



(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 I839050 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 04 月 11 日

(21)申請案號：111150450

(22)申請日：中華民國 108 (2019) 年 04 月 01 日

(51)Int. Cl. : C07K16/28 (2006.01)

A61K39/395 (2006.01)

A61P37/02 (2006.01)

(30)優先權：2018/04/02 美國

62/651,605

(71)申請人：美商必治妥美雅史谷比公司 (美國) BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (US)
美國

(72)發明人：帕辛 阿查爾 PASHINE, ACHAL (US)；高斯林 麥克 L GOSSELIN, MICHAEL L. (US)；亞尼克 亞倫 P YAMNIUK, AARON P. (CA)；荷姆斯 德瑞克 A HOLMES, DEREK A. (US)；陳 國棟 CHEN, GUODONG (US)；馬蒂亞 帕楊卡 阿葡瓦 MADIA, PRIYANKA APURVA (IN)；黃 宇徵 HUANG, RICHARD YU-CHENG (US)；卡爾 史蒂芬 麥可 CARL, STEPHEN MICHAEL (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 103501825A

WO 2016/009086A1

期刊 William R Strohl. Optimization of Fc-mediated effector functions of monoclonal antibodies. Curr Opin Biotechnol. 20(6). Epub 2009 Nov 4. 685-691.

審查人員：張茜毓

申請專利範圍項數：21 項 圖式數：16 共 216 頁

(54)名稱

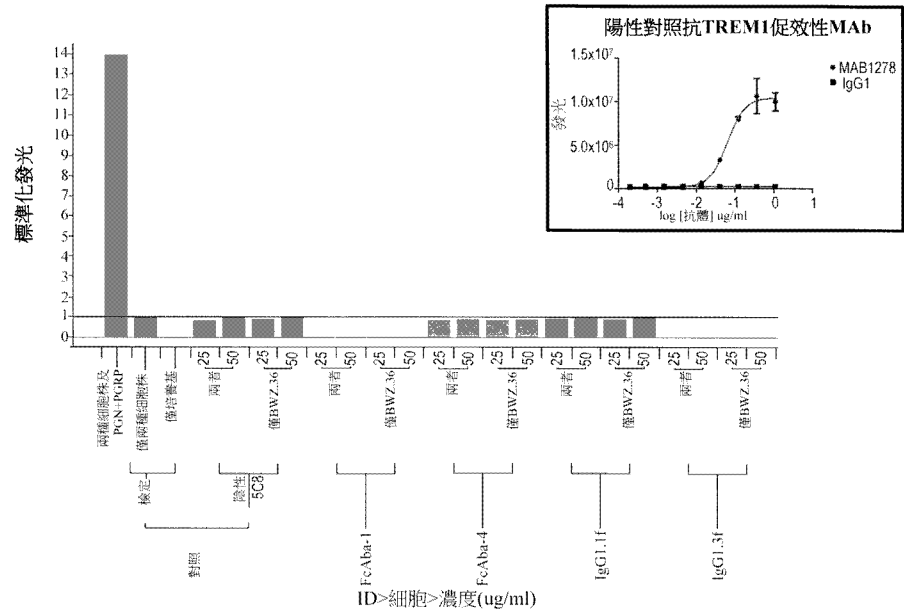
抗 TREM-1 抗體及其用途

(57)摘要

本發明提供特異性結合 TREM-1 且抑制 TREM-1 信號傳導之抗體或其抗原結合部分，其中該等抗體不結合至一或多種 FcγR 且不誘導骨髓細胞產生發炎性細胞介素。亦提供該等抗體或其抗原結合部分在諸如自體免疫疾病治療之治療應用中之用途。

Provided herein are antibodies, or antigen-binding portions thereof, that specifically bind and inhibit TREM-1 signaling, wherein the antibodies do not bind to one or more FcγRs and do not induce the myeloid cells to produce inflammatory cytokines. Also provided are uses of such antibodies, or antigen-binding portions thereof, in therapeutic applications, such as treatment of autoimmune diseases.

指定代表圖：



【圖3】



I839050

【發明摘要】

【中文發明名稱】

抗TREM-1抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-TREM-1 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【中文】

本發明提供特異性結合TREM-1且抑制TREM-1信號傳導之抗體或其抗原結合部分，其中該等抗體不結合至一或多種FcγR且不誘導骨髓細胞產生發炎性細胞介素。亦提供該等抗體或其抗原結合部分在諸如自體免疫疾病治療之治療應用中之用途。

【英文】

Provided herein are antibodies, or antigen-binding portions thereof, that specifically bind and inhibit TREM-1 signaling, wherein the antibodies do not bind to one or more FcγRs and do not induce the myeloid cells to produce inflammatory cytokines. Also provided are uses of such antibodies, or antigen-binding portions thereof, in therapeutic applications, such as treatment of autoimmune diseases.

【指定代表圖】

圖3

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

抗TREM-1抗體及其用途

【英文發明名稱】

ANTI-TREM-1 ANTIBODIES AND USES THEREOF

【技術領域】

本發明係關於抗TREM-1抗體及其用途。

【先前技術】

【0001】 TREM-1為表現於單核球、巨噬細胞及嗜中性白血球上之活化受體。此等細胞在慢性發炎性疾病中藉由釋放細胞介素及驅動發炎之其他介質而起主要作用。TREM-1 mRNA及蛋白質表現在患有風濕性關節炎(RA)及發炎性腸病(IBD)之患者中上調，且TREM-1-陽性細胞在發炎部位處聚積，此係與疾病嚴重性相關。參見Bouchon等人, *Nature* 410:1103-1107 (2001)；Schenk等人, *Clin Invest* 117:3097-3106 (2007)；及Kuai等人, *Rheumatology* 48:1352-1358 (2009)。主要藉由經活化之嗜中性白血球表現之肽聚糖識別蛋白1 (PGLYRP1)為用於TREM-1之配位體且在結合時介導TREM-1信號傳導。

【0002】 在活體外，TREM-1結合觸發包括TNF、IL-8及單核球趨化蛋白-1之促炎性細胞介素之分泌。另外，TREM-1信號傳導與多個類鐸受體(TLR)協同以進一步增強促炎性信號。之後，此上調TREM-1表現，導致擴大發炎之惡性循環。參見Bouchon等人, *J Immunol* 164:4991-4995 (2000)。愈來愈多之證據指示TLR造成諸如RA及IBD之慢性發炎性疾病之罹患及進展。

【0003】已在其他地方揭示抑制人類TREM-1及食蟹獼猴TREM-1兩者功能之人類化抗TREM-1 mAb。參見WO 2013/120553 A1及WO 2016/009086 A1。然而，該等抗體具有可能妨礙製造過程之黏度分佈或具有可能限制其治療潛能之其他問題(例如細胞介素風暴(cytokine storm)及ADCC)。參見Shire等人, *J. Pharm. Sci.* 93:1390-1402 (2004); 及Warncke等人, *J Immunol.* 188:4405-11 (2012)。因此，需要可特異性結合至TREM-1且抑制TREM-1功能但不具有前面抗TREM-1抗體之問題之抗TREM-1抗體。

【發明內容】

【0004】本文提供特異性結合表現於骨髓細胞上之觸發受體-1 (TREM-1)且具有所需功能特性之經分離之抗體，諸如單株抗體，詳言之人類(例如單株)抗體。在一些實施例中，抗體包含重鏈可變區(VH)、輕鏈可變區(VL)及IgG1重鏈恆定區，其中IgG1重鏈恆定區相較於野生型IgG1重鏈恆定區(SEQ ID NO: 9)包含一或多種胺基酸取代。在一些實施例中，抗體與mAb 0318交叉競爭結合以阻斷TREM-1，且包含重鏈可變區(VH)、輕鏈可變區(VL)及IgG1重鏈恆定區，其中IgG1重鏈恆定區相較於野生型IgG1重鏈恆定區(SEQ ID NO: 9)包含一或多種胺基酸取代。

【0005】在一些實施例中，抗體與mAb 0318結合相同之TREM-1抗原決定基。在一些實施例中，抗體特異性結合至包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸殘基之TREM-1抗原決定基：SEQ ID NO: 1之D38、V39、K40、C41、D42、Y43、T44、L45、E46、K47、F48、A49、S50、S51、Q52、K53、A54、W55、Q56、Y90、H91、D92、H93、G94、L95及L96。在一些實施例中，抗體特異性結合至包含SEQ ID NO:

1之胺基酸D38至L45、E46至Q56及/或Y90至L96之TREM-1抗原決定基。

【0006】在一些實施例中，本文所揭示之抗體之IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、L234A、L235E、G237A、D356E及L358M。在一些實施例中，IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、L234A、L235E、G237A、A330S、P331S、D356E及L358M。在一些實施例中，IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、C226S、C229S及P238S。在一些實施例中，IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S。

【0007】在一些實施例中，本文所揭示之抗體包含重鏈CDR1、CDR2及CDR3以及輕鏈CDR1、CDR2及CDR3，其中重鏈CDR3包含DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)或除了有一或兩種取代之DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)。在一些實施例中，重鏈CDR3包含DQGIRRQFAY (SEQ ID NO: 72)。

【0008】在一些實施例中，本文所揭示之抗體包含重鏈CDR1、CDR2及CDR3以及輕鏈CDR1、CDR2及CDR3，其中重鏈CDR2包含RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)或除了有一或兩種取代之RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)。

【0009】在一些實施例中，本文所揭示之抗體包含重鏈CDR1、CDR2及CDR3以及輕鏈CDR1、CDR2及CDR3，其中重鏈CDR1包含

TYAMH (SEQ ID NO: 24)或除了有一或兩種取代之TYAMH (SEQ ID NO: 24)。

【0010】在一些實施例中，本文所揭示之抗體包含重鏈CDR1、CDR2及CDR3以及輕鏈CDR1、CDR2及CDR3，其中輕鏈CDR1包含RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)或除了有一或兩種取代之RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)。在一些實施例中，輕鏈CDR2包含RASNLES (SEQ ID NO: 28)或除了有一或兩種取代之RASNLES (SEQ ID NO: 28)。在一些實施例中，輕鏈CDR3包含QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)或除了有一或兩種取代之QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)。

【0011】在一些實施例中，本文所揭示之抗體之VH包含與闡述為SEQ ID NO: 14之胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致性的胺基酸序列。在一些實施例中，本文所揭示之抗體之VL包含與闡述為SEQ ID NO: 15之胺基酸序列具有至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、至少約99%或約100%一致性的胺基酸序列。在一些實施例中，VH及VL分別包含SEQ ID NO: 14及SEQ ID NO: 15。

【0012】在一些實施例中，本發明之抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈包含SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53。在一些實施例中，輕鏈包含SEQ ID NO: 54。

【0013】本文提供特異性結合至TREM-1之經分離之抗體，其包含重鏈CDR1、CDR2、CDR3；輕鏈CDR1、CDR2、CDR3；及IgG1重鏈恆

定區，其中重鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含TYAMH (SEQ ID NO: 24)、RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)及DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)；其中輕鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)、RASNLES (SEQ ID NO: 28)及QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)；且其中IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之L234A、L235E及G237A。

【0014】本文提供特異性結合至TREM-1之經分離之抗體，其包含重鏈CDR1、CDR2、CDR3；輕鏈CDR1、CDR2、CDR3；及IgG1重鏈恆定區，其中重鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含TYAMH (SEQ ID NO: 24)、RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)及DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)；其中輕鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)、RASNLES (SEQ ID NO: 28)及QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)；且其中IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之胺基酸取代：根據EU編號之L234A、L235E、G237A、A330S及P331S。

【0015】本文提供特異性結合至TREM-1之經分離之抗體，其包含重鏈CDR1、CDR2、CDR3；輕鏈CDR1、CDR2、CDR3；及IgG1重鏈恆定區，其中重鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含TYAMH (SEQ ID NO: 24)、RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)及DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)；其中輕鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)、RASNLES (SEQ ID NO: 28)及QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)；且其中IgG1重鏈恆定區包含選自由

以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、C226S、C229S及P238S。

【0016】本文提供特異性結合至TREM-1之經分離之抗體，其包含重鏈CDR1、CDR2、CDR3；輕鏈CDR1、CDR2、CDR3；及IgG1重鏈恆定區，其中重鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含TYAMH (SEQ ID NO: 24)、RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)及DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)；其中輕鏈CDR1、CDR2及CDR3分別包含RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)、RASNLES (SEQ ID NO: 28)及QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)；且其中IgG1重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S。

【0017】在一些實施例中，TREM-1包含SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 3或SEQ ID NO: 7之胺基酸序列。

【0018】在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，本發明之抗體對FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32)、FcγRIIB (CD32)、FcγRIIIA (CD16a)、FcγRIIIB (CD16b)或其任何組合具有降低之結合親和力。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，該抗體對FcγRI (CD64)具有降低至少兩倍、至少三倍、至少四倍、至少五倍、至少六倍、至少七倍、至少八倍、至少九倍或至少10倍之結合親和力。

【0019】在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，本文所揭示之抗體具有較少免疫原性。在一些實施例中，抗體在結合至TREM-1後且在不存在刺激劑之情況下不促效TREM-1信號傳導。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，當在存在抗體之情況下及在不存在刺激劑之情況下培育細胞時，抗體不誘導發炎性細胞介素於未成熟樹突狀細胞(iDC)中之表現。

【0020】在一些實施例中，當在存在抗體及刺激劑兩者之情況下活化細胞時，本文所揭示之抗體阻斷細胞中之發炎性細胞介素之產生。在一些實施例中，刺激劑為TREM-1配位體。在一些實施例中，發炎性細胞介素選自由以下組成之群：IL-6、TNF- α 、IL-8、IL-1 β 、IL-12、類殼質酶-3蛋白1 (CHI3L1)及其組合。

【0021】在一些實施例中，本發明之抗體以pH依賴性方式結合人類FcRn、食蟹獼猴FcRn及/或小鼠FcRn。在一些實施例中，如藉由毛細管示差掃描熱析儀(CAP-DSC)所量測，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的參考抗體相比，本文所揭示之抗體更具有熱穩定性。在一些實施例中，當將抗體加熱至77°C時，約10%至20%、約20%至30% (例如24%)或約30%至40%之抗體為可逆的。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，該抗體具有更高之熔融溫度(T_m)。

【0022】在一些實施例中，本文所揭示之抗體在80 mg/mL濃度下之

黏度小於5 cP、小於4 cP、小於3 cP、小於2.5 cP、小於2.4 cP、小於2.3 cP、小於2.2 cP、小於2.1 cP、小於2 cP、小於1.9 cP、小於1.8 cP、小於1.7 cP、小於1.6 cP、小於1.5 cP、小於1.4 cP、小於1.3 cP、小於1.2 cP、小於1.1 cP、小於1.0 cP、小於0.9 cP、小於0.8 cP、小於0.7 cP、小於0.6 cP、小於0.5 cP、小於0.4 cP、小於0.3 cP、小於0.2 cP或小於0.1 cP。在一些實施例中，抗體在130 mg/mL濃度下之黏度小於10 cP (例如9 cP)。

【0023】在一些實施例中，抗體結合至如藉由Biacore所量測 K_D 小於4 nM (例如3.4 nM)之人類TREM-1。在一些實施例中，抗體結合至如藉由Biacore所量測 K_D 小於1 nM (例如0.91 nM)之食蟹獼猴TREM-1。

【0024】在一些實施例中，如藉由粒徑篩析高效液相層析法(SE-HPLC)所觀測，抗體為單體抗體。在一些實施例中，如藉由二維液相層析法串聯質譜法(2D-LC/MS)或使用液相層析法串聯質譜法(LC/MS)進行之完整質量分析所觀測，抗體展現最低程度之片段化風險。在一些實施例中，抗體之等電點為8至9 (例如8.75)。

【0025】在一些實施例中，抗體在包含組胺酸、蔗糖、精胺酸及NaCl之調配物中為穩定的。在一些實施例中，抗體在包含20 mM組胺酸、150 mM蔗糖、25 mM精胺酸及50 mM NaCl之調配物中穩定至少2個月。在一些實施例中，調配物之pH為6.0且/或其中調配物儲存於4°C、25°C或40°C下。

【0026】本文亦提供包含本發明之抗TREM-1抗體之雙特異性分子，其連接至具有第二結合特異物之分子。

【0027】本文提供編碼本文所揭示之抗體之核酸、包含核酸之載體

及經載體轉化之細胞。

【0028】 本文提供免疫接合物，其包含連接至藥劑之本文所揭示之抗TREM-1抗體。

【0029】 本文提供包含本文所描述之抗TREM-1抗體或其抗原結合部分、雙特異性分子或免疫接合物及載劑之組合物。本文亦提供包含本文所描述之抗TREM-1抗體或其抗原結合部分、雙特異性分子或免疫接合物及使用說明書之套組。

【0030】 本文提供抑制有需要之個體中之TREM-1活性之方法，其包含投與本發明之抗TREM-1抗體、雙特異性分子、核酸、載體、細胞或免疫接合物。

【0031】 本文提供治療有需要之個體之發炎性疾病或自體免疫疾病之方法，其包含投與本發明之抗TREM-1抗體、雙特異性分子、核酸、載體、細胞或免疫接合物。在一些實施例中，發炎性疾病或自體免疫疾病選自由以下組成之群：發炎性腸病(IBD)、克羅恩氏病(Crohn's disease；CD)、潰瘍性結腸炎(UC)、大腸急躁症、類風濕性關節炎(RA)、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、狼瘡性腎炎、血管炎、敗血症、全身性發炎反應症候群(SIRS)、I型糖尿病、格雷氏病(Grave's disease)、多發性硬化症(MS)、自體免疫心肌炎、川崎病(Kawasaki disease)、冠狀動脈疾病、慢性阻塞性肺病、間質性肺病、自體免疫甲狀腺炎、硬皮病、全身性硬化症、骨關節炎、異位性皮膚炎、白斑病、移植物抗宿主病、休格倫氏症候群(Sjogren's syndrome)、自體免疫腎炎、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)、慢性發炎脫髓鞘型多發性神經病變、過敏、哮喘、由急性或慢性發炎引起之其他自體免疫疾病及其任

何組合。在一些實施例中，該方法進一步包含投與一或多種額外之治療劑。在一些實施例中，額外之治療劑為抗IP-10抗體或抗TNF- α 抗體。

【圖式簡單說明】

【0032】圖1A及1B顯示所有mAb 0318變異體均利用與原始mAb 0318抗體(IgG4)之親和力類似之親和力結合至人類TREM-1及食蟹獼猴TREM-1。圖1A顯示318-IgG1.3f變異體對人類TREM-1 (頂列)及食蟹獼猴TREM-1 (底列)兩者之結合親和力資料。圖1B顯示若干不同mAb 0318變異體對人類TREM-1之結合親和力資料。所示不同變異體包括：(i) 318-IgG1.1f、(ii) 318-IgG1.3f、(iii) 318-IgG4-Aba、(iv) 318-IgG1-Aba及(v) 318-IgG1.1f (M至Q突變體)。出於比較目的，圖1B中提供mAb 0318抗體(IgG4 A及B)之結合親和力資料。

【0033】圖2A及2B顯示在TREM-1結合之後之各種時間點mAb 0318-IgG1.3f在結合至表現於CD14+單核球上之TREM-1時的內化。在圖2A中，在結合之後0、6及24小時時分析TREM-1受體表現。在圖2B中，在結合之後0、4及20小時時分析TREM-1受體表現。圖2B亦提供使用不與0318抗體變異體競爭結合至TREM-1之TREM26抗體之資料。一旦TREM-1受體內化(例如不論其降解或再循環回至表面)，則使用TREM26抗體以評估其之命運。

【0034】圖3顯示如藉由BWZ/hTREM-1報導體細胞檢定所量測，當將報導體細胞株與CHO-CD32一起培育(「兩者」)或不與其一起培育(「僅BWZ 36」)時，mAb 0318變異體均不促效TREM-1信號傳導。所示變異體抗體包括：(i) 318-IgG1.1f (「IgG1.1f」)、(ii) 318-IgG1.3f (「IgG1.3f」)、(iii) 318-IgG4-Aba (「FcAba-4」)、(iv) 318-IgG1-Aba

(「FcAba-1」)。作為TREM-1信號傳導之已知促效劑之MAB1278抗體用作陽性對照抗體(參見插入盒)。5C8 (同型對照)抗體用作陰性對照。

【0035】圖4顯示不同mAb 0318變異體在阻斷藉由不同人類細胞進行之TREM-1介導之發炎性細胞介素產生時的效力。圖4中所示之mAb 0318抗體變異體抑制TREM-1介導之發炎性細胞介素(例如TNF- α 、IL-6或IL-8)自不同人類細胞類型：PBMC、單核球、嗜中性白血球及RBC沈降之全血(亦即使用如實例中所描述之基於聚葡萄糖之RBC沈降方案移除的大部分紅細胞)中的釋放。為產生發炎性細胞介素，用缺乏TLR2活性之盤結合之PGRP1及可溶性肽聚糖(「PGRP + PGN-Ecndss」)或表現PGRP1之佛波醇12-肉豆蔻酸酯13-乙酸酯(PMA)刺激之嗜中性白血球(「PMA-Stim嗜中性白血球內源性PGRP」)刺激細胞。所示變異體抗體包括：(i) 0318-IgG4、(ii) 0318-IgG1.3f、(iii) 0318-IgG1.1f、(iv) 0318-IgG1-Aba及(v) 318-IgG4-Aba。「N/D」指示未測定特定發炎性細胞介素之表現量。

【0036】圖5A及5B顯示mAb 0318-IgG1.3f阻斷在存在NOD2抑制劑之情況下經具有或不具有PGRP1之PGN刺激之後由全血產生IL-8之效力。圖5A提供使用如實例中所描述之全血藥效動力學檢定生成之抑制資料。圖5B提供使用如實例中所描述之全血細胞內細胞介素檢定生成之抑制資料。

【0037】圖6A至6C顯示在存在變化濃度之mAb 0318-IgG1.3f (0-1 nM)之情況下來自經刺激之全血之類殼質酶-3蛋白1 (「CHI3L1」) (圖6A)、IL-1 β (圖6B)及IL-6 (圖6C)的RNA表現量。全血係自三種不同供體(#126、#290及#322)收集且經缺乏TLR2活性之可溶性PGRP1及可溶性肽

聚糖(「可溶性PGRP + 可溶性PGN-Ecndss」)刺激。在圖6A至6C中之各者中，RNA表現量(y軸)顯示為抑制%(右欄)及 $\Delta\Delta Ct$ (參考基因值與測試樣品值之間之差) (左欄)兩者。0318-IgG1.3f抗體之不同濃度顯示在x軸上。

【0038】圖7顯示318-IgG1.1f (方塊)及318-IgG1.3f (圓形)變異體抗體兩者之黏度-濃度分佈。黏度分佈係使用Rheosense m-VROC動態黏度計在恆定溫度下對於各點使用3點剪切拂掠由稀釋流程產生。實線提供對於所示資料之最佳非線性曲線擬合。虛線顯示對於功效之最大可允許黏度水準。

