(美國專利第 4,371,533 號)。

視所要連接類型而定，類美登素化合物上之多個位置可用作連接位置。舉例而言，為形成酯鍵，具有羥基之 C-3 位置、經羥甲基修飾之 C-14 位置、經羥基修飾之 C-15 位置及具有羥基之 C-20 位置均適合(美國專利第 5208020 號、第 RE39151 號及第 6913748 號；美國專利申請公開案第 20060167245 號及第 20070037972 號；及 WO 2009099728)。

較佳類美登素包括此項技術中以 DM1、DM3 及 DM4 已知者(美國專利申請公開案第 2009030924 號及第 20050276812

號，其以引用的方式併入本文中)。

含有類美登素之ADC、製備該等ADC之方法及其治療用途揭示於美國專利第5208020號及第5416064號、美國專利申請公開案第20050276812號及WO 2009099728(所有文獻均以引用的方式併入本文中)中。適用於製備類美登素ADC之連接子在此項技術中為已知的(美國專利第5208020號及美國專利申請公開案第2005016993號及第20090274713號；所有文獻均以引用的方式併入本文中)。包含SMCC連接子之類美登素ADC可如美國專利公開案第2005/0276812號中所揭示來製備。

在某些實施例中，ADC包含抗體經SMCC連接子結合至DM1。較佳實施例包括Ab1-SMCC-DM1、Ab2-SMCC-DM1、Ab3-SMCC-DM1、Ab4-SMCC-DM1、Ab5-SMCC-DM1、Ab6-SMCC-DM1、Ab7-SMCC-DM1及Ab8-SMCC-DM1。

藥物負載

ADC針對每個抗體可具有1至20個化學治療劑。ADC之組合物可由組合物中針對每個抗體分子之藥物部分之平均數來表徵。藥物部分之平均數可由習知方式測定，諸如質譜法、免疫分析及HPLC。在一些情況下，均質ADC群體可藉助於逆相HPLC或電泳分離及純化。因此，醫藥ADC組合物可含有抗體連接於1、2、3、4、5、6、7個或7個以上藥物部分之異質或均質群體。

在較佳實施例中，ADC包含抗體結合至一或多個DM1分

子。本發明之實施例包括針對每個抗體包含平均約1個、約2個、約3個、約4個、約5個、約6個、約7個、約8個、約9個、約10個、約11個、約12個、約13個、約14個、約15個、約16個、約17個、約18個、約19個或約20個DM1分子之組合物。較佳ADC組合物為包含Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7或Ab8且針對每個抗體具有平均1至10個DM1分子之組合物，包含抗體且針對每個抗體具有平均3至7個DM1分子之組合物，及包含抗體且具有平均4至6個DM1分子之組合物，針對每個抗體包括平均約4.0個、約4.1個、約4.2個、約4.3個、約4.4個、約4.5個、約4.6個、約4.7個、約4.8個、約4.9個、約5.0個、約5.1個、約5.2個、約5.3個、約5.4個、約5.5個、約5.6個、約5.7個、約5.8個、約5.9及約6.0個DM1分子。

效應子功能增強之抗體

抗體之Fc部分之功能之一為當抗體結合其標靶時與免疫系統通信。此被視為「效應子功能」。通信產生抗體依賴性細胞毒性(ADCC)、抗體依賴性細胞吞噬(ADCP)及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)。ADCC及ADCP係藉由Fc結合於免疫系統之細胞表面上之Fc受體而介導。CDC係藉由Fc與補體系統之蛋白質(例如C1q)結合而介導。

IgG子類在其介導效應子功能之能力方面有所不同。舉例而言，IgG1在介導ADCC及CDC方面遠遠優於IgG2及IgG4。因此，在靶向表現CD27L之細胞以使其破壞之實施

例中，抗CD27L IgG1抗體將較佳。

抗體之效應子功能可藉由將一或多個突變引入Fc中而增加或減小。本發明之實施例包括具有經工程改造以增加效應子功能之Fc的抗原結合蛋白質，例如抗體(U.S. 7,317,091 及 Strohl, *Curr. Opin. Biotech.*, 20:685-691, 2009；均以全文引用的方式併入本文中)。具有增加之效應子應功能的例示性IgG1 Fc分子包括(基於Kabat編號方案)具有以下取代者：

S239D/I332E

S239D/A330S/I332E

S239D/A330L/I332E

S298A/D333A/K334A

P247I/A339D

P247I/A339Q

D280H/K290S

D280H/K290S/S298D

D280H/K290S/S298V

F243L/R292P/Y300L

F243L/R292P/Y300L/P396L

F243L/R292P/Y300L/V305I/P396L

G236A/S239D/I332E

K326A/E333A

K326W/E333S

K290E/S298G/T299A

K290N/S298G/T299A

K290E/S298G/T299A/K326E

K290N/S298G/T299A/K326E

本發明之其他實施例包括具有經工程改造以減小效應子功能之Fc的抗原結合蛋白質，例如抗體。具有減小之效應子功能的例示性Fc分子包括(基於Kabat編號方案)具有以下取代者：

N297A (IgG1)

L234A/L235A (IgG1)

V234A/G237A (IgG2)

L235A/G237A/E318A (IgG4)

H268Q/V309L/A330S/A331S (IgG2)

C220S/C226S/C229S/P238S (IgG1)

C226S/C229S/E233P/L234V/L235A (IgG1)

L234F/L235E/P331S (IgG1)

S267E/L328F (IgG1)

另一種增加含IgG Fc之蛋白質之效應子功能的方法係藉由減少Fc之岩藻糖基化(fucosylation)。自連接於Fc之雙觸角複合型寡糖移除核心岩藻糖極大地增加ADCC效應子功能，而不改變抗原結合或CDC效應子功能。已知若干方式來減少或消除含Fc分子(例如抗體)之岩藻糖基化。此等方式包括在某些哺乳動物細胞株中重組表現，該等細胞株包括FUT8基因剔除細胞株、變異CHO細胞株Lec13、大鼠融合瘤細胞株YB2/0、包含特異性針對FUT8基因之小干擾

RNA之細胞株，及共同表現B-1,4-*N*-乙醯基葡糖胺基轉移酶III及高基氏體 α -甘露糖苷酶II (Golgi α -mannosidase II)之細胞株。或者，可在諸如植物細胞、酵母或原核細胞(例如大腸桿菌)之非哺乳動物細胞中表現含Fc分子。因此，在本發明之某些實施例中，組合物包含具有減少之岩藻糖基化或完全缺乏岩藻糖基化之抗體，例如Ab1、Ab2、Ab3、Ab4、Ab5、Ab6、Ab7或Ab8。

醫藥組合物

在一些實施例中，本發明提供一種醫藥組合物，其包含治療有效量之一種或複數種本發明抗原結合蛋白質以及醫藥學上有效之稀釋劑、載劑、增溶劑、乳化劑、防腐劑及/或佐劑。在某些實施例中，抗原結合蛋白質為抗體，包括藥物結合之抗體或雙特異性抗體。本發明之醫藥組合物包括(但不限於)液體、冷凍及凍乾組合物。

調配物質較佳在所用劑量及濃度下對接受者無毒。在特定實施例中，提供包含治療有效量之CD27L抗原結合蛋白質(例如CD27L結合ADC)之醫藥組合物。

在某些實施例中，醫藥組合物可含有調配物質以用於改變、維持或保存例如該組合物之pH值、容積滲透濃度、黏度、澄清度、顏色、等張性、氣味、無菌度、穩定性、溶解或釋放速率、吸附或穿透。在該等實施例中，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、脯胺酸或離胺酸)；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)；緩衝液(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(caffeine)、聚乙烯吡咯啉酮、 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(諸如聚乙烯吡咯啉酮)；低分子量多肽；成鹽相對離子(諸如鈉)；防腐劑(諸如氯化苯甲烴銨(benzalkonium chloride)、苯甲酸、水楊酸、硫柳汞(thimerosal)、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(諸如普洛尼克(pluronic)、PEG、脫水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯類(諸如聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯)、曲拉通(triton)、緩血酸胺(tromethamine)、卵磷脂、膽固醇、四丁酚醛(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(較佳為氯化鈉或氯化鉀)、甘露糖醇、山梨糖醇)；傳遞媒劑；稀釋劑；賦形劑及/或醫藥佐劑。參見 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES，第18版，(A. R. Genrmo編)，1990，Mack Publishing Company。

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期投藥途徑、傳遞型式及所要劑量來確定。參見

例如 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (同上)。在某些實施例中，該等組合物可能影響本發明抗原結合蛋白質之物理狀態、穩定性、活體內釋放速率及活體內清除速率。在某些實施例中，醫藥組合物中之原始媒劑或載劑在性質上可為水性或非水性的。舉例而言，適合之媒劑或載劑可為注射用水、生理食鹽水溶液或人工腦脊髓液，其可能補充有供非經腸投與之組合物中通用之其他物質。中性緩衝生理食鹽水或與血清白蛋白混合之生理食鹽水為其他例示性媒劑。在特定實施例中，醫藥組合物包含 pH 值約為 7.0-8.5 之 Tris 緩衝液或 pH 值約為 4.0-5.5 之乙酸鹽緩衝液，且可另外包括山梨糖醇或其適合替代物。在本發明之某些實施例中，CD27L 抗原結合蛋白質組合物可藉由將具有所要純度之所選組合物與視情況選用之調配劑 (REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 同上) 混合而以凍乾餅塊或水溶液形式製備以供儲存。此外，在某些實施例中，可使用諸如蔗糖之適當賦形劑將 CD27L 抗原結合蛋白質產物調配成凍乾物。

可選擇本發明之醫藥組合物以供非經腸傳遞。或者，可選擇組合物以供吸入或經消化道(諸如經口)傳遞。該等醫藥學上可接受之組合物的製備在此項技術之技藝內。所存在之調配組分的濃度較佳可為投藥部位所接受。在某些實施例中，使用緩衝液將組合物維持於生理 pH 值或略微較低之 pH 值下，通常在約 5 至約 8 之 pH 值範圍內。

當意欲非經腸投藥時，用於本發明之治療性組合物可以

包含於醫藥學上可接受之媒劑中之所要CD27L抗原結合蛋白質的無熱原質、非經腸可接受之水溶液形式提供。尤其適合於非經腸注射之媒劑為無菌蒸餾水，在其中將CD27L抗原結合蛋白質調配成無菌等張溶液，加以適當保存。在某些實施例中，製備可涉及將所要分子與可提供可經由積存注射傳遞之產物之控制或持續釋放的試劑一起調配，該試劑為諸如可注射微球體、生物可侵蝕性粒子、聚合化合物(諸如聚乳酸或聚乙醇酸)、珠粒或脂質體。在某些實施例中，亦可使用玻尿酸(hyaluronic acid)，其具有促進循環中之持續時間的作用。在某些實施例中，可使用可植入式藥物傳遞裝置來引入所要抗原結合蛋白質。

本發明之醫藥組合物可經調配以供吸入。在此等實施例中，CD27L抗原結合蛋白質宜調配成乾燥之可吸入粉末。在特定實施例中，亦可將CD27L抗原結合蛋白質吸入溶液與推進劑一起調配以供氣霧劑傳遞。在某些實施例中，可將溶液霧化。因此，肺部投藥及調配方法進一步描述於國際專利申請案第PCT/US94/001875號中，該申請案以引用的方式併入且描述經化學修飾之蛋白質的肺部傳遞。

亦預期可經口投與調配物。以此方式投與之CD27L抗原結合蛋白質可與或不與固體劑型(諸如錠劑及膠囊)混配中常用之載劑一起調配。在某些實施例中，可設計膠囊以在胃腸道中生物可用性達到最大且體循環前降解達到最小時之時刻釋放調配物之活性部分。可包括其他試劑以有助於吸收CD27L抗原結合蛋白質。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。

其他醫藥組合物將為熟習此項技術者顯而易知，包括涉及於持續或控制傳遞調配物中之CD27L抗原結合蛋白質之調配物。用於調配多種其他持續或控制傳遞手段(諸如脂質體載劑、生物可侵蝕性微粒或多孔珠粒及積存注射劑)之技術亦為熟習此項技術者所知。參見例如國際專利申請案第PCT/US93/00829號，其以引用的方式併入且描述用於傳遞醫藥組合物之多孔聚合微粒的控制釋放。持續釋放製劑可包括呈成形物品(例如膜或微膠囊)形式之半透性聚合物基質。持續釋放基質可包括聚酯、水凝膠、聚乳酸交酯(如美國專利第3,773,919號及歐洲專利申請公開案第EP 058481號中所揭示，各文獻以引用的方式併入)、L-麩胺酸與L-麩胺酸 γ -乙酯之共聚物(Sidman等人，1983, Biopolymers 2:547-556)、聚(甲基丙烯酸2-羥乙酯)(Langer等人，1981, J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277及Langer, 1982, Chem. Tech. 12:98-105)、乙烯乙酸乙烯酯(Langer等人，1981, 同上)或聚-D(-)-3-羥基丁酸(歐洲專利申請公開案第EP 133,988號)。持續釋放組合物亦可包括可藉由此項技術中已知之若干方法中之任一者製備的脂質體。參見例如Eppstein等人，1985, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:3688-3692；歐洲專利申請公開案第EP 036,676號、第EP 088,046號及第EP 143,949號，該等文獻以引用的方式併入。

用於活體內投與之醫藥組合物通常以無菌製劑形式提供。可藉由經無菌濾膜過濾來實現滅菌。當凍乾組合物時，可在凍乾及復原之前或之後使用此方法進行滅菌。供非經腸投與之組合物可以凍乾形式或於溶液中儲存。一般將非經腸組合物置於具有無菌入口孔(access port)之容器中，例如具有可由皮下注射針刺穿之塞子的靜脈溶液袋或小瓶。

本發明之態樣包括可用作醫藥組合物之自緩衝CD27L抗原結合蛋白質調配物，如國際專利申請案WO 06138181A2 (PCT/US2006/022599)中所述，該申請案以全文引用的方式併入本文中。

如上文所論述，某些實施例提供CD27L抗原結合蛋白質組合物，尤其醫藥CD27L抗原結合蛋白質組合物，其除了CD27L抗原結合蛋白質以外亦包含一或多種賦形劑，諸如此章節中及本文別處說明性描述之賦形劑。就此而言，賦形劑可在本發明中用於達成多種目的，諸如調整調配物之物理、化學或生物特性，諸如調整黏度及/或本發明之過程以改良效用，及/或穩定該等調配物及過程以免因例如在製造、運送、儲存、使用前製備、投藥及此後出現之逆境(stress)而降解及腐敗。

關於就此而言適用之蛋白質穩定及調配物質及方法的多項說明可用，諸如Arakawa等人，「Solvent interactions in pharmaceutical formulations」，Pharm Res. 8(3): 285-91 (1991)；Kendrick等人，「Physical stabilization of proteins

in aqueous solution」, RATIONAL DESIGN OF STABLE PROTEIN FORMULATIONS: THEORY AND PRACTICE, Carpenter及Manning編, Pharmaceutical Biotechnology. 13: 61-84 (2002); 及 Randolph 等人, 「Surfactant-protein interactions」, Pharm Biotechnol. 13: 159-75 (2002), 各文獻以全文引用的方式併入本文中, 詳言之關於賦形劑及賦形劑用於本發明之自緩衝蛋白質調配物之過程、尤其關於供牲畜及/或人類醫療使用之蛋白質醫藥產品及過程的部分。

可根據本發明之某些實施例使用鹽, 以例如調整調配物之離子強度及/或等張性, 及/或改良本發明組合物之蛋白質或其他成分之溶解度及/或物理穩定性。

如所熟知, 離子可藉由結合於蛋白質表面上之帶電殘基及藉由屏蔽蛋白質中之帶電及極性基團且降低其靜電相互作用、相互吸引作用及相互排斥作用之強度來穩定蛋白質之原生狀態。離子亦可藉由結合於尤其蛋白質之變性肽鍵(--CONH)來穩定蛋白質之變性狀態。此外, 與蛋白質中之帶電及極性基團之離子相互作用亦可減少分子間靜電相互作用且藉此阻止或減少蛋白質聚集及不溶。

離子物質在其對蛋白質之作用方面顯著不同。已開發離子及其對蛋白質之作用的許多分類排序, 其可用於調配本發明之醫藥組合物中。一個實例為霍夫邁斯特序(Hofmeister series), 其將離子性溶質及極性非離子性溶質根據對溶液中蛋白質之構形穩定性的作用而排序。使溶質

穩定稱作「親液(kosmotropic)」。使溶質失穩稱作「離液(chaatropic)」。親液劑(kosmotrope)通常以高濃度(例如>1莫耳濃度硫酸銨)使用以使蛋白質自溶液中沈澱(「鹽析」)。通常使用離液劑(chaatrope)以使蛋白質變性及/或溶解(「鹽溶」)。離子對「鹽溶」及「鹽析」之相對效用界定其在霍夫邁斯特序中之位置。