【0039】圖8顯示318-IgG1.1f及318-IgG1.3f變異體抗體兩者均具有低至中等免疫原性風險。VL6 (免疫原性IL-21R mAb)及KLH (匙孔螺血氰蛋白)用作陽性對照。阿瓦斯汀(Avastin)用作陰性對照。

【0040】圖9A及9B顯示所有mAb 0318變異體均能夠以pH依賴性方式結合至FcRn (人類(黑色)、食蟹獼猴(白色)及小鼠(灰色))。圖9A提供呈% R最大值形式之FcRn結合(最大FcRn結合力)。圖9B提供呈感測器圖譜形式之FcRn結合。所示0318抗體變異體包括：(i) IgG1-Aba、(ii) IgG4-Aba、(iii) IgG1.1f及(iv) IgG1.3f。出於比較目的，亦顯示mAb 0318 (IgG4)抗體。

【0041】圖10A及10B顯示所有mAb 0318抗體變異體均展現與人類Fc γ R (亦即CD64、CD32a-H131變異體、CD32a-R131變異體、CD32b、CD16a-V158變異體及CD16B-NA2變異體)中之一或多個之減少結合。圖10A顯示呈% R最大值形式之結合親和力(最大Fc γ R結合力)。圖10B顯示感測器圖譜。所示0318抗體變異體包括：(i) IgG1-Aba、(ii) IgG4-Aba、(iii) IgG1.1f及(iv) IgG1.3f。出於比較目的，顯示mAb 0318 (IgG4)抗

體。1F4-已知結合至多種Fc γ R之hIgG1f抗體用作對照。

【0042】圖11A至11I顯示如藉由在與未成熟樹突狀細胞一起培養時釋放不同發炎性細胞介素(例如IL-6、TNF- α 及IL-12)所量測，0318變異體抗體自身(亦即在不存在刺激物之情況下)不具有促效性。圖11A、11B及11C分別提供對於自供體D179、D276及D341分離之未成熟樹突狀細胞之所產生IL-6之量。圖11D、11E及11F分別提供對於自供體D179、D276及D341分離之未成熟樹突狀細胞之所產生TNF- α 之量。圖11G、11H及11I分別提供對於自供體D179、D276及D341分離之未成熟樹突狀細胞之所產生IL-12之量。所示0318抗體變異體包括：(i) IgG1.1f、(ii) IgG1.3f及(iii) IgG1-Aba。所用抗體之劑量(μ g/mL)顯示於括號內。在具有及不具有表現膜CD32a之CHO細胞之情況下將未成熟樹突狀細胞與抗TREM-1抗體變異體一起培養(以刺激Fc交聯)。PGRP+PGN、CD40L三聚體(「三聚體」)及Pfizer之抗CD40促效劑抗體(「CP870」)用作陽性對照。同型抗體(「CHIL-6」)用作陰性對照。虛線顯示檢定之最低偵測極限。

【0043】圖12顯示在皮下投與之後食蟹獼猴中之單次劑量mAb 0318-IgG1.3f變異體之藥物動力學。動物中之各者接受以下劑量中之一種：(i) 0.1 mg/kg (n=4) (「1」)、(ii) 0.5 mg/kg (n=4) (「2」)、(iii) 2 mg/kg (n=3) (「3」)或(iv) 10 mg/kg (n=4) (「4」)。資料顯示為平均值 $\pm$ 標準差。

【0044】圖13顯示用於描述食蟹獼猴中之藥物動力學(PK)、藥效動力學(PD)及受體佔用(RO)資料之目標介導之藥物處置示意圖。

【0045】圖14A及14B顯示在單次劑量(皮下(sc)或靜脈內(iv)投與)之mAb 0318-IgG1.3f變異體之後食蟹獼猴中之單核球(圖14A)及粒細胞(圖

14B)上之總TREM-1受體密度。TREM-1受體密度顯示為在投與抗體之前之TREM-1受體密度百分比。動物中之各者接受以下劑量中之一種：(a) 0.1 mg/kg (sc) (n=4) (「A」)、(b) 0.5 mg/kg (n=4) (sc) (「B」)、(c) 2 mg/kg (n=3) (sc) (「C」)、(d) 2 mg/kg (n=3) (iv) (「D」)或(e) 10 mg/kg (n=4) (sc) (「E」)。資料顯示為平均值±標準差。

【0046】圖15A及15B顯示在單次劑量之mAb 0318-IgG1.3f變異體之後食蟹獼猴中之單核球(圖15A)及粒細胞(圖15B)上之TREM-1受體佔用。受體佔用資料顯示為表現於該等細胞上之總TREM-1受體百分比。動物中之各者接受以下劑量中之一種：(a) 0.1 mg/kg (sc) (n=4) (「A」)、(b) 0.5 mg/kg (n=4) (sc) (「B」)、(c) 2 mg/kg (n=3) (sc) (「C」)、(d) 2 mg/kg (n=3) (iv) (「D」)或(e) 10 mg/kg (n=4) (sc) (「E」)。資料顯示為平均值±標準差。虛線顯示85%受體佔用。

【0047】圖16A及16B顯示由具有於中央隔室中之TMDD之2室PK模型所描述，在單次劑量之mAb 0318-IgG1.3f變異體之後食蟹獼猴中之所觀測(開口圓)及模型所預測(實線)之PK (左上圖)、PD (右上圖)、RO (左下圖)及總表面TREM-1受體表現(右下圖)。在圖16A中，猴中之各者皮下接受0.1 mg/kg單次劑量之抗體。在圖16B中，動物皮下接受10 mg/kg單次劑量之抗體。

【實施方式】

經由EFS-WEB以電子方式提交之序列表之參考

【0048】與本申請一起申請之ASCII正文檔案(名稱：3338_092PC01_SeqListing.txt；大小：106,162個位元組；及創建日期：2019年3月27日)中之以電子方式提交之序列表的內容以全文引用之方式併

入本文中。

【0049】為使本說明書可更易於理解，首先定義某些術語。額外定義闡述於整個實施方式中。

【0050】應注意，術語「一(a/an)」實體係指一或多個(種)彼實體；舉例而言，「一核苷酸序列」應理解為表示一或多個核苷酸序列。因此，術語「一(a/an)」、「一或多個(種)」及「至少一個(種)」可在本文中互換使用。

【0051】此外，本文所使用之「及/或」應視為兩種指定特點或組分中之各者具有或不具有另一者之具體揭示內容。因此，如在本文中之諸如「A及/或B」之片語中所使用之術語「及/或」意欲包括「A及B」、「A或B」、「A」(單獨)及「B」(單獨)。同樣，如在諸如「A、B及/或C」之片語中所使用之術語「及/或」意欲涵蓋以下態樣中之各者：A、B及C；A、B或C；A或C；A或B；B或C；A及C；A及B；B及C；A (單獨)；B (單獨)；及C (單獨)。

【0052】應理解，每當在本文中用語言「包含」描述態樣時，亦提供以術語「由……組成」及/或「主要由……組成」描述之其他類似態樣。

【0053】除非另外定義，否則本文所使用之所有技術及科學術語均具有與本發明相關領域之一般技術者通常所理解之含義相同之含義。舉例而言，the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 第2版, 2002, CRC Press；The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 第3版, 1999, Academic Press；及the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 經修訂, 2000,

Oxford University Press提供技術者以具有本發明中所使用之多個術語之通用詞典。

【0054】單位、前綴及符號係以其國際單位制(Système International de Unites ; SI)接受之形式表示。數值範圍包括界定該範圍之數值。除非另外指示，否則核苷酸序列沿5'至3'方向自左向右書寫。胺基酸序列沿胺基至羧基方向自左向右書寫。本文所提供之標題並非對本發明之各種態樣之限制，其可藉由參考本說明書而整體得出。因此，下文緊接著定義之術語係藉由參考本說明書而全部得到更完全地定義。

【0055】術語「約」在本文中用於意謂大致、大約、約……區域或在……區域內。當術語「約」與數值範圍結合使用時，其藉由擴展邊界高於或低於所闡述數值來修飾彼範圍。一般而言，術語「約」可以例如10%上下(更高或更低)之變動修飾數值高於及低於所陳述值。

【0056】術語「表現於骨髓細胞上之觸發受體1」(亦稱為TREM1、TREM-1及CD354)係指表現於單核球、巨噬細胞及嗜中性白血球上之受體。用於TREM-1之初級配位體包括屬於肽聚糖(PGN)結合蛋白(PGRP)家族之肽聚糖識別蛋白1 (PGLYRP1)。當活化時，TREM-1與含ITAM之信號傳導轉接蛋白DAP12締合。下游信號傳導可包括活化NFAT轉錄因子，導致促炎性細胞介素產生上調。術語「TREM-1」包括天然地由細胞表現之TREM-1之任何變異體或同功異型物。因此，在一些實施例中，本文所描述之抗體可與來自除人類以外之物種之TREM-1 (例如食蟹獼猴TREM-1)交叉反應。

【0057】已鑑別出三種人類TREM-1之同功異型物。同功異型物1 (寄存編號NP_061113.1 ; SEQ ID NO: 1)由234種胺基酸組成且表示典型

序列。同功異型物2 (寄存編號NP_001229518.1；SEQ ID NO: 2)由225種胺基酸組成且不同於胺基酸殘基201-234處之典型序列。胺基酸殘基編碼部分跨膜域及細胞質域。同功異型物3 (寄存編號NP_001229519；SEQ ID NO: 3)由150種胺基酸組成且為可溶的。其缺乏編碼跨膜域、細胞質域及部分細胞外域之胺基酸殘基151-234。胺基酸殘基138-150亦不同於上文所描述之典型序列。

【0058】 以下為三種已知人類TREM-1同功異型物之胺基酸序列。

(A)人類TREM-1同功異型物1 (寄存編號NP_061113.1；SEQ ID NO: 1；由核苷酸序列編碼，該核苷酸序列具有寄存編號NM_018643；SEQ ID NO: 4)：

MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLDVKCDYTLEKFASSQKAWQIIRDGEMPKT
LA
CTERPSKNSHPVQVGRIILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKG
FSGTPGSNENSTQNVYKIPPTTTKALCPLYTSPRTVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTNVTDIIRVPVF
NIVILLAGGFLSKSLVFSVLFAVTLRSFVP (信號序列加有下劃線)；

(B)人類TREM-1同功異型物2 (寄存編號NP_001229518.1；SEQ ID NO: 2；由核苷酸序列編碼，該核苷酸序列具有寄存編號NM_001242589；SEQ ID NO: 5)：

MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLDVKCDYTLEKFASSQKAWQIIRDGEMPKT
LA
CTERPSKNSHPVQVGRIILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKG
FSGTPGSNENSTQNVYKIPPTTTKALCPLYTSPRTVTQAPPKSTADVSTPDSEINLTNVTDIIRYSFQ
VPGPLVWTLSPFLFPSLCAERM (信號序列加有下劃線)；

(C)人類TREM-1同功異型物3 (寄存編號NP_001229519；SEQ ID NO: 3；由核苷酸序列編碼，該核苷酸序列具有寄存編號NM_001242590；SEQ ID NO: 6)：

MRKTRLWGLLWMLFVSELRAATKLTEEKYELKEGQTLDVKCDYTLEKFASSQKAWQIIRDGEMPKT
LA
CTERPSKNSHPVQVGRIILEDYHDHGLLRVRMVNLQVEDSGLYQCVIYQPPKEPHMLFDRIRLVVTKG
FRCSTLSFSWLVD (信號序列加有下劃線)。

【0059】預測食蟹獼猴TREM-1蛋白(寄存編號XP_001082517；SEQ ID NO: 7)具有以下胺基酸序列：

MRKTRLWGLLWMLFVSELRATTELTEEKYEYKEGQTLEVKCDYALEKYANSRKAWQKMEGKMPKILAK
TERPSENSHPVQVGRITLEDYPDHGLLQVQMTNLQVEDSGLYQCVIYQHPKESHVLFNPICLVVTKGS
SGTPGSSENSTQNVYRTPSTTAKALGPRYTSPTVTQAPPESTVVVSTPGSEINLTNVTDIIRVPVFN
IVIIIVAGGFLSKSLVFSVLFAVTLRSFGP (信號序列加有下劃線)。

【0060】本發明係關於特異性結合TREM-1且阻斷TREM-1功能之抗體。抗體藉由減少/阻斷TREM-1活化及下游信號傳導來阻斷TREM-1功能。

【0061】本發明之抗TREM-1抗體藉助於若干種不同機制中之一種或組合來阻斷TREM-1信號傳導，從而直接地或間接地阻斷TREM-1。在一個實施例中，抗體防止TREM-1之天然配位體肽聚糖識別蛋白1 (PGLYRP1)與TREM-1產生功能性複合物。在另一實施例中，抗體藉由防止個別TREM-1分子形成二聚體或多聚體來阻斷TREM-1。在一些實施例中，由能夠結合至以其他方式滯留於TREM-1二聚體介面中之TREM-1之一部分之抗TREM-1抗體減少或防止TREM-1二聚合或多聚合，因此防止個別TREM-1分子彼此締合。在其他實施例中，由干擾TREM-1與其配位體相互作用之抗TREM-1抗體減少或防止TREM-1二聚合或多聚合。

【0062】在一些實施例中，抗TREM-1抗體可阻斷PGLYRP1誘導之TREM-1活化。PGLYRP1為由信號肽及肽聚糖結合域組成之高度保守之196個胺基酸長度之蛋白，其表現於嗜中性白血球中且在其活化時釋放。下文提供PGLYRP1之胺基酸序列(寄存編號NP_005082.1；SEQ ID NO: 8)：

MSRRSMLLAWALPSLLRLGAAQETEDPACCSPIVPRNEWKALASECAQHLSLPLRYVVVSHTAGSSCN
TPASCQQQARNVQHYHMKTLGWCDVGYNFLIGEDGLVYEGRGWNFTGAHSGHLWNPMSIGISFMGNM
DRVPTPQAIRAAQGLLACGVAQGALRSNYVLKGHVDVQRTLSPGNQLYHLIQNWPHYRSP (信號

序列加有下劃線)。

【0063】因此，在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體下調或阻斷促炎性細胞介素自骨髓細胞(例如樹突狀細胞及單核球)中釋放。在一些實施例中，抗TREM-1抗體阻斷TNF- α 、MIP-1 β 、MCP-1、IL-1 β 、GM-CSF、IL-6及/或IL-8自如本文所揭示之巨噬細胞、嗜中性白血球、滑液組織細胞及/或報導體細胞中釋放。

【0064】當對外來抗原起反應之發炎性細胞介素之受控釋放可為有益的(例如建立有效之適應性免疫反應)時，過多發炎性細胞介素釋放可能具有可怕後果。舉例而言，已在活體內投與某些抗細胞表面免疫受體之抗體(例如抗人類CD3抗體，諸如OKT3)之情況下觀測到之一種常見且具有毒性之臨床併發症為細胞介素釋放症候群(CRS)，該細胞介素釋放症候群與過量釋放各種細胞介素(例如TNF- α 、IFN- γ 及IL-2)至循環中相關聯。CRS可能由於將抗體同時結合至其同源抗原(例如T細胞上之CD3)(經由抗體之可變區)及輔助細胞(例如抗原呈現細胞)上之Fc受體(例如Fc γ R)及/或補體受體(經由抗體之恆定區)而發生。此相互作用導致細胞(例如T細胞及/或輔助細胞)活化及產生特徵在於低血壓、發熱及僵直之全身性發炎反應之各種細胞介素之釋放。CRS之其他症狀包括發熱、發冷、噁心、嘔吐及呼吸困難。

【0065】在一個實施例中，當向有需要之個體投與時，除阻斷PGLYRP1誘導之發炎性細胞介素產生之外，本發明之抗TREM-1抗體亦降低細胞介素釋放症候群之發生率或引起細胞介素釋放症候群不發生。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，抗

TREM-1抗體不誘導當在存在單獨抗體之情況下培育細胞(例如樹突狀細胞)時由該等細胞表現發炎性細胞介素。在一些實施例中，抗TREM-1抗體與一或多種FcγR之結合減少，此可幫助減少CSR發作。

【0066】在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體結合人類TREM-1及來自另一物種之TREM-1兩者。因此，如本文所使用之術語「TREM-1」涵蓋可源於任何合適生物體之任何天然存在形式之TREM-1。舉例而言，如本文所描述使用之TREM-1可為脊椎動物TREM-1，諸如哺乳動物TREM-1，諸如來自靈長類動物(諸如人類、黑猩猩、食蟹獼猴或恆河猴)之TREM-1；嚙齒動物(諸如小鼠或大鼠)、兔類動物(諸如兔子)或偶蹄型動物(諸如牛、綿羊、豬或駱駝)。在某些實施例中，TREM-1為SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1，同功異型物1)。TREM-1可為成熟形式之TREM-1，諸如已在合適細胞內進行轉譯後處理之TREM-1蛋白。此類成熟TREM-1蛋白可例如經糖基化。TREM-1可為全長TREM-1蛋白。

【0067】在一些實施例中，在本發明之抗TREM-1抗體直接地或間接地源於單一B淋巴細胞殖株之意義上，其為單株抗體。在一些實施例中，使用例如國際公開第WO 2013/120553號之實例中所描述之方法產生、篩檢且純化抗TREM-1抗體。簡言之，使諸如TREM-1或TREM-1/TREM-3基因剔除(KO)小鼠之合適小鼠經TREM-1、表現TREM-1之細胞或二者組合免疫接種。在另一實施例中，在抗TREM-1抗體為如本文所揭示之單株抗體混合物之意義上，其為多株抗體。

【0068】在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體以重組方式表現於原核細胞或真核細胞中。在一些實施例中，原核細胞為大腸桿菌(*E. coli*)。在某些實施例中，真核細胞為酵母細胞、昆蟲細胞或哺乳動物細

胞，諸如源於作為靈長類動物(諸如人類、黑猩猩、食蟹獼猴或恆河猴)、嚙齒動物(諸如小鼠或大鼠)、兔類動物(諸如兔子)或偶蹄型動物(諸如牛、綿羊、豬或駱駝)之生物體之細胞。合適之哺乳動物細胞株包括但不限於HEK293細胞、CHO細胞及HELA細胞。如本文所揭示之抗TREM-1抗體亦可藉助於諸如噬菌體顯示或酵母顯示之熟習此項技術者已知之其他方法來產生。抗體一旦產生則可使用國際公開第WO 2013/120553號之實例中所描述之方法進行篩檢以用於結合至例如全長TREM-1或其突變體。

【0069】如本文所使用之術語「抗體」係指源於生殖系免疫球蛋白序列之能夠特異性結合至抗原(TREM-1)或其一部分之蛋白。該術語包括任何類別或同型之全長抗體(其為IgA、IgE、IgG、IgM及/或IgY)及其任何單鏈或片段。特異性結合至抗原或其部分之抗體可專門結合至彼抗原或其部分，或其可結合至有限數目之同源抗原或其部分。全長抗體通常包含至少四個多肽鏈：藉由二硫鍵互連之兩個重(H)鏈及兩個輕(L)鏈。備受醫藥關注之一種免疫球蛋白子類為IgG家族。在人類中，IgG類別可基於其重鏈恆定區之序列而再分成4個子類：IgG1、IgG2、IgG3及IgG4。輕鏈可基於其序列組成中之差異而分成兩種類型： κ 及 λ 。IgG分子由藉由兩個或更多個二硫鍵互連之兩個重鏈及各自藉由二硫鍵連接至重鏈之兩個輕鏈構成。重鏈可包含重鏈可變區(VH)及至多三個重鏈恆定(CH)區：CH1、CH2及CH3。輕鏈可包含輕鏈可變區(VL)及輕鏈恆定區(CL)。VH區及VL區可進一步再分成高變區，該等高變區稱為互補決定區(CDR)，其穿插有稱為構架區(FR)之更保守區。VH區及VL區通常由三個CDR及四個FR構成，其按以下次序自胺基端至羧基端排列：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鏈及輕鏈之高變區形成能夠與抗原相互作用之結

合域，同時抗體之恆定區可介導免疫球蛋白結合至宿主組織或因子，該等宿主組織或因子包括但不限於免疫系統之各種細胞(效應子細胞)、Fc受體及經典補體系統之第一組分(C1q)。本發明之抗體可經分離。術語「經分離之抗體」係指已與產生抗體之環境中之(一或多種)其他組分分離及/或自其回收及/或已自產生抗體之環境中所存在之組分混合物中純化的抗體。在本發明之上下文中，抗體之某些抗原結合片段可為合適的，因為已顯示抗體之抗原結合功能可由全長抗體之片段執行。

【0070】抗體之術語「抗原結合部分」係指保留特異性結合至諸如如本文所描述之TREM-1之抗原之能力的抗體的一或多種片段。抗原結合片段之實例包括Fab、Fab'、F(ab)2、F(ab')2、F(ab)S、Fv (通常為抗體之單臂之VL域及VH域)、單鏈Fv (scFv；參見例如Bird等人, *Science* 242:42S-426 (1988)；Huston等人, *PNAS* 85: 5879-5883 (1988))、dsFv、Fd (通常為VH域及CH1域)及dAb (通常為VH域)片段；VH域、VL域、VhH域及V-NAR域；包含單一VH鏈及單一VL鏈之單價分子；微型抗體、雙功能抗體、三功能抗體、四功能抗體及κ體(參見例如III等人, *Protein Eng* 10:949-57 (1997))；駱駝IgG；IgNAR；以及一或多種經分離之CDR或功能性互補位，其中經分離之CDR或抗原結合殘基或多肽可締合或連接在一起以便形成功能性抗體片段。各種類型之抗體片段已描述或綜述於例如Holliger及Hudson, *Nat Biotechnol* 2S :1126-1136 (2005)；國際公開第WO 2005/040219號及美國公開第2005/0238646號及第2002/0161201號中。此等抗體片段可使用熟習此項技術者已知之習知技術獲得，且片段可以與完整抗體相同之方式經篩檢以供利用。

【0071】「人類」抗體(HuMAb)係指具有其中構架區及CDR區兩者

均源於人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區之抗體。此外，若抗體含有恆定區，則恆定區亦源於人類生殖系免疫球蛋白序列。本文所描述之抗TREM-1抗體可包括不由人類生殖系免疫球蛋白序列編碼之胺基酸殘基(例如藉由活體外無規或位點特異性突變誘發或藉由活體內體細胞突變引入之突變)。然而，如本文所使用之術語「人類抗體」不意欲包括其中源於諸如小鼠之另一哺乳動物物種之生殖系之CDR序列已移植至人類構架序列上的抗體。術語「人類」抗體及「完全人類」抗體同義使用。