游離胺基酸可在本發明之多個實施例之CD27L抗原結合蛋白質調配物中用作增積劑、穩定劑及抗氧化劑，以及用於其他標準用途。離胺酸、脯胺酸、絲胺酸及丙胺酸可用於穩定調配物中之蛋白質。甘胺酸適用於凍乾以確保正確餅塊結構及特性。精胺酸可適用於抑制液體調配物與凍乾調配物中之蛋白質聚集。甲硫胺酸適用作抗氧化劑。

多元醇包括糖，諸如甘露糖醇、蔗糖及山梨糖醇；及多羥基醇，諸如甘油及丙二醇；且就本文中之論述而言，包括聚乙二醇(PEG)及相關物質。多元醇為親液的。多元醇為適用於液體調配物與凍乾調配物中之穩定劑以保護蛋白質免於發生物理及化學降解過程。多元醇亦適用於調整蛋白質之張力。

適用於本發明之所選實施例之多元醇包括有甘露糖醇，其通常用於確保凍乾調配物中餅塊之結構穩定性。甘露糖醇確保餅塊之結構穩定性。甘露糖醇一般與凍乾保護劑(例如蔗糖)一起使用。山梨糖醇及蔗糖包括於較佳試劑中，其用於調整張力及作為穩定劑以在製造過程中在運輸或製備塊體期間免受凍融逆境(freeze-thaw stress)侵害。

諸如葡萄糖及乳糖之還原糖(其含有游離醛或酮基團)可使表面離胺酸及精胺酸殘基糖化。因此，還原糖一般不包括於根據本發明使用之較佳多元醇中。另外，形成該等反應性物質之糖，諸如在酸性條件下水解成果糖及葡萄糖且由此引起糖化之蔗糖，就此而言亦不包括於本發明之較佳多元醇中。PEG適用於穩定蛋白質及作為低溫保護劑，且就此而言可用於本發明。

CD27L抗原結合蛋白質調配物之實施例另外包含界面活性劑。蛋白質分子可易於吸附在表面上且變性並隨之聚集於氣液、固液及液液界面處。此等效應一般與蛋白質濃度成反比。此等不利之相互作用一般與蛋白質濃度成反比且通常因物理攪動而加劇，諸如在運送及處理產品期間所產生之物理攪動。

常規上使用界面活性劑來防止、最小化或減少表面吸附。就此而言適用於本發明之界面活性劑包括聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、聚乙氧基化脫水山梨糖醇之其他脂肪酸酯，及泊洛沙姆188 (poloxamer 188)。

通常亦使用界面活性劑來控制蛋白質之構形穩定性。界面活性劑的使用就此而言對蛋白質具特異性，此係因為任何既定界面活性劑通常將使一些蛋白質穩定且使其他蛋白質失穩。

聚山梨醇酯易於發生氧化降解且常常在供應時含有足量過氧化物而導致蛋白質殘基側鏈(尤其甲硫胺酸)氧化。因此，應小心使用聚山梨醇酯，且當使用時應以其最低有效

濃度採用。就此而言，聚山梨醇酯例示賦形劑應以其最低有效濃度使用之一般規則。

CD27L抗原結合蛋白質調配物之實施例另外包含一或多種抗氧化劑。在某種程度上，可藉由維持適當水準之環境氧及溫度且藉由避免暴露於光來防止醫藥調配物中蛋白質之不利氧化。亦可使用抗氧化劑賦形劑來防止蛋白質之氧化降解。就此而言適用之抗氧化劑包括有還原劑、氧/自由基清除劑及螯合劑。用於本發明之治療性蛋白質調配物中之抗氧化劑較佳溶於水且在產品之整個存放期中維持其活性。就此而言，EDTA為本發明之較佳抗氧化劑。

抗氧化劑可破壞蛋白質。舉例而言，還原劑，尤其諸如麩胱甘肽，可破壞分子內二硫鍵。因此，選擇用於本發明之抗氧化劑以尤其消除或充分降低其自身破壞調配物中之蛋白質的可能性。

本發明之調配物可包括作為蛋白質輔因子且為形成蛋白質配位錯合物所必需之金屬離子，諸如形成某些胰島素懸浮液所必需之鋅。金屬離子亦可抑制使蛋白質降解之一些過程。然而，金屬離子亦催化使蛋白質降解之物理及化學過程。

可使用鎂離子(10-120 mM)來抑制天冬胺酸異構化為異天冬胺酸。 Ca^{+2} 離子(至多100 mM)可增加人類去氧核糖核酸酶之穩定性。然而， Mg^{+2} 、 Mn^{+2} 及 Zn^{+2} 可使rhDNase失穩。類似地， Ca^{+2} 及 Sr^{+2} 可使因子VIII穩定， Mg^{+2} 、 Mn^{+2} 及 Zn^{+2} 、 Cu^{+2} 及 Fe^{+2} 可使因子VIII失穩，且 Al^{+3} 離子可增加

因子VIII聚集。

CD27L抗原結合蛋白質調配物之實施例另外包含一或多種防腐劑。當開發涉及自同一容器中抽取一次以上之多劑量非經腸調配物時，防腐劑為必需的。防腐劑之主要功能為在藥品之整個存放期中或在使用期間抑制微生物生長且確保產品無菌。常用防腐劑包括苯甲醇、苯酚及間甲酚。儘管防腐劑具有與小分子非經腸藥物一起使用之較長歷史，但包括防腐劑之蛋白質調配物的開發可具有挑戰性。防腐劑幾乎總是對蛋白質具有失穩作用(聚集)，且此已成為限制其在多劑量蛋白質調配物使用的主要因素。迄今，大多數蛋白質藥物經調配僅供單次使用。然而，當多劑量調配物可能存在時，其具有能夠為患者提供便利之增加優勢且其市場性增加。一個良好實例為人生長激素(hGH)之多劑量調配物，其中經防腐調配物之開發已促使較便利之多次使用注射筆呈現形式商業化。至少四個含有hGH之經防腐調配物之該等筆裝置當前在市場上可獲得。諾德托平(Norditropin)(液體，Novo Nordisk)、紐托平AQ(Nutropin AQ)(液體，Genentech)及增若托平(Genotropin)(經凍乾--雙腔室藥筒，Pharmacia & Upjohn)含有苯酚，而索瑪托平(Somatropin)(Eli Lilly)係與間甲酚一起調配而成。

在調配及開發經防腐劑型期間需要考慮若干態樣。必須最佳化藥品中之有效防腐劑濃度。此需要以賦予抗微生物效用而不使蛋白質穩定性受損之濃度範圍測試劑型中之既定防腐劑。

如可能預期，含有防腐劑之液體調配物的開發比凍乾調配物更具挑戰性。冷凍乾燥之產品可在無防腐劑之情況下凍乾且在使用時用含有防腐劑之稀釋劑復原。此舉縮短防腐劑與蛋白質接觸之時間，從而顯著地使相關穩定性風險降至最低。對於液體調配物，防腐劑應在整個產品存放期(約18至24個月)中維持效用及穩定性。應注意之一個重點為應在含有活性藥物及所有賦形劑組分之最終調配物中展示防腐劑效用。

CD27L抗原結合蛋白質調配物一般將尤其針對特定投藥途徑及方法、特定投藥劑量及投藥頻率、特定疾病之特定治療、生物可用性及持續性之範圍進行設計。調配物由此可根據本發明進行設計以由任何適合途徑傳遞，包括(但不限於)經口、經耳、經眼、經直腸及經陰道，及非經腸途徑，包括靜脈內及動脈內注射、肌肉內注射及皮下注射。

醫藥組合物一經調配，即可以溶液、懸浮液、凝膠、乳液、固體、晶體形式或以脫水或凍乾粉末形式儲存於無菌小瓶中。該等調配物可以即用形式或在投藥前復原之形式(例如凍乾形式)儲存。本發明亦提供用於產生單次劑量投藥單元之套組。本發明之套組可各自容納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。在本發明之某些實施例中，提供容納單腔室及多腔室預填充注射器(例如液體注射器及凍乾注射器(lyosyringe))之套組。

欲採用之含CD27L抗原結合蛋白質之醫藥組合物的治療

有效量將視例如治療情形及對象而定。熟習此項技術者應瞭解，治療之適當劑量將部分地視所傳遞之分子、使用CD27L抗原結合蛋白質之適應症、投藥途徑及患者之體型(體重、體表或器官大小)及/或狀態(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及改變投藥途徑以獲得最優治療效果。視上文所提及之因素而定，典型劑量可在約0.1 $\mu\text{g/kg}$ 至約30 mg/kg 或大於30 mg/kg 之範圍內。在特定實施例中，劑量可在1.0 $\mu\text{g/kg}$ 至約20 mg/kg 、視情況10 $\mu\text{g/kg}$ 至約10 mg/kg 或100 $\mu\text{g/kg}$ 至約5 mg/kg 之範圍內。

CD27L抗原結合蛋白質之治療有效量較佳會降低疾病症狀之嚴重程度，增加無疾病症狀之週期的頻率或持續時間，或防止因罹病所致之損傷或失能。對於治療CD27L表現腫瘤，CD27L抗原結合蛋白質(例如抗CD27L ADC)之治療有效量較佳使細胞生長或腫瘤生長相對於未經治療之患者抑制至少約20%、至少約40%、至少約50%、至少約60%、至少約70%、至少約80%或至少約90%。化合物抑制腫瘤生長之能力可在預期對人類腫瘤之功效的動物模型中評估。

可使用醫學裝置投與醫藥組合物。用於投與醫藥組合物之醫學裝置之實例描述於美國專利第4,475,196號、第4,439,196號、第4,447,224號、第4,447,233號、第4,486,194號、第4,487,603號、第4,596,556號、第4,790,824號、第4,941,880號、第5,064,413號、第

5,312,335 號、第 5,312,335 號、第 5,383,851 號及第 5,399,163 號中，所有該等專利均以引用的方式併入本文中。

診斷或治療 CD27L 相關疾病或病症之方法

本發明之 CD27L 抗原結合蛋白質尤其適用於偵測生物樣品中之 CD27L。在某些實施例中，使獲自患者之生物樣品與 CD27L 抗原結合蛋白質接觸。接著偵測 CD27L 抗原結合蛋白質與 CD27L 之結合以確定樣品中 CD27L 之存在或相對量。該等方法可適用於診斷或確定可經受 CD27L 抗原結合蛋白質(例如抗 CD27L ADC)治療之患者。

在某些實施例中，本發明之 CD27L 抗原結合蛋白質用於診斷、偵測或治療自體免疫或發炎病症。在治療自體免疫或發炎病症時，CD27L 抗原結合蛋白質可靶向免疫系統之 CD27L 表現細胞以使其破壞及/或可阻斷 CD27L 與受體 CD27 之相互作用。

據信 CD27L 與 CD27 之相互作用在細胞介導之自體免疫疾病(諸如實驗性自體免疫腦脊髓炎(EAE))中起作用(Nakajima 等人 (2000) J. Neuroimmunol. 109:188-96)。據信此作用係部分地藉由抑制 TNF- α 產生而介導。此外，阻斷 CD27L 信號傳導會抑制 CD8⁺ T 細胞之 CD40 介導之純系擴充且減少 CD8⁺ 記憶 T 細胞產生(Taraban 等人 (2004) J. Immunol. 173:6542-6)。因此，CD27L 抗原結合蛋白質可用於治療患有自體免疫病症之個體，該自體免疫病症為例如特徵為表現 CD27L 之 B 細胞存在的病症，包括例如實驗性

自體免疫腦脊髓炎。可使用本發明抗體之其他自體免疫病症包括(但不限於)全身性紅斑狼瘡(SLE)、胰島素依賴性糖尿病(IDDM)、發炎性腸病(IBD)(包括克羅恩氏病(Crohn's Disease)、潰瘍性結腸炎及乳糜瀉)、多發性硬化症(MS)、牛皮癬、自體免疫甲狀腺炎、類風濕性關節炎(RA)及絲球體腎炎。此外，本發明之cd27L抗原結合蛋白質組合物可用於抑制或預防移植排斥反應或治療移植物抗宿主疾病(GVHD)。

另外，亦已提出CD27L與CD27之相互作用在對CD4+ T細胞之信號傳導中起作用。一些病毒已顯示向CD27路徑傳導信號，從而破壞中和抗體反應(Matter等人 (2006) J Exp Med 203:2145-55)。因此，本發明之CD27L抗原結合蛋白質組合物及方法可用於治療患有病毒感染之個體，該病毒感染包括例如以下病毒所致之感染：人類免疫缺乏病毒(HIV)、肝炎病毒(A型、B型及C型)、疱疹病毒(例如VZV、HSV-1、HAV-6、HSV-II及CMV、愛潑斯坦巴爾病毒(Epstein Barr virus))、腺病毒、流感病毒、黃病毒、艾柯病毒(echovirus)、鼻病毒、科沙奇病毒(coxsackie virus)、冠狀病毒、呼吸道融合性病毒、腮腺炎病毒、輪狀病毒、麻疹病毒、風疹病毒、细小病毒、牛痘病毒、HTLV病毒、登革熱病毒(dengue virus)、乳頭狀瘤病毒、軟疣病毒、脊髓灰質炎病毒、狂犬病病毒、JC病毒及蟲媒病毒性腦炎病毒及淋巴球性脈絡叢腦膜炎病毒(LCMV)，或用於治療HIV感染/AIDS。另外，本發明之人類抗體、

抗體組合物及方法可用於抑制TNF-a產生。

在某些實施例中，本發明之CD27L抗原結合蛋白質用於診斷、偵測或治療癌症或致瘤性病。可經受本文中之治療的腫瘤及癌症(其中該腫瘤或癌症之細胞可表現CD27L)包括(但不限於)：腎細胞癌(RCC)，諸如透明細胞RCC、乳頭狀RCC、嫌色細胞RCC及其類似疾病；膠質母細胞瘤；頭頸癌(例如鱗狀細胞癌(HNSCC)及其類似疾病)；乳癌；腦腫瘤；鼻咽癌；非霍奇金氏淋巴瘤(NHL)，諸如低惡性度NHL、彌漫性大細胞NHL及其類似疾病；急性淋巴球性白血病(ALL)，諸如前B-ALL及其類似疾病；慢性淋巴球性白血病(CLL或B-CLL)；伯基特氏淋巴瘤；退行性大細胞淋巴瘤(ALCL)；多發性骨髓瘤；皮膚T細胞淋巴瘤；結節性小裂細胞淋巴瘤；淋巴球性淋巴瘤；周邊T細胞淋巴瘤；倫納特淋巴瘤；免疫母細胞淋巴瘤；T細胞白血病/淋巴瘤(ATLL)；成人T細胞白血病(T-ALL)；中心母細胞性/中心細胞性(cb/cc)濾泡性淋巴瘤癌；B細胞系彌漫性大細胞淋巴瘤；血管免疫母細胞淋巴腺病(AILD)樣T細胞淋巴瘤；HIV相關之以體腔為主的淋巴瘤；胚胎癌；鼻咽型未分化癌(例如施明克氏腫瘤(Schmincke's tumor))；卡斯爾曼氏病；卡波西氏肉瘤；多發性骨髓瘤；瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症；及其他B細胞淋巴瘤。可經受本文中之治療的其他腫瘤類型包括以下之腫瘤：腎、胰臟、喉或咽、黑素瘤、卵巢、肺腺癌、結腸、乳房、腦及其類似者。

實例

以下實際實例與預言性實例均出於說明本發明之特定實施例或特徵之目的而提供且不欲限制其範疇。

實例1--針對CD27L之完全人類單株抗體

使用 XENOMOUSE® 技術來產生針對人類 CD27L 之完全人類抗體(美國專利第 6,114,598 號、第 6,162,963 號、第 6,833,268 號、第 7,049,426 號、第 7,064,244 號，該等專利以全文引用的方式併入本文中；Green 等人，1994, *Nature Genetics* 7:13-21；Mendez 等人，1997, *Nature Genetics* 15:146-156；Green 及 Jakobovitis, 1998, *J. Ex. Med.* 188:483-495)。

用重組表現於中國倉鼠卵巢(CHO)細胞表面上之可溶性人類 CD27L 或人類 CD27L 使 IgG1、IgG2 及 IgG4 XENOMOUSE® 小鼠免疫/增強免疫。自經免疫小鼠產生融合瘤。針對與重組人類 CD27L 表現 293 細胞之結合來篩選融合瘤上清液。超過 260 份上清液對結合呈陽性。

接著針對與 Raji 及/或 786-0 細胞表面上之原生 CD27L 之結合來篩選陽性上清液。原生 CD27L 結合分析揭示 161 份陽性上清液。

測試彼等上清液與食蟹獼猴 CD27L 之交叉反應性。25 份上清液對與食蟹獼猴 CD27L 之交叉反應性呈陽性。接著測試彼等 25 份上清液之 CDC 活性及阻斷人類 CD27 結合於人類 CD27L 之能力。19 份上清液對 CDC 活性及抑制 CD27 結合於 CD27L 呈陽性。對 13 個 IgG1 及 6 個 IgG4 系列(line)進行次