【0072】「人類化」抗體係指含有源於非人類免疫球蛋白之一或多種序列(CDR區或其部分)之人類/非人類嵌合抗體。因此，人類化抗體為人類免疫球蛋白(受體抗體)，其中來自受體之高變區之殘基至少經具有所需特異性、親和力、序列組成及功能性之來自非人類物種(諸如來自小鼠、大鼠、兔子或非人類靈長類動物)之抗體(供體抗體)的高變區的殘基置換。在一些情況下，人類免疫球蛋白之FR殘基經對應之非人類殘基置換。此類修飾之實例為引入通常作為源於供體抗體之胺基酸殘基之一或多個所謂之回復突變。抗體人類化可使用熟習此項技術者已知之重組技術來進行(參見例如Antibody Engineering, Methods in Molecular Biology, 第248卷, 由Benny K. C. Lo編輯)。適用於輕鏈可變域及重鏈可變域兩者之人類受體構架可藉由例如序列或結構同源性來鑑別。可替代地，可例如基於結構、生物物理學及生物化學特性之知識使用固定受體構架。受體構架可源於生殖系或源於成熟抗體序列。來自供體抗體之CDR區可藉由CDR移植來轉移。可藉由鑑別其中再引入(回復突變)來自供體抗體之胺基酸殘基對人類化抗體之特性具有有益影響之關鍵構架位置來進一步最佳化CDR移植人類化抗體的例如親和力、功能性及生物物理學特性。除源於供體抗

體之回復突變之外，人類化抗體可藉由在CDR區或構架區中引入生殖系殘基、消除免疫原性抗原決定基、定點突變誘發、親和力成熟等來進行工程化。

【0073】此外，人類化抗體可包含受體抗體中或供體抗體中未發現之殘基。進行此等修飾以進一步優化抗體效能。一般而言，人類化抗體應包含至少一個(通常兩個)可變域，其中所有或實質上所有CDR區對應於非人類免疫球蛋白之CDR區且其中所有或實質上所有FR殘基為人類免疫球蛋白序列之FR殘基。人類化抗體可視情況亦包含免疫球蛋白恆定區(Fc)之至少一部分(通常人類免疫球蛋白之至少一部分)。術語「人類化抗體來源物」係指任何經修飾形式之人類化抗體，諸如抗體與另一藥劑或抗體之接合物。

【0074】如本文所使用之術語「重組人類抗體」包括藉由重組手段製備、表現、產生或分離之所有人類抗體，諸如(a)自用於人類免疫球蛋白基因之基因轉殖或轉染色體動物(例如小鼠)或由其製備之融合瘤分離之抗體；(b)自經轉型以表現抗體之宿主細胞(例如自轉染瘤)分離之抗體；(c)自重組、組合人類抗體文庫分離之抗體；及(d)藉由涉及將人類免疫球蛋白基因序列剪接至其他DNA序列之任何其他手段製備、表現、產生或分離之抗體。該等重組人類抗體包含利用特定人類生殖系免疫球蛋白序列之可變區及恆定區，該等人類生殖系免疫球蛋白序列由生殖系基因編碼，但包括例如發生在抗體成熟期間之後續重排及突變。如此項技術中已知(參見例如Lonberg *Nature Biotech.* 23(9): 1117- 1125 (2005))，可變區含有由重排以形成對外來抗原具有特異性之抗體之各種基因編碼之抗原結合域。除重排之外，可變區可藉由多種單胺基酸變化(稱為體細胞突變或超

突變)進行進一步修飾以提高抗體對外來抗原之親和力。恆定區將在另一反應中變化成抗原(亦即同型轉換)。因此，編碼響應於抗原之輕鏈及重鏈免疫球蛋白多肽之經重排且經體細胞突變之核酸分子無法與原始核酸分子具有序列一致性，但替代地應為實質上一致或類似的(亦即具有至少80%一致性)。

【0075】「嵌合抗體」係指其中可變區源於一種物種而恆定區源於另一物種之抗體，諸如其中可變區源於小鼠抗體而恆定區源於人類抗體之抗體。

【0076】在一個實施例中，本發明之抗TREM-1抗體為IgG抗體。在某些實施例中，如本文所使用之例如人類IgG1之「IgG抗體」具有天然存在之IgG抗體之結構，亦即其具有與相同子類之天然存在之IgG抗體相同數目之重鏈及輕鏈及二硫鍵。舉例而言，TREM-1 IgG1抗體由兩個重鏈(HC)及兩個輕鏈(LC)組成，其中兩個重鏈及輕鏈係藉由相同數目及位置之出現於天然存在之IgG1抗體中之二硫橋鍵來連接(除非抗體已經突變以修飾二硫橋鍵)。

【0077】如本文所使用之「同型」係指由重鏈恆定區基因編碼之抗體類別(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgD及IgE抗體)。

【0078】「異型」係指特定同型群內之天然存在之變異體，該等變異體之不同之處在於少許胺基酸(參見例如Jefferis等人, *mAbs* 1:1 (2009))。本文所描述之抗TREM-1抗體可具有任何異型。在一些實施例中，抗TREM-1抗體具有「IgG1.3f」異型，與野生型IgG1同型(例如SEQ ID NO: 9)相比，該「IgG1.3f」異型包含選自由以下組成之群之一或多種

胺基酸取代：根據EU編號之L234A、L235E及G237A。在其他實施例中，抗TREM-1抗體具有「IgG1.1f」異型，與野生型IgG1同型(例如SEQ ID NO: 9)相比，該「IgG1.1f」異型包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之L234A、L235E、G237A、A330S及P331S。在某些實施例中，抗TREM-1抗體具有「IgG1-Aba」異型，與野生型IgG1同型(例如SEQ ID NO: 9)相比，該「IgG1-Aba」異型包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、C226S、C229S及P238S。在其他實施例中，抗TREM-1抗體具有「IgG4-Aba」異型，其包含野生型IgG4同型(例如SEQ ID NO: 10)之CH1域以及IgG1之CH2域及CH3域。在一些實施例中，與野生型IgG1同型(例如SEQ ID NO: 9)相比，IgG4-Aba異型抗體包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S。

【0079】片語「識別抗原之抗體」及「對抗原具有特異性之抗體」在本文中可與術語「特異性結合至抗原之抗體」互換使用。

【0080】如本文所使用之「經分離之抗體」意欲指已與產生抗體之環境中之(一或多種)其他組分分離及/或自其回收及/或已自產生抗體之環境中所存在之組分混合物中純化的抗體。

【0081】「效應子功能」係指抗體Fc區與Fc受體或配位體之相互作用，或由其引起之生物化學事件。例示性「效應子功能」包括C1q結合、補體依賴性細胞毒性(CDC)、Fc受體結合、FcγR介導之效應子功能(諸如ADCC)及抗體依賴性細胞介導之吞噬作用(ADCP)，及細胞表面受體(例如B細胞受體；BCR)下調。該等效應子功能大體上需要Fc區與結合域(例如

抗體可變域)組合。在一個實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含不結合至一或多種FcγR且因此缺乏效應子功能(亦即無效應子)之Fc區。

【0082】「Fc受體」或「FcR」為結合至免疫球蛋白之Fc區之受體。結合至IgG抗體之FcR包含FcγR家族之受體，包括此等受體之對偶基因變異體及交替剪接形式。FcγR家族由三種活化性受體(小鼠中之FcγRI、FcγRIII及FcγRIV；人類中之FcγRIA、FcγRIIA及FcγRIIIA)及一種抑制性受體(FcγRIIB)組成。人類FcγR之各種特性為此項技術中已知的。大部分先天性效應子細胞類型共同表現一或多種活化性FcγR及抑制性FcγRIIB，而自然殺手(NK)細胞選擇性地表現一種活化性Fc受體(小鼠中之FcγRIII及人類中之FcγRIIIA)但不表現小鼠及人類中之抑制性FcγRIIB。人類IgG1結合至大部分人類Fc受體，且就與其結合之活化性Fc受體之類型而言視為等效於鼠類IgG2a。

【0083】「Fc區」(片段可結晶區)或「Fc域」或「Fc」係指介導免疫球蛋白結合至宿主組織或因子(包括結合至位於免疫系統之各種細胞(例如效應子細胞)上之Fc受體或結合至經典補體系統之第一組分(C1q))的抗體的重鏈的C端區。因此，Fc區包含除第一恆定區免疫球蛋白域(例如CH1或CL)以外之抗體之恆定區。

【0084】在IgG中，Fc區包含免疫球蛋白域CH2及CH3及CH1域與CH2域之間之鉸鏈。儘管對免疫球蛋白重鏈之Fc區之邊界之定義可變化，但如本文所定義，人類IgG重鏈Fc區定義為對於IgG1自胺基酸殘基D221、對於IgG2自V222、對於IgG3自L221且對於IgG4自P224伸展至重鏈之羧基端，其中編號係根據如Kabat中之EU索引進行。人類IgG Fc區之CH2域自胺基酸237延伸至胺基酸340，且CH3域位於Fc區中之CH2域之C

端側上，亦即其自IgG之胺基酸341延伸至胺基酸447或446 (若C端離胺酸殘基不存在)或445 (若C端甘胺酸及離胺酸殘基不存在)。如本文所使用，Fc區可為天然序列Fc，包括任何異型變異體或變異體Fc (例如非天然存在之Fc)。Fc亦可指分離之此區或在包含Fc之蛋白質多肽(諸如「包含Fc區之結合蛋白」，亦稱為「Fc融合蛋白」(例如抗體或免疫黏附素))之情況下之此區。

【0085】「天然序列Fc區」或「天然序列Fc」包含與在自然界中發現之Fc區之胺基酸序列具有一致性之胺基酸序列。天然序列人類Fc區包括天然序列人類IgG1 Fc區；天然序列人類IgG2 Fc區；天然序列人類IgG3 Fc區；及天然序列人類IgG4 Fc區以及其天然存在之變異體。天然序列Fc包括各種異型之Fc (參見例如Jefferis等人, *mAbs* 1: 1 (2009))。

【0086】「變異體序列Fc區」或「非天然存在之Fc」包含修飾，通常以更改其功能特性中之一或多種，該等功能特性除其他之外諸如為血清半衰期、補體結合(complement fixation)、Fc受體結合、蛋白穩定性及/或抗原依賴性細胞毒性或其缺乏。在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體可經化學修飾(例如一或多種化學部分可附接至抗體)或經修飾以更改其糖基化，再次以更改抗體之一或多種功能特性。在一個實施例中，抗TREM-1抗體為IgG1同型，且攜載包含以下突變中之一或多種且可能全部之經修飾之Fc域，該等突變分別導致對某些Fc受體(L234A、L235E及G237A)之親和力降低且導致C1q介導之補體結合(A330S及P331S)減少(根據EU索引編號之殘基)。

【0087】術語「鉸鏈」、「鉸鏈域」、「鉸鏈區」及「抗體鉸鏈區」係指連接CH1域與CH2域且包括鉸鏈之上部部分、中間部分及下部部分之重

鏈恆定區之結構域(Roux等人, *J Immunol* 161:4083 (1998))。鉸鏈提供抗體之結合區與效應子區之間之變化可撓性水準且亦提供用於兩個重鏈恆定區之間的分子間二硫鍵鍵結的位點。如本文所使用，鉸鏈在所有IgG同型之Glu216處開始且在Gly237處結束(Roux等人, *J Immunol* 161:4083 (1998))。野生型IgG1、IgG2、IgG3及IgG4鉸鏈之序列為此項技術中已知的(例如國際PCT公開第WO 2017/087678號)。在一個實施例中，修飾抗TREM-1抗體之CH1之鉸鏈區以使得更改鉸鏈區中之半胱胺酸殘基之數目，例如增加或減少。此方法進一步描述於例如美國專利第5,677,425號中。

【0088】可修飾恆定區以使抗體穩定，例如以降低二價抗體分離成兩個單價VH-VL片段之風險。舉例而言，在IgG4恆定區中，殘基S228(根據EU索引編號之殘基)可突變成脯胺酸(P)殘基以使鉸鏈處之間重鏈二硫橋鍵形成穩定(參見例如Angal等人, *Mol Immunol.* 30: 105-8(1995))。抗體或其片段亦可就其互補決定區(CDR)而言來定義。當在本文中使用時，術語「互補決定區」或「高變區」係指抗原結合中所涉及之胺基酸殘基定位於其中之抗體之區域。高變區或CDR區可鑑別為具有於抗體可變域之胺基酸比對中之最高可變性之區域。諸如Kabat資料庫之資料庫可用於CDR鑑別，CDR例如定義為包含輕鏈可變域之胺基酸殘基24-34 (CDR1)、50-59 (CDR2)及89-97 (CDR3)以及重鏈可變域中之胺基酸殘基31-35 (CDR1)、50-65 (CDR2)及95-102 (CDR3)；(Kabat等人1991；Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, 美國衛生與人群服務部(U.S. Department of Health and Human Services), NIH公開第91-3242號)。可替代地，CDR可定義為來自「高變環」之彼等殘基(輕鏈

可變域中之殘基26-33 (L1)、50-52 (L2)及91-96 (L3)以及重鏈可變域中之殘基26-32 (H1)、53-55 (H2)及96-101 (H3) (Chothia及Lesk, *J. Mol. Biol.* 196 : 901-917 (1987))。通常，此區域中之胺基酸殘基之編號係藉由同前Kabat等人文獻中所描述之方法來執行。諸如「Kabat位置」、「Kabat殘基」及「根據Kabat」之片語在本文中係指用於重鏈可變域或輕鏈可變域之此編號系統。使用Kabat編號系統，肽之實際線性胺基酸序列可含有較少或額外之對應於可變域之構架(FR)或CDR之縮短或插入其中的胺基酸。舉例而言，重鏈可變域可包括在CDR H2之殘基52之後之胺基酸插入(根據Kabat，殘基52a、52b及52c)及在重鏈FR殘基82之後之所插入殘基(根據Kabat，例如殘基82a、82b及82c等)。對於給定抗體，可藉由在抗體序列之同源區處與「標準」Kabat編號序列比對來確定殘基之Kabat編號。

【0089】術語「抗原決定基」或「抗原決定子」係指與免疫球蛋白或抗體特異性結合之抗原(例如TREM-1)上之位點，例如如由用於鑑別其之特定方法所定義。抗原決定基可由相連胺基酸(通常為線性抗原決定基)或藉由蛋白質三級摺疊相鄰之非相連胺基酸(通常為構形抗原決定基)兩者形成。由相連胺基酸形成之抗原決定基在暴露於變性溶劑時通常但未必總是保留，而藉由三級摺疊形成之抗原決定基在用變性溶劑處理時通常消失。抗原決定基通常包括呈獨特空間構形之至少3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14或15種胺基酸。用於確定給定抗體結合何種抗原決定基(亦即抗原決定基圖分析)之方法為此項技術中眾所周知的，且包括例如免疫墨點法及免疫沈澱檢定，其中測試來自抗原(例如來自TREM-1)之重疊或相連肽與給定抗體(例如抗TREM-1抗體)之反應性。確定抗原決定基之空間構形之方法包括此項技術中之技術及本文所描述之技術，例如x

射線結晶學、抗原突變分析、2維核磁共振及HDX-MS (參見例如Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, 第66卷, G. E. Morris編 (1996))。

【0090】提及兩種或更多種抗體之術語「結合至同一抗原決定基」意謂如藉由給定方法所確定，抗體結合至胺基酸殘基之同一區段。用於確定抗體係否與本文所描述之抗體一起結合至「TREM-1上之同一抗原決定基」之技術包括例如抗原決定基圖分析法，諸如提供抗原決定基之原子解析度之抗原:抗體複合物晶體x射線分析，及氫/氘交換質譜法(HDX-MS)。其他方法監視抗體與抗原片段或抗原之突變變異體之結合，其中因對抗原序列內之胺基酸殘基進行修飾所致之結合損失通常視為抗原決定基組分之指示。另外，亦可使用用於抗原決定基圖分析之計算組合方法。此等方法依賴於所關注之抗體自組合噬菌體顯示肽文庫中親和分離特定短肽之能力。預期具有相同VH及VL或相同CDR1、2及3序列之抗體結合至同一抗原決定基。

【0091】「與另一抗體競爭結合至標靶」之抗體係指(部分或完全)抑制另一抗體結合至標靶之抗體。兩種抗體係否彼此競爭結合至標靶，亦即一種抗體係否抑制另一抗體結合至標靶及其抑制程度可使用例如BIAcore®表面電漿子共振(SPR)分析之已知競爭實驗來確定。在某些實施例中，抗體與另一抗體競爭結合至標靶且抑制其結合至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。抑制或競爭程度可視哪一抗體為「阻斷抗體」(亦即首先與標靶一起培育之冷抗體)而不同。競爭檢定可如例如Ed Harlow及David Lane, Cold Spring Harb Protoc ; 2006; doi: 10.1101/pdb.prot4277中 或Ed Harlow及David Lane之 第11章「Using

Antibodies」, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999中所描述來進行。若抗體彼此雙向阻斷至少50%，則兩種抗體「交叉競爭」，亦即與在競爭實驗中一種抗體抑或另一抗體首先與抗原接觸無關。

【0092】如本文所使用之術語「特異性結合(specific binding)」、「選擇性結合(selective binding)」、「選擇性結合(selectively binds)」及「特異性結合(specifically binds)」係指抗體結合至預定抗原上之抗原決定基。通常，抗體(i)在藉由例如表面電漿子共振(SPR)技術在BIAcore® 2000儀器中使用例如重組人類TREM-1之預定抗原作為分析物且使用抗體作為配位體或抗體與抗原陽性細胞結合之史卡查分析(Scatchard analysis)測定時平衡解離常數(K_D)為約小於 10^{-7} M (諸如約小於 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低)之情況下進行結合，及(ii)在親和力大於其用於結合至除預定抗原或緊密相關抗原以外之非特異性抗原(例如BSA，酪蛋白)之親和力至少兩倍的情況下結合至預定抗原。因此，「特異性結合至人類TREM-1」之抗體係指結合至可溶性或結合細胞之人類TREM-1之抗體，其中 K_D 為 10^{-7} M或更小，諸如約小於 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低。「與食蟹獼猴TREM-1交叉反應」之抗體係指結合至食蟹獼猴TREM-1之抗體，其中 K_D 為 10^{-7} M或更小，諸如約小於 10^{-8} M、 10^{-9} M或 10^{-10} M或甚至更低。在某些實施例中，不與來自非人類物種之TREM-1交叉反應之該等抗體在標準結合分析中展現基本上不可偵測之針對此等蛋白質之結合。

【0093】術語「結合特異性」在本文中係指諸如抗體或其片段之分子與單一排他性抗原或與有限數目之高度同源抗原(或抗原決定基)之相互

作用。相反地，能夠特異性結合至TREM-1之抗體不能夠結合相異分子。本發明之抗體可能不能夠結合Nkp44，亦即自然殺手細胞p44相關蛋白。

【0094】相互作用之特異性及平衡結合常數之值可直接藉由眾所周知之方法來測定。評估配位體(諸如抗體)結合其標靶之能力之標準檢定為此項技術中已知的，且包括例如ELISA、西方墨點法、RIA及流動式細胞量測分析。抗體之結合動力學及結合親和力亦可藉由此項技術中已知之諸如SPR之標準檢定來評估。

【0095】用於確定兩種抗體係否競爭或交叉競爭結合之競爭性結合分析包括：競爭結合至表現TREM-1之骨髓細胞，例如藉由諸如實例中所描述之流動式細胞量測術進行。其他方法包括：SPR (例如BIAcore®)、固相直接或間接放射免疫檢定(RIA)、固相直接或間接酶免疫檢定(EIA)、夾心型競爭檢定(參見Stahli等人, *Methods in Enzymology* 9:242 (1983))；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA (參見Kirkland等人, *J. Immunol.* 137:3614 (1986))；固相直接標記檢定、固相直接標記夾心型檢定(參見Harlow及Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988))；使用1-125標記進行之固相直接標記RIA (參見Morel等人, *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988))；固相直接生物素-抗生物素蛋白EIA (Cheung等人, *Virology* 176:546 (1990))；及直接標記RIA (Moldenhauer等人, *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990))。

【0096】如本文所使用之術語「倉」係使用參考抗體來定義。若第二抗體不能與參考抗體同時結合至抗原，則稱第二抗體屬於與參考抗體相同之「倉」。在此情況下，參考抗體與第二抗體競爭性結合抗原之同一部分且創造「競爭抗體」。若第二抗體能夠與參考抗體同時結合至抗原，則

稱第二抗體屬於獨立「倉」。在此情況下，參考抗體與第二抗體不競爭性結合抗原之同一部分且創造「非競爭抗體」。

【0097】抗體「分倉」不提供關於抗原決定基之直接資訊。競爭抗體(亦即屬於同一「倉」之抗體)可具有相同抗原決定基、重疊抗原決定基或甚至獨立抗原決定基。後者情況為結合至於抗原上之參考抗體抗原決定基之參考抗體佔據第二抗體接觸於抗原上之其抗原決定基所需之空間(「位阻」)。非競爭抗體大體上具有獨立抗原決定基。

【0098】術語「結合親和力」在本文中係指兩種分子(例如抗體或其片段及抗原)之間之非共價相互作用之強度量度。術語「結合親和力」用於描述單價相互作用(固有活性)。

【0099】經由單價相互作用之兩個分子(例如抗體或其片段及抗原)之間之結合親和力可藉由測定平衡解離常數(K_D)來定量。之後， K_D 可藉由例如藉由SPR法量測複合物形成及解離之動力學來測定。對應於單價複合物之締合及解離之速率常數分別稱為締合速率常數 k_a (或 k_{on})及解離速率常數 k_d (或 k_{off})。 K_D 經由等式 $K_D = k_d / k_a$ 與 k_a 及 k_d 相關。遵循上文定義，與不同分子相互作用相關聯之結合親和力可藉由比較個別抗體/抗原複合物之 K_D 值來比較，諸如比較不同抗體對給定抗原之結合親和力。

【0100】如本文所使用之用於IgG抗體之術語「高親和力」係指對於靶抗原之 K_D 為 10^{-8} M或更小、 10^{-9} M或更小或 10^{-10} M之抗體。然而，對於其他抗體同型之「高親和力」結合可變化。舉例而言，對於IgM同型之「高親和力」結合係指 K_D 為 10^{-10} M或更小或 10^{-8} M或更小之抗體。

【0101】在使用抗體或其抗原結合片段進行活體外或活體內檢定之情形下，術語「 EC_{50} 」係指誘導作為最大反應之50% (亦即介於最大反應

與基線之間一半)之反應之抗體或其抗原結合部分的濃度。

【0102】如本文所使用之術語「天然存在之」在應用於對象時係指可在自然界中發現對象之事實。舉例而言，可自自然界中之來源中分離且尚未在實驗室中有意地由人修飾之生物體(包括病毒)中所存在之多肽或多核苷酸序列為天然存在的。

【0103】「多肽」係指包含至少兩個連續連接之胺基酸殘基之鏈，其中鏈長無上限。蛋白質中之一或多種胺基酸殘基可含有修飾，諸如但不限於糖基化、磷酸化或二硫鍵形成。「蛋白質」可包含一或多種多肽。

【0104】如本文所使用之術語「核酸分子」意欲包括DNA分子及RNA分子。核酸分子可為單股的或雙股的，且可為cDNA。

【0105】「保守胺基酸取代」係指用具有類似側鏈之胺基酸殘基進行之胺基酸殘基取代。此項技術中已界定具有類似側鏈之胺基酸殘基家族。此等家族包括具有鹼性側鏈之胺基酸(例如離胺酸、精胺酸、組胺酸)、具有酸性側鏈之胺基酸(例如天冬胺酸、麩胺酸)、具有不帶電極性側鏈之胺基酸(例如甘胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、酪胺酸、半胱胺酸、色胺酸)、具有非極性側鏈之胺基酸(例如丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸、脯胺酸、苯丙胺酸、甲硫胺酸)、具有 β 分支側鏈之胺基酸(例如蘇胺酸、纈胺酸、異白胺酸)及具有芳族側鏈之胺基酸(例如酪胺酸、苯丙胺酸、色胺酸、組胺酸)。在某些實施例中，所預測之非必要之抗TREM-1抗體中之胺基酸殘基經來自同一側鏈家族之另一胺基酸殘基置換。鑑別不消除抗原結合之核苷酸及胺基酸保守性取代之方法為此項技術中眾所周知的(參見例如Brummell等人, *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993); Kobayashi等人 *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999); 及Burks

等人 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997))。

【0106】對於核酸，術語「實質性同源性」指示兩種核酸或其特指序列在進行最佳比對及比較時具有一致性，且在至少約80%核苷酸、至少約90%至95%或至少約98%至99.5%核苷酸中，具有適當之核苷酸插入或缺失。可替代地，當區段在選擇性雜交條件下與該股之補體雜交時，實質性同源性存在。

【0107】對於多肽，術語「實質性同源性」指示兩種多肽或其特指序列在進行最佳比對及比較時具有一致性，且在至少約80%胺基酸、至少約90%至95%或至少約98%至99.5%胺基酸中，具有適當之胺基酸插入或缺失。

【0108】兩個序列之間之%一致性為由該等序列共用之相同位置之數目之函數(亦即， $\% \text{同源性} = \text{相同位置\#} / \text{總位置\#} \times 100$)，考慮需要被引入以用於最佳比對兩個序列之間隙之數目及各間隙長度。序列比較及兩個序列之間之%一致性測定可使用如下文非限制性實例中所描述之數學演算法來實現。

【0109】兩個核苷酸序列之間之%一致性可使用GCG套裝軟體(可在 worldwideweb.gcg.com 獲得)中之GAP程式、使用NWSgapdna.CMP矩陣以及40、50、60、70或80間隙權數及1、2、3、4、5或6長度權數來測定。兩個核苷酸序列或胺基酸序列之間之%一致性亦可使用已併入ALIGN程式(2.0版本)中之E. Meyers及W. Miller (*CABIOS*, 4: 11-17 (1989))演算法、使用PAM120權數殘基表、12間隙長度罰分及4間隙罰分來測定。另外，兩個胺基酸序列之間之%一致性可使用已併入GCG套裝軟體(可在 worldwideweb.gcg.com 獲得)中之GAP程式中之Needleman及Wunsch (*J.*

Mol. Biol. (48):444-453 (1970))演算法、使用Blossum 62矩陣或PAM250矩陣以及16、14、12、10、8、6或4間隙權數及1、2、3、4、5或6長度權數來測定。

【0110】本文所描述之核酸及蛋白質序列可進一步用作「查詢序列」以針對公共資料庫執行檢索來例如鑑別相關序列。該等檢索可使用Altschul等人 (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-10之NBLAST及XBLAST程式(2.0版本)來執行。BLAST核苷酸檢索可用NBLAST程式、分數=100、字長=12來執行以獲得與本文所描述之核酸分子同源之核苷酸序列。BLAST蛋白質檢索可用XBLAST程序、分數=50、字長=3來執行以獲得與本文所描述之蛋白質分子同源之胺基酸序列。為出於比較目的獲得間隙比對，可如Altschul等人, (1997) *Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402中所描述利用間隙BLAST。當利用BLAST及間隙BLAST程式時，可使用各別程式(例如XBLAST及NBLAST)之系統內定參數。參見worldwideweb.ncbi.nlm.nih.gov。

【0111】核酸可以全細胞、以細胞溶解物或以部分純化或實質上純之形式存在。當核酸自其他細胞組分或例如其他細胞核酸(例如染色體之其他部分)或蛋白質之其他雜質純化分開時，該核酸為「經分離的」或「呈現實質上純的」，該純化係藉由包括鹼性/SDS處理、CsCl顯帶、管柱層析法、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中眾所周知之其他技術之標準技術來進行。參見F. Ausubel等人, 編 *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)。

【0112】例如cDNA之核酸可根據標準技術進行突變以提供基因序列。對於編碼序列，此等突變可視需要影響胺基酸序列。明確而言，考慮

與天然V、D、J、恆定、轉換及本文所描述之其他該等序列實質上同源或源於其之DNA序列，其中「源於」指示序列與另一序列具有一致性或由另一序列修飾。

【0113】如本文所使用之術語「載體」意欲指能夠轉運已與其連接之另一核酸之核酸分子。一種類型之載體為「質體」，其係指可與額外之DNA區段接合之圓形雙股DNA環。另一類型之載體為病毒載體，其中額外之DNA區段可接合至病毒基因組。某些載體能夠在引入其之宿主細胞中進行自主複製(例如具有細菌複製起點之細菌載體及游離型哺乳動物載體)。其他載體(例如非游離型哺乳動物載體)在引入宿主細胞中後可併入至宿主細胞基因組中，且藉此與宿主基因組一起複製。此外，某些載體能夠引導可與其操作性連接之基因之表現。該等載體在本文中稱為「重組表現載體」(或簡言之，「表現載體」)。一般而言，用於重組DNA技術中之表現載體常常呈質體形式。在本說明書中，因為質體為載體之最常用形式，故「質體」與「載體」可互換使用。然而，亦包括提供等效功能之其他形式之表現載體，諸如病毒載體(例如複製缺陷型反轉錄病毒、腺病毒及腺相關病毒)。

【0114】如本文所使用之術語「重組宿主細胞」(或簡言之，「宿主細胞」)意欲指包含核酸之細胞，該核酸非天然存在於該細胞中，且可為其中已引入重組表現載體之細胞。應理解，該等術語意欲不僅指特定個體細胞，而且指此類細胞之後代。因為某些修飾可能由於突變或環境影響而出現在後代中，故該後代實際上無法與親代細胞相同，但仍包括在如本文所使用之術語「宿主細胞」之範疇內。

【0115】如本文所使用之術語「連接」係指兩個或更多個分子之締

合。連接可為共價的或非共價的。連接亦可為遺傳的(亦即以重組方式融合)。該等連接可使用諸如化學接合及重組蛋白質產生之廣泛多種之本領域公認之技術來達成。

【0116】如本文所使用之「投與」係指使用熟習此項技術者已知之各種方法及遞送系統中之任一種向個體物理引入包含治療劑之組合物。用於本文所描述之抗TREM-1抗體之不同投與途徑包括靜脈內、腹膜內、肌內、皮下、脊髓或例如藉由注射或輸注之其他非經腸投與途徑。如本文所使用之片語「非經腸投與」意謂除腸內及局部投與以外之通常藉由注射進行之投與模式，且包括但不限於靜脈內、腹膜內、肌內、動脈內、鞘內、淋巴管內、病灶內、囊內、眶內、心內、皮內、經氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊柱內、硬膜外及胸骨內注射及輸注以及活體內電穿孔。可替代地，本文所描述之抗體可經由非非經腸途徑投與，該非非經腸途徑諸如為局部、表皮或黏膜投與途徑，例如鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下或局部。投與亦可執行例如一次、複數次及/或歷經一或多個經延長之週期執行。

【0117】如本文所使用之術語「抑制」或「阻斷」(例如提及抑制/阻斷TREM-1配位體結合至細胞上之TREM-1)可互換使用且涵蓋部分及完全抑制/阻斷兩者。在一些實施例中，例如如本文進一步描述所測定，抗TREM-1抗體抑制TREM-1配位體結合至TREM-1至少約50%，例如約60%、70%、80%、90%、95%、99%或100%。在一些實施例中，例如如本文進一步描述所測定，抗TREM-1抗體抑制TREM-1配位體結合至TREM-1不超過50%，例如約40%、30%、20%、10%、5%或1%。

【0118】如本文所使用之術語「治療(treat/treating/treatment)」係

指以逆轉、緩解、改善、抑制或減緩或預防疾病相關症狀、併發症、病況或生物化學標誌之進展、發展、嚴重程度或復發或增強總存活期為目標來對個體執行之任何類型的干預或方法或向個體投與活性劑。治療可為治療患有疾病之個體或未患有疾病之個體(例如用於防治)。

【0119】術語「有效劑量(effective dose/effective dosage)」定義為足以達成或至少部分達成所需效果之量。藥物或治療劑之「治療有效量」或「治療有效劑量」為藥物在單獨或與另一治療劑組合使用時促進疾病消退之任何量，疾病消退之證據在於疾病症狀之嚴重程度降低、無疾病症狀期之頻率及持續時間增加或因疾病折磨所致之損傷或殘疾預防。藥物之治療有效量或劑量包括「預防有效量」或「預防有效劑量」，其為在單獨或與另一治療劑組合投與至處於罹患疾病或遭受疾病復發之風險下之個體時抑制疾病發展或復發之藥物的任何量。治療劑促進疾病消退或抑制疾病發展或復發之能力可使用熟習此項技術者已知之各種方法諸如在臨床試驗期間在人類個體中在預測於人類中之功效的動物模型系統中或藉由在活體外檢定中檢定藥劑活性來進行評估。

【0120】術語「患者」包括接受防治性或治療性治療之人類及其他哺乳動物個體。

【0121】如本文所使用之術語「個體」包括任何人類或非人類動物。舉例而言，本文所描述之方法及組合物可用於治療患有癌症之個體。術語「非人類動物」包括所有脊椎動物，例如哺乳動物及非哺乳動物，諸如非人類靈長類動物、綿羊、狗、牛、雞、兩棲動物、爬行動物等。

【0122】如本文所使用之術語「ug」及「uM」可分別與「 μg 」及「 μM 」互換使用。

【0123】本文所描述之各種態樣進一步詳細地描述於以下子部分中。

I. 抗TREM-1抗體

【0124】本文描述抗體，例如完全人類抗體，其特徵在於特定功能特點或特性。舉例而言，本發明之抗體特異性結合人類TREM-1，且更特定言之，人類TREM-1之細胞外域內之特定域(例如功能域)。在一個實施例中，抗體特異性結合至與TREM-1配位體(例如PGLYRP1)結合之TREM-1上之位點。在某些實施例中，抗體為拮抗劑抗體，亦即其抑制或遏制例如單核球、巨噬細胞及嗜中性白血球之細胞上之TREM-1之活性(亦即在結合時不促效)。在一些實施例中，抗TREM-1抗體與諸如食蟹獼猴TREM-1之來自一或多種非人類靈長類動物之TREM-1交叉反應。在一些實施例中，抗TREM-1抗體藉由細胞(例如巨噬細胞、樹突狀細胞、嗜中性白血球)在活化時阻斷發炎性細胞介素(例如IL-6、TNF- α 、IL-8、IL-1 β 、IL-12及其組合)產生。在其他實施例中，抗TREM-1抗體包含不結合至一或多種Fc γ R之Fc區。在其他實施例中，抗TREM-1抗體不藉由骨髓細胞(例如樹突狀細胞)誘導促發炎性細胞介素釋放，且藉此在向有需要之個體投與抗TREM-1抗體之後減少或防止發炎性細胞介素風暴開始。

【0125】在一些實施例中，本文所描述之特定抗TREM-1抗體為與mAb 0318交叉競爭結合至人類TREM-1之抗體，例如單株抗體、重組抗體及/或人類抗體。在一些實施例中，抗TREM-1抗體亦與mAb 0318交叉競爭結合至食蟹獼猴TREM-1。換言之，在某些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體屬於與mAb 0318相同之「倉」。

【0126】mAb 0318抗體具有包含SEQ ID NO: 14之重鏈可變區

(VH)及包含SEQ ID NO: 15之輕鏈可變區(VL)。參見國際公開第2016/009086號。mAb 0318亦具有分別對應於SEQ ID NO: 14之胺基酸31-35、50-68及101-110之重鏈CDR1、CDR2及CDR3。mAb 0318抗體之輕鏈CDR1、CDR2及CDR3對應於SEQ ID NO: 15之胺基酸24-38、54-60及93-101。

【0127】因此，在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體分別包含SEQ ID NO: 14及SEQ ID NO: 15之VH及VL。在另一實施例中，抗TREM-1抗體之VH包含SEQ ID NO: 14之胺基酸31-35之CDR1序列(TYAMH)，其中該等胺基酸中之一個可經不同胺基酸取代。在某些實施例中，抗TREM-1抗體之VH包含SEQ ID NO: 14之胺基酸50-68之CDR2序列(RIRTKSSNYATYYAASVKG)，其中該等胺基酸中之一個、兩個或三個可經不同胺基酸取代。在一些實施例中，抗TREM-1抗體之VH包含SEQ ID NO: 14之胺基酸101-110之CDR3序列(DMGIRRQFAY)，其中該等胺基酸中之一個、兩個或三個可經不同胺基酸取代。

【0128】在一些實施例中，抗TREM-1抗體之VL包含SEQ ID NO: 15之胺基酸24-38之CDR1序列(QQSNQDPYT)，其中該等胺基酸中之一個、兩個或三個可經不同胺基酸取代。在其他實施例中，抗TREM-1抗體之VL包含SEQ ID NO: 15之胺基酸54-60之CDR2序列(RASNLES)，其中該等胺基酸中之一個或兩個可經不同胺基酸取代。在一些實施例中，抗TREM-1抗體之VL包含SEQ ID NO: 15之胺基酸93-101之CDR3序列(QQSNQDPYT)，其中該等胺基酸中之一個或兩個可經不同胺基酸取代。

【0129】抗體之CDR中之甲硫胺酸殘基可經氧化，引起潛在化學降解及隨之而來之抗體效力降低。因此，本文所揭示之抗TREM-1抗體可具

有經不進行氧化降解之胺基酸殘基置換之於重鏈及/或輕鏈CDR中之一或多種甲硫胺酸殘基。在一些實施例中，重鏈CDR1及CDR3內之甲硫胺酸殘基經不進行氧化降解之胺基酸殘基(例如麩醯胺酸或白胺酸)置換。因此，在一個實施例中，抗TREM-1抗體之VH包含SEQ ID NO: 81之胺基酸101-110之CDR3序列(DQGIRRQFAY)或SEQ ID NO: 82之胺基酸101-110之CDR3序列(DLGIRRQFAY)。在其他實施例中，抗TREM-1抗體之VH包含SEQ ID NO: 83之胺基酸31-35之CDR1序列(TYAQH)或SEQ ID NO: 84之胺基酸31-35之CDR1序列(TYALH)。類似地，在一些實施例中，脫醯胺位點可自尤其CDR中之抗TREM-1抗體中移除。

【0130】 在一些實施例中，抗TREM-1抗體之VH及VL包含國際公開第WO 2017/152102 A2號中所揭示之抗TREM-1抗體之VH及VL序列，該公開特此以全文引用之方式併入。在一些實施例中，抗TREM-1抗體之VL包含選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 9-27組成之群之CDR1序列、選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 28-40組成之群之CDR2序列及/或選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 41-119組成之群之CDR3序列。在一個實施例中，抗TREM-1抗體之VH包含選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 120-143組成之群之CDR1序列、選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 144-172組成之群之CDR2序列及/或選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 173-247組成之群之CDR3序列。

【0131】 在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含與mAb 0318抗體之CDR及/或可變區序列具有至少80%一致性(例如至少85%、至少95%、至少95%或至少99%一致性)之CDR及/或可變區序列。

【0132】在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含分別包含SEQ ID NO: 14及SEQ ID NO: 15之重鏈可變區(VH)及輕鏈可變區(VL)。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈(HC)及輕鏈(LC)，其中HC包含SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53。在一些實施例中，LC包含SEQ ID NO: 54。

【0133】在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 396-475組成之群之重鏈可變區(VH)及/或選自由來自WO 2017/152102之SEQ ID NO: 316-395組成之群之輕鏈可變區(VL)。

【0134】在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈及輕鏈包含如表7中所示之胺基酸序列。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈包含闡述為SEQ ID NO: 50之胺基酸序列且輕鏈包含闡述為SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈包含闡述為SEQ ID NO: 51之胺基酸序列且輕鏈包含闡述為SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈包含闡述為SEQ ID NO: 52之胺基酸序列且輕鏈包含闡述為SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈包含闡述為SEQ ID NO: 53之胺基酸序列且輕鏈包含闡述為SEQ ID NO: 54之胺基酸序列。

【0135】包含與本文所闡述之重鏈或輕鏈中之任一種具有至少99%、98%、97%、96%、95%、90%、85%或80%一致性之胺基酸序列(例如SEQ ID NO: 50至54)之重鏈及輕鏈可用於形成具有所需特徵之抗

TREM-1抗體，例如本文進一步描述之抗TREM-1抗體。

【0136】 在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含重鏈及輕鏈，其中重鏈包含與闡述為SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52或SEQ ID NO: 53之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致性之胺基酸序列，且其中輕鏈包含與闡述為SEQ ID NO: 54之胺基酸序列具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%一致性之胺基酸序列。

【0137】 在一些實施例中，抗TREM1抗體包含重鏈恆定區，其中重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、L234A、L235E、G237A、D356E、L358M及其任何組合。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈恆定區，其中重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、L234A、L235E、G237A、A330S、P331S、D356E、L358M及其任何組合。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈恆定區，其中重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、C226S、C229S、P238S及其任何組合。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含重鏈恆定區，其中重鏈恆定區包含選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S、P238S及其任何組合。

【0138】 在一個實施例中，如使用例如表面電漿子共振所確定，抗TREM-1抗體能夠結合人類TREM-1之變異體(例如TREM-1同功異型物2

及3，分別為SEQ ID NO: 2及SEQ ID NO: 3)。在另一實施例中，如使用例如表面電漿子共振所確定，抗TREM-1抗體能夠結合食蟹獼猴TREM-1 (SEQ ID NO: 7)。

【0139】在一些實施例中，例如如藉由BIACORE™ (例如如實例中所描述)所測定，在高親和力之情況下本文所描述之抗TREM-1抗體結合至人類TREM-1，其中 K_D 為 10^{-7} M或更小、 10^{-8} M或更小、 10^{-9} M (1 nM) 或更小、 10^{-10} M或更小、 10^{-11} M或更小、 10^{-12} M或更小、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M或 10^{-9} M至 10^{-7} M。在一些實施例中，例如如藉由BIACORE™ (例如如實例中所描述)所測定，本文所描述之抗TREM-1抗體結合至食蟹獼猴TREM-1，其中 K_D 為 10^{-7} M或更小、 10^{-8} M或更小、 10^{-9} M或更小、 10^{-10} M或更小、 10^{-11} M或更小、 10^{-12} M或更小、 10^{-12} M至 10^{-7} M、 10^{-11} M至 10^{-7} M、 10^{-10} M至 10^{-7} M或 10^{-9} M至 10^{-7} M。

【0140】在一個實施例中，本發明之抗體在與mAb 0318抗體之抗原決定基相同之抗原決定基中之一或多個處結合抗TREM-1。在一些實施例中，抗TREM-1抗體能夠特異性結合人類TREM-1 (例如同功異型物1，SEQ ID NO: 1)之(i)選自由以下組成之群之至少一種胺基酸殘基：A21、T22、K23、L24、T25、E26及其任何組合，及(ii)選自由以下組成之群之至少一種胺基酸殘基：A49、S50、S51、Q52、K53、A54、W55、Q56、157、158、R59、D60、G61、E62、M63、P64、K65、T66、L67、A68、C69、T70、E71、R72、P73、S74、K75、N76、S77、H78、P79、V80、Q81、V82、G83、R84、185及其任何組合，以及(iii)選自由以下組成之群之至少一種胺基酸殘基：C113、V114、1115、

Y116、Q117、P118、P119及其任何組合。參見WO 2016/009086。

【0141】在一個實施例中，如使用例如HX-MS或X射線繞射所確定，抗TREM-1抗體能夠特異性結合至SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1)之胺基酸D38至F48。在一些實施例中，如使用例如HX-MS或X射線繞射所確定，抗TREM-1抗體具有包含SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1)之胺基酸殘基D38、V39、K40、C41、D42、Y43、T44及L45中之一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個或全部及選自由SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1)之E46、K47及F48組成之群之胺基酸殘基中的一個、兩個或全部的抗原決定基。在某些實施例中，如使用TREM-1之變異體及表面電漿子共振所確定，抗TREM-1抗體具有包含選自由SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1)之D42、E46、D92及H93組成之群之胺基酸殘基中之一個、兩個、三個或全部的抗原決定基。

【0142】在一個實施例中，如使用TREM-1之變異體及表面電漿子共振所確定，本發明之抗TREM-1抗體具有至少包含SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1)之胺基酸殘基E46及/或D92之抗原決定基。在另一實施例中，抗TREM-1抗體包含選自由SEQ ID NO: 1 (人類TREM-1)之L31、186及V101組成之群之胺基酸殘基中的一個、兩個或全部。在某些實施例中，如使用例如HX-MS或X射線繞射所確定，抗TREM-1抗體能夠特異性結合包含食蟹獼猴TREM-1 (SEQ ID NO: 7)之胺基酸殘基E19至L26之多肽。

【0143】在一個實施例中，抗TREM-1抗體能夠特異性結合人類TREM-1，其中抗體之抗原決定基包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基中之一個、兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個或全部：SEQ ID NO: 1之V39、K40、C41、D42、Y43、L45、E46、K47、F48

及A49。

【0144】在一個實施例中，抗TREM-1抗體能夠特異性結合人類TREM-1，其中抗體之抗原決定基包含SEQ ID NO: 1之D42。在其他實施例中，抗TREM-1抗體能夠特異性結合人類TREM-1，其中抗體之抗原決定基包含SEQ ID NO: 1之E46。在一些實施例中，抗體之抗原決定基可包含SEQ ID NO: 1之V39、C41、D42、Y43、L45。在其他實施例中，抗體之抗原決定基可包含SEQ ID NO: 1之E46、K47及A49。在特定實施例中，抗TREM-1抗體之抗原決定基可進一步包含SEQ ID NO: 1之F48。

【0145】在一些實施例中，抗TREM-1抗體具有類似於mAb 0318抗體之黏度分佈之黏度分佈。在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體之在80 mg/mL濃度下之黏度小於5 cP、小於4 cP、小於3 cP、小於2.5 cP、小於2.4 cP、小於2.3 cP、小於2.2 cP、小於2.1 cP、小於2 cP、小於1.9 cP、小於1.8 cP、小於1.7 cP、小於1.6 cP、小於1.5 cP、小於1.4 cP、小於1.3 cP、小於1.2 cP、小於1.1 cP、小於1.0 cP、小於0.9 cP、小於0.8 cP、小於0.7 cP、小於0.6 cP、小於0.5 cP、小於0.4 cP、小於0.3 cP、小於0.2 cP或小於0.1 cP。在一些實施例中，抗TREM-1抗體之在130 mg/mL濃度下之黏度小於10 cP (例如9 cP)。