選殖及定序揭示7種獨特IgG1抗體(Ab1-Ab7)及1種獨特IgG4抗體(Ab8)。

8種抗體之特徵以及嵌合型式之市售小鼠抗人CD27L抗體之特徵的概述提供於圖1中。

親和力

使用BIAcore 3000上之CM5晶片測定對重組可溶性人類CD27L之親和力。使用山羊抗人IgG抗體來捕捉測試抗體。量測經組胺酸標記之人類可溶性CD27L之結合及解離以測定 K_a 、 K_d 及 K_D 。條件如下：

溫度=25°C

流動速率=50 μ l/min

操作緩衝液=HBS-EP

用10 mM甘胺酸(pH 1.5)再生

Hu CD27L-his之濃度範圍為200 nM $\rightarrow$ 0.217 nM

模型擬合(Scrubber2)：1:1結合+局部 R_{max}

5分鐘締合及25分鐘解離

ADCC活性

在無菌96孔圓底組織培養盤(Corning)中進行ADCC分析。藉由將10 μ L裝入100 μ L含有10% FCS之完全RPMI中(1:10稀釋)而將抗體自20 μ g/mL滴定至0.0002 μ g/mL。添加50 μ L經鈣黃綠素標記之標靶以含有10,000個細胞。將靶細胞及多種濃度之抗體在4°C下培育40分鐘，接著添加50 μ L NK細胞效應子以含有200,000個細胞。在37°C下培育培養物4小時，接著抽出上清液，且藉由在Wallac Victor II

1420 Multilable HTS計數器上量測485-535 nm下之螢光來分析鈣黃綠素釋放。藉由在六個孔中用Igepal 630清潔劑(每孔3 μ L)溶解經鈣黃綠素標記之Raji標靶來測定100%溶解值，且藉由量測來自單獨標靶之上清液的螢光來測定自發溶解值。

特異性溶解百分比(%)定義為(樣品螢光)-(自發溶解螢光)/(100%溶解-自發溶解螢光)。將原始數據輸入具有嵌入公式之Excel試算表中以計算特異性溶解%且將所得值傳送至圖形程式(GraphPad Prism)，其中數據在S型曲線擬合圖中變換。在GraphPad中進行後續分析(線性回歸計算)以產生EC₅₀值。

ADCP活性

自人類周邊血液中陰性選擇單核細胞且將其與含有10% FBS之培養基RPMI 1640一起儲存於4℃冷室中隔夜。接著將單核細胞以每孔200,000個細胞與200 μ L生長培養基(含有10% FBS及40 ng/ml Hu M-CSF之RPMI 1640)一起接種至48孔組織培養盤中且在37℃、5% CO₂下培育6天以使單核細胞分化成巨噬細胞。

第6天，如下進行ADCP分析：

1. 以 2×10^{-6} M PKH67染料之最終濃度用PKH67綠色染料標記靶細胞

- 收集腫瘤細胞且藉由使細胞離心(400 ' g) 5分鐘用PBS洗滌一次。
- 使細胞離心之後，小心抽吸上清液，但留下不超過25

mL上清液。

- 將 4×10^{-6} M 儲備濃度之 4 μ L PKH67 乙醇染料溶液添加至聚丙烯管中來自套組之 1 mL 稀釋劑 C 中且充分混合。
- 使細胞集結粒以 20×10^6 之密度再懸浮於聚丙烯管中之 1 mL 稀釋劑 C 中。
- 藉由輕輕移液將細胞快速轉移至染料工作溶液中以確保完全分散。
- 在週期性混合下，在室溫下培育混合物 4 分鐘。
- 將 2 mL 完全活化 FBS 添加至細胞中以停止染色且在室溫下培育 1 分鐘以使得過量染料結合。
- 將 40 mL 含有 10% FBS 之 RPMI 添加至細胞中且藉由使細胞離心 (400 ' g) 10 分鐘而洗滌一次。
- 使細胞集結粒再次懸浮於 40 mL 培養基中且轉移至新管中。
- 用培養基 RPMI+10% FBS 再次洗滌細胞三次且用完全生長培養基 (含有 10% FBS 及 40 ng/ml Hu M-CSF 之 RPMI 1640) 洗滌一次。
- 對細胞進行計數且以每毫升 1×10^6 個細胞懸浮於生長培養基中 (T:E 比為 1:2)。

2. 用抗體處理腫瘤細胞以分析抗體依賴性細胞吞噬 (ADCP)

- 在巨噬細胞生長培養基中製備抗體稀釋液。以最終濃度之四倍濃縮此等稀釋液。

- 為預培育經PKH67綠色染料標記之靶細胞與抗體，將280 μ l 4 $\times$ 濃縮抗體與280 μ l經綠色染料標記之腫瘤細胞混合且在4 $^{\circ}$ C下培育30分鐘。
- 如以下實驗設計表中所指示，將經綠色染料標記之腫瘤細胞與抗腫瘤抗體之混合物以每孔200 μ l添加至48孔盤中之巨噬細胞中。最終體積為每孔0.4 ml。靶細胞與效應子細胞(巨噬細胞)之比率為1:2。
- 在37 $^{\circ}$ C、5% CO₂下培育細胞1小時。

3. 用巨噬細胞標記物對比染色巨噬細胞

- 用胰蛋白酶-維爾烯(Trypsin-Versene)混合物剝離48孔盤中之靶細胞及巨噬細胞。
- 將細胞以每孔2.2 ml體積轉移至96孔板中且藉由使板以400' g旋轉離心5分鐘用預加溫之FASC洗滌溶液洗滌一次，接著棄去上清液。
- 於冰上將巨噬細胞用其標記物CD11b-生物素(1:200稀釋)之阻斷溶液以每孔100 μ l染色10分鐘。
- 洗滌細胞一次後，於冰上用以1:1000稀釋之抗生蛋白鏈菌素Alexa 568偵測巨噬細胞10分鐘。
- 用PBS洗滌細胞一次後，在室溫下用4%甲醛-PBS固定細胞20分鐘。接著用dH₂O洗滌細胞一次。
- 使細胞集結粒以每孔200 μ l再懸浮於水中且以每孔100 μ l轉移至96孔盤中。

4. 在ArrayScan V^{TI} HCS讀取器(第6版，Cellomics Inc. Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)上用採用20 $\times$

物鏡之BioApplication標靶激活器(Target Activation)定量量測吞噬活性。表2中指示濾光片設置。在各孔中對至少200個細胞進行計數。

表 2

通道	標靶	標記	螢光
1	巨噬細胞	小鼠抗人CD11b生物素→抗生蛋白 鏈菌素Alexa 568	紅色
2	腫瘤細胞	PHK67	綠色

使用Prism 4.01 (GraphPad, San Diego, CA)進行統計分析。曲線圖展示腫瘤細胞吞噬%相對於抗體濃度(ng/ml)之對數。腫瘤細胞吞噬百分比係以與巨噬細胞重疊之腫瘤細胞相對於所選視場中之總巨噬細胞的百分比表示且自ArrayScan讀取器之輸出特徵「目標計數% (% Object Counts)」獲得。百分比值係以兩次重複量測(n=2)之平均值+/-平均值標準誤差(SEM)表示。藉由使用非線性回歸(曲線擬合)，繼而使用S型劑量反應方程式來測定EC₅₀。將數據針對最大及最小信號進行校正且與S型劑量反應曲線擬合。

CDC活性

製備腫瘤細胞：將Raji細胞用分析培養基洗滌一次且再懸浮於分析培養基(RPMI 1640+1% FBS)中。將細胞以每孔50 μ L接種於96孔組織培養盤中，對於兔補體與人類補體使用兩種細胞密度。對於兔補體，細胞密度為每孔 5×10^4 個細胞。對於人類補體，細胞密度為每孔 2×10^5 個細胞。

用補體及測試抗體處理細胞：如表3中所概述在分析培養基中製備三次濃縮之補體。接著將其以每孔50 μ L添加至盤中之細胞中。對於經兔補體處理之細胞，兔補體之最終濃度為10%；對於經人類補體處理之細胞，人類補體之最終濃度為20%。

表3：在分析培養基(RPMI 1640+1% FBS)中製備三次濃縮之補體			
3×補體	補體 (ml)	分析培養基 (ml)	總體積 (ml)
30% HI 兔C' (非活性)	0.5	1.16	1.66
30% 無HI 兔C' (活性)	2.5	5.83	8.33
60% HI Hu C' (非活性)	0.5	0.33	0.83
60% 無HI Hu C' (活性)	3	2.0	5.0

將10 μ g/mL測試抗體以每孔50 μ L添加至細胞中。開始培養時各孔中之總體積為150 μ L。在37°C、5% CO₂下連續培育細胞1小時(對於經兔補體處理之細胞)及6小時(對於經人類補體處理之細胞)。

用ArrayScan盤讀取器量測細胞毒性：培育後，自各孔中移除50 μ L培養基。將在含有2% FBS之PBS溶液中以1:1000稀釋而製備之Hoechst 33342與碘化丙錠(propidium iodide, PI)之混合液以每孔100 μ L添加至細胞中。將經人類補體處理之細胞在溫和混合後以每孔40 μ L轉移至新的96孔盤中。在ArrayScan V^{TI} HCS讀取器(第6版, Cellomics, Thermo Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)上用採用20×物鏡之BioApplication「標靶激活器」分析樣品。表4中指示濾光片設置。在各孔中對至少200個細胞進行計

數。

表 4

通道	標靶	標記	螢光	濾光片
1	所有細胞之核酸	Hoechst 33342	UV/460 nm	DAPI
2	死細胞之核酸	碘化丙錠	488/>575 nm	TRITC

統計分析：使用 Prism 4.01 (GraphPad, San Diego, CA) 進行統計分析。

內化時間

接種細胞：將 786-0 細胞以每孔 10,000 個細胞與 100 μ L 生長培養基 (含有 10% FBS 之 RPMI) 一起接種於 96 孔盤上且在 37°C、5% CO₂ 下培育 2 天以在分析當天達到 100% 細胞匯合。評估塗盤細胞之 1) 內化及 2) 核內體共定位。

將細胞染色以分析內化時程：用分析培養基 (含有 2% FBS 之 PBS) 洗滌盤一次。將含抗體之分析培養基以每孔 2 μ g/mL (每孔 100 μ L) 添加至孔中。在 4°C 下使人類抗體結合於細胞 30 分鐘，接著用分析培養基洗滌一次。在 4°C 下將抗人 IgG Fab' Alexa 488 (1:100) 及 Hoechst 33342 (1:2000) 添加至分析培養基中之細胞中，持續 20 分鐘。隨後用分析培養基洗滌細胞一次。自時間零點起始將細胞固定並使其通透，或將細胞在 37°C、5% CO₂ 下培育 1、3 或 5 小時。培育後，使用以下程序將細胞固定並使其通透。用 BD 洗滌緩衝液洗滌細胞一次，繼而將固定/通透溶液 (Fix/perm solution) 以每孔 100 μ L 添加至孔中。在 ArrayScan V^{TI} HCS 讀取器 (第 6 版，Cellomics, Thermo Fisher Scientific,

Pittsburgh, PA)上用採用40×物鏡之BioApplication「點式偵測器(Spot Detector)」分析樣品。表5中指示用於內化之濾光片設置。在各孔中對至少400個細胞進行計數。

表 5

通道	標靶	標記	濾光片
1	所有細胞之核酸	Hoechst 33342	DAPI (藍色)
2	內化點	Alexa 488	FITC (綠色)

對細胞進行計數-染色以用於將內化點共定位至早期核內體區室：內化分析之後，用BD緩衝液洗滌786-0細胞一次。在室溫下用固定/通透溶液探查細胞20分鐘。兩次洗滌步驟之後，在室溫下將細胞與含EEA-1之BD緩衝液以0.5 µg/mL (每孔100 µl)一起培育20分鐘。用BD緩衝液洗滌細胞一次且向其中添加以1:1000稀釋之抗小鼠Alexa 568。在室溫下培育細胞20分鐘，繼而用BD緩衝溶液進行兩次洗滌步驟。

攝影影像：用連接至具有Openlab影像分析軟體(Improvision Inc, Lexington, MA)或ArrayScan V^{TI} HCS讀取器之Hamamatsu數位相機的Leica螢光顯微鏡獲取關於內化及共定位之細胞影像。

統計分析：使用Prism 4.01 (GraphPad, San Diego, CA)進行統計分析。點計數係以兩次重複量測(n=2)之平均值±平均值標準誤差(SEM)表示。使用分析工具，將每單位時間之點計數(內化速率)與單相指數關聯方程式擬合。

實例2-評估MCC-DM1結合之抗體

使 Ab1、Ab2、Ab4、Ab7及Ab8結合至MCC-DM1。靶向負載量為每個抗體4.5-5個藥物。簡言之，使抗體之離胺酸結合至含有NHS酯及順丁烯二醯亞胺之異型雙功能交聯劑4-[N-順丁烯二醯亞胺基甲基]環己烷-1-甲酸丁二醯亞胺酯(SMCC)之NHS酯。隨後自過量連接子中純化經連接子修飾之抗體，接著使其經由DM1上存在之巰基結合至彈頭DM1。接著藉由二次純化步驟移除過量DM1以產生最終共軛物Ab-MCC-DM1。

更特定言之，將短暫表現於哺乳動物細胞培養物2936-E細胞中之CD27L抗體負載至已在25 mM Tris、150 mM氯化鈉(pH 7.4)中平衡之MabSelect SuRe管柱(GE Healthcare)上。接著以三次洗滌步驟洗滌結合有CD27L抗體之管柱：首先用平衡緩衝液洗滌，繼而用25 mM Tris、500 mM L-精胺酸(pH 7.5)洗滌，且最後用平衡緩衝液洗滌。用100 mM乙酸鈉(pH 3.5)溶離CD27L抗體。彙集含有抗體之溶離份且用1 M Tris (pH 8.0)調整至最終pH值5.0。隨後在於30 mM乙酸鈉(pH 5.0)中平衡之Fractogel® EMD SO3-(M)管柱(EMD Chemicals Inc)上純化該抗體。以含0至0.8 M氯化鈉之30 mM乙酸鈉(pH 5.0)之8CV梯度溶離結合之抗體。彙集含有抗體之溶離份且透析至結合緩衝液(2 mM EDTA, 50 mM氯化鈉, 50 mM磷酸鉀, pH 6.5)中。

用胺反應性連接子4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸丁二醯亞胺酯(SMCC)(Thermo Scientific)修飾經純化之CD27L抗體以引入硫醇反應性順丁烯二醯亞胺基。用

20 莫耳當量之含 SMCC 之結合緩衝液處理濃度為 55 μM 之抗體，該結合緩衝液在最終反應混合物中經調整為 10% 二甲基乙醯胺 (v/v)。在室溫下培育 90 分鐘後，用含有 Sephadex G-25 精細樹脂 (GE Healthcare) 且於 2 mM EDTA、150 mM 氯化鈉、35 mM 檸檬酸鈉 (pH 5.0) 中平衡之 HiPrep 26/10 去鹽管柱使反應混合物去鹽。彙集含有抗體之溶離份且如下文所述使用愛爾曼氏試劑 (Ellman's reagent, 5,5'-二硫基-雙[2-硝基苯甲酸]) 分析用連接子修飾之程度。抗體據發現針對每個抗體經平均 7.5 個順丁烯二醯亞胺基修飾。

愛爾曼氏試劑由硫醇裂解，得到在 412 nm 下具有吸光度之黃色產物。使用相減愛爾曼氏分析 (subtractive Ellman's assay) 來測定與 SMCC 反應後 CD27L 抗體上順丁烯二醯亞胺基之數目。將經 SMCC 修飾之 CD27L 抗體或不含抗體之緩衝液之對照樣品與當量濃度之硫醇 0.4 mM DTT (二硫蘇糖醇) 一起培育。抗體樣品中所存在之任何順丁烯二醯亞胺將與 DTT 中之硫醇反應，使得該抗體樣品不可用於進一步與愛爾曼氏試劑反應。接著將愛爾曼氏試劑添加至兩種樣品中且在 412 nm 下進行比色定量以測定反應之愛爾曼氏試劑的濃度。與對照樣品相比抗體樣品中硫醇之濃度減小與抗體樣品中所存在之順丁烯二醯亞胺數目成比例。使用此值來確定針對每個經修飾 CD27L 抗體之經連接順丁烯二醯亞胺基之數目。

用經 2 mM EDTA、150 mM NaCl、35 mM 檸檬酸鈉 (pH

5.0)緩衝之針對每個順丁烯二醯亞胺基1.7莫耳當量之DM1 (Immunogen)處理濃度為17 μM 至27 μM 之經SMCC修飾之CD27L抗體(針對每個抗體7.5個順丁烯二醯亞胺基)，該緩衝液在最終反應混合物中經調整為3% DMA (v/v)。在室溫下培育反應混合物隔夜，持續長達20小時。將反應混合物負載於經20 mM磷酸鈉、150 mM氯化鈉(pH 6.5)平衡之Superdex 200凝膠過濾管柱(GE Healthcare)上。收集溶離份，且彙集含有單體抗體之溶離份並分析。藉由量測在252 nm及280 nm下之吸光度來測定每個抗體所連接之DM1分子的莫耳比，且據發現針對每個抗體有4.5-5.0個DM1分子。

活體外藥理學

抗體藥物共軛物(ADC) Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1展示與其未結合之對應物相當的原生CD27L結合，如由流動式細胞測量術所評估。針對Ab4及Ab4-MCC-DM1所觀測之結合EC50相同，而Ab8-MCC-DM1適度地為Ab8之四倍(表6)。對於Ab4、Ab8及其結合對應物，藉由使用Gyros技術量測其結合表現於Raji細胞上之原生人類CD27L之能力來測定結合親和力的更精確量測值。結果顯示兩種共軛物均對CD27L展現低於nM之親和力，其在針對未結合之Ab4及Ab8所觀測之兩倍範圍內(表6)。未結合之Ab4及Ab8與結合之Ab4及Ab8亦對可溶性人類CD27L-his展現在彼此之兩倍範圍內之結合親和力，如由BIAcore所測定。

表 6. Ab4及Ab8與其MCC-DM1結合對應物的結合比較

量測	Ab4	Ab4-MCC-DM1	Ab8	Ab8-MCC-DM1
Gyros K_D -原生CD27L-Raji	0.014 nM	0.023 nM	0.078 nM	0.077 nM
FACS (EC_{50})-786-0細胞	0.1 nM	0.1 nM	0.02 nM	0.08 nM

在CD27L表現人類ccRCC細胞株786-0中評估Ab4-MCC-DM1、Ab8-MCC-DM1、Ab4及Ab8之內化。使CD27L表現786-0細胞暴露於未結合之Ab4及Ab8人類抗CD27L抗體、Ab4-MCC-DM1、Ab8-MCC-DM1、對照HuIgG1或對照 α SA-MCC-DM1且在4°C下使其結合。使用FluoroNanogold山羊抗人IgG Fab' Alexa 488評估測試物品之內化。在與測試物品一起培育之後的特定時間(時間=0、1、3及5小時)將細胞固定並使其通透，且使用ArrayScan VTI HCS讀取器成像。使用抗EEA-1抗體(一種核內體標記物)測定內化之測試物品至核內體之共定位。經由螢光顯微鏡影像分析，藉由與在4°C下於時間零點之細胞膜定位相比在37°C下於細胞質內形成點狀斑點來觀測包括Ab4-MCC-DM1之抗體的時間依賴性內化。在37°C下培育5小時後Ab4-MCC-DM1與核內體標記物EEA-1一起共定位，證實Ab4-MCC-DM1內化至786-0細胞之核內體亞細胞區室中。Ab4、Ab8及其結合之對應物的內化程度及速率在類似範圍內(圖2)。

Ab4-MCC-DM1與Ab8-MCC-DM1在CD27L表現腫瘤細胞之活體外生長抑制方面均展現效力及特異性。在抗增殖(腫瘤生長抑制)分析中，將Ab4-MCC-DM1、Ab8-MCC-DM1或未結合之抗CD27L Ab4或Ab8與CD27L表現786-0螢

光素酶或CD27L陰性H1650靶細胞一起在存在/不存在分別裸Ab4或Ab8或對照HuIgG1之情況下培育4天。將兩種細胞株786-0螢光素酶及H1650與生長培養基一起在100 μ L孔中以500個細胞/孔(對於786-0螢光素酶)及1000個細胞/孔(對於H1650)接種於96孔組織培養盤中。在37°C、5% CO₂下培育所有盤4小時。培育4小時後，將裸Ab及共軛物在多種劑量滴定下以每孔100 μ L添加至細胞中。開始培養時各孔中之總體積為200 μ L。在37°C、5% CO₂下連續培育細胞4天，隨後量測細胞ATP含量。為評估細胞生長抑制，經由使用CellTiter-Glo分析套組分析發光來量測ATP含量(作為細胞數之量度)。

Ab4-MCC-DM1與Ab8-MCC-DM1均以如表7中所示之50%抑制濃度(IC₅₀)抑制CD27L表現786-0細胞之細胞生長。在CD27L陰性H1650細胞暴露於Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1後未觀測到細胞生長抑制。添加過量未結合之親本抗CD27L抗體能夠阻斷Ab4-MCC-DM1介導之生長抑制，從而確認Ab4-MCC-DM1結合CD27L為活性所需。未結合之親本抗CD27L抗體並不抑制CD27L表現786-0細胞之生長。對照共軛物抗抗生蛋白鏈菌素-MCC-DM1 (α SA-MCC-DM1)在CD27L陽性細胞株或CD27L陰性細胞株中並不展現細胞生長之任何抑制。結果指示Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1與對照共軛物相比均為786-0細胞生長之有效抑制劑(圖3)。Ab4-MCC-DM1傾向於展示相比Ab8-MCC-DM1略微增強之效力(表7)。

表 7. 抗 CD27L-MCC-DM1 共軛物之細胞效力

786-0- IC_{50}	Ab4-MCC-DM1	Ab8-MCC-DM1
藥物濃度(nM)	0.34	0.54
抗體濃度(nM)	0.07	0.11

Ab4-MCC-DM1 介導針對 Raji 細胞之抗體依賴性細胞毒性 (ADCC) 的效力 ($EC_{50}=0.006 \mu\text{g/mL}$) 及量值類似於未結合之親本 Ab4 抗 CD27L 抗體所觀測之結果 ($EC_{50}=0.01 \mu\text{g/mL}$)。簡言之，如上文所述，將自獲自正常人類血液供體之 PBMC 中分離之天然殺手 (NK) 細胞與經鈣黃綠素標記之 Raji 人類 B 細胞融合瘤靶細胞 (表現 CD27L) 一起在 Ab4-MCC-DM1 或對照抗體存在下培育。藉由量測與對照孔相比在 Ab4-MCC-DM1 存在下溶解之 CD27L 表現靶細胞中釋放之鈣黃綠素來測定特異性細胞毒性百分比 (%)。結果展示於圖 8 中，其指示 Ab4-MCC-DM1 介導類似於 Ab4 抗體之 ADCC 程度 (EC_{50} 值分別為 0.006 及 $0.01 \mu\text{g/mL}$)。huIgG1 對照並不介導 CD27L 表現標靶之任何可量測之溶解。Ab4-MCC-DM1 與未結合之 Ab4 抗體均能夠以類似程度誘導 NK 細胞介導之 CD27L 特異性標靶之 ADCC。Ab8-MCC-DM1 及未結合之 Ab8 抗體觀測到類似結果。

(20110189) 針對 Raji 與 786-0 腫瘤細胞量測 Ab4-MCC-DM1 或未結合之親本抗體 Ab4 之活體外抗體依賴性細胞吞噬 (ADCP) 活性。Ab4-MCC-DM1 介導與未結合之親本抗體 Ab4 所觀測類似之程度的補體介導性溶解。簡言之，自獲自正常人類血液供體之人類周邊血液中分離之單核細胞中

分化出巨噬細胞。如上文所述，將巨噬細胞與經PHK67綠色染料標記之CD27L表現細胞株786-0及Raji（作為靶細胞）一起在未結合之抗CD27L抗體Ab4、HuIgG1、Ab4-MCC-DM1或對照抗體(α SA-MCC-DM1)存在下培育。由巨噬細胞所牽涉之腫瘤細胞相對於所選視場中之總巨噬細胞的百分比來確定腫瘤細胞吞噬百分比(%)。結果展示於圖9中且指示Ab4-MCC-DM1在CD27L表現細胞株786-0與Raji中介導類似ADCP效力。未結合之Ab4之EC50值在針對Ab4-MCC-DM1所觀測之EC50值的10倍範圍內(參見表8)。

表 8

	786-0	Raji
Ab	EC50 (pM)	EC50 (pM)
Ab4	0.008	0.008
Ab4-MCC-DM1	0.087	1.421

假定在1:40稀釋間隔下作出稀釋曲線，針對Ab4-MCC-DM1與未結合之Ab4所觀測之EC50具有類似效力(在稀釋因子之界限內)。因此，結合之Ab4-MCC-DM1與未結合之WT Ab4抗體均能夠誘導人類巨噬細胞以類似程度介導CD27L表現細胞之ADCP。Ab8-MCC-DM1及未結合之Ab8抗體觀測到類似結果。

採用人類補體與兔補體及CD27L表現Raji腫瘤細胞評估Ab4-MCC-DM1之活體外補體依賴性細胞毒性(CDC)。在10 μ g/mL下，Ab4-MCC-DM1介導與未結合之親本抗體Ab4所觀測類似之程度的補體介導之溶解(兔補體72%溶解及人類



17%溶解)。簡言之，如上文所述，將活化之兔補體或人類補體與CD27L表現Raji靶細胞一起在抗CD27L抗體或對照抗體存在下培育。對於「細胞毒性%」，由ArrayScan讀取器「所選目標%」之輸出特徵來量測CDC介導之殺死以偵測PI陽性相對於Hoechst之百分比。結果指示當將腫瘤Raji細胞與10%幼兔補體或20%人類補體一起培育時，Ab4-MCC-DM1介導與WT Ab4抗體類似之CDC程度。熱不活化兔補體或人類補體不展示針對Raji之任何CDC介導之殺死。因此，Ab4-MCC-DM1與未結合之Ab4均誘導針對CD27L表現腫瘤靶細胞之類似程度之CDC活性。Ab8-MCC-DM1及未結合之Ab8抗體觀測到類似結果。

活體內藥理學

使用生長因子減少之MATRIGEL將活體內繼代786-0 ccRCC細胞(786-0 S4)植入雌性CB-17/SCID小鼠中以產生腫瘤異種移植物供功效研究。786-0 S4細胞平均表現約180,000個CD27L位點/細胞。當腫瘤尺寸平均達到約250 mm³時，起始Ab4-MCC-DM1或Ab8-MCC-DM1處理。將帶有腫瘤之動物根據腫瘤尺寸隨機分組，每組十隻動物，且靜脈內給藥一次。在此經確立之腫瘤模型中採用7-64 µg DM1/kg (0.3-2.5 mg Ab/kg)範圍內之劑量進行Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1之盲測劑量反應研究。在較低7 µg DM1/kg、中等25 µg DM1/kg及較高64 µg DM1/kg劑量下觀測到穩固的腫瘤消退。在中等及較高劑量下，在單次劑量後至少28天維持完全消退(圖4)。在整個研究過程中在任何

給藥組中均未觀測到體重損失。

在活體內功效之另一個示範中，如上文所述，將平均表現 59,000 個 CD27L 位點 / 細胞 (786-0 細胞之三分之一) 之 Caki-1 ccRCC 細胞植入 CB-17/SCID 小鼠中。當 Caki-1 異種移植物之平均尺寸達到 250 mm³ 時，將帶有腫瘤之動物根據腫瘤尺寸隨機分組，每組十隻動物，且每週靜脈內給藥一次，持續 3 週 (以較接近地模擬每週臨床給藥方案)。在此經確立之腫瘤模型中採用 60-270 µg DM1/kg (2.4-11 mg Ab/kg) 範圍內之劑量進行 Ab4-MCC-DM1 及 Ab8-MCC-DM1 之盲測劑量反應研究。與對照共軛物或媒劑相比，在中等 120 µg DM1/kg 及較高 270 µg DM1/kg 劑量下最初觀測到腫瘤消退，而在較低 60 µg DM1/kg 劑量下觀測到腫瘤生長抑制。隨著時間發展，兩個較高劑量組中之腫瘤消退程度在接受最後劑量 7 天內開始減小 (圖 5)。

如同 ccRCC 細胞，Raji B 淋巴瘤細胞表現 CD27L (約 200,000 個位點 / 細胞) 且內化抗 CD27L 藥物共軛物，其引起活體外有絲分裂停止及細胞死亡。在皮下 Raji 異種移植模型中評估 Ab4-MCC-DM1 之功效。當 Raji 異種移植物之平均尺寸達到 250 mm³ 時，將帶有腫瘤之動物根據腫瘤尺寸隨機分組，每組十隻動物，且每四天一次靜脈內給藥兩次，接著每週靜脈內給藥一次，再持續一週，總共三次劑量 (以較接近地模擬每週臨床給藥方案)。在此經確立之腫瘤模型中使用 60-270 µg DM1/kg (2.4-11 mg Ab/kg) 範圍內之劑量進行 Ab4-MCC-DM1 之盲測劑量反應研究。在所有劑

量下均觀測到腫瘤生長抑制，其中與對照共軛物相比，在主動給藥時段期間在中等 120 μg DM1/kg 及較高 270 μg DM1/kg 劑量下觀測到 >90% 腫瘤生長抑制，且在較低 60 μg DM1/kg 劑量下觀測到中度抗腫瘤反應(圖 6)。在腫瘤量測時段結束時，中等及較高劑量組中之稍多數動物展現腫瘤消退，表明進一步劑量及時程最佳化可改良反應。

在 786-0 異種移植模型中評估對照共軛物 $\alpha\text{SA-MCC-DM1}$ 或 Ab4-MCC-DM1 之不同給藥間隔之功效。將 786-0 腫瘤細胞植入 CB-17/SCID 小鼠中。第 13 天，將 50 隻動物隨機分組，每組十隻動物，平均腫瘤體積為 200 mm^3 。向各組投與對照共軛物 $\alpha\text{SA-MCC-DM1}$ 或 Ab4-MCC-DM1 之腹膜內劑量。腫瘤體積以組平均值 $\pm$ 平均值標準誤差 (SEM) 表示。自第 13 天至第 59 天藉由使用杜奈特調整之多重比較 (Dunnett adjusted multiple comparison) 對對數變換腫瘤體積數據之共方差 (RMANOVA) 進行重複量度分析來評估生長曲線之間所觀測差異的統計顯著性。若 $p < 0.05$ ，則達到顯著性。投與 Ab4-MCC-DM1 之三個劑量 (分別為 1.0、2.0 或 2.9 mg/kg Ab4-MCC-DM1 (基於抗體)，或 25、50 或 75 $\mu\text{g/kg}$ (基於 DM1 等效物))。每週一次或每兩週一次投與 1.0 mg/kg 劑量，持續六週；每兩週一次投與 2.0 mg/kg 劑量，持續六週；且每三週一次投與 2.9 mg/kg 劑量，持續六週。腫瘤接種後第 13 天開始向動物腹膜內給藥。至第 59 天止，因大腫瘤體積而對經 $\alpha\text{SA-MCC-DM1}$ 處理之組施以無痛致死術。第 59 天，經投與 Ab4-MCC-DM1 之各給藥方案處理之小鼠

的平均腫瘤體積顯著小於 α SA-MCC-DM1對照共軛物組($p < 0.0001$)(圖 7)。在各給藥方案下，Ab4-MCC-DM1介導持久腫瘤消退。在任何Ab4-MCC-DM1處理組中均未觀測到體重損失。

藥物動力學

在功效研究及追蹤終點PK研究之情形中，在靜脈內投與含有CD27L表現786-0異種移植物之雌性CB-17/SCID小鼠之後評估Ab4及Ab8抗體藥物共軛物。在Ab4-MCC-DM1與Ab8-MCC-DM1分子之間累積暴露及清除值在1.33倍及1.4倍範圍內，且小鼠中兩種ADC之半衰期為約12天。

在向帶有786-0異種移植物之CB-17/SCID小鼠中單次靜脈內(IV)給藥之後活體內表徵Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1抗體藥物共軛物之穩定性及PK參數。兩種抗體藥物共軛物之暴露極其類似，但Ab4-MCC-DM1與Ab8-MCC-DM1分子相比在96小時研究時程中展示更穩定的藥物-抗體共軛物比率，如由親和力-MS所測定。Ab4-MCC-DM1在注射後30分鐘或24小時時間點不展示可偵測之共軛物完整性損失，而Ab8-MCC-DM1在注射後30分鐘時間點展現變化且至24小時止展現所有共軛物物質顯著減少。

實例3--互補位定位

藉由ELISA針對與CD27L之結合測試對Ab4進行之修飾。在100 μ L中以1 μ g/mL震盪下，CD27L在室溫下結合於Maxisorp盤2小時以上。接著用250 μ L含10%非脂肪乳粉之PBS+0.05% Tween 20阻斷該等盤2小時。在用4 $\times$ 300 μ L

PBS+0.05% Tween20 (PBST)洗滌後，將0.045至100 ng/mL範圍內之經修飾之Ab及經純化之親本對照滴定液塗覆於盤上且培育1小時。再用PBST洗滌後，將以1:7000稀釋之經辣根過氧化酶結合之 α huFc偵測抗體(Jackson)塗覆於盤上且培育1小時。進行最終洗滌，且培育TMB受質10分鐘且用磷酸終止。獲取450 nm下之OD讀數且繪製相對於濃度之曲線。接著用三參數非線性曲線擬合分析此等曲線，且將 EC_{50} 及最大計算信號與經純化之對照相比較。若 EC_{50} 在2倍範圍內且最大信號大於50%，則結合經測定類似於親本。若 EC_{50} 增加2倍以上及/或最大信號小於50%，則結合降低。若無法產生曲線或最大信號小於5%，則結合消除。