【0146】在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含突變，其中抗體之輕CDR1區及CDR3區中之一或多種帶負電殘基經不帶電殘基取代。在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含在SEQ ID NO: 15之胺基酸殘基D1、D30、D33、D74、D98、E27及E97中之一或多個處之取代，其中胺基酸殘基選自由以下組成之群：甘胺酸、丙胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、半胱胺酸及酪胺酸。此等突變在本文中稱為「電

荷修補」突變(charge patch mutation)。

【0147】在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含於SEQ ID NO: 14之Fab-Fab相互作用區中之突變以減少Fab-Fab二聚合。先前在mAb 0318抗體之情況下已表明，因為抗體包含兩個Fab，故多聚合可能影響黏度。此等突變稱為「Fab-Fab相互作用」突變。在某些實施例中，抗TREM-1抗體包含在SEQ ID NO: 14之殘基Y32、R52、S55、S56、N57、A59、M102、I104及R106或SEQ ID NO 15之殘基F32、D33、Y34、Y53、R54及D98中之任一個處之突變，其中胺基酸殘基選自由以下組成之群：甘胺酸、丙胺酸、絲胺酸、天冬醯胺酸、麩醯胺酸、蘇胺酸、半胱胺酸、離胺酸、精胺酸、色胺酸、組胺酸及酪胺酸。

【0148】在一個實施例中，如本文所揭示之抗TREM-1抗體包含在SEQ ID NO: 15之位置32處之突變，其中苯丙胺酸突變成選自以下之胺基酸：胺基酸殘基甘胺酸、絲胺酸、蘇胺酸、半胱胺酸、丙胺酸、纈胺酸、白胺酸、異白胺酸及甲硫胺酸。該突變係基於SEQ ID NO: 1之位置Y90中之Ala取代改善SEQ ID NO: 3對TREM-1之親和力之觀測結果。發現Y90與SEQ ID NO: 15之苯丙胺酸殘基相互作用。以便改善Fab-TREM-1相互作用之SEQ ID NO: 15之突變稱為「Fab-TREM-1相互作用」突變。本文提供抗TREM-1抗體，其可變區連接(例如共價連接或融合)至Fc，例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc，其可具有任何異型或異異型、例如對於IgG1：G1m、G1m1(a)、G1m2(x)、G1m3(f)、G1m17(z)；對於IgG2：G2m、G2m23(n)；對於IgG3：G3m、G3m21(g1)、G3m28(g5)、G3m11(b0)、G3m5(b1)、G3m13(b3)、G3m14(b4)、G3m10(b5)、G3m15(s)、G3m16(t)、G3m6(c3)、G3m24(c5)、G3m26(u)、

G3m27(v)；及對於K：Km、Km1、Km2、Km3（參見例如Jeffries等人(2009) mAbs 1:1）。在一些實施例中，本文所揭示之抗TREM-1抗體之可變區連接至例如IgG1之無效應子或大部分無效應子Fc。在一些實施例中，抗TREM-1抗體之可變區連接至與一或多種FcγR之結合減少或不能與一或多種FcγR結合之Fc。

【0149】在一個實施例中，本文所描述之抗TREM-1抗體之VH域可融合至例如如本文進一步描述之天然存在或經修飾的人類IgG（例如IgG1、IgG2、IgG3或IgG4）的恆定域（亦即Fc）。舉例而言，VH域可包含融合至人類IgG（例如IgG1）恆定區之本文所描述之任何VH域之胺基酸序列，諸如以下野生型人類IgG1恆定域胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 9) 或SEQ ID NO: 9之異型

變異體之彼者且具有以下胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 77；異型特定胺基酸殘

基加粗且加有下劃線)。

【0150】在一個實施例中，本文所描述之抗TREM-1抗體之VH域可包含融合至無效應子恆定區之本文所描述之任何VH域之胺基酸序列，例如以下無效應子人類IgG1恆定域胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMH~~EA~~LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 78 ;「IgG1.1f」包含根據EU編號之取代L234A、L235E、G237A、A330S及P331S，該等取代加有下劃線)

或

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT~~SV~~NSGALTS~~GV~~HTFPAVLQSSGLYSLSSV~~VT~~VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMH~~EA~~LHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 79 ;「IgG1.3f」包含根據EU編號之取代L234A、L235E及G237A，該等取代加有下劃線)。

【0151】舉例而言，IgG1之異型變異體包含K97R、D239E及/或L241M (在上文加有下劃線且加粗)且根據SEQ ID NO: 77-79中之編號進行編號。在全長重區內且根據EU編號，此等胺基酸取代編號為K214R、D356E及L358M。在一些實施例中，抗TREM-1抗體之恆定區進一步包含如SEQ ID NO: 77-79中所編號之胺基酸L117、A118、G120、A213及P214 (在上文加有下劃線)或根據EU編號之胺基酸L234、A235、G237、A330及P331處之一或多種突變或取代。在其他實施例中，抗TREM-1抗體之恆定區包含SEQ ID NO: 77-79之胺基酸L117A、A118E、G120A、A213S及P214S或根據EU編號之胺基酸L234A、L235E、G237A、A330S及P331S處之一或多種突變或取代。抗TREM-1抗體之恆定區亦可包含SEQ ID NO: 9之胺基酸L117A、A118E及G120A或根據EU編號之L234A、L235E及G237A處之一或多種突變或取代。

【0152】在一些實施例中，本文所描述之抗TREM-1抗體之VH域包含融合至IgG1恆定域之本文所描述之任何VH域之胺基酸序列，該IgG1恆定域包含以下胺基酸序列：

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 11 ; 「IgG1-Aba」 包含
根據EU編號之取代K214R、C226S、C229S及P238S，該等取代加有下劃
線)；或

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS
LGTTTYTCNVDHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS
HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYITLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW

QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO: 12 ; 「IgG4-Aba」 包含
根據EU編號之取代S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、
N203D、K214R、C226S、C229S及P238S，該等取代加有下劃線)。

【0153】 本文所描述之VL域可融合至人類κ或λ輕鏈之恆定域。舉例
而言，抗TREM-1抗體之VL域可包含融合至以下人類IgG1 κ輕鏈胺基酸
序列之本文所描述之任何VL域之胺基酸序列：

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTLS
KADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 13)

【0154】 在某些實施例中，重鏈恆定區包含在C端處之離胺酸或另一
胺基酸，例如其包含以下於重鏈中之最後胺基酸：LSPGK (SEQ ID NO:
48)。在某些實施例中，重鏈恆定區缺乏在C端處之一或多種胺基酸，且
具有例如C端序列LSPG (SEQ ID NO: 49)或LSP。

【0155】 在一個實施例中，抗TREM-1抗體之可變區連接至無效應
子或大部分無效應子Fc。在某些實施例中，抗TREM-1抗體之可變區連接
至選自由以下組成之群之Fc：如本文所描述之IgG1.1f、IgG1.3f、IgG1-
Aba及IgG4-Aba。

【0156】 一般而言，本文所描述之可變區可連接至包含一或多種修

飾之Fc，通常以更改抗體之一或多種功能特性，諸如Fc受體結合、發炎性細胞介素釋放、血清半衰期、補體結合及/或抗原依賴性細胞毒性。此外，本文所描述之抗體可經化學修飾(例如一或多種化學部分可附接至抗體)或經修飾以更改其糖基化，以更改抗體之一或多種功能特性。此等實施例中之各者進一步詳細描述於下文中。Fc區中之殘基編號為Kabat之EU索引編號。

【0157】 Fc區涵蓋源於免疫球蛋白之恆定區(例如IgG1、IgG2、IgG3、IgG4及諸如IgA、IgD、IgE及IgM之其他類別)之結構域，包括恆定區之片段、類似物、變異體、突變體或衍生物。免疫球蛋白之恆定區定義為與免疫球蛋白C端區同源之天然存在之或以合成方式產生之多肽，且可獨立地或組合地包括CH1域、鉸鏈、CH2域、CH3域或CH4域。

【0158】 Ig分子與多種類別之細胞受體相互作用。舉例而言，IgG分子與三種類別之對IgG類別之抗體具有特異性之Fcγ受體(FcγR)亦即FcγRI、FcγRII及FcγRIII相互作用。已報導對IgG結合至FcγR受體而言重要之序列位於CH2域及CH3域中。抗體之血清半衰期受彼抗體結合至Fc受體(FcR)之能力影響。

【0159】 在一個實施例中，抗TREM-1抗體之Fc區為變異Fc區，例如相對於親本Fc序列(例如未經修飾之Fc多肽，其隨後經修飾以生成變異體)而言已經修飾(例如藉由胺基酸取代、缺失及/或插入)以提供所需結構特點及/或生物活性之Fc序列。

【0160】 舉例而言，吾人可在Fc區中進行修飾以便生成Fc變異體，相對於親本Fc，其(a)抗體依賴性細胞介導之細胞毒性(ADCC)提高或降低，(b)補體介導之細胞毒性(CDC)提高或降低，(c)對C1q之親和力提高

或降低，及/或(d)對Fc受體之親和力提高或降低。該等Fc區變異體將大體上包含於Fc區中之至少一種胺基酸修飾。認為組合胺基酸修飾為特別期望的。舉例而言，變異Fc區可包括於其中之例如本文所鑑別之特定Fc區位置之兩種、三種、四種、五種等取代。

【0161】變異Fc區亦可包含序列更改，其中二硫鍵形成中所涉及之胺基酸經移除或經其他胺基酸置換。該移除可避免與用於產生本文所描述之抗TREM-1抗體之宿主細胞中所存在之含有其他半胱胺酸的蛋白質的反應。即使當移除半胱胺酸殘基時，單鏈Fc域仍可形成非共價保持在一起之二聚Fc域。在其他實施例中，Fc區可經修飾以使其與所選宿主細胞更相容。舉例而言，吾人可移除典型天然Fc區之N端附近之PA序列，該序列可藉由諸如脯胺酸亞胺基肽酶之大腸桿菌中之消化酶來辨識。在其他實施例中，可移除Fc域內之一或多個糖基化位點。通常經糖基化之殘基(例如天冬醯胺酸)可賦予細胞溶解反應。該等殘基可缺失或經未糖基化之殘基(例如丙胺酸)取代。在其他實施例中，諸如C1q結合位點之與補體相互作用中所涉及之位點可自Fc區中移除。舉例而言，吾人可使人類IgG1之EKK序列缺失或取代。在某些實施例中，可移除影響結合至Fc受體之位點，較佳除救助受體結合位點以外之位點。在其他實施例中，Fc區可經修飾以移除ADCC位點。ADCC位點為此項技術中已知的；關於IgG1中之ADCC位點，參見例如Sarmay等人, *Molec. Immunol.* 29 (5): 633-9 (1992)。變異Fc域之特定實例揭示於例如WO 97/34631及WO 96/32478中。

【0162】在一個實施例中，修飾Fc之鉸鏈區以使得更改鉸鏈區中之半胱胺酸殘基之數目，例如增加或減少。此方法進一步描述於Bodmer等人之美國專利第5,677,425號中。更改Fc之鉸鏈區中之半胱胺酸殘基之數

目以例如促進輕鏈及重鏈之裝配，或以提高或降低抗體之穩定性。在一個實施例中，使抗體之Fc鉸鏈區突變以縮短抗體之生物半衰期。更特定言之，將一或多種胺基酸突變引入Fc鉸鏈片段之CH₂-CH₃域介面區中，以使得抗體之葡萄球菌蛋白A (SpA)結合相對於天然Fc鉸鏈域SpA結合而言減弱。此方法進一步詳細描述於Ward等人之美國專利第6,165,745號中。

【0163】在又其他實施例中，藉由用不同胺基酸殘基置換至少一種胺基酸殘基來更改Fc區以更改抗體之(多種)效應子功能。舉例而言，選自胺基酸殘基234、235、236、237、297、318、320、322、330及/或331之一或多種胺基酸可經不同胺基酸殘基置換以使得抗體對效應子配位體之親和力得到更改但保留親本抗體之抗原結合能力。親和力得到更改之效應子配位體可為例如Fc受體或補體之C1組分。此方法進一步詳細描述於均屬於Winter等人之美國專利第5,624,821號及第5,648,260號中。

【0164】在另一實例中，選自胺基酸殘基329、331及322之一或多種胺基酸可經不同胺基酸殘基置換以使得抗體之C1q結合得到更改及/或補體依賴性細胞毒性(CDC)得到降低或消除。此方法進一步詳細描述於Idusogie等人之美國專利第6,194,551號中。

【0165】在另一實例中，更改胺基酸位置231及239內之一或多種胺基酸殘基，藉此更改抗體結合補體之能力。此方法進一步描述於Bodmer等人之PCT公開WO 94/29351中。

【0166】在又另一實例中，Fc區可經修飾以藉由修飾在以下位置處之一或多種胺基酸來降低抗體依賴性細胞毒性(ADCC)及/或降低對Fcγ受體之親和力：234、235、236、238、239、240、241、243、244、245、247、248、249、252、254、255、256、258、262、263、264、

265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、299、301、303、305、307、309、312、313、315、320、322、324、325、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、433、434、435、436、437、438或439。例示性取代包括236A、239D、239E、268D、267E、268E、268F、324T、332D及332E。例示性變異體包括239D/332E、236A/332E、236A/239D/332E、268F/324T、267E/268F、267E/324T及267E/268F/324T。用於增強FcγR及補體相互作用之其他修飾包括但不限於取代298 A、333A、334A、326A、247I、339D、339Q、280H、290S、298D、298V、243L、292P、300L、396L、305I及396L。此等及其他修飾綜述於Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691中。

【0167】可對Fc進行之其他Fc修飾為用於減少或消除結合至FcγR及/或補體蛋白質，藉此減少或消除諸如ADCC、ADCP及CDC之Fc介導之效應子功能之修飾。例示性修飾包括但不限於位置234、235、236、237、267、269、325、328、330及/或331 (例如330及331)處之取代、插入及缺失，其中編號係根據EU索引進行。例示性取代包括但不限於234A、235E、236R、237A、267R、269R、325L、328R、330S及331S (例如330S及331S)，其中編號根據EU索引進行。Fc變異體可包含236R/328R。用於減少FcγR與補體相互作用之其他修飾包括取代297A、234A、235A、237A、318A、228P、236E、268Q、309L、330S、331 S、220S、226S、229S、238S、233P及234V，以及藉由突變或酶促手段或

藉由在不使蛋白質糖基化之生物體(諸如細菌)中產生進行之位置297處之糖基化移除。此等及其他修飾綜述於Strohl, 2009, *Current Opinion in Biotechnology* 20:685-691中。

【0168】Fc區可視情況包含在熟習此項技術者已知之額外及/或替代性位置處之非天然存在之胺基酸殘基(參見例如美國專利第5,624,821號；第6,277,375號；第6,737,056號；第6,194,551號；第7,317,091號；第8,101,720號；國際公開第WO 00/42072號；第WO 01/58957號；第WO 02/06919號；第WO 04/016750號；第WO 04/029207號；第WO 04/035752號；第WO 04/074455號；第WO 04/099249號；第WO 04/063351號；第WO 05/070963號；第WO 05/040217號；第WO 05/092925號及第WO 06/0201 14號)。

【0169】Fc區對其配位體之親和力及結合特性可藉由此項技術中已知之各種活體外檢定方法(基於生物化學或免疫學之檢定)來確定，該等方法包括但不限於平衡方法(例如酶聯免疫吸附檢定(ELISA)或放射免疫檢定(RIA))或動力學(例如BIACORE分析)及諸如間接結合檢定、競爭性抑制檢定、螢光共振能量轉移(FRET)、凝膠電泳及層析法(例如凝膠過濾)之其他方法。此等及其他方法可利用所檢驗之組分中之一或多種上之標記及/或採用包括但不限於顯色、螢光、發光或同位素標記之各種偵測方法。結合親和力及動力學之詳細描述可見於Paul, W. E., 編, *Fundamental immunology*, 第4版, Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)中，該文獻聚焦於抗體-免疫體原相互作用。

【0170】在某些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體包含與FcγR之結合減少或不能與FcγR結合之Fc。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID

NO: 76 闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54 闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，抗TREM-1抗體對FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32)、FcγRIIB (CD32)、FcγRIIIA (CD16a)、FcγRIIIB (CD16b)或其任何組合具有降低之結合親和力。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76 闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54 闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，抗TREM-1抗體對FcγRI (CD64)具有降低至少兩倍、至少三倍、至少四倍、至少五倍、至少六倍、至少七倍、至少八倍、至少九倍或至少10倍之結合親和力。

【0171】 在一些實施例中，抗TREM-1抗體包含有包含以下IgG1 Fc變異體：(a)選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之L234A、L235E、G237A及其任何組合；(b)選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之L234A、L235E、G237A、A330S、P331S及其任何組合；(c)選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之K214R、C226S、C229S、P238S及其任何組合；或(d)選自由以下組成之群之一或多種胺基酸取代：根據EU編號之S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S、P238S及其任何組合。

【0172】 在一些實施例中，如本文所揭示之抗TREM-1抗體具有(a) IgG1同型且包含在選自由以下組成之群之胺基酸殘基處之Fc區中之一或多種胺基酸取代：N297A、N297Q、D270A、D265A、L234A、L235A、C226S、C229S、P238S、E233P、L234V、P238A、A327Q、A327G、P329A、K322A、L234F、L235E、P331S、T394D、A330L、M252Y、S254T、T256E、L328E、P238D、S267E、L328F、E233D、

G237D、H268D、P271G、A330R及其任何組合，其中殘基編號係根據EU或Kabat編號，或包含對應於甘胺酸236之位置處之Fc區中之胺基酸缺失；(b) IgG2同型且包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基處之Fc區中之一或多種胺基酸取代：P238S、V234A、G237A、H268A、H268Q、H268E、V309L、N297A、N297Q、A330S、P331S、C232S、C233S、M252Y、S254T、T256E及其任何組合，其中殘基編號係根據EU或Kabat編號；或(c) IgG4同型且包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基處之Fc區中之一或多種胺基酸取代：E233P、F234V、L234A/F234A、L235A、G237A、E318A、S228P、L236E、S241P、L248E、T394D、M252Y、S254T、T256E、N297A、N297Q及其任何組合，其中殘基編號係根據EU或Kabat編號。在一些實施例中，(a) Fc區進一步包含選自由以下組成之群之胺基酸殘基處之一或多種額外胺基酸取代：A330L、L234F、L235E、P331S及其任何組合，其中殘基編號係根據EU或Kabat編號；(b) Fc區進一步包含選自由以下組成之群之位置處之一或多種額外胺基酸取代：M252Y、S254T、T256E及其任何組合，其中殘基編號係根據EU或Kabat編號；或(c) Fc區進一步包含根據EU或Kabat編號之S228P胺基酸取代。參見WO 2017/152102。

【0173】在某些實施例中，選擇具有經減少之補體結合之Fc。例如IgG1 Fc之具有經減少之補體結合之例示性Fc具有以下兩種胺基酸取代：A330S及P331S。

【0174】在某些實施例中，選擇基本上不具有效應子功能之Fc，亦即其具有經減少之與FcγR之結合及經減少之補體結合。例如IgG1 Fc之無效應子之例示性Fc包含以下五種突變：L234A、L235E、G237A、A330S

及P331S。

II. 抗體物理特性

【0175】抗TREM-1抗體(例如本文所描述之抗TREM-1抗體)具有本文所描述之特定抗TREM-1抗體之物理特性中之一些或全部，諸如實例中所描述之特徵。

【0176】尤其在可變區內之糖基化位點可引起抗體免疫原性增加或由於經更改之抗原結合引起抗體pK更改(Marshall等人, (1972) *Annu Rev Biochem* 41:673-702 ; Gala及Morrison (2004) *J. Immunol* 172:5489-94 ; Wallick等人, (1988) *J Exp Med* 168: 1099-109 ; Spiro (2002) *Glycobiology* 12:43R-56R ; Parekh等人, (1985) *Nature* 316:452-7 ; Mimura等人, (2000) *Mol Immunol* 37:697-706)。已知糖基化出現在含有N-X-S/T序列之基元處。在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體不含有或具有經減少之可變區糖基化。此可藉由選擇在可變區中不含有糖基化基元之抗體或藉由在糖基化區內使殘基突變來達成。因此，在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，如本文所揭示之抗TREM-1抗體具有較少免疫原性。

【0177】在一些實施例中，抗TREM-1抗體不含有天冬醯胺酸異構化位點。天冬醯胺酸脫醯胺可出現在N-G或D-G序列上且引起異天冬胺酸殘基產生，該異天冬胺酸殘基將扭結引入多肽鏈中且降低其穩定性(異天冬胺酸作用)。

【0178】各抗體應具有大體上落入6與9.5之間之pH範圍內之獨特等電點(pi)。IgG1抗體之pi通常落入7-9.5之pH範圍內且IgG4抗體之pi通常

落入6-8之pH範圍內。推測pi超出正常範圍之抗體在活體內條件下可能具有某種解摺疊及不穩定性。因此，如本文所揭示之抗TREM-1抗體可含有落入正常範圍(例如8-9)內之pi值。此可藉由選擇pi在正常範圍內之抗體或藉由使帶電表面殘基突變來達成。

【0179】各抗體應具有特徵熔融溫度，其中較高熔融溫度指示較大活體內總體穩定性(Krishnamurthy R及Manning M C (2002) *Curr Pharm Biotechnol* 3:361-71)。一般而言， T_{mi} (初始解摺疊之溫度)可大於60°C、大於65°C或大於70°C。在一些實施例中，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的抗體相比，本發明之抗TREM-1抗體具有更高之熔融溫度。因此，在一些實施例中，如藉由例如毛細管示差掃描熱析儀(CAP-DSC)所量測，與包含由如SEQ ID NO: 76闡述之胺基酸序列組成之重鏈及由如SEQ ID NO: 54闡述之胺基酸序列組成之輕鏈的參考抗體相比，本發明之抗TREM-1抗體為熱穩定的。抗體熔點可使用示差掃描熱析法(Chen等人, (2003) *Pharm Res* 20: 1952-60; Ghirlando等人, (1999) *Immunol Lett* 68:47-52)或圓二色性(Murray等人, (2002) *J. Chromatogr Sci* 40:343-9)來量測。在一些實施例中，當將抗體加熱至77°C時，約10%至20%、約20%至30% (例如24%)或約30%至40%之抗體為可逆的。

【0180】在一些實施例中，本發明之抗TREM-1抗體不快速降解。抗體降解可使用毛細管電泳法(CE)及MALDI-MS (Alexander A J及Hughes D E (1995) *Anal Chem* 67:3626-32)來量測。