表8：列出輕鏈及重鏈修飾組合與其表現量(μ g/mL)(藉由ForteBio蛋白質A定量測定)以及其對結合之作用。

組合	表現	結合
N31H-Y58N+N31S-I34M	30.3	降低
N31H-Y58N+ G33S-I34L	46.7	消除
N31H-Y58N+ D54E-G55S	9.91	消除
N31H-Y58N+ S103G-G104S	14.6	消除
N31H-Y58N+ 親本HC	10.4	降低
R24K-S26G+ N31S-I34M	13.8	類似
R24K-S26G+ G33S-I34L	16.9	消除
R24K-S26G+ D54E-G55S	1.87	降低
R24K-S26G+ S103G-G104S	3.76	降低
R24K-S26G+ 親本HC	3.43	類似

L55I-Y58F+N31S-I34M	9.53	降低
L55I-Y58F+G33S-I34L	11.6	消除
L55I-Y58F+D54E-G55S	1.26	降低
L55I-Y58F+S103G-G104S	2.61	降低
N31H-Y58N+親本HC	2.72	類似
Q95N-T96S+N31S-I34M	24.6	類似
Q95N-T96S+G33S-I34L	32.7	消除
Q95N-T96S+D54E-G55S	1.89	降低
Q95N-T96S+S103G-G104S	4.99	消除
Q95N-T96S+親本HC	5.85	類似
親本LC+N31S-I34M	31.6	降低
親本LC+G33S-I34L	51.2	消除
親本LC+D54E-G55S	7.03	降低
親本LC+S103G-G104S	10.7	消除
親本LC+親本HC	9.25	類似

對 Ab4 進行之 24 種修飾組合中之 13 種組合保持與 CD27L 一定程度的結合。不結合於 CD27L 之 9 種組合具有以下至少一者：「G33S-I34L」及「S103G-G104S」重鏈修飾或「N31H-Y58N」輕鏈修飾。97% 類似抗體 (2 個胺基酸修飾) 中之 75% (6/8) 保持一定程度的結合，而 94% 類似抗體 (4 個胺基酸修飾) 中之 56% (7/16) 保持一定程度的結合，其中 2 種與經純化之親本對照具有類似結合。此顯示低至 94% 類似於 Ab4 之抗體仍結合 CD27L。

序列表

SEQ ID NO:1

人類 CD27L 胺基酸序列

MPEEGSGCSVRRRPYGCVLRAALVPLVAGLVICLVVCIQRFAQAQQQLPLESLG
WDVAELQLNHTGPQQDPRLYWQGGPALGRSFLHGPELDKGQLRIHRDGIYMVH
IQVTLAICSSTTASRHHPTTLAVGICSPASRSISLLRLSFHQGCTIASQRLTPLARGD
TLCTNLTGTLLPSRNTDETFFGVQWVRP

SEQ ID NO:2

人類 CD27 前驅體胺基酸序列

MARPHPWWLCVLGTLVGLSATPAPKSCPERHYWAQGKLCCQMCEPGTFLVKD
CDQHRKAAQCDPCIPGVVSFSPDHHTRPHCESCRHCNSGLLVRNCTITANAECACR
NGWQCRDKECTECDPLPNPSLTARSSQALSPHPQPTHLPYVSEMLEARAGHMQ
TLADFRQLPARTLSTHWPPQRSLSSTDFIRILVIFSGMFLVFTLAGALFLHQRKY
RSNKGESPVPAEPCHYSCPREEEGSTIPIQEDYRKPEPACSP

SEQ ID NO:3

Ab1 重鏈編碼核苷酸序列

CAGATGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCCAGGACTGGTGAAGCCCTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGATGGCTCCATCATCAGTGGTGTCTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGATACATCTATTACAGTGGGAGCACCTCC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGACTTACCATGTAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGGAGT
GGATACAGCTATGCCCTCTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCA
GCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG
GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGCG
TGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA
CCGTGAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT
GAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGTCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG
ATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATC

GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTG
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG
CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO:4

Ab2重鏈編碼核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGCAGGAGTCGGGCCAGGACTGGTGAAGCCTTCACAGACCCTGTCCCTC
ACCTGCACTGTCTCTGGTGACTCCATCATCAGTGGTGGTTACTACTGGAGCTGGATCCGC
CAGCACCCAGGGAAGGGCCTGGAGTGGATTGGGTACATCTTTTACAGTGGGAGCACCGAC
TACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTTACCATATCAGTAGACACGTCTAAGAACCAGTTC
TCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACTGCCGCGACACGGCCGTATATTACTGTGCGAGGAGT
GGATACAGCTATGCCCTCTTTGACCACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
GCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG
GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTG
TGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGGCTGTCTTACAGTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC
TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
AAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA
CCGTGAGTCTTCTTCCCCCAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCT
GAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC
AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG
GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCC
AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG
ATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC
GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCTCCCGTG
CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACG
CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO:5

Ab4重鏈編碼核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAACTATGGCATACTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTAT
GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
CTGCAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGA
GGATATAGTGGCTACGATTGCGGGTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTC
TCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACC

TCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG
GTGTTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCCTACAG
TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC
CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTT
GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTG
GGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG
ACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG
TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT
GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACC
ATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG
GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC
GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCCT
CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGC
AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC
TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID NO:6

Ab5 重鏈編碼核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGATACACCTTCACCAGTTATGATATCAACTGGGTGCGACAGGCC
ACTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATGAACCCTAACAGTGGTAACACAGGCTAT
GCACAGAAGTTCCAGGGCAGAGTACCATGACCAGGAACACCTCCATAAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGCAGCCTGAGATCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGGGTAC
GATTTTTGGAGTGGTTATTACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACC
ACGGTCACCGTCTCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCC
TCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCC
GAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCG
GCTGTCTTACAGTCTCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC
AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG
GACAAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCA
CCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCCAAGGACACCCTC
ATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCT
GAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCG
CGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCCTCCTGCACCAG
GACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCC
ATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTG
CCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC
TTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTAC
AAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACC
GTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCT

CTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID NO:7

Ab6重鏈編碼核苷酸序列

CAGGTTTCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTC
TCCTGCAAGGCTTCTGGTTACACCTTTACCAGCTATGGTATCAGCTGGGTGCGACAGGCC
CCTGGACAAGGGCTTGAGTGGATGGGATGGATCAGCGCTTACAATGGTTACACACACTAT
GCACAGAAGCTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCACAGACACATCCACGAGCACAGCCTAC
ATGGAGCTGAGGAGCCTGAGATCTGACGACACGGCCGTGTATTACTGTGCGAGAGACTAC
GGTGGTAACGACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC
TCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCT
GGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTG
TCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCC
TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAG
ACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAG
CCCAAATCTTGTGACAAACTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGGGG
GGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACC
CCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAAC
TGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC
AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGC
AAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATC
TCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAG
GAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGAC
ATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAATAACAAGACCACGCCTCCC
GTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGG
TGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTAC
ACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

SEQ ID NO:8

Ab7重鏈編碼核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC
TCCTGTGCAGCGTCTGGATTCACCTTCAGTACCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCT
CCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTAATAAATACTAT
GGAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
CTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATAAC
AGTCACTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
GCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCTGGG
GGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCG
TGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAGTCTCA
GGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACC

TACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCC
 AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGA
 CCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT
 GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGG
 TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAAC
 AGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG
 GAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC
 AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGAGGAG
 ATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATC
 GCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG
 CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG
 CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAG
 CAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO:9

Ab8重鏈編碼核苷酸序列

CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTGGTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTC
 TCCTGTGCAGCGTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATGGCATGCACTGGGTCCGCCAGGCT
 CCAGGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATGGTATGATGGAAGTGATAAATACTTT
 GCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTAT
 CTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGATGGG
 ATAGCAGGAGCTCGCTACGTCTACTTTGACTACTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTC
 TCCTCAGCTAGCACCAAGGGCCCATCCGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACC
 TCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACG
 GTGTGCTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTTACAG
 TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACC
 CAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTT
 GAGCCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTG
 GGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGG
 ACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC
 AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAG
 TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTGAAT
 GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCCATCGAGAAAACC
 ATCTCCAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGG
 GAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGC
 GACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCT
 CCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGC
 AGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC
 TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA

SEQ ID NO:10

Ab1重鏈胺基酸序列

QMQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSDGSIISGVYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTS
YNPSLKSRLTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGYSYALFDYWGQGLTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:11

Ab2重鏈胺基酸序列

QVQLQESGPGLVKPSQTLSTCTVSGDSIISGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIFYSGSTD
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGYSYALFDHWGQGLTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:12

Ab4重鏈胺基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNKYY
ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGGYSGYDSGFDYWGQGLTVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:13

Ab5重鏈胺基酸序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGY
AQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYDFWSGYYYYYYYGMDVWGQGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP

REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:14

Ab6重鏈胺基酸序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTHY
AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYGGNDYYGMDVWGQGTTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY
NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:15

Ab7重鏈胺基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNKKY
GDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNSHYYYGMDVWGQGTTVTVSS
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS
GLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:16

Ab8重鏈胺基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSDKYF
ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIAGARYVYFDYWGGQGLVTV
SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:17

Ab1重鏈可變域胺基酸序列

QMQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSDGSIISGVYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIYYSGSTS
YNPSLKSRLTMSVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGYSYALFDYWGQGTLLTVTVSS

SEQ ID NO:18

Ab2重鏈可變域胺基酸序列

QVQLQESGPGGLVKPSQTLSTCTVSGDSIISGGYYWSWIRQHPGKGLEWIGYIFYSGSTD
YNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARSGYSYALFDHWGQGTLLTVTVSS

SEQ ID NO:19

Ab3重鏈可變域胺基酸序列

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSVIDSGGTTDY
ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHDYSNRYFFDYWGQGTLLTVTVSS

SEQ ID NO:20

Ab4重鏈可變域胺基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGIHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYY
ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGGYSGYDSGFDYWGQGTLLTV
SS

SEQ ID NO:21

Ab5重鏈可變域胺基酸序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGWMNPNSGNTGY
AQKFQGRVTMTRNTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGYDFWSGYYYYYYGMDVWGQGT
TVTVSS

SEQ ID NO:22

Ab6重鏈可變域胺基酸序列

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWISAYNGYTHY
AQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARDYGGNDYYGMDVWGQGTTVTVS
S

SEQ ID NO:23

Ab7重鏈可變域胺基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSTYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSKNYY
GDSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDNSHYYYGMDVWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:24

Ab8重鏈可變域胺基酸序列

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSDKYF
ADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDGIAGARYVYFDYWGQGTLVTV
SS

SEQ ID NO:25

Ab1重鏈CDR1胺基酸序列

SGVYYWS

SEQ ID NO:26

Ab2重鏈CDR1胺基酸序列

SGGYWS

SEQ ID NO:27

Ab3重鏈CDR1胺基酸序列

SYAMS

SEQ ID NO:28

Ab4重鏈CDR1胺基酸序列

NYGIH

SEQ ID NO:29

Ab5重鏈CDR1胺基酸序列

SYDIN

SEQ ID NO:30

Ab6重鏈CDR1胺基酸序列

SYGIS

SEQ ID NO:31

Ab7重鏈CDR1胺基酸序列

TYGMH

SEQ ID NO:32

Ab8重鏈CDR1胺基酸序列

SYGMH

SEQ ID NO:33

Ab1重鏈CDR2胺基酸序列

YIYYSGSTSYNPSLKS

SEQ ID NO:34

Ab2重鏈CDR2胺基酸序列

YIFYSGSTDYNPSLKS

SEQ ID NO:35

Ab3重鏈CDR2胺基酸序列

VISDSGGTTDYADSVKG

SEQ ID NO:36

Ab4重鏈CDR2胺基酸序列

VIWYDGSNKYYADSVKG

SEQ ID NO:37

Ab5重鏈CDR2胺基酸序列

WMNPNSGNTGYAQKFQG

SEQ ID NO:38

Ab6重鏈CDR2胺基酸序列

WISAYNGYTHYAQKLQG

SEQ ID NO:39

Ab7重鏈CDR2胺基酸序列

VIWYDGSNKYYGDSVKG

SEQ ID NO:40

Ab8重鏈CDR2胺基酸序列

VIWYDGSDKYFADSVKG

SEQ ID NO:41

Ab1重鏈CDR3胺基酸序列

SGYSYALFDY

SEQ ID NO:42

Ab2重鏈CDR3胺基酸序列

SGYSYALFDH

SEQ ID NO:43

Ab3重鏈CDR3胺基酸序列

HDYSNRYYFDY

SEQ ID NO:44

Ab4重鏈CDR3胺基酸序列

DGGYSGYDSGFDY

SEQ ID NO:45

Ab5重鏈CDR3胺基酸序列

GYDFWSGYYYYYYGMDV

SEQ ID NO:46

Ab6重鏈CDR3胺基酸序列

DYGGNDYYGMDV

SEQ ID NO:47

Ab7重鏈CDR3胺基酸序列

DNSHYYYGMDV

SEQ ID NO:48

Ab8重鏈CDR3胺基酸序列

DGIAGARYVYFDY

SEQ ID NO:49

Ab1輕鏈編碼核苷酸序列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTTTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCGTTGACAGATATTTCAATTGGTATCAGCAGAAACCT
GGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGATCTTTGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGGTTTCGGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGCTACAGTACCCCGTGGACGTTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAAGTCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT
CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG
GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

SEQ ID NO:50

Ab2輕鏈編碼核苷酸序列

GACATCCAGATGACCCAGTCCCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCAGTTGCCGGGCAAGTCAGTTCATTGGCAGATATTTCAATTGGTATCAGCAGCAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGGTCCTGATCTATGCTGAATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCA
AGATTCAAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAATTCCTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCT
GAAGATTTTGCAAGATACTACTGTCAACAGAGTTACAGTACCCCGTGGACGTTTCGGCCAA
GGGACCAAGGTGGAATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT
CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG
GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

SEQ ID NO:51

Ab4輕鏈編碼核苷酸序列

GATATTGTGATGACTCAGTCTCCACTCTCCCTGCCCCTGACCCCTGGAGAGCCGGCCTCC
ATCTCCTGCAGGTCTAGTCAGAGCCTCCTGAATAGTAATGGATACAACCTATTTGGATTGG
TACCTGCAGAAGCCAGGGCAGTCTCCACAGTTCCTGATCTATTTGGGTTCTTATCGGGCC
TCCGGGGTCCCTGACAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCAGGCACAGATTTTACACTGAGAATC

AGCAGAGTGGAGGCTGAGGATGTTGGGGTTTATTACTGTATACAAACTCTACAAACTCCA
TTCACCTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTC
TTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTG
CTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAA
TCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC
AGCAGCACCTTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAA
GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO:52

Ab5輕鏈編碼核苷酸序列

GAAATTGTGTTGACGCAGTCTCCTGGCACCCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACC
CTCTCCTGCAGGGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAGCAGAGA
CCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGGTGCATCCAGCAGGGCCACTGGCATCCCA
GACAGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGGAG
CCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCTGCAGTCTGGTAGCTCTGTCCCGCTCACTTTC
GGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTC
CCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAAC
TTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC
TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACC
CTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCAT
CAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAA

SEQ ID NO:53

Ab6輕鏈編碼核苷酸序列

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATC
TCTTGTTCTGGAAGCAGCTCCAACATCGGAATTAATTATGTATACTGGTACCAGCAGCTC
CCAGGAACGGCCCCCAAACCTCCTCATCTATAGGAGTGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCT
GACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCCTCAGTGGGCTCCGG
TCCGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGACAGCCTGAGTGGTGTGGTG
TTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCCTAGGCCAACCGAAAGCGGCGCCCTCGGTCACT
CTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA
AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG
GCGGGAGTGGAGACCACCAACCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGC
TATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCACG
CATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTTCATAG

SEQ ID NO:54

Ab7輕鏈編碼核苷酸序列

CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATC
TCCTGCACTGGGAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTAAATTGGTATCAGCAG
TTCCCAGGAACAGCCCCAACTCCTCATCTATGTTAACAACAATCGGCCCTCAGGAGTC
CCTGACCGATTCTCTGGCTCCACGTCTGGCACCTCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGACTC
CAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCCTATGACACCAGCCTGAGTGCTTCG
GTATTCGGCGGAGGGACCAGACTGACCGTCCTAGGCCAACCGAAAGCGGCGCCCTCGGTC
ACTCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTC
ATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTC
AAGGCGGGAGTGAGACCACCACACCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGC
AGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTC
ACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA

SEQ ID NO:55

Ab8輕鏈編碼核苷酸序列

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACC
ATCACTTGTGCGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAGCCTGGTTTCAGCAGAAACCA
GGGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAGGTGGGGTCCCATCA
AAGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCT
GAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAAATATTATAATTACCCATTCACTTTCGGCCCT
GGGACCACAGTGGATATCAAACGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA
TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTAT
CCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAG
GAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACG
CTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC
CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

SEQ ID NO:56

Ab1輕鏈氨基酸序列

DIQMTQSPSSLSASLGDRVITICRASQSVDRYFNWYQQKPGKAPKVLIFAASSLQSGVPS
RFGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEVKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:57

Ab2輕鏈氨基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRTISCRASQFIGRYFNWYQQQPGKAPKVLIIYAESSLQSGVPS
RFGSGSGTEFTLTISLQPEDFARYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:58

Ab4輕鏈胺基酸序列

DIVMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQFLIYLGSYRA
SGVPDRFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCIQTLQTPFTFGPGTKVDIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:59

Ab5輕鏈胺基酸序列

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCLOSGSSVPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIF
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:60

Ab6輕鏈胺基酸序列

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGINYVYWYQQLPGTAPKLLIYRSDQRPSGVP
DRFSGSKSGTSASLALSGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVT
LFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAASS
YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:61

Ab7輕鏈胺基酸序列

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVNWYQQFPGTAPKLLIYVNNRPSGV
PDRFSGSTSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDTSLSASVFGGGTRLTVLGQPKAAPSV
TLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNNKYAAS
SYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

SEQ ID NO:62

Ab8輕鏈胺基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASSLQGGVPS
KFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQYYNYFPFTFGPGTTVDIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT
LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

SEQ ID NO:63

Ab1輕鏈可變域胺基酸序列

DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQSVDRYFNWYQQKPGKAPKVLIFAASSLQSGVPS
RFGSGSGGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEVK

SEQ ID NO:64

Ab2輕鏈可變域胺基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTISCRASQFIGRYFNWYQQQPGKAPKVLIIYAESSLQSGVPS
RFSGSGSGTEFTLTISLQPEDFARYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK

SEQ ID NO:65

Ab3輕鏈可變域胺基酸序列

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSFSSNYLAWYQQKPGQAPRLFIYGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYFCQQYGISPCSFQGTKLEIK

SEQ ID NO:66

Ab4輕鏈可變域胺基酸序列

DIVMTQSPPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQFLIYLGSYRA
SGVPDRFSGSGGTDFTLRISRVEAEDVGVYICIQLTQTPFTFGPGTKVDIK

SEQ ID NO:67

Ab5輕鏈可變域胺基酸序列

EIVLTQSPGTLSSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQRPGQAPRLLIYGASSRATGIP
DRFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCLQSGSSVPLTFGGGTKVEIK

SEQ ID NO:68

Ab6輕鏈可變域胺基酸序列

QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGINYVYWYQQLPGTAPKLLIYRSDQRPSGVP
DRFSGSKSGTSASLALSGLRSEADYYCAAWDDSLSGVVFGGGKLTVL

SEQ ID NO:69

Ab7輕鏈可變域胺基酸序列

QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYDVNWYQQFPGTAPKLLIYVNNNRPSGV
PDRFSGSTSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDTSLASVFGGGTRLTVL

SEQ ID NO:70

Ab8輕鏈可變域胺基酸序列

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIIYAASSLQGGVPS
KFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYNYPFTFGPGTTVDIK

SEQ ID NO:71

Ab1輕鏈CDR1胺基酸序列

RASQSVDRYFN

SEQ ID NO:72

Ab2輕鏈CDR1胺基酸序列

RASQFIGRYFN

SEQ ID NO:73

Ab3輕鏈CDR1胺基酸序列

RASQSFSSNYLA

SEQ ID NO:74

Ab4輕鏈CDR1胺基酸序列

RSSQSLNSNGYNYLD

SEQ ID NO:75

Ab5輕鏈CDR1胺基酸序列

RASQSVSSSYLA

SEQ ID NO:76

Ab6輕鏈CDR1胺基酸序列

SGSSSNIGINYVY

SEQ ID NO:77

Ab7輕鏈CDR1胺基酸序列

TGSSSNIGAGYDVN

SEQ ID NO:78

Ab8輕鏈CDR1胺基酸序列

RASQGISNYLA

SEQ ID NO:79

Ab1輕鏈CDR2胺基酸序列

AASSLQS

SEQ ID NO:80

Ab2輕鏈CDR2胺基酸序列

AESSLQS

SEQ ID NO:81

Ab3輕鏈CDR2胺基酸序列

GASSRAT

SEQ ID NO:82

Ab4輕鏈CDR2胺基酸序列

LGSYRAS

SEQ ID NO:83

Ab5輕鏈CDR2胺基酸序列

GASSRAT

SEQ ID NO:84

Ab6輕鏈CDR2胺基酸序列

RSDQRPS

SEQ ID NO:85

Ab7輕鏈CDR2胺基酸序列

VNNNRPS

SEQ ID NO:86

Ab8輕鏈CDR2胺基酸序列

AASSLQG

SEQ ID NO:87

Ab1輕鏈CDR3胺基酸序列

QQSYSTPWT

SEQ ID NO:88

Ab2輕鏈CDR3胺基酸序列

QQSYSTPWT

SEQ ID NO:89

Ab3輕鏈CDR3胺基酸序列

QQYGISPCS

SEQ ID NO:90

Ab4輕鏈CDR3胺基酸序列

IQTLQTPFT

SEQ ID NO:91

Ab5輕鏈CDR3胺基酸序列

LQSGSSVPLT

SEQ ID NO:92

Ab6輕鏈CDR3胺基酸序列

AAWDDSLSGVV

SEQ ID NO:93

Ab7輕鏈CDR3胺基酸序列

QSYDTSLSASV

SEQ ID NO:94

Ab8輕鏈CDR3胺基酸序列

QQYYNYPFT

【圖式簡單說明】

圖1. CD27L抗原結合蛋白質之例示性實施例之功能特徵及物理特徵的概述。

圖2. Ab4 (A4)及Ab8 (A8)及其結合之對應物隨時間內化至786-0細胞中之程度及速率的量測(A)。

圖3.在漸增濃度之抗抗生蛋白鏈菌素-MCC-DM1、Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1存在下培養786-0細胞4天。使用CELL-TITER-GLO試劑量測對細胞生長的影響，該試劑使用發光讀出量測細胞數。

圖4. 786-0異種移植模型中Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1之劑量反應。第24天之靜脈內劑量由所指示劑量處之箭頭表示。

圖5. Caki-1異種移植模型中Ab4-MCC-DM1及Ab8-MCC-DM1之劑量反應。靜脈內給藥時程由箭頭表示。

圖6. Raji異種移植模型中Ab4-MCC-DM1之劑量反應。靜脈內給藥時程由箭頭表示。

圖7. 786-0異種移植模型中Ab4-MCC-DM1之可變劑量反應。

圖8.針對Raji腫瘤細胞之Ab4-MCC-DM1抗體依賴性細胞毒性(ADCC)分析。

圖9.針對Raji與786-0腫瘤細胞之Ab4-MCC-DM1抗體依賴性細胞吞噬(ADCP)分析。

圖10.由掩蔽型IHC評為「陽性」之原始冷凍腫瘤樣品之CD27L表現的比較。結果指示總體CD27L蛋白質表現在

ccRCC患者樣品中最高，其後為DLBCL (彌漫性大B細胞淋巴瘤)、B-CLL及FL樣品。

圖 11. CD27L mRNA及蛋白質表現分析之結果。結果指示RCC、B-NHL及CLL細胞中CD27L表現之高度普遍性。

序列表

<110> 美商安美基公司

<120> CD27L抗原結合蛋白質

<130> A-1437-US-NP

<140> 101134792

<141> 2012-09-21

<150> 61/538,024

<151> 2011-09-22

<160> 94

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 193

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> 人類CD27L

<400> 1

Met Pro Glu Glu Gly Ser Gly Cys Ser Val Arg Arg Arg Pro Tyr Gly
1 5 10 15

Cys Val Leu Arg Ala Ala Leu Val Pro Leu Val Ala Gly Leu Val Ile
20 25 30

Cys Leu Val Val Cys Ile Gln Arg Phe Ala Gln Ala Gln Gln Gln Leu
35 40 45

Pro Leu Glu Ser Leu Gly Trp Asp Val Ala Glu Leu Gln Leu Asn His
50 55 60

Thr Gly Pro Gln Gln Asp Pro Arg Leu Tyr Trp Gln Gly Gly Pro Ala
65 70 75 80

Leu Gly Arg Ser Phe Leu His Gly Pro Glu Leu Asp Lys Gly Gln Leu
85 90 95

Arg Ile His Arg Asp Gly Ile Tyr Met Val His Ile Gln Val Thr Leu
100 105 110

Ala Ile Cys Ser Ser Thr Thr Ala Ser Arg His His Pro Thr Thr Leu
115 120 125

Ala Val Gly Ile Cys Ser Pro Ala Ser Arg Ser Ile Ser Leu Leu Arg
130 135 140

Leu Ser Phe His Gln Gly Cys Thr Ile Ala Ser Gln Arg Leu Thr Pro
145 150 155 160

Leu Ala Arg Gly Asp Thr Leu Cys Thr Asn Leu Thr Gly Thr Leu Leu
165 170 175

Pro Ser Arg Asn Thr Asp Glu Thr Phe Phe Gly Val Gln Trp Val Arg
180 185 190

Pro

<210> 2
<211> 260
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> 人類CD27前驅體

<400> 2

Met Ala Arg Pro His Pro Trp Trp Leu Cys Val Leu Gly Thr Leu Val
1 5 10 15

Gly Leu Ser Ala Thr Pro Ala Pro Lys Ser Cys Pro Glu Arg His Tyr
20 25 30

Trp Ala Gln Gly Lys Leu Cys Cys Gln Met Cys Glu Pro Gly Thr Phe
35 40 45

Leu Val Lys Asp Cys Asp Gln His Arg Lys Ala Ala Gln Cys Asp Pro
50 55 60

Cys Ile Pro Gly Val Ser Phe Ser Pro Asp His His Thr Arg Pro His
65 70 75 80

Cys Glu Ser Cys Arg His Cys Asn Ser Gly Leu Leu Val Arg Asn Cys
85 90 95

Thr Ile Thr Ala Asn Ala Glu Cys Ala Cys Arg Asn Gly Trp Gln Cys
100 105 110

Arg Asp Lys Glu Cys Thr Glu Cys Asp Pro Leu Pro Asn Pro Ser Leu
115 120 125

Thr Ala Arg Ser Ser Gln Ala Leu Ser Pro His Pro Gln Pro Thr His
130 135 140

Leu Pro Tyr Val Ser Glu Met Leu Glu Ala Arg Thr Ala Gly His Met
145 150 155 160

Gln Thr Leu Ala Asp Phe Arg Gln Leu Pro Ala Arg Thr Leu Ser Thr
165 170 175

His Trp Pro Pro Gln Arg Ser Leu Cys Ser Ser Asp Phe Ile Arg Ile
180 185 190

Leu Val Ile Phe Ser Gly Met Phe Leu Val Phe Thr Leu Ala Gly Ala
195 200 205

Leu Phe Leu His Gln Arg Arg Lys Tyr Arg Ser Asn Lys Gly Glu Ser
210 215 220

Pro Val Glu Pro Ala Glu Pro Cys His Tyr Ser Cys Pro Arg Glu Glu
225 230 235 240

Glu Gly Ser Thr Ile Pro Ile Gln Glu Asp Tyr Arg Lys Pro Glu Pro
245 250 255

Ala Cys Ser Pro
260

<210> 3
<211> 1350
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc feature
<223> Abl重鏈編碼核苷酸序列

<400> 3
cagatgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggigaagc cctcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctgatgg ctccatcatt agtggigtit actactggag ctggatccgc 120
cagcaccagc ggaaggccct ggagtggtat ggatacatt attacagtgg gagcacctcc 180
tacaaccgtt ccctcaagag tgcacttacc atgtcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tccttgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgaggagt 300
ggatacagct atgccccttt tgactactgg ggccaggga ccttgggtac cgtctcctca 360
gctagcacca agggcccttc cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag caccctctgg 420
ggcacagcgg ccttgggctg ccttggtaag gactacttcc ccgaaccgtt gacggtgtcg 480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtccctc 540
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg caccagagcc 600
tacatctgca acgttgatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgta acaaaactca cacatgcccc ccttggccag caccctgaact cctgggggga 720
ccgtcagttt tctcttcccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatttc ccggacccct 780
gaggtcactt gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtaaa gtccaacttg 840
tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaaag ccgaggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc ggttgggtcag cgtccctacc gtccctgacc aggactggct gaatggcaag 960
gagtacaagt gcaaggcttc caacaagacc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcctccatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accagggtcag cctgacctgc ctggtaaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccggt 1200
ctggactccg acggtctctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1260
cagcagggga acgtctcttc atgtccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccaactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 4
<211> 1350
<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> misc_feature

<223> Ab2重鏈編碼核苷酸序列

<400> 4

```

caggatgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggatgaagc ctacacagac cctgtccctc   60
accatgcacig tcctctggga ctccatcatc agtgggtgggt actactggag ctggatccgc   120
cagcaccagcag ggaaggccct ggagtggtat gggtacatct ttacagtgag gagcaccgac   180
tacaaccctgt cctcaagag tgcagtiacc atalcagtag acacgtctaa gaaccagtic   240
tccctgaagc tgcagctcgt gactgccgcg gacacggccg tatattactg tgcaggaggt   300
ggatcagact atgccccttt tgaccactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca   360
gctagcacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacccttggt   420
ggcacagcgg ccttggtgtg ccttggtcaag gactacttcc ccgaaccgtt gacgggtgtc   480
tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcctca   540
ggactctact cctcagcag cgtggtagc gtgccctcca gcagcttggg caccagacc   600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttagagcc   660
aaatcttgtg aaaaaactca cacatgccca ccgtgccag caccitgaact cctgggggga   720
ccgtcagict tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgalttc ccggaccct   780
gaggcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gtccaactgg   840
tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaaag ccggggagga gcagtacaac   900
agcacgtacc gtgtggtagc cgtcttccac gtctctgacc aggaactggt gaatggcaag   960
gagtaacaat gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc  1020
aaagccaaag ggcagccccg agaaccacag ggttacaccc tgcctccatc ccgggaggag  1080
atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggatcaag gcttctatcc cagcgacatc  1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccc gagaacaact acaagaccac gcctccctgt  1200
ctggactccg acggctcctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg  1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg  1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa  1350

```

<210> 5

<211> 1359

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> misc_feature

<223> Ab4重鏈編碼核苷酸序列

<400> 5

```

caggatgcagc tggatggagtc tgggggaggc gtgtgtccagc ctgggaggtc cctgagactc   60
tccctgtcag cgtctggatt caccitcagt aactatggca tacactgggt ccgccaggct   120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtaig atggaagtaa taaatactat   180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagcgtgtat   240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagatgga   300

```

```

ggatatactg gctacgaltc ggggttllgac tactggggcc aggggaacctt ggtcaccgtc 360
tcctcagcta gcaccaaggc cccatccgtc ttccccctgg caccctcttc caagagcacc 420
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgtcgttga actcaggcgc cctgaccagc ggcgigcaca ccttcccgcc tgtcctacag 540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag ctggggcacc 600
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaa cccagcaaca ccaagggtga caagaaagtt 660
gagcccaaat ctgttgacaa aactcacaca tggccaccgt gccagcacc tgaactcctg 720
gggggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcat gatctcccg 780
acccctgagg tcacatgcgt ggtgtgtggc gtgagccacg aagacctga ggtcaagttc 840
aactggtacg tggacggcgt ggagggtgat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctccaccgtc tgcaccagga ctggctgaat 960
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccct cgagaaaacc 1020
atctccaag ccaaagggca gccccgagaa ccacagggtt acacctgtcc cccatcccg 1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagccct accgtccctg tcaaaggctt ctatccagc 1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgcct 1200
cccgtgtcgg acitccagcg ctctctcttc ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc 1260
agggtgcagc aggggaacgt ctctctatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
tacacgcaga agagcccttc cctgtctccg ggtaaatga 1359

```

<210> 6
<211> 1371
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab5重鏈編碼核苷酸序列

```

<400> 6
cagggtgcagc tgggtgcagc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg ctctcggata caccctcacc agttatgata tcaactgggt gcgacaggcc 120
actggacaag ggccttgagt gatgggatgg atgaacccta acagtggtaa cacaggctat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accaggaaca cctccalaag cacagcctac 240
atggagciga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagagggtac 300
gatcttttga gtggttatta ctactactac tacggtatgg acgtctgggg ccaaggggacc 360
acggtcaccg tctctcagc tagcaccaag ggcccatccg tcttccccct ggcaccctcc 420
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc 480
gaaccggiga cgggtgtcgt gaactcaggc gcccagacca gcggcgtgca caccctcccg 540
gctgtcctac agtctcagg acitctatcc ctacagcagc tggtagacct gccctccagc 600
agcttgggca cccagacctt calctgcaac gigaatcaca agcccagcaa caccaagggt 660
gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgccacc gtgccagca 720
cctgaactcc tggggggacc gtcagtcttc ctcttcccc caaaacccaa ggacaccctc 780