【0181】在一些實施例中，如本文所揭示之抗TREM-1抗體具有最低程度之聚集作用，此可能導致不合需要之免疫反應之觸發及/或經更改

或不利之藥物動力學特性。一般而言，具有25%或更少、20%或更少、15%或更少、10%或更少或5%或更少聚集之抗體為可接受的。聚集可藉由包括粒徑篩析柱(SEC)、高效液相層析法(HPLC)及動態光散射(DLS)之若干種技術來量測。在一些實施例中，如藉由粒徑篩析高效液相層析法(SE-HPLC)所觀測，本發明之抗TREM-1抗體為單體。在一些實施例中，如藉由二維液相層析法串聯質譜法(2D-LC/MS)或使用液相層析法串聯質譜法(LC/MS)進行之完整質量分析所觀測，抗TREM-1抗體展現最低程度之片段化風險。

III. 核酸、載體及細胞

【0182】本文所描述之另一態樣係關於編碼本文所描述之抗TREM-1抗體之核酸分子。核酸可以全細胞、以細胞溶解物或以部分純化或實質上純之形式存在。當核酸自其他細胞組分或例如其他細胞核酸(例如其他染色體DNA，例如連接至自然界中之經分離之DNA之染色體DNA)或蛋白質之其他雜質純化分開時，該核酸為「經分離的」或「呈現實質上純的」，該純化係藉由包括鹼性/SDS處理、CsCl顯帶、管柱層析法、限制酶、瓊脂糖凝膠電泳及此項技術中眾所周知之其他標準技術之標準技術來進行。參見F. Ausubel等人，編 (1987) *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York。本文所描述之核酸可為例如DNA或RNA，且可含有或可不含有內含子序列。在一些實施例中，核酸為cDNA分子。

【0183】本文所描述之核酸可使用標準分子生物學技術來獲得。對於由融合瘤(例如由如下文進一步描述之攜載人類免疫球蛋白基因之基因轉殖小鼠製備之融合瘤)表現之抗體，編碼由融合瘤製造之抗體之輕鏈及

重鏈之cDNA可藉由標準PCR擴增或cDNA選殖技術來獲得。對於自免疫球蛋白基因文庫獲得(例如使用噬菌體顯示技術)之抗體，可自文庫回收編碼抗體之核酸。

【0184】在一些實施例中，本文所描述之核酸為編碼本發明之抗TREM-1抗體之VH及VL序列之核酸。編碼VH及VL序列之例示性DNA序列分別如SEQ ID NO: 58-61及SEQ ID NO: 62-65闡述。

【0185】用於製造如本文所揭示之抗TREM-1抗體之方法可包含表現細胞株中之重鏈及輕鏈，該細胞株包含編碼具有信號肽之重鏈及輕鏈之核苷酸序列，分別例如為SEQ ID NO: 58-61及SEQ ID NO: 62-65。包含此等核苷酸序列之宿主細胞涵蓋於本文中。

【0186】一旦獲得編碼VH及VL區段之DNA片段，則可藉由標準重組DNA技術進一步操控此等DNA片段，例如以將可變區基因轉化成全長抗體鏈基因、轉化成Fab片段基因或轉化成scFv基因。在此等操控中，編碼VL或VH之DNA片段可操作地連接至編碼諸如抗體恆定區或可撓性連接子之另一蛋白質之另一DNA片段。如此上下文中所使用之術語「可操作地連接」意欲意謂兩個DNA片段連接以使得由兩個DNA片段編碼之胺基酸序列保持在框內。

【0187】編碼VH區之經分離之DNA可藉由將編碼VH之DNA可操作地連接至編碼重鏈恆定區(鉸鏈、CH1、CH2及/或CH3)之另一DNA分子而轉化成全長重鏈基因。人類重鏈恆定區基因之序列為此項技術中已知的(參見例如Kabat, E. A.等人 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, 美國衛生與人群服務部, NIH公開第91-3242號), 且涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增來獲得。重鏈

恆定區可為IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM或IgD恆定區，例如IgG2及/或IgG 4恆定區。對於Fab片段重鏈基因，編碼VH之DNA可操作地連接至僅編碼重鏈CH1恆定區之另一DNA分子。

【0188】編碼VL區之經分離之DNA可藉由將編碼VL之DNA可操作地連接至編碼輕鏈恆定區CL之另一DNA分子而轉化成全長輕鏈基因(以及Fab輕鏈基因)。人類輕鏈恆定區基因之序列為此項技術中已知的(參見例如Kabat, E. A.等人 (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第五版, 美國衛生與人群服務部, NIH公開第91-3242號), 且涵蓋此等區域之DNA片段可藉由標準PCR擴增來獲得。輕鏈恆定區可為 κ 或 λ 恆定區。

【0189】本文所描述之另一態樣係關於表現(例如以重組方式)本文所描述之抗TREM-1抗體之細胞(例如宿主細胞)及相關多核苷酸以及表現載體。本文亦提供包含有包含編碼抗TREM-1抗體或其片段之核苷酸序列之多核苷酸之載體。在一些實施例中，載體可用於以重組方式表現宿主細胞中(例如哺乳動物細胞中)之本文所描述之抗TREM-1抗體。在一些實施例中，載體可用於基因療法。

【0190】適用於本發明之載體包括表現載體、病毒載體及質體載體。在一些實施例中，載體為病毒載體。

【0191】如本文所使用之表現載體係指任何核酸構築體，其含有當引入適當宿主細胞中時轉錄及轉譯所插入編碼序列必需之元素或在RNA病毒載體之情況下複製及轉譯必需之元素。表現載體可包括質體、噬質體、病毒及其衍生物。

【0192】本發明之表現載體可包括編碼本文所描述之抗體或其抗原

結合部分之多核苷酸。在一些實施例中，用於抗體或其抗原結合部分之編碼序列可操作地連接至表現控制序列。如本文所使用，當兩個核酸序列以准許各組分核酸序列保留其功能性之方式共價連接時，其可操作地連接。當編碼序列及基因表現控制序列以將編碼序列之表現或轉錄及/或轉譯置於基因表現控制序列之影響或控制下之方式共價連接時，稱其可操作地連接。若5'基因表現序列中之啟動子誘導引起編碼序列轉錄及若兩個DNA序列之間之連接本質不(1)引起框移突變引入、(2)干擾啟動子區導引編碼序列轉錄之能力或(3)干擾對應RNA轉錄轉譯成蛋白之能力，則稱兩個DNA序列可操作地連接。因此，若基因表現序列能夠實行彼編碼核酸序列轉錄以使得所得轉錄轉譯成所需抗體或其抗原結合部分，則基因表現序列可操作地連接至編碼核酸序列。

【0193】病毒載體包括但不限於來自以下病毒之核酸序列：諸如莫洛尼鼠白血病病毒(Moloney murine leukemia virus)、哈威鼠肉瘤病毒(Harvey murine sarcoma virus)、鼠乳腺腫瘤病毒及勞斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)之反轉錄病毒；慢病毒；腺病毒；腺相關病毒；SV40型病毒；多瘤病毒；艾伯斯坦-巴爾病毒(Epstein-Barr virus)；乳頭狀瘤病毒；疱疹病毒；牛痘病毒；小兒麻痹病毒；及諸如反轉錄病毒之RNA病毒。吾人可容易地採用此項技術中眾所周知之其他載體。某些病毒載體係基於其中非必要之基因已經所關注之基因置換之非細胞病變真核病毒。非細胞病變病毒包括反轉錄病毒，其生命週期涉及基因組病毒RNA向DNA之反轉錄及後續原病毒向宿主細胞DNA中之併入。反轉錄病毒已批准用於人類基因療法試驗。彼等複製缺陷型(亦即能夠引導所需蛋白質之合成，但不能製造感染性顆粒)反轉錄病毒為最有用的。該等經基因更改之

反轉錄病毒表現載體具有用於活體內高效轉導基因之一般效用。用於製造複製缺陷型反轉錄病毒之標準方案(包括將外源性基因物質併入質體中、用質體轉染封裝細胞株、由封裝細胞株產生重組反轉錄病毒、自組織培養基中收集病毒顆粒及用病毒顆粒使靶細胞感染之步驟)提供於Kriegler, M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, W.H. Freeman Co., New York (1990)及Murry, E. J., Methods in Molecular Biology, 第7卷, Humana Press, Inc., Clifton, N.J. (1991)中。

【0194】在一些實施例中，病毒為腺相關病毒、雙股DNA病毒。腺相關病毒可工程化成複製缺陷型腺相關病毒且能夠感染廣泛範圍之細胞類型及物種。其進一步具有諸如以下之優勢：熱及脂質溶劑穩定性；多樣譜系之細胞(包括造血細胞)中之高轉導頻率；及重複感染抑制缺乏，因此允許多個系列之轉導。據報導，腺相關病毒可以位點特異性方式併入至人類細胞DNA中，籍此將插入突變誘發之可能性及反轉錄病毒感染之所插入基因表現特徵之可變性降至最低。另外，已在不存在選擇性壓力之情況下在組織培養中追蹤野生型腺相關病毒感染達超過100代，此意指腺相關病毒基因組併入為相對穩定之事件。腺相關病毒亦可以染色體外方式起作用。

IV. 免疫接合物

【0195】本發明亦提供包含本文所揭示之抗TREM-1抗體中之任一種之免疫接合物。在一些實施例中，免疫接合物包含連接至藥劑之抗體或抗原結合部分。在一些實施例中，免疫接合物包含連接至藥劑(例如呈治療劑或診斷劑形式)之本文所揭示之雙特異性分子。

【0196】出於診斷目的，對於全身成像，適當藥劑為包括放射性同

位素之可偵測標記，而對於樣品測試，適當藥劑為放射性同位素、酶、螢光標記及其他合適之抗體標籤。可連接至本文所描述之任何抗TREM-1抗體之可偵測標記可為當前用於活體外診斷領域中之各種類型中的任一種，包括有包括諸如膠態金之金屬溶膠之微粒標記、呈現例如有 N_2S_2 、 N_3S 或 N_4 類型之肽螯合劑之諸如 I^{125} 或 Tc^{99} 之同位素、包括螢光標記物、發光標記物、磷光標記物及其類似標記物之發色團以及將給定受質轉化成可偵測標記物之酶標記及在諸如藉由聚合酶鏈反應進行擴增之後顯露的多核苷酸標籤。合適之酶標記包括山葵過氧化酶、鹼性磷酸酶及其類似物。舉例而言，標記可為酶鹼性磷酸酶，其係藉由在轉化諸如金剛烷基甲氧基磷醯基氧基苯基二氧雜環丁烷(AMPPD)、3-(4-(甲氧基螺{1,2-二氧雜環丁烷-3,2'-(5'-氯)三環{3.3.1.1^{3,7}}癸}-4-基)苯基磷酸二鈉(CSPD)以及CDP及CDP-STAR[®]或本領域技術者眾所周知之其他發光受質(例如諸如鉍(III)及鎔(III)之合適鐳系元素之螯合物)的1,2二氧雜環丁烷受質之後量測化學螢光的存在或形成來偵測。偵測手段由所選標記決定。標記或其反應產物之外觀可在標記為微粒且以適當含量積聚之情況下使用肉眼來達成，或使用全部根據標準實踐之諸如分光光度計、光度計、螢光計及其類似儀器之儀器來達成。

【0197】 在一些實施例中，接合方法產生實質上(或幾乎)非免疫原性之鍵，例如肽鍵(亦即醯胺鍵)、硫鍵(位阻)、二硫鍵、脰鍵及醚鍵。此等鍵為幾乎非免疫原性的，且在血清內顯示合理穩定性(參見例如Senter, P. D., *Curr. Opin. Chem. Biol.* 13 (2009) 235-244；WO 2009/059278；WO 95/17886)。

【0198】 視該部分及該抗體之生物化學本質而定，可採用不同接合

策略。在該部分為具有50種與500種之間之胺基酸之天然存在或重組部分之情況下，在課本中存在描述用於合成蛋白質接合物之化學物質之標準程序，其可容易地由熟習此項技術者遵循(參見例如Hackenberger, C. P. R. 及Schwarzer, D., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 10030-10074)。在一些實施例中，使用順丁烯二醯亞胺基部分與抗體或該部分內之半胱胺酸殘基之反應。此在例如使用抗體之Fab或Fab'片段之情況下為尤其合適之偶合化學物質。可替代地，在一些實施例中，執行偶合至該抗體或部分之C端。如所描述，可執行對蛋白質之C端修飾，例如對Fab片段之C端修飾(Sunbul, M.及Yin, J., *Org. Biomol. Chem.* 7 (2009) 3361-3371)。

【0199】一般而言，位點特異性反應及共價偶合係基於將天然胺基酸轉型成具有與所存在之其他官能基之反應性正交之反應性的胺基酸。舉例而言，罕見序列情形內之特定半胱胺酸可酶促轉化成醛(參見Frese, M. A.及Dierks, T., *ChemBioChem.* 10 (2009) 425-427)。亦有可能藉由在給定序列情形下利用某些酶與天然胺基酸之特異性酶反應性來獲得所需胺基酸修飾(參見例如Taki, M.等人, *Prot. Eng. Des. Sel.* 17 (2004) 119-126；Gautier, A.等人 *Chem. Biol.* 15 (2008) 128-136；及由Bordusa, F.使用之Protease-catalyzed formation of C- N bonds, *Highlights in Bioorganic Chemistry* (2004) 389-403)。位點特異性反應及共價偶合亦可藉由末端胺基酸與適當修飾試劑之選擇性反應來達成。

【0200】 N端半胱胺酸與苯甲腈之反應性(參見Ren, H.等人, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 48 (2009) 9658-9662)可用於達成位點特異性共價偶合。

【0201】天然化學接合亦可依賴於C端半胱胺酸殘基(Taylor, E. Vogel; Imperiali, B, *Nucleic Acids and Molecular Biology* (2009), 22 (Protein Engineering), 65-96)。

【0202】US6437095 B1描述基於一連串帶負電胺基酸內之半胱胺酸與位於一連串帶正電胺基酸中之半胱胺酸之較快反應的接合方法。

【0203】該部分亦可為合成肽或肽模擬物。在化學合成多肽之情況下，可在該合成期間摻入具有正交化學反應性之胺基酸(參見例如de Graaf, A. J.等人, *Bioconjug. Chem.* 20 (2009) 1281-1295)。因為大量多種之正交官能基至關重要且可引入至合成肽中，故該肽與連接子之接合為標準化學反應。

【0204】為獲得單標記多肽，可藉由層析法以1:1化學計量將接合物與其他接合副產物分離。可藉由使用染料標記之結合對成員及帶電連接子促進此程序。藉由使用此類經標記且高度帶負電之結合對成員，單接合多肽容易地與未經標記之多肽及攜帶超過一個連接子之多肽分離，此係因為電荷及分子量之差可用於分離。螢光染料可適用於自如經標記之單價結合劑之未結合組分中純化複合物。

【0205】在一些實施例中，附接至抗TREM-1抗體之部分係選自由以下組成之群：結合部分、標記部分及生物活性部分。

【0206】本文所描述之抗TREM-1抗體亦可接合至治療劑以形成諸如抗體-藥物接合物(ADC)之免疫接合物。合適之治療劑包括抗代謝物、烷基化劑、DNA小溝結合劑、DNA嵌入劑、DNA交聯劑、組蛋白去乙醯酶抑制劑、核輸出抑制劑、蛋白酶體抑制劑、拓撲異構酶I或II抑制劑、熱休克蛋白抑制劑、酪胺酸激酶抑制劑、抗生素及抗有絲分裂劑。在

ADC中，抗體及治療劑較佳經由諸如肽基、二硫化物或胺連接子之可裂解連接子接合。在一些實施例中，連接子為諸如Val-Cit、Ala-Val、Val-Ala-Val、Lys-Lys、Pro-Val-Gly-Val-Val (SEQ ID NO: 80)、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Ala-Ala-Asn、Cit-Cit、Val-Lys、Lys、Cit、Ser或Glu之肽基連接子。ADC可如以下中所描述來製備：美國專利第7,087,600號；第6,989,452號；及第7,129,261號；PCT公開WO 02/096910；WO 07/038658；WO 07/051081；WO 07/059404；WO 08/083312；及WO 08/103693；美國專利公開20060024317；20060004081；及20060247295。

【0207】抗TREM-1抗體(例如本文所描述之抗TREM-1抗體)亦可用於偵測諸如人類TREM-1 (例如組織或組織樣品中之人類TREM-1)之TREM-1。抗體可用於例如ELISA檢定中或用於流動式細胞量測術中。在一些實施例中，使抗TREM-1抗體與例如於組織中之細胞之細胞接觸達適合於出現特異性結合之一段時間，且隨後添加例如偵測抗TREM-1抗體之抗體之試劑。例示性檢定提供於實例中。抗TREM-1抗體可為完全人類抗體，或其可為嵌合抗體，諸如具有人類可變區及鼠恆定區或其一部分之抗體。用於偵測樣品(細胞或組織樣品)中之例如人類TREM-1之TREM-1之例示性方法包含(i)使樣品與抗TREM-1抗體接觸達足以允許特異性結合抗TREM-1抗體與樣品中之TREM-1之一段時間，及(2)使樣品與特異性結合至抗TREM-1抗體以便結合至抗TREM-1抗體之Fc區之例如抗體的偵測試劑接觸，以藉此偵測與抗TREM-1抗體結合之TREM-1。可在與抗體及/或偵測試劑一起培育之後包括洗滌步驟。因為可使用單獨偵測劑，故用於此等方法中之抗TREM-1抗體不必連接至標記劑或偵測劑。

【0208】例如作為單一療法或組合療法之用於抗TREM-1抗體之其他用途提供於本文其他地方中，例如在關於組合治療之部分中。

V. 雙特異性分子

【0209】本文所描述之抗TREM-1抗體可用於形成雙特異性分子。抗TREM-1抗體或其抗原結合部分可衍生出或連接至另一功能性分子，例如另一肽或蛋白質(例如用於受體之另一抗體或配位體)，以生成結合至至少兩種不同結合位點或靶分子之雙特異性分子。舉例而言，抗TREM-1抗體可連接至特異性結合至可用作用於組合治療之潛在標靶之任何蛋白質(諸如本文所描述之蛋白質)的抗體或scFv (例如抗IP-10或TNF- α 的抗體)。實際上，本文所描述之抗體可衍生出或連接至超過一種其他功能性分子以生成結合至超過兩種不同結合位點及/或靶分子之多特異性分子；該多特異性分子亦意欲由如本文所使用之術語「雙特異性分子」涵蓋。為產生本文所描述之雙特異性分子，可使本文所描述之抗體功能性連接(例如藉由化學偶合、基因融合、非共價締合或以其它方式)至諸如另一抗體、抗體片段、肽或結合模擬物之一或多種其他結合分子以使得產生雙特異性分子。

【0210】因此，本文提供包含至少一種對TREM-1之第一結合特異物及對第二靶抗原決定基之第二結合特異物之雙特異性分子。在其中雙特異性分子為多特異性分子之本文所描述之一些實施例中，分子可進一步包含第三結合特異物。

【0211】在一些實施例中，本文所描述之雙特異性分子包含包括例如Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv或單鏈Fv (scFv)之至少一種抗體或其抗體片段作為結合特異物。抗體亦可為輕鏈或重鏈二聚體，或諸如如Ladner等人美

國專利第4,946,778號中所描述之Fv或單鏈構築體之其任何最小片段。

【0212】當較佳為人類單株抗體時，可用於本文所描述之雙特異性分子中之其他抗體為鼠單株抗體、嵌合單株抗體及人類化單株抗體。

【0213】本文所描述之雙特異性分子可藉由使用此項技術中已知之方法使構成性結合特異物接合來製備。舉例而言，雙特異性分子之各結合特異物可獨立地生成且隨後彼此接合。當結合特異物為蛋白質或肽時，各種偶合劑或交聯劑可用於共價接合。交聯劑之實例包括蛋白A、碳化二亞胺、N-丁二醯亞胺基-S-乙醯基-硫乙酸酯(SATA)、5,5'-二硫基雙(2-硝基苯甲酸) (DTNB)、鄰伸苯基二順丁烯二醯亞胺(oPDM)、N-丁二醯亞胺基-3-(2-吡啶基二硫基)丙酸酯(SPDP)及4-(N-順丁烯二醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸磺基丁二醯亞胺酯(磺基SMCC) (參見例如Karpovsky等人 (1984) *J. Exp. Med.* 160: 1686 ; Liu, MA等人 (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:8648)。其他方法包括Paulus (1985) *Behring Ins. Mitt.* 第78號, 118-132 ; Brennan等人 (1985) *Science* 229:81-83)及Glennie等人 (1987) *J. Immunol.* 139: 2367-2375)中所描述之方法。一些接合劑為SATA及磺基SMCC，兩者均可自Pierce Chemical Co. (Rockford, IL)獲得。

【0214】當結合特異物為抗體時，其可經由兩個重鏈之C端鉸鏈區之硫氫基鍵結來接合。在一些實施例中，在接合之前，鉸鏈區經修飾以含有奇數個(較佳一個)硫氫基殘基。

【0215】可替代地，兩種結合特異物可在同一載體中編碼，且在同一宿主細胞中表現及裝配。此方法尤其適用於雙特異性分子為mAb×mAb、mAb×Fab、mAb×(scFv)₂、Fab×F(ab')₂或配位體×Fab融合蛋白之情況。雙特異性抗體可包含在各重鏈之C端處包含scFv之抗體。本

文所描述之雙特異性分子可為包含一種單鏈抗體及結合決定子之單鏈分子，或包含兩種結合決定子之單鏈雙特異性分子。雙特異性分子可包含至少兩種單鏈分子。用於製備雙特異性分子之方法描述於例如美國專利第5,260,203號；美國專利第5,455,030號；美國專利第4,881,175號；美國專利第5,132,405號；美國專利第5,091,513號；美國專利第5,476,786號；美國專利第5,013,653號；美國專利第5,258,498號；及美國專利第5,482,858號中。

【0216】雙特異性分子與其特異性標靶之結合可使用諸如酶聯免疫吸附檢定(ELISA)、放射免疫檢定(RIA)、FACS分析、生物檢定(例如生長抑制)或蛋白質印跡檢定之此項技術中公認之方法來確認。此等檢定中之各者大體上藉由採用對所關注之複合物具有特異性之經標記試劑(例如抗體)來偵測備受關注之蛋白質-抗體複合物的存在。

VI. 套組

【0217】本文提供包含一或多種本文所描述之抗TREM-1抗體或其抗原結合部分、雙特異性分子或其免疫接合物之套組。在一些實施例中，本文提供包含填充有本文所描述之醫藥組合物之成分(諸如一或多種本文所提供之抗體或其抗原結合部分)中之一或多種的一或多個容器、視情況選用的使用說明書的醫藥包或套組。在一些實施例中，套組含有本文所描述之醫藥組合物及任何防治劑或治療劑，諸如本文所描述之防治劑或治療劑。

VII. 組合物及調配物

【0218】本文進一步提供包含本文所揭示之抗TREM-1抗體(包括多核苷酸、載體及編碼及/或表現抗TREM-1抗體之細胞)中之一或多種的組

合物(例如醫藥組合物)及調配物。舉例而言，在一個實施例中，本發明提供包含一或多種與醫藥學上可接受之載劑一起調配之如本文所揭示之抗TREM-1抗體的醫藥組合物。

【0219】如本文所使用之「醫藥學上可接受之載劑」包括生理學上相容之任何及所有溶劑、分散介質、包衣、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑以及其類似物。在一些實施例中，載劑適用於靜脈內、肌肉內、皮下、非經腸、脊髓或表皮投與(例如藉由注射或輸注)。視投與途徑而定，活性化合物亦即抗體、免疫接合物或雙特異性分子可包覆於材料中以保護化合物免受酸及可使化合物失活之其他天然條件之作用。

【0220】因此，本發明之一個目的為提供改善抗TREM-1抗體之穩定性且因此允許其長期儲存之醫藥調配物。在一些實施例中，本文所揭示之醫藥調配物包含：(a)抗TREM-1抗體；(b)緩衝劑；(c)穩定劑；(d)鹽；(e)增積劑；及/或(f)界面活性劑。在一些實施例中，醫藥調配物穩定至少1個月、至少2個月、至少3個月、至少6個月、至少1年、至少2年、至少3年、至少5年或更長。在一些實施例中，調配物在儲存於4℃、25℃或40℃下時為穩定的。

緩衝劑

【0221】適用於本發明之緩衝劑可為用於在添加另一酸或鹼之後維持溶液酸性(pH)接近所選值之弱酸或弱鹼。合適之緩衝劑可藉由維持調配物之pH控制來使醫藥調配物之穩定性最大化。合適之緩衝劑亦可確保生理學相容性或使溶解度最佳化。流變性、黏度及其他特性亦可視調配物之pH而定。常見緩衝劑包括但不限於組胺酸、檸檬酸酯、琥珀酸酯、乙酸酯及磷酸酯。在一些實施例中，緩衝劑包含組胺酸(例如L-組胺酸)及等張

劑以及潛在地利用此項技術中已知之酸或鹼進行之pH調節。在某些實施例中，緩衝劑為L-組胺酸。在某些實施例中，調配物之pH維持在約2與約10之間或約4與約8之間。

穩定劑

【0222】將穩定劑添加至醫藥產品中以便使彼產品穩定。該等試劑可以多種不同方式使蛋白質穩定。常見穩定劑包括但不限於諸如甘胺酸、丙胺酸、離胺酸、精胺酸或蘇胺酸之胺基酸、諸如葡萄糖、蔗糖、海藻糖、棉籽糖或麥芽糖之碳水化合物、具有任何種類及分子量之諸如甘油、甘露糖醇、山梨糖醇、環糊精或聚葡萄糖或PEG之多元醇。在本發明之一個態樣中，選定穩定劑以便使凍乾製劑中之FIX多肽之穩定性最大化。在某些實施例中，穩定劑為蔗糖及/或精胺酸。

增積劑

【0223】可將增積劑添加至醫藥產品中以便新增產品之體積及質量，藉此促進其之精確計量及處置。常見增積劑包括但不限於乳糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖醇、山梨糖醇、碳酸鈣或硬脂酸鎂。

界面活性劑

【0224】界面活性劑為具有親液基團及疏液基團之兩親媒性物質。界面活性劑可為陰離子型、陽離子型、兩性離子型或非離子型界面活性劑。非離子界面活性劑之實例包括但不限於烷基乙氧基化物、壬基苯酚乙氧基化物、胺乙氧基化物、聚氧化乙烯、聚氧化丙烯、諸如鯨蠟醇或油醇之脂肪醇、椰油醯胺MEA、椰油醯胺DEA、聚山梨醇酯或十二烷基二甲胺氧化物。在一些實施例中，界面活性劑為聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80。

【0225】在一些實施例中，本發明之醫藥調配物包含：

- (a) 約0.25 mg/mL至250 mg/mL (例如10至200 mL)抗TREM-1抗體；
- (b) 約20 mM組胺酸；
- (c) 約150 mM蔗糖；
- (d) 約25 mM精胺酸；及
- (e) 約50 mM NaCl。

【0226】調配物可進一步包含緩衝劑系統、防腐劑、張力劑、螯合劑、穩定劑及/或界面活性劑以及其各種組合中之一或多種。防腐劑、等張劑、螯合劑、穩定劑及界面活性劑在醫藥組合物中之用途為熟練人員所熟知。可參考Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 第19版, 1995。

【0227】在一些實施例中，醫藥調配物為水性調配物。此類調配物通常為溶液或懸浮液，但亦可包括膠體、分散液、乳液及多相材料。術語「水性調配物」定義為包含至少50% w/w水之調配物。同樣，術語「水溶液」定義為包含至少50% w/w水之溶液，且術語「水性懸浮液」定義為包含至少50% w/w水之懸浮液。

【0228】在一些實施例中，醫藥調配物為經冷凍乾燥調配物，醫師或患者在使用前向其中添加溶劑及/或稀釋劑。

【0229】本文所描述之醫藥組合物亦可在組合療法中投與，亦即與其他藥劑組合投與。舉例而言，組合療法可包括本文所描述之抗TREM-1抗體與至少一種其他治療劑之組合。可用於組合療法中之治療劑之實例可包括用於治療疾病或病症(例如發炎性病症)之其他化合物、藥物及/或藥

劑。該等化合物、藥物及/或藥劑可包括例如消炎藥或阻斷或減少發炎性細胞介素產生之抗體。在一些實施例中，治療劑可包括抗IP-10抗體、抗TNF- α 抗體(例如阿達木單抗(adalimumab) (HUMIRA[®])、戈利木單抗(golimumab) (SIMPONI[®])、英夫利昔單抗(infliximab) (REMICADE[®])、聚乙二醇化賽妥珠單抗(certolizumab pegol) (CIMZIA[®])、干擾素 β -1a (例如AVONEX[®]、REBIF[®])、干擾素 β -1b (例如BETASERON[®]、EXTAVIA[®])、乙酸格拉替雷(glatiramer acetate) (例如COPAXONE[®]、GLATOPA[®])、米托蒽醌(mitoxantrone) (例如NOVANTRONE[®])、非類固醇消炎藥(NSAID)、鎮痛劑、皮質類固醇及其組合。

【0230】 本文所描述之醫藥化合物可包括一或多種醫藥學上可接受之鹽。「醫藥學上可接受之鹽」係指保留親本化合物之所需生物活性且不賦予任何不合需要之毒理作用的鹽(參見例如Berge, S.M.等人 (1977) *J. Pharm. Sci.* 66: 1-19)。該等鹽之實例包括酸加成鹽及鹼加成鹽。酸加成鹽包括衍生自諸如氫氯酸、硝酸、磷酸、硫酸、氫溴酸、氫碘酸、亞磷酸及其類似物之無毒性無機酸之酸加成鹽，以及衍生自諸如脂族單羧酸及二羧酸、苯基取代之烷酸、羥基烷酸、芳族酸、脂族磺酸及芳族磺酸以及其類似物之無毒性有機酸的酸加成鹽。鹼加成鹽包括衍生自諸如鈉、鉀、鎂、鈣及其類似物之鹼土金屬之鹼加成鹽，以及衍生自諸如N, N'-二苄基乙二胺、N-甲基還原葡萄糖胺、氯普魯卡因(chloroprocaine)、膽鹼、二乙醇胺、乙二胺、普魯卡因及其類似物之無毒性有機胺的鹼加成鹽。

【0231】 本文所描述之醫藥組合物亦可包括醫藥學上可接受之抗氧化劑。醫藥學上可接受之抗氧化劑之實例包括：(1)水溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸、鹽酸半胱胺酸、硫酸氫鈉、偏亞硫酸氫鈉、亞硫酸鈉及其類

似物；(2)油溶性抗氧化劑，諸如抗壞血酸棕櫚酸酯、丁基化羥基甲氧苯(BHA)、丁基化羥基甲苯(BHT)、卵磷脂、沒食子酸丙酯、 α -生育酚及其類似物；及(3)金屬螯合劑，諸如檸檬酸、乙二胺四乙酸(EDTA)、山梨糖醇、酒石酸、磷酸及其類似物。

【0232】可用於本文所描述之醫藥組合物中之合適水性載劑及非水性載劑之實例包括水、乙醇、多元醇(諸如甘油、丙二醇、聚乙二醇及其類似物)及其合適混合物、諸如橄欖油的植物油以及諸如油酸乙酯的可注射有機酯。適當流動性可例如藉由使用諸如卵磷脂之包衣材料、藉由在分散液之情況下維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持。

【0233】此等組合物亦可含有諸如防腐劑、潤濕劑、乳化劑及分散劑之佐劑。微生物體存在之預防可藉由前述滅菌程序及藉由包括例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚山梨酸及其類似物之各種抗細菌劑及抗真菌劑兩者來確保。亦可能需要在組合物中包括諸如糖、氯化鈉及其類似物之等張劑。另外，可注射醫藥形式之延長吸收可藉由包括諸如單硬脂酸鋁及明膠之延遲吸收劑來實現。

【0234】醫藥學上可接受之載劑包括無菌水溶液或分散液及用於即時製備無菌可注射溶液或分散液之無菌散劑。該等介質及藥劑用於醫藥學上活性之物質之用途為此項技術中已知的。除非任何習知介質或藥劑與活性化合物不相容，否則考慮將其用於本文所描述之醫藥組合物中。醫藥組合物可包含防腐劑或可不含防腐劑。補充活性化合物可摻入組合物中。

【0235】治療性組合物通常必須在製造及儲存條件下為無菌且穩定的。組合物可調配為溶液、微乳液、脂質體或適合於高藥物濃度之其他有序結構。載劑可為含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液體

聚乙二醇以及其類似物)及其合適混合物之溶劑或分散介質。適當流動性可例如藉由使用諸如卵磷脂之包衣、藉由在分散液之情況下維持所需粒度及藉由使用界面活性劑來維持。在多數情況下，組合物可包括例如糖、諸如甘露糖醇、山梨糖醇或氯化鈉之多元醇之等張劑於組合物中。可注射組合物之延長吸收可藉由在組合物中包括例如單硬脂酸鹽及明膠之延遲吸收劑來實現。

【0236】 無菌可注射溶液可藉由視需要將呈所需量之活性化合物與上文所列舉之一種成分或成分組合摻入適當溶劑中，繼而進行滅菌微過濾來製備。一般而言，分散液藉由將活性化合物摻入含有鹼性分散介質及來自本文所列舉之彼等物質中之所需其他成分之無菌媒劑中來製備。在用於製備無菌可注射溶液之無菌散劑之情況下，一些製備方法為產生活性成分散劑加來自其之先前無菌過濾溶液的任何額外所需成分的真空乾燥及冷凍乾燥(凍乾)。

【0237】 可與載劑材料組合以產生單一劑型之活性成分之量將視所治療之個體及特定投與模式而變化。可與載劑材料組合以產生單一劑型之活性成分之量大體上為產生治療效果之組合物之彼量。一般而言，按百分比計，此量應在約0.01%至約九十九百分比之活性成分與醫藥學上可接受之載劑組合、約0.1%至約70%或約1%至約30%活性成分與醫藥學上可接受之載劑組合範圍內。

【0238】 調整給藥方案以提供最佳所需反應(例如治療反應)。舉例而言，可投與單一大丸劑，可隨時間推移投與若干分次劑量，或劑量可如由治療情形之緊急狀態所指示而按比例減少或增加。就投與容易性及劑量均一性而言，以單位劑型調配非經腸組合物為尤其有利的。如本文所使用

之單位劑型係指適合作為用於待治療之個體之單位劑量的物理上不連續之單元；各單元含有與所需醫藥載劑結合之經計算以產生所需治療效果之預定量之活性化合物。用於本文所描述之單位劑型之規格係由以下指定且直接視以下而定：(a)活性化合物之獨特特徵及待達成之特定治療效果，及(b)用於治療個體敏感之此類活性化合物之混配技術中的固有限制。

【0239】對於例如本文所描述之抗TREM-1抗體之投與，劑量在約0.0001至100 mg/kg宿主體重且更通常0.01至5或10 mg/kg宿主體重範圍內。舉例而言，劑量可為0.3 mg/kg體重、1 mg/kg體重、3 mg/kg體重、5 mg/kg體重或10 mg/kg體重或在1-10 mg/kg體重範圍內。例示性治療方案需要每週一次、每兩週一次、每三週一次、每四週一次、每月一次、每3個月一次或每三至6個月一次投與。用於本文所描述之抗TREM-1抗體之例示性給藥方案包括經由靜脈內投與之1 mg/kg體重或3 mg/kg體重，且使用以下給藥排程中之一種給與抗體：(i)對於六次劑量，每四週，隨後每三個月；(ii)每三週；(iii)每三週一次3mg/kg體重，繼而1 mg/kg體重。

【0240】在一些實施例中，抗TREM-1抗體以均一劑量(均一劑量方案)投與。在其他實施例中，抗TREM-1抗體以固定劑量與另一抗體一起投與。在某些實施例中，抗TREM-1抗體以基於體重之劑量投與。

【0241】在一些方法中，具有不同結合特異物之兩種或更多種單株抗體同時投與，在此情況下，所投與之各抗體之劑量落入指定範圍內。抗體通常在多個時刻投與。單次劑量之間之間隔可為例如每週、每月、每三個月或每年。如藉由量測患者中之針對靶抗原之抗體之血液含量所指示，間隔亦可為不規律的。在一些方法中，調整劑量以達成約1-1000 µg/ml之血漿抗體濃度，且在一些方法中，達成約25-300 µg/ml。

【0242】抗體可以持續釋放調配物之形式投與，在此情況下，需要較低頻率之投與。劑量及頻率視患者中之抗體之半衰期而變化。一般而言，人類抗體顯示最長半衰期，繼而為人類化抗體、嵌合抗體及非人類抗體。投藥劑量及頻率可視治療為防治性抑或治療性而變化。在防治性應用中，在長時間段內以相對不頻繁之間隔投與相對低之劑量。一些患者在其餘生中繼續接受治療。在治療性應用中，有時需要在相對短之間隔下之相對高之劑量，直至疾病進展減少或終止為止，且直至患者顯示疾病症狀之部分或完全改善為止。其後，可向患者投與防治性方案。

【0243】本文所描述之醫藥組合物中之活性成分之實際劑量水準可變化以便獲得可有效達成特定患者、組合物及投與模式所需之治療反應而對患者無毒性的活性成分的量。所選劑量水準應視各種藥物動力學因素而定，該等藥物動力學因素包括所用本文所描述之特定組合物或其酯、鹽或醯胺之活性、投與途徑、投與時間、所用特定化合物之排泄速率、治療持續時間、與所用特定化合物組合使用之其他藥物、化合物及/或材料、所治療患者之年齡、性別、體重、病況、一般健康及先前病史以及醫學技術中熟知之類似因素。

【0244】本文所描述之組合物可經由一或多種投與途徑使用此項技術中已知之各種方法中之一或多種來投與。如熟習此項技術者所瞭解，投與途徑及/或模式將視所需結果而變化。本文所描述之抗TREM-1抗體之投與途徑可包括靜脈內、肌肉內、皮內、腹膜內、皮下、脊椎或例如藉由注射或輸注之其他非經腸投與途徑。如本文所使用之片語「非經腸投與」意謂除腸內及局部投與以外之通常藉由注射進行之投與模式，且包括但不限於靜脈內、肌內、動脈內、鞘內、囊內、眶內、心內、皮內、腹膜內、經

氣管、皮下、表皮下、關節內、囊下、蛛膜下、脊柱內、硬膜外及胸骨內注射及輸注。

【0245】可替代地，本文所描述之抗體可潛在地經由非非經腸途徑投與，該非非經腸途徑諸如為局部、表皮或黏膜投與途徑，例如鼻內、經口、經陰道、經直腸、舌下或局部。

【0246】活性化合物可與保護化合物免受快速釋放之載劑一起製備，該等載劑諸如為受控釋放調配物，其包括植入物、經皮貼片及微膠囊化遞送系統。可使用可生物降解、生物相容性聚合物，諸如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、膠原蛋白、聚原酸酯及聚乳酸。用於製備該等調配物之許多方法已獲得專利或為熟習此項技術者大體所知。參見例如 Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, 編, Marcel Dekker, Inc., New York, 1978。

【0247】治療性組合物可用此項技術中已知之醫學裝置來投與。舉例而言，在特定實施例中，本文所描述之治療性組合物可用無針皮下注射裝置來投與，該裝置諸如為美國專利第5,399,163號；第5,383,851號；第5,312,335號；第5,064,413號；第4,941,880號；第4,790,824號；或第4,596,556號中所揭示之裝置。用於與本文所描述之抗TREM-1抗體一起使用之眾所周知植入物及模組之實例包括：美國專利第4,487,603號，其揭示用於以受控速率分配藥物治療之可植入微輸注泵；美國專利第4,486,194號，其揭示用於經由皮膚投與藥劑之治療裝置；美國專利第4,447,233號，其揭示用於以精確輸注速率遞送藥物治療之藥物治療輸注泵；美國專利第4,447,224號，其揭示用於連續藥物遞送之可變流量可植入輸注設備；美國專利第4,439,196號，其揭示具有多腔室隔室之滲透性

藥物遞送系統；及美國專利第4,475,196號，其揭示滲透性藥物遞送系統。此等專利以引用之方式併入本文中。許多其他該等植入物、遞送系統及模組為熟習此項技術者所已知。

【0248】在一些實施例中，本文所描述之抗TREM-1抗體可調配成確保活體內適當分佈。舉例而言，血腦障壁(BBB)排除許多高度親水性化合物。為確保本文所描述之治療性化合物跨過BBB (視需要，例如用於腦癌)，可使其例如於脂質體中進行調配。對於製造脂質體之方法，參見例如美國專利4,522,811；5,374,548；及5,399,331。脂質體可包含選擇性地輸送至特定細胞或器官中之一或多種部分，因此增強靶向藥物遞送(參見例如V.V. Ranade (1989) *J. Clin. Pharmacol.* 29:685)。例示性靶向部分包括葉酸鹽或生物素(參見例如Low等人之美國專利5,416,016)；甘露糖苷(Umezawa等人, (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153: 1038)；抗體(P.G. Bloeman等人 (1995) *FEBS Lett.* 357: 140；M. Owais等人 (1995) *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 180)；界面活性劑蛋白A受體(Briscoe等人 (1995) *Am. J. Physiol.* 1233: 134)；p120 (Schreier等人 (1994) *J. Biol. Chem.* 269:9090)；亦參見K. Keinänen；M.L. Laukkanen (1994) *FEBS Lett.* 346: 123；J.J. Killian；I.J. Fidler (1994) *Immunomethods* 4:273。

VIII. 用途及方法

【0249】本發明之抗TREM-1抗體及包含該等抗體之組合物(例如醫藥組合物、調配物、多核苷酸、載體及細胞)可用於治療發炎性疾病(例如藉由抑制TREM-1活性)。

【0250】因此，在一個方面中，本發明提供用於治療有需要之個體

之發炎性疾病之方法，其包含向個體投與治療有效劑量之抗TREM-1抗體。可用本發明抗TREM-1抗體治療之發炎性疾病之實例包括但不限於發炎性腸病(IBM)、克羅恩氏病(CD)、潰瘍性結腸炎(UC)、大腸急躁症、類風濕性關節炎(RA)、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、狼瘡性腎炎、I型糖尿病、格雷氏病、多發性硬化症(MS)、自體免疫心肌炎、川崎病、冠狀動脈疾病、慢性阻塞性肺病、間質性肺病、自體免疫甲狀腺炎、硬皮病、全身性硬化症、骨關節炎、異位性皮膚炎、白斑病、移植抗宿主病、休格倫氏症候群、自體免疫腎炎、古巴士德氏症候群、慢性發炎脫髓鞘型多發性神經病變、過敏、哮喘及由急性或慢性發炎引起之其他自體免疫疾病。

【0251】在一個實施例中，抗TREM-1抗體適用於治療患有發炎性腸病之個體。發炎性腸病(IBM)為可能影響口部至肛門之胃腸道之任何部分、從而導致廣泛多種之症狀之疾病。IBM主要導致腹痛、腹瀉(其可能出血)、嘔吐或體重減輕，但亦可能導致胃腸道外之併發症，諸如皮膚皮疹、關節炎、眼部發炎、疲勞及注意力不集中。患有IBM之患者可分成兩個主要類別，患有潰瘍性結腸炎(UC)之患者及患有克羅恩氏病(CD)之患者。CD大體上涉及迴腸及結腸，其可能影響腸之任何區域但常常為非連續的(疾病集中區域擴散在整個腸中)。UC始終涉及直腸(結腸)且為更連續的。在CD中，發炎可透壁，導致膿腫、癰及狹窄，而在UC中，發炎通常限於黏膜。不存在用於克羅恩氏病之已知醫藥或手術治癒法，而一些患有UC之患者可藉由手術移除結腸而治癒。治療選項限於控制症狀、維持緩解及預防復發。對於CD，在臨床中於發炎性腸病中之功效可以基於實驗室測試及生活品質問卷進行評分分級之克羅恩氏病活動指數(CDAI)分值

降低之形式量測。在動物模型中，主要藉由體重以及疾病活動指數(DAI)增加來量測功效，該疾病活動指數為大便堅實度、體重及便血之組合。

【0252】在一個實施例中，本發明之抗TREM-1抗體適用於治療患有類風濕性關節炎之個體。類風濕性關節炎(RA)為影響幾乎全部身體(即使不為全部)之全身性疾病且為最常見形式之關節炎中之一種。其特徵在於關節發炎，其導致疼痛、僵硬、發熱、發紅及腫脹。此發炎為發炎細胞侵襲關節之結果，且此等發炎細胞釋放可分解骨及軟骨之酶。因此，此發炎可能導致嚴重骨及軟骨損壞且導致關節退化及嚴重疼痛以及其他生理影響。所涉及之關節可能喪失其形狀及對準，從而導致疼痛及運動性喪失。存在若干此項技術中已知之針對類風濕性關節炎之動物模型。舉例而言，在膠原蛋白誘發之關節炎(CIA)模型中，小鼠罹患類似於人類類風濕性關節炎之發炎性關節炎。因為CIA與RA共用類似免疫學及病理學特點，故此使得其為用於篩檢潛在人類消炎化合物之合適模型。在此模型中之功效係藉由關節腫脹減少來量測。在臨床中於RA中之功效係藉由減少患者症狀之能力來量測，該功效係以關節腫脹、紅血球沈降率、C反應蛋白量及諸如抗瓜胺酸蛋白抗體之血清因子之量之組合形式來量測。

【0253】在一個實施例中，如本文所揭示之抗TREM-1抗體適用於治療患有牛皮癬之個體。牛皮癬為可能導致相當多不適之T細胞介導之皮膚發炎性病徵。其為當前不存在用於其之治癒法之疾病且其影響所有年齡之人。儘管患有輕度牛皮癬之個體可常常用局部藥劑控制其疾病，但全世界超過一百萬患者需要紫外光治療或全身性免疫抑制療法。令人遺憾地，紫外輻射之不便及風險及許多療法之毒性限制其長期使用。此外，患者之牛皮癬通常會復發，且在一些情況下，在停止免疫抑制療法之後不久即反

彈。基於CD4+ T細胞轉移之牛皮癬之新近發展模型模擬人類牛皮癬之許多態樣且因此可用於鑑別適用於治療牛皮癬之化合物(Davenport等人, *Internat. Immunopharmacol* 2 : 653-672, 2002)。在此模型中之功效係藉由皮膚病理減少使用評分系統來量測。類似地，在患者中之功效係藉由皮膚病理減少來量測。

【0254】在一個實施例中，抗TREM-1抗體適用於治療患有牛皮癬性關節炎之個體。牛皮癬性關節炎(PA)為出現於一子集之患有牛皮癬之患者中之一類發炎性關節炎。在此等患者中，皮膚病理/症狀伴有類似於類風濕性關節炎中所見之關節腫脹之關節腫脹。其特點在於伴有脫皮之皮膚發炎之片狀突起紅色區域。牛皮癬常常影響肘部及膝部之端部、頭皮、臍及生殖器區域或肛門周圍。約10%患有牛皮癬之患者亦罹患其關節之相關發炎。

【0255】就本發明而言，防治性、姑息性、症狀性及/或治癒性治療可表示本發明之獨立態樣。本發明之抗體可非經腸(諸如靜脈內，諸如肌肉內，諸如皮下)投與。可替代地，本發明之抗體可經由諸如經口或局部之非非經腸途徑投與。本發明之抗體可防治性地投與。本發明之抗體可治療性地投予(按需求)。

【0256】以下實例係藉助於說明且非作為限制而提供。整個本申請案中所引用之所有參考文獻之內容均明確地以引用之方式併入本文中。

實例

實例1：藉由表面電漿子共振進行之針對人類及食蟹獼猴TREM-1兩者之318抗體變異體之相互作用動力學之分析

【0257】測定針對人類TREM-1-Fc (hTREM-1)及食蟹獼猴TREM-1-

Fc (cTREM-1)之mAb 0318變異體之結合動力學。結合研究係在經由表面電漿子共振實時量測分子相互作用之ProteOn分析器(BioRad)上進行。實驗在25°C下運行且樣品儲存於15°C下樣品隔室中。由ProteOn報導之信號(RU，反應單位)與六個平行流動池中個別感測器晶片表面上之質量直接相關。根據製造商說明書，將來自Biacore人類或小鼠Fc捕獲套組之抗人類Fc單株抗體或抗鼠Fc多株抗體在水平方向固定至GLM感測器晶片之流動池上。在各實驗中，捕獲抗體之最終固定程度為約2600-6000 RU。經純化單株小鼠或以重組方式表現之抗hTREM-1抗體之捕獲係藉由以下來進行：稀釋抗體至5-10 nM至操作緩衝液(10 mM Hepes、0.15 M NaCl、5 mM EDTA、0.05%界面活性劑P20，pH 7.4)中，繼而在豎直方向以30 μ l/min注射60 sec，產生靠近所有僅具有固定化抗Fc抗體之流動池之參考間斑點。此通常產生約100-300 RU之測試抗體之最終捕獲量及30-90 RU之分析物R_{max}值。結合hTREM-1或cTREM-1蛋白係藉由以下來進行：在所有流動池內在水平方向注射分析物(抗原)以允許比較分析相對於與參考間斑點之結合而言之與不同所捕獲抗TREM-1抗體之結合。將hTREM-1或cTREM-1蛋白連續1:3至1.2-100 nM稀釋或稀釋至操作緩衝液中，以100 μ l/min注射250 s且使其解離600 s。在經由兩次在100 μ l/min下之10 mM甘胺酸、pH 1.7及50 mM NaOH 18 s注射進行之各分析物注射循環之後，再生GLM表面。此再生步驟自固定化捕獲抗體表面移除抗TREM-1抗體及任何經結合TREM-1蛋白，且允許下一相互作用樣品對之後續結合。再生程序並不自晶片表面移除直接固定化抗Fc捕獲抗體。

【0258】抗體與抗原之間之結合親和力係藉由測定平衡解離常數(K_D)來定量，該平衡解離常數(K_D)係藉由量測複合物形成及解離之動力學

來測定。諸如 k_a (締合速率)及 k_d (解離速率)之對應於單價複合物之締合及解離之速率常數係藉由使用用於資料分析的ProteOn評估軟體將資料擬合至1:1朗繆爾模型來檢索。 K_D 經由等式 $K_D = k_d / k_a$ 與 k_a 及 k_d 相關。

【0259】結合曲線係在資料分析之前藉由雙重參考(參考表面信號之減除以及在所捕獲抗TREM-1抗體內之空白緩衝劑注射)來處理。此允許樣品注射期間之儀器噪音、主體位移及漂移之校正。

【0260】如圖1A及1B中所示，發現所有mAb 0318變異體(亦即318-IgG1.1f、318-IgG1.3f、318-IgG4-Aba及318-IgG1-Aba)均具有與mAb 0318-IgG4類似之針對人類TREM-1-Fc之親和力。0318-IgG1.3f變異體亦結合至食蟹獼猴TREM-1，雖然與人類TREM-1相比，親和力略微地降低。參見圖1A。

實例2：mAb 0318-IgG1.3f在結合至TREM-1受體時之內化分析

【0261】使用雷射掃描共軛焦顯微鏡(資料未示出)及Amnis ImageStream®成像流動式細胞量測分析兩者測試mAb 0318-IgG1.3f變異抗體在原代人類單核球中之內化。如圖2A中所示，在0小時時，TREM-1主要表現於單核球之表面上。然而，截至抗體結合之後24小時時，相當大百分比(~36%)之TREM-1受體(如由0318-IgG1.3f染色所證明)已內化，此表明在mAb 0318-IgG1.3f抗體結合時，整個抗體-受體複合物在細胞內內化。

【0262】接下來，為在TREM-1受體已內化時即確定其命運，使用TREM26抗體(目錄號314902，Biolegend；參見US20150274825，第[0005]段)以進行比較。TREM26抗體不與本發明中所描述之0318抗體變異體競爭。如圖2B中所示，與0小時相比，在20小時時間點時存在相當大

之TREM26+表現(~51%)減少。該20小時時間點時(在mAb 0318-IgG1.3f治療之後)亦存在相當大之TREM26+ MFI減少(4倍)(平均螢光指數)，此表明TREM-1受體在內化時降解。然而，一旦移除抗體，則此在抗體暴露時之TREM-1受體表現損失為可逆的(資料未示出)。

實例3：使用BWZ/hTREM-1報導體細胞檢定進行之mAb 0318變異體有效阻斷TREM-1活化之分析

【0263】抗TREM-1 mAb 0318變異體抑制人類TREM-1信號傳導之能力係使用如例如美國專利第9,550,830 B2號及國際公開第WO 2016/009086 A1號中所描述之BWZ.36/hTREM-1DAP12:NFAT-LacZ細胞株(在本文中亦稱為「BWZ/hTREM-1報導體細胞」)檢定來確定。簡言之，在存在75 ng/ml PGLYRP1 (SEQ ID NO: 8)及2.5 µg/ml PGN-ECndi (目錄號tlrl-kipgn, Invivogen San Diego, Calif., USA)之情況下將約40,000個hTREM-1/BWZ.36細胞/孔塗鋪在透明底、黑色96孔盤中，以提供次最大正信號，或可替代地在存在次最大量(1 µg/ml)之塑膠吸附抗TREM-1單株抗體(目錄號MAB1278, R&D Systems, Minneapolis, Minn., USA)之情況下，以提供正信號。

【0264】以10 µg/ml開始將mAb 0318變異體(亦即0318-IgG1.3f；0318-IgG1.1f；0318-IgG1-Aba；及0318-IgG4-Aba)滴定至檢定中，且進行5次連續2倍稀釋。將檢定在37°C下培育過夜，隨後按照Beta Glo方案，用Beta Glo (目錄號E4740, Promega Madison, Wis., USA)發展，且記錄發光。繪製顯示Beta Glo相對發光單位對測試抗體濃度之資料。非中和陰性對照mIgG1 (目錄號MAB002, R&D Systems Minneapolis, Minn., USA)及中和陽性對照多株山羊抗hPGLYRP1抗體(目錄號AF2590, R & D

Systems, Minneapolis, Minn., USA)係在各檢定盤上操作。作為已知 TREM-1信號傳導促效劑之MAB1278抗體(目錄號MAB1278, R&D Systems; 參見US20150274825, 第[0005]段)亦用作陽性對照(參見插入盒)。

【0265】如圖3中所示, 如先前國際公開第WO 2016/009086 A1號中在mAb 0318 IgG4抗體情況下所觀測, 所有mAb 0318變異體均強力地抑制人類TREM-1信號傳導。

實例4: 藉由不同原代人類細胞進行之mAb 0318抗體變異體在抑制 TREM-1介導之發炎性細胞介素產生時之效力的活體外分析

【0266】為進一步評估抗TREM-1 mAb 0318變異體之拮抗性特性, 評估其阻斷各種發炎性細胞介素(例如TNF- α 、IL-6或IL-8)自活化人類原代細胞中釋放之效力。將原代單核球、嗜中性白血球及末梢血液單核細胞(PBMC)與人類全血分離, 且經培養盤結合之PGRP1及可溶性肽聚糖(PGN-ECndss; 不具有TLR2活性之一種形式之肽聚糖)刺激。

【0267】如圖4中所示, 所有mAb 0318變異體(亦即IgG1.3f、IgG1.1f、IgG1-Aba及IgG4-Aba)均全部強力(在~10-20 pM範圍內之IC₅₀值)地抑制TREM-1介導之TNF- α 自PBMC及單核球中之釋放。此等mAb 0318變異體之效力類似於在mAb 0318-IgG4抗體之情況下所觀測之效力。mAb 0318-IgG1.3f抗體亦強力地抑制IL-6產生(~32 pM之IC₅₀值)。對於嗜中性白血球, 與mAb 0318-IgG4抗體相比, mAb 0318-IgG1.3f變異體似乎在阻斷由嗜中性白血球進行之TREM-1介導之IL-8產生時更佳。(參見圖4)。

【0268】當進一步證實抗TREM-1 mAb 0318抗體變異體之拮抗性特

性時，亦使用單核球-嗜中性白血球共培養檢定。嗜中性白血球相關PGRP1在與單核球共培養時可接合TREM-1受體，引起單核球源性TNF- α 產生。如圖4中所示，所有mAb 0318抗體變異體均有效地阻斷此內源性活化(在19-44 pM範圍內之IC₅₀值)。在RBC沈降之全血之情況下觀測到類似結果。(參見圖4)。

實例5：mAb 0318-IgG1.3f阻斷由經刺激全血進行之IL-8產生之效力之活體外分析

【0269】針對全血藥效動力學(PD)檢定發展以量測抗TREM-1抗體變異體之拮抗性特性之主要挑戰中之一種為由PGN刺激產生的高背景。為幫助解決此問題，在存在NOD2抑制劑之情況下用預複合PGRP1+PGN刺激全血(以阻斷由藉由PGN進行之NOD2刺激產生之背景細胞介素)。使用標準配位體結合藥效動力學檢定(HTRF[®]) (圖5A)或細胞內細胞介素染色(IC)檢定(圖5B)來量測IL-8量。

【0270】如圖5A及5B中所示，0318-IgG1.3f抗體有效地阻斷TREM-1介導之IL-8產生，其中抑制百分比在約60-90%範圍內(參見圖5A)。所觀測之IC₅₀值(在HTRF之情況下平均值12 pM，且在ICS之情況下，平均值19.6 pM)類似於在其他功能性檢定(例如參見實例4)之情況下觀測的IC₅₀值。

實例6：mAb 0318-IgG1.3f阻斷不同發炎性介質在經刺激全血中之mRNA表現之效力之活體外分析

【0271】為另外證實mAb 0318-IgG1.3f之拮抗性特性，藉由即時PCR (qPCR)量測選擇發炎性介質(亦即類殼質酶-3蛋白1 (「CHI3L1」)、IL1 β 及IL6)之表現量。簡言之，在存在變化濃度之mAb 0318-IgG1.3f (0-

1 nM)之情況下用預複合hPGRP1 (50 µg/ml)及PGN-ECndss (10 µg/ml) (Invivogen tlrl-ksspgn)刺激自三個正常健康志願者(供體編號126、290及322)收集於EDTA管中之人類全血過夜。在刺激之後，將血漿移除且冷凍以用於細胞介素量測。根據製造商方案，使用MagMax-96血液分離套組(ThermoFisher AM1837)將mRNA與樣品分離。隨後，利用SuperScript VILO主混合物(Thermo Fisher 11755250)將經分離之mRNA轉化成cDNA。接下來，使用以下探針執行qPCR：HPRT1 (Hs99999909_m1) (Thermo Fisher 4351370)、CHI3L1 (Hs01072228_m1) (Thermo Fisher 4331182)、IL1β (Hs00174097_m1) (Thermo Fisher 4331182)及IL6 (Hs00985639_m1) (Thermo Fisher 4331182)以及TaqMan快速通用主混合物(2x) (Thermo Fisher 4366072)。將基因表現值標準化至HPRT1且生成 $\Delta\Delta CT$ 值。隨後，繪製結果且測定IC₅₀值。

【0272】如圖6A-6C中所示且與先前實例一致，mAb 0318-IgG1.3f能夠抑制TREM-1介導之不同發炎性介質在人類全血中之表現。抑制似乎為劑量依賴性的。IC₅₀值顯示於下表1中。

【0273】總體而言，上文結果證實本發明中所描述之mAb 0318抗體變異體為拮抗性的且可有效地阻斷由各種人類細胞進行之TREM-1介導之發炎性細胞介素產生。

表1.

細胞類型	發炎性介質	刺激物	mAb 0318-IgG1.3f IC ₅₀ (pM)
全血	CHI3L1 RNA	可溶性PGRP +可溶性PGN-Ecndss	4.58±5.60 (N=3)
	IL1b RNA		11.15±16.01 (N=3)
	IL6 RNA		97.66±125.63 (N=3)

實例7：mAb 0318變異體之黏度

【0274】樣品為交換且透析至所選調配物(20 mM組胺酸、150 mM蔗糖、25 mM精胺酸、50 mM氯化鈉，pH 6.0)中、繼而使用Amicon超離心分子量截斷過濾器進行濃縮之緩衝液。藉由粒徑篩析層析法量測樣品之聚集狀態以控制尚未觀測到之在濃縮時之單體比例中的潛在變化。使用RheoSense m-VROC溶液黏度計對於各所量測濃度使用3點遞增剪切拂掠來測定濃度依賴性黏度。藉由使用稀釋系列及外推法藉由nanoDrop量測在280 nm下之吸光度來測定濃度。

【0275】如圖7中所示，318-IgG1.1f變異體及318-IgG1.3f變異體兩者均具有類似黏度分佈。在約130 mg/mL之濃度下，0318-IgG1.3f變異體之黏度值為約9 cP。該黏度分佈密切反映先前在mAb 0318-IgG4之情況下觀測到之黏度分佈(參見國際公開第WO 2016/009086號)。

實例8：mAb 0318變異體之免疫原性潛能

【0276】如圖8及表2 (下文)中所示，318-IgG1.1f變異體及318-IgG1.3f變異體在人類患者中具有低至中等之免疫原性風險。僅約22-30%之供體對此等抗體具有免疫原性反應(如藉由活體外CD4⁺ T細胞增殖所量測)。對於0318-IgG1-Aba變異體及0318-IgG4-Aba變異體之免疫原性分別為10%及42.5%。參見表2 (下文)。相反地，mAb 0318-IgG4在人類患者中具有更高免疫原性(55%)。用作陽性對照之KLH (匙孔螺血氰蛋白)及VL6 (IL-21R mAb)在人類患者中具有高度免疫原性(分別為100%及40%)。

表2.

檢定	群組	0318變異體	濃度 (mg/mL)	宿主細胞	EU/mg	%單體	檢定濃度 (ug/mL)	%免疫原性
PBMC	40	IgG4	161	UCOE CHO	<0.001	97.9	150	55.0

PBMC	40	IgG1-Aba	145	UCOE CHO	<0.001	97.3	150	10.0
PBMC	40	IgG1.1f	170	UCOE CHO	<0.006	98.6	150	22.5
PBMC	40	IgG4-Aba	5	HEK	<0.02	98.9	150	42.5
PBMC	40	IgG1.3f	4.6	HEK	<0.02	99.5	150	30.0

實例9：使用表面電漿子共振(SPR)進行之mAb 0318變異體與FcRn之結合分析

【0277】為確定不同mAb 0318變異體係否能夠結合至FcRn，經由胺偶合至400個反應單位(RU)水準將FcRn受體(小鼠、人類及食蟹獼猴)固定化至BIAcore CM5生物感測器晶片(GE Healthcare Bioscience, Uppsala, Sweden)上。檢定在室溫下進行且PBS、0.05% Tween-20™ pH 6.0 (GE Healthcare Bioscience)用作操作及稀釋緩衝液。在室溫下在pH 6.0下以50 µL/min之流動速率注射不同mAb 0318變異體(200 nM)。締合時間為180秒，解離相(亦在pH 6.0下)花費360秒。晶片表面再生回至基線係藉由pH 8.0之50 mM Tris及150 mM NaCl短注射來達到。SPR資料評估係藉由在注射之後180秒時及在注射之後300秒時比較生物反應信號高度來執行。對應參數為RU最大水準(在注射之後180秒)及後期穩定性(在注射結束之後300秒)。

【0278】如圖9A及9B中所示，mAb 0318抗體變異體(IgG1-Aba mod、IgG4-Aba mod、IgG1.1f及IgG1.3f)全部能夠以pH依賴性方式結合至人類、小鼠及食蟹獼猴FcRn。此對於mAb 0318抗體(IgG4)亦成立。

實例10：mAb 0318變異體與一或多種FcγR之結合分析

【0279】如先前所論述，向某些細胞表面免疫受體之抗體活體內投與具有誘導細胞介素釋放之潛能，此可能導致誘發稱為細胞介素釋放症候群(CRS)之常見且具有毒性之臨床併發症。由於經由交聯之FcγR接合可能

引起潛在之TREM-1促效性活性之問題，故mAb 0318-IgG4再工程化成本發明中所描述之變異體格式中之一種(亦即IgG1.1f、IgG1.3f、IgG1-Aba或IgG4-Aba)。隨後，評估0318抗體變異體結合至不同FcγR之能力。

【0280】如圖10A及10B中所示，318-IgG1.1f變異體及318-IgG1.3f變異體與所有FcγR (亦即FcγRI (CD64)、FcγRIIA (CD32a-H131及CD32a-R131變異體)、FcγRIIB (CD32b)、FcγRIIIA (CD16a-V158變異體)及FcγRIIIB (CD16b-NA2變異體))具有最低程度之結合。318-IgG1-Aba變異體及318-IgG4-Aba變異體不結合至FcγRIIA、FcγRIIB、FcγRIIIA及FcγRIIIB但結合至FcγRI。相反地，mAb 0318 (IgG4)顯示與所有FcγR之相當大之結合。

實例11：由mAb 0318變異體誘導發炎性細胞介素之分析

【0281】為進一步確定用mAb 0318變異體進行之活體內治療係否造成細胞介素釋放症候群之風險，自8個人類供體收集全血且分離出單核球。隨後，藉由塗鋪單核球(4×10^6 個細胞/孔)且將其在含有IL-4及GM-CSF (100 ng/mL)之分化培養基中培養來使單核球分化成未成熟樹突狀細胞。在塗鋪之後約2-3天，用新鮮培養基置換約一半之分化培養基。在第7天，收穫細胞且藉由使用流式細胞儀分析表現於細胞上之CD14來評估分化效率。接下來，將未成熟樹突狀細胞塗鋪至扁平底盤(0.8×10^5 個細胞/孔)上且將mAb 0318變異體添加至各別孔(具有或不具有CHO-CD32a)中。經PGRP + PGN刺激之未成熟樹突狀細胞用作陽性對照。隨後，將細胞在37°C下培育過夜。次日，自孔收穫上清液且使用ELISA檢定評估所產生之TNF- α 、IL-6及IL-12之量。

【0282】來自代表供體之結果顯示於圖11A至11I中。不同mAb 0318

變異體(0318-IgG1.1f、0318-IgG1.3f及0318-IgG1.1 Aba)之添加引起藉由未成熟樹突狀細胞進行之最少IL-6 (圖11A、11B及11C)、TNF- α (圖11D、11E及11F)及IL-12 (圖11G、11H及11I)產生。此等結果以及來自實例9之結果證實本文所揭示之抗TREM-1抗體在向患者活體內投與時具有誘發細胞介素釋放症候群之低風險。

實例12：mAb 0318變異體之額外特徵

【0283】0318-IgG1.3f變異體之生物物理學特徵提供於表3 (下文)中。

表3. 抗TREM-1 0318-IgG1.3f抗體之生物物理學特徵

特性	方法	結果
一致性	LC-MS	經確認完整質量
	LC-MS/MS肽圖	由Lys-C肽圖(95.4%回收；99.7%糖基化佔用)確認之序列
純度/均質性	SEC	96.3%單體、3.6% HMW
	SEC-MALS	主峰為95%單體且均質(145 kDa)
	LC-MS	G0F (23.3%)，G1F (51.3%)，G2F (17.3%)，SG2F (2.1%)，S2G2F (1.0%)
	毛細管等電聚焦(cIEF)	主峰pI = 8.75 (55%)；酸性變異體= 29.5%及鹼性變異體= 15.5%
	SDS-PAGE	還原：~50 kDa及25 kDa之2個主帶 非還原：具有~98 kDa、75 kDa、50 kDa、25 kDa之少量片段之~150 kDa主帶(SDS操作條件之人為效應)
親和力	SPR (Biacore)	huTREM1： $K_D = 0.91 \text{ nM}$ ； $k_{on} = 1.4 \text{ E}+06 \text{ (1/Ms)}$ ； $k_{off} = 1.3 \text{ E}-3 \text{ (1/s)}$ CynoTREM1： $K_D = 3.4 \text{ nM}$ ； $k_{on} = 4.0 \text{ E}+05 \text{ (1/Ms)}$ ； $k_{off} = 1.4 \text{ E}-3 \text{ (1/s)}$
熱穩定性	DSC	$T_{m1} = 66.2^\circ\text{C}$ ； $T_{m2} = 78.4^\circ\text{C}$ ； $T_{m3} = 83.2^\circ\text{C}$
		在77°C下之可逆性= 24%
Fc γ R/FcRn相互作用	SPR (Biacore)	證實與所有Fc γ R之減少結合
		預期pH依賴性FcRn結合與野生型IgG1 mAb相當

【0284】 mAb 0318-IgG1.3f變異體之生物物理學特性對於臨床發展有利。藉由質譜分析(完整質量分析及肽圖分析)確認抗體一致性。如藉由粒徑篩析層析法所測試，抗體為>96%單體抗體。具有匹配表現CHO之單株抗體(G0F、G1F及G2F)之聚糖分佈之聚糖分佈之重鏈