```

```

atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc gtgggtgggg acgigagcca cgaagaccct      840
gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg      900
cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag      960
gactggctga atggcaagga gtacaagtgc aaggctctca acaaagccct cccagccccc     1020
atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg cagccccgag aaccacaggt gtacaccctg     1080
cccccatccc gggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaagg     1140
ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac     1200
aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggcctcctct tctctatag caagctcacc     1260
gtggacaaga gcaggtggca gcaggggaac gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct     1320
ctgcacaacc actacacgca gaagagcctc tccctgtctc cgggtaaaatg a              1371

```

<210> 7
 <211> 1356
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc feature
 <223> Ab6重鏈編碼核苷酸序列

```

<400> 7
caggttcagc tgggtcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc      60
tcttgcaagg ctcttggtta caccctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc     120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggta cacacactat     180
gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac     240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagactac     300
ggiggtaacg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc     360
tcagctagca ccaaggggcc atccgtcttc cccctggcac cctctctcaa gagcacctct     420
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg     480
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc     540
tcaggactct actccctcag cagcgtggig accgtgccct ccagcagctt gggcaccacg     600
acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag     660
cccaaattct gtgacaaaac tcacacatgc ccaccgtgcc cagcacctga actcctgggg     720
ggaccgtcag tcttctcttt cccccaaaaa cccaaggaca ccttcattat ctcccgacc     780
cctgaggica catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagtccaac     840
tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaaagcaa agccgcggga ggagcagtac     900
aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcttc accgtctctg accaggactg gctgaatggc     960
aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gcctctccag ccccatcga gaaaaccatc     1020
tccaaagcca aagggcagcc ccgagaacca caggtgtaca ccttgcccc atcccgggag     1080
gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcttggtca aaggcttcta tcccagcgac     1140
atcccgctgg agtgggagag caatgggcag ccggagaaca actacaagac cagccctccc     1200
gtgttggaat ccgacggctc tttcttctc tatagcaagc tcaccgtgga caagagcagg     1260
tggcagcagg ggaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggcctgca caaccactac     1320

```

acgcagaaga gccctccct gtcctcgggt aaatga

1356

<210> 8
<211> 1350
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab7重鏈編碼核苷酸序列

<400> 8
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ggggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggcctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180
ggagactccg tgaaggcccg atcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagagataac 300
agtcactact actacgggat ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360
gctagcacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggg 420
ggcacagcgg ccctgggctg cctgggtcaag gactacttcc ccgaaccggt gacgggtgtc 480
tggaaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggctgtcct acagtcttca 540
ggactctact ccttcagcag cgtgggtgacc gggccctcca gcagcttggg caccagacc 600
tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 660
aaatcttgig acaaaaacta cacatgccca ccgtgccagc caccitgaact cctgggggga 720
ccgtcagttt tctcttcccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt 780
gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc caccgaagacc ctgagggtcaa gticaactgg 840
tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac 900
agcacgtacc gtgtggtcag cgtcttacc gtcctgcacc aggaactggct gaattggcaag 960
gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1020
aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgcacctatc ccgggaggag 1080
atgaccaaga accagggtcag cctgacctgc ctgggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1140
gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1200
ctggactccg acggctcctt ctctctctat agcaagctca ccgtggacaa gagcagggtg 1260
cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg 1320
cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa 1350

<210> 9
<211> 1356
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab8重鏈編碼核苷酸序列

<400> 9
cagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ggggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

```

tctgtgcag cgtctggatt caccitcagl agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcaglt atatgglatg atggaagtga taaatacitt 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccalc tccagagaca attccaagaa cacgctglat 240
ctgcaaalga acagcctgag agccgaggac acggetgtgt attactgtgc gagagatggg 300
atagcaggag ctgcttacgt ctactttgac tactggggcc aggggaaccct ggicaccgtc 360
tcttcagcta gcaccaaggg cccatccgtc ttccccctgg caccctctc caagagcacc 420
tctgggggca cagcgccctt gggtgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgicgtgga actcaggcgc cctgaccagc ggctgacaca ccttcccggc tgcctacag 540
tcttcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag ctggggcacc 600
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt 660
gagcccaaat ctgtgacaa aactcacaca tgcctaccgt gcccagcacc tgaactcctg 720
gggggaccgt cagtcttctt ctcccccca aaaccaagg acacctcal gatctcccg 780
acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag 900
tacaacagca cglaccgtgt ggtcagcgtc ctaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 960
ggcaaggagt acaagtgcga ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc 1020
atctccaaag ccaaagggca gcccggagaa ccacaggigt acacctgcc cccatcccg 1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgccctg tcaaaggctt ctatcccagc 1140
gacatgcccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactlaca gaccacgct 1200
cccgctgtgg actccgacgg ctccttcttc ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc 1260
agggtggcagc aggggaacgt ctctcaltgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggtaaa 1356

```

<210> 10
 <211> 450
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Abl重鏈氨基酸序列

<400> 10

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asp Gly Ser Ile Ile Ser Gly
20 25 30

Val Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Ser Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

```

370          375          380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385          390          395          400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405          410          415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420          425          430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435          440          445

Gly Lys
450

<210> 11
<211> 450
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2重鏈氨基酸序列

<400> 11
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln
1          5          10          15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ile Ser Gly
20          25          30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35          40          45

Trp Ile Gly Tyr Ile Phe Tyr Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser
50          55          60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65          70          75          80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85          90          95

Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Ser Tyr Ala Leu Phe Asp His Trp Gly Gln
100          105          110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115          120          125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130          135          140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145          150          155          160

```

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 12
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab4重鏈氨基酸序列

<400> 12

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

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

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser Gly Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 13
<211> 456
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> Ab5重鏈氨基酸序列

<400> 13

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35	40	45
Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly		
	100	105
Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
	115	120
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr		
	130	135
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
	165	170
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
	180	185
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile		
	195	200
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val		
	210	215
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
225	230	235
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
	245	250
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
	260	265
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
	275	280
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
	290	295
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
305	310	315
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
	325	330

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
340 345 350

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
355 360 365

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
370 375 380

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
385 390 395 400

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
405 410 415

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
420 425 430

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
435 440 445

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455

<210> 14
<211> 451
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab6重鏈氨基酸序列

<400> 14

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr His Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Gly Asn Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 15
<211> 450
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab7重鏈氨基酸序列

<400> 15

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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly 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 Arg Asp Asn Ser His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly 225 230 235 240		
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile 245 250 255		
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu 260 265 270		
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His 275 280 285		
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg 290 295 300		
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys 305 310 315 320		
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu 325 330 335		
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr 340 345 350		
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu 355 360 365		
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp 370 375 380		
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val 385 390 395 400		
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp 405 410 415		
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His 420 425 430		
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro 435 440 445		
Gly Lys 450		

<210> 16
 <211> 452
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC FEATURE
 <223> Ab8重鏈氨基酸序列
 <400> 16



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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Phe 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 Arg Asp Gly Ile Ala Gly Ala Arg Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

<210> 17
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Abl重鏈可變域胺基酸序列
<400> 17

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Asp Gly Ser Ile Ile Ser Gly
20 25 30

Val Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Ser Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95



Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Ser Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 18
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2重鏈可變域胺基酸序列
<400> 18

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Asp Ser Ile Ile Ser Gly
20 25 30

Gly Tyr Tyr Trp Ser Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu
35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Phe Tyr Ser Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Pro Ser
50 55 60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
85 90 95

Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Ser Tyr Ala Leu Phe Asp His Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab3重鏈可變域胺基酸序列
<400> 19

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 Val Ile Ser Asp Ser Gly Gly Thr Thr Asp 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	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg His Asp Tyr Ser Asn Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln		
	100	105
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120

<210> 20
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab4重鏈可變域胺基酸序列

<400> 20

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr		
	20	25
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
	50	55
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg Asp Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser Gly Phe Asp Tyr Trp		
	100	105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	115	120

<210> 21
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<223> Ab5重鏈可變域胺基酸序列

<400> 21

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 22

<211> 121

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab6重鏈可變域胺基酸序列

<400> 22

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr His Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Tyr Gly Gly Asn Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 23
<211> 120
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab7重鏈可變域胺基酸序列

<400> 23

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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly 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 Arg Asp Asn Ser His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 24
<211> 122
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab8重鏈可變域胺基酸序列

<400> 24

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

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

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Phe 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 Arg Asp Gly Ile Ala Gly Ala Arg Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 25
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab1重鏈CDR1胺基酸序列
<400> 25

Ser Gly Val Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 26
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2重鏈CDR1胺基酸序列
<400> 26

Ser Gly Gly Tyr Tyr Trp Ser
1 5

<210> 27
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab3重鏈CDR1胺基酸序列
<400> 27

Ser Tyr Ala Met Ser
1 5

<210> 28
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab4重鏈CDR1胺基酸序列

<400> 28

Asn Tyr Gly Ile His
1 5

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab5重鏈CDR1胺基酸序列

<400> 29

Ser Tyr Asp Ile Asn
1 5

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab6重鏈CDR1胺基酸序列

<400> 30

Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 31

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab7重鏈CDR1胺基酸序列

<400> 31

Thr Tyr Gly Met His
1 5

<210> 32

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab8重鏈CDR1胺基酸序列

<400> 32

Ser Tyr Gly Met His
1 5

<210> 33

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab1重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 33

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

<210> 34
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 34

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

<210> 35
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab3重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 35

Val Ile Ser Asp Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 36
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab4重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 36

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 37
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Ab5重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 37

Trp Met Asn Pro Asn Ser Gly Asn Thr Gly Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 38

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Ab6重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 38

Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Tyr Thr His Tyr Ala Gln Lys Leu Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 39

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Ab7重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 39

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC FEATURE

<223> Ab8重鏈CDR2胺基酸序列

<400> 40

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asp Lys Tyr Phe Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 41

<211> 10

<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab1重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 41

Ser Gly Tyr Ser Tyr Ala Leu Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 42
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 42

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

<210> 43
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab3重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 43

His Asp Tyr Ser Asn Arg Tyr Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 44
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab4重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 44

Asp Gly Gly Tyr Ser Gly Tyr Asp Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 45
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab5重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 45

Gly Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 46
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> Ab6重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 46
Asp Tyr Gly Gly Asn Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 47
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> Ab7重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 47
Asp Asn Ser His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val
1 5 10

<210> 48
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> Ab8重鏈CDR3胺基酸序列

<400> 48
Asp Gly Ile Ala Gly Ala Arg Tyr Val Tyr Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 49
<211> 642
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab1輕鏈編碼核苷酸序列

<400> 49
gacatccaga igaccacgtc tccatcctcc ctgtctgcat ctttaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gagcgttgac agatatttca attggatca gcagaaacct 120
gggaaagccc ctaaggtcct gatcittgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggilcggig gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agctacagta ccccgaggac gttcggccaa 300



```

gggaccaagg tggaaagtaa acgtacggig gctgcacat ctgtcttcat ctcccccca 360
tctgatgagc agltgaaatc tggaaatgcc tctgttgtgt gccctgtgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggig gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gccctagcag caccctgacg 540
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

```

<210> 50
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Ab2輕鏈編碼核苷酸序列

```

<400> 50
gacatccaga tgacccagtc cccatccctcc ctgtctgcat ctglaggaga cagagtcacc 60
aiccagtigcc gggcaagica gticattggc agatatttca attggtatca gcagcaacca 120
gggaaagccc ctaaggctct gatctatgtc gaatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
agattcagtg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caagatacta ctgtcaacag agttacagta ccccgctggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa acgtacggig gctgcacat ctgtcttcat ctcccccca 360
tctgatgagc agltgaaatc tggaaatgcc tctgttgtgt gccctgtgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaaggig gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gccctagcag caccctgacg 540
ctgagcaaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

```

<210> 51
 <211> 660
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> Ab4輕鏈編碼核苷酸序列

```

<400> 51
gatattgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgtca cccctggaga gccggcctcc 60
atctccctga ggtctagica gagcctccctg aatagtaatg gatacaacta ttggattgg 120
taccctcaga agccagggca gtctccacag ttcctgatct atttgggttc ttatcgggcc 180
tccggggctc ctgacagggt cagtggcagt ggaacaggca cagattttac actgagaatc 240
agcagagtgg aggcagagga tgttgggggt tattactgta tacaactctt acaaaactca 300
ttcactttcg gccctgggac caaagtggat atcaaacgta cggctggctgc accatctgtc 360
ttcactttcc cggcatctga tgagcaglig aaatctggaa ctgctctgtg tgtgtgccig 420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cggcctccaa 480

```

tcggglaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
agcagcacc cgcagctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgccigcgaa 600
gtcacccatc agggcctgag ctgccccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag 660

<210> 52
<211> 651
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab5輕鏈編碼核苷酸序列

<400> 52
gaaattgtgt tgacgcagtc tcctggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctccigca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaga 120
cctggccagg ctcccaggct cctcatctat gggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180
gacaggltca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagtctggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtt ttactgtctg cagtctggta gctctgtccc gctcacttcc 300
ggcggaggga ccaaggltga galcaaactg acggtggctg caccatctgt ctctacttcc 360
ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga actgcctctg ttgtgtgctt gctgaataac 420
ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg aagggtgata acgccctcca atcgggtaac 480
tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc aaggacagca cctacagcct cagcagcacc 540
ctgacgttga gcaaagcaga ctacgagaaa cacaaagtct acgccigcga agtcacccat 600
cagggcctga gctgccccgt cacaagagag ttcaacaggg gagagtgtta a 651

<210> 53
<211> 651
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab6輕鏈編碼核苷酸序列

<400> 53
cagtctgtgc tgactcagcc accctcagcg tcctgggaccc ccgggcagag ggltaccatc 60
tctgttctg gaagcagctc caacatcgga attaattatg tatacttgta ccagcagctc 120
ccaggaacgg ccccaaaact cctcatctat aggagtgaac agcggccctc aggggtccct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccctcag tgggtccgg 240
tccgaggatg aggcigtatt ttactgtgca gcatgggatg acagcctgag tgggtgtgtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtctca ggccaaccga aagcggcgcc ctggtcact 360
ctgttcccgc cctcccttga ggagcttcaa gccacaagg ccacactggt ggtgtcata 420
agtacttct acccgggagc cgtgacagtg gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag 480
gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540
tatctgagcc tgacgcctga gcagtggaaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600
catgaaggga gcaccgttga gaagacagtg gccctacag aatgttcata g 651

<210> 54
<211> 651
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab7輕鏈編碼核苷酸序列

<400> 54
cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctggggccc cagggcagag ggfcaccatc 60
tcttgacttg ggagcagctc caacatcggg gcagggtatg atgtaaattg gtatcagcag 120
ttcccaggaa cagcccccaa actcctcctc tatgttaaca acaatcggcc ctccaggagtc 180
cctgaccgat tctctggctc cagctctggc acctcagcct cccctggccat cactggacac 240
caggctgagg atgaggctga ttattactgc cagtcctatg acaccagcct gactgcttcg 300
gtattcggcg gagggaccag actgaccgtc ctaggccaac cgaaagcggc gccctcggtc 360
actctgttcc cgcctcctctc tgaggagctt caagccaaca aggccacact ggtgtgtctc 420
ataagtgact tctaccgggg agccgtgaca gtggcctgga aggcagatag cagccccgtc 480
aaggcgggag tggagaccac cacaccctcc aaacaaagca acaacaagta cgcggccagc 540
agctatctga gcctgacgcc tgagcagtgg aagtcaccac gaagctacag ctgccaggtc 600
acgcataaag ggagcaccgt ggagaagaca gtggccccca cagaatgttc a 651

<210> 55
<211> 645
<212> DNA
<213> 智人

<220>
<221> misc_feature
<223> Ab8輕鏈編碼核苷酸序列

<400> 55
gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgtc gggcgagtc gggcattagc aattatttag cctgggttca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaagggtg ggtcccatca 180
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tattataatt acccattcac ttccggccct 300
gggaccacag tggatatcaa acgtacgggtg gctgcacat ctgtcttcac ctcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgc tctgttgtgt gcctgcctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtcga gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gttag 645

<210> 56
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab1輕鏈氨基酸序列

<400> 56

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Tyr
20 25 30

Phe Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val 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

<210> 57

<211> 214

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> Ab2輕鏈氨基酸序列

<400> 57

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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Ile Gly Arg Tyr
20 25 30

Phe Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Glu Ser Ser 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 Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln 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

<210> 58
<211> 219
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab4輕鏈氨基酸序列

<400> 58

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

35 40 45
 Pro Gln Phe Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
 65 70 75 80
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Thr
 85 90 95
 Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 59
 <211> 216
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab5輕鏈氨基酸序列

<400> 59

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Gly Ser Ser Val
85 90 95

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 60
<211> 216
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab6輕鏈氨基酸序列

<400> 60

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Ser Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Leu Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
 100 105 110
 Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
 115 120 125
 Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
 130 135 140
 Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
 145 150 155 160
 Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
 165 170 175
 Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
 180 185 190
 Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
 195 200 205
 Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
 210 215
 <210> 61
 <211> 217
 <212> PRT
 <213> 智人
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab7輕鏈氨基酸序列
 <400> 61
 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
 1 5 10 15
 Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30
 Tyr Asp Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45
 Leu Ile Tyr Val Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60
 Ser Gly Ser Thr Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Thr Ser
 85 90 95
 Leu Ser Ala Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110
 Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
 115 120 125



Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
130 135 140

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
145 150 155 160

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
165 170 175

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
180 185 190

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
195 200 205

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 62
<211> 214
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC FEATURE
<223> Ab8輕鏈氨基酸序列

<400> 62

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 Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Lys 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 Tyr Tyr Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Asp 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

<210> 63
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab1輕鏈可變域胺基酸序列

<400> 63

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Tyr
 20 25 30
 Phe Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Phe Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly 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 Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Val Lys
 100 105

<210> 64
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab2輕鏈可變域胺基酸序列

<400> 64

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 Ser Cys Arg Ala Ser Gln Phe Ile Gly Arg Tyr
 20 25 30
 Phe Asn Trp Tyr Gln Gln Gln Pro Gly Lys Ala Pro Lys Val Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Glu Ser Ser 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 Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Arg Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 65
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab3輕鏈可變域氨基酸序列
 <400> 65

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Phe
 35 40 45
 Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Gly Ile Ser Pro
 85 90 95
 Cys Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 66
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab4輕鏈可變域氨基酸序列
 <400> 66

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Phe Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Arg Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ile Gln Thr
85 90 95

Leu Gln Thr Pro Phe Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105 110

<210> 67
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab5輕鏈可變域胺基酸序列

<400> 67

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Gly Ser Ser Val
85 90 95

Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 68
<211> 110
<212> PRT
<213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab6輕鏈可變域胺基酸序列

<400> 68

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn
 20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

Ile Tyr Arg Ser Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Leu Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 69
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab7輕鏈可變域胺基酸序列

<400> 69

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
 20 25 30

Tyr Asp Val Asn Trp Tyr Gln Gln Phe Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
 35 40 45

Leu Ile Tyr Val Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

Ser Gly Ser Thr Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
 65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Thr Ser
 85 90 95

Leu Ser Ala Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 70

<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab8輕鏈可變域胺基酸序列

<400> 70

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 Gly Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly Gly Val Pro Ser Lys 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 Tyr Tyr Asn Tyr Pro Phe
85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Thr Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 71
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab1輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 71

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Arg Tyr Phe Asn
1 5 10

<210> 72
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 72

Arg Ala Ser Gln Phe Ile Gly Arg Tyr Phe Asn
1 5 10

<210> 73
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab3輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 73

Arg Ala Ser Gln Ser Phe Ser Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 74
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab4輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 74

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asn Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp
1 5 10 15

<210> 75
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab5輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 75

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 76
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab6輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 76

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ile Asn Tyr Val Tyr
1 5 10

<210> 77
<211> 14
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab7輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 77

Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly Tyr Asp Val Asn
1 5 10

<210> 78
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab8輕鏈CDR1胺基酸序列

<400> 78

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 79
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab1輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 79

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab2輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 80

Ala Glu Ser Ser Leu Gln Ser
1 5

<210> 81
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab3輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 81

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 82
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab4輕鏈CDR2胺基酸序列

```

<400> 82
Leu Gly Ser Tyr Arg Ala Ser
1          5

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab5輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 83
Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1          5

<210> 84
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab6輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 84
Arg Ser Asp Gln Arg Pro Ser
1          5

<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab7輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 85
Val Asn Asn Asn Arg Pro Ser
1          5

<210> 86
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab8輕鏈CDR2胺基酸序列

<400> 86
Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gly
1          5

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

```

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab1輕鏈CDR3胺基酸序列
 <400> 87
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 88
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab2輕鏈CDR3胺基酸序列
 <400> 88
 Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr
 1 5

<210> 89
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab3輕鏈CDR3胺基酸序列
 <400> 89
 Gln Gln Tyr Gly Ile Ser Pro Cys Ser
 1 5

<210> 90
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab4輕鏈CDR3胺基酸序列
 <400> 90
 Ile Gln Thr Leu Gln Thr Pro Phe Thr
 1 5

<210> 91
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> Ab5輕鏈CDR3胺基酸序列
 <400> 91
 Leu Gln Ser Gly Ser Ser Val Pro Leu Thr
 1 5 10



<210> 92
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab6輕鏈CDR3胺基酸序列

<400> 92
Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Ser Gly Val Val
1 5 10

<210> 93
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab7輕鏈CDR3胺基酸序列

<400> 93
Gln Ser Tyr Asp Thr Ser Leu Ser Ala Ser Val
1 5 10

<210> 94
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> Ab8輕鏈CDR3胺基酸序列

<400> 94
Gln Gln Tyr Tyr Asn Tyr Pro Phe Thr
1 5

七、申請專利範圍：

1. 一種CD27L抗原結合蛋白質，其包含輕鏈可變域及重鏈可變域，其中該輕鏈可變域包含如SEQ ID NO:74所示或具R1K-S3G突變之SEQ ID NO:74之LCDR1序列；如SEQ ID NO:82所示或具L1I-Y4F突變之SEQ ID NO:82之LCDR2序列；及如SEQ ID NO:90所示或具Q2N-T3S突變之SEQ ID NO:90之LCDR3序列；且該重鏈可變域包含如SEQ ID NO:28所示或具N1S-I4M修飾之SEQ ID NO:28之HCDR1；如SEQ ID NO:36所示之HCDR2序列；及如SEQ ID NO:44所示之HCDR3序列。
2. 如請求項1之CD27L抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白質以小於或等於 2×10^{-11} M之親和力特異性地結合人類CD27L。
3. 如請求項1或2之CD27L抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白質會抑制CD27L與CD27之結合。
4. 如請求項1或2之CD27L抗原結合蛋白質，其中該輕鏈可變域包含SEQ ID NO:66所示之胺基酸序列。
5. 如請求項1或2之CD27L抗原結合蛋白質，其中該重鏈可變域包含SEQ ID NO:20所示之胺基酸序列。
6. 如請求項1或2之CD27L抗原結合蛋白質，其中該抗原結合蛋白質為抗體。
7. 如請求項6之CD27L抗原結合蛋白質，其中該抗體為人類抗體。
8. 如請求項7之CD27L抗原結合蛋白質，其包含輕鏈及重

鏈，其中該輕鏈包含SEQ ID NO:58所示之胺基酸序列且該重鏈包含SEQ ID NO:12所示之胺基酸序列。

9. 如請求項1或2之CD27L抗原結合蛋白質，其中該CD27L抗原結合蛋白質係共軛至化學治療劑。
10. 如請求項9之CD27L抗原結合蛋白質，其中連接子將該化學治療劑共軛至該CD27L抗原結合蛋白質。
11. 如請求項10之CD27L抗原結合蛋白質，其中該連接子為不可裂解的连接子。
12. 如請求項11之CD27L抗原結合蛋白質，其中該連接子包含MCC。
13. 如請求項10之CD27L抗原結合蛋白質，其中該化學治療劑係共軛至該CD27L抗原結合蛋白質之多肽所含之一或多個離胺酸。
14. 如請求項9之CD27L抗原結合蛋白質，其中該化學治療劑為DM1。
15. 一種包含如請求項14之CD27L抗原結合蛋白質之組合物，其中每個CD27L抗原結合蛋白質之DM1分子之平均數目介於1與10之間。
16. 如請求項15之組合物，其中每個CD27L抗原結合蛋白質之DM1分子之平均數目介於3與7之間。
17. 如請求項16之組合物，其中每個CD27L抗原結合蛋白質之DM1分子之平均數目介於4與6之間。
18. 如請求項16之組合物，其中每個CD27L抗原結合蛋白質之DM1分子之平均數目為約4.0、約4.1、約4.2、約4.3、

約 4.4、約 4.5、約 4.6、約 4.7、約 4.8、約 4.9、約 5.0、約 5.1、約 5.2、約 5.3、約 5.4、約 5.5、約 5.6、約 5.7、約 5.8、約 5.9 或約 6.0。

19. 如請求項 15 至 18 中任一項之組合物，其中該組合物為包含治療有效量之該 CD27L 抗原結合蛋白質的醫藥組合物。

20. 如請求項 19 之組合物，其中該醫藥組合物係經冷凍乾燥。

21. 一種可編碼多肽之經分離核酸，該多肽包含：

a) 輕鏈可變域，其具有 SEQ ID NO:66 所示之胺基酸序列；及

重鏈可變域，其具有 SEQ ID NO:20 所示之胺基酸序列；或

b) 包含以下之輕鏈可變域：

具有 SEQ ID NO:74 所示或具 R1K-S3G 突變之 SEQ ID NO:74 之 LCDR1 序列的 LCDR1；具有 SEQ ID NO:82 所示或具 L1I-Y4F 突變之 SEQ ID NO:82 之 LCDR2 序列的 LCDR2；及具有 SEQ ID NO:90 所示或具 Q2N-T3S 突變之 SEQ ID NO:90 之 LCDR3 序列的 LCDR3；及

包含以下之重鏈可變域：

具有 SEQ ID NO:28 所示或具 N1S-I4M 修飾之 SEQ ID NO:28 之 HCDR1 序列的 HCDR1；具有 SEQ ID NO:36 所示之 HCDR2 序列的 HCDR2；及具有 SEQ ID NO:44 所示之 HCDR3 序列的 HCDR3。

22. 如請求項21之經分離核酸，其中該多肽包含抗體輕鏈。
23. 如請求項22之經分離核酸，其中該輕鏈係由包含與SEQ ID NO:51所示之核苷酸序列至少80%一致之核苷酸序列的核酸編碼。
24. 如請求項23之經分離核酸，其中該輕鏈係由包含與SEQ ID NO:51所示之核苷酸序列至少90%一致之核苷酸序列的核酸編碼。
25. 如請求項24之經分離核酸，其中該輕鏈係由包含與SEQ ID NO:51所示之核苷酸序列至少95%一致之核苷酸序列的核酸編碼。
26. 如請求項25之經分離核酸，其中該輕鏈係由包含SEQ ID NO:51所示之核苷酸序列的核酸編碼。
27. 如請求項21之經分離核酸，其中該多肽包含抗體重鏈。
28. 如請求項27之經分離核酸，其中該重鏈係由包含與SEQ ID NO:5所示之核苷酸序列至少80%一致之核苷酸序列的核酸編碼。
29. 如請求項28之經分離核酸，其中該重鏈係由包含與SEQ ID NO:5所示之核苷酸序列至少90%一致之核苷酸序列的核酸編碼。
30. 如請求項29之經分離核酸，其中該重鏈係由包含與SEQ ID NO:5所示之核苷酸序列至少95%一致之核苷酸序列的核酸編碼。
31. 如請求項30之經分離核酸，其中該重鏈係由包含SEQ ID NO:5所示之核苷酸序列的核酸編碼。

32. 一種表現載體，其包含如請求項21至31中任一項之經分離核酸。
33. 如請求項32之表現載體，其中該經分離核酸係編碼抗體輕鏈。
34. 如請求項32之表現載體，其中該經分離核酸係編碼抗體重鏈。
35. 如請求項33之表現載體，其另外包含編碼抗體重鏈之經分離核酸。
36. 一種重組宿主細胞，其包含經操作性連接至啟動子之如請求項21至31中任一項之經分離核酸。
37. 一種重組宿主細胞，其包含如請求項33或34之表現載體。
38. 如請求項37之重組宿主細胞，其中該宿主細胞包含如請求項33或34之表現載體。
39. 如請求項38之重組宿主細胞，其中該宿主細胞會分泌可結合CD27L之抗體。
40. 如請求項36至39中任一項之之重組宿主細胞，其中該細胞源於哺乳動物。
41. 如請求項40之重組宿主細胞，其中該細胞為中國倉鼠卵巢(Chinese hamster ovary; CHO)細胞株。
42. 一種製備CD27L抗體藥物共軛物之方法，該方法包含以下步驟：
 - a)提供如請求項1至8中任一項之CD27L抗原結合蛋白質；

- b)使該CD27L抗原結合蛋白質共軛至連接子；及
 - c)使藥物共軛至該連接子。
43. 一種製備CD27L抗體藥物共軛物之方法，該方法包含以下步驟：
- a)提供如請求項1至8中任一項之CD27L抗原結合蛋白質；及
 - b)使經共價結合至藥物之連接子共軛至該CD27L抗原結合蛋白質。
44. 如請求項42或43之方法，其中該連接子包含MCC。
45. 如請求項42或43之方法，其中該藥物包含DM1。
46. 一種如請求項1至8中任一項之CD27L抗原結合蛋白質之用途，其係用於製造用以治療有其需要患者之癌症的藥劑。
47. 如請求項46之用途，其中該CD27L抗原結合蛋白質為抗體。
48. 如請求項47之用途，其中醫藥組合物包含該抗體。
49. 如請求項48之用途，其中該抗體包含經增強之效應子功能。
50. 如請求項48之用途，其中該醫藥組合物包含抗體藥物共軛物之群體。
51. 如請求項50之用途，其中該抗體藥物共軛物包含MCC連接子。
52. 如請求項50或51之用途，其中該抗體藥物共軛物包含DM1。

53. 如請求項52之用途，其中每個抗體之DM1分子之平均數目介於1與10之間。
54. 如請求項53之用途，其中每個抗體之DM1分子之平均數目介於3與7之間。
55. 如請求項54之用途，其中每個抗體之DM1分子之平均數目介於4與6之間。
56. 如請求項54之用途，其中每個抗體之DM1分子之平均數目為約4.0、約4.1、約4.2、約4.3、約4.4、約4.5、約4.6、約4.7、約4.8、約4.9、約5.0、約5.1、約5.2、約5.3、約5.4、約5.5、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9或約6.0。
57. 如請求項46至51中任一項之用途，其中自該患者之樣品係測試CD27L表現。
58. 如請求項57之用途，其中該樣品係測試CD27L mRNA表現。
59. 如請求項57之用途，其中該樣品係測試CD27L蛋白質表現。
60. 如請求項57之用途，其中該樣品為血液樣品。
61. 如請求項57之用途，其中該樣品為活組織切片(biopsy)。
62. 如請求項46至51中任一項之用途，其中該癌症為腎細胞癌(RCC)、透明細胞RCC、頭頸癌、膠質母細胞瘤、乳癌、腦腫瘤、鼻咽癌、非霍奇金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)、急性淋巴球性白血病(acute

lymphocytic leukemia ; ALL)、慢性淋巴球性白血症 (chronic lymphocytic leukemia ; CLL)、伯基特氏淋巴瘤 (Burkitt's lymphoma)、退行性大細胞淋巴瘤 (anaplastic large-cell lymphomas ; ALCL)、多發性骨髓瘤、皮膚T細胞淋巴瘤、結節性小裂細胞淋巴瘤、淋巴球性淋巴瘤、周邊T細胞淋巴瘤、倫納特淋巴瘤 (Lennert's lymphoma)、免疫母細胞淋巴瘤、T細胞白血症/淋巴瘤 (ATLL)、成人T細胞白血症 (T-ALL)、中心母細胞性/中心細胞性 (cb/cc)濾泡性淋巴瘤、B細胞系彌漫性大細胞淋巴瘤、血管免疫母細胞淋巴瘤腺病 (AILD)樣T細胞淋巴瘤、HIV相關之以體腔為主的淋巴瘤、胚胎癌、鼻咽型未分化癌、卡斯爾曼氏病 (Castleman's disease)、卡波西氏肉瘤 (Kaposi's Sarcoma)、多發性骨髓瘤、瓦爾登斯特倫氏巨球蛋白血症 (Waldenstrom's macroglobulinemia) 或其他B細胞淋巴瘤。

63. 如請求項62之用途，其中該癌症為RCC。
64. 如請求項62之用途，其中該癌症為NHL。
65. 如請求項62之用途，其中該癌症為CLL。
66. 一種如請求項1至8中任一項之CD27L抗原結合蛋白質之用途，其係用於製造用以治療有其需要患者之自體免疫或發炎病症的藥劑。
67. 如請求項66之用途，其中該自體免疫或發炎病症為全身性紅斑狼瘡 (systemic lupus erythematosus ; SLE)、胰島素依賴性糖尿病 (insulin dependent diabetes mellitus ;

68. 如請求項66之用途，其中該治療會抑制或預防該患者之移植排斥反應。

69. 如請求項66之用途，其中該治療會抑制或預防移植物抗宿主疾病 (graft versus host disease; GVHD)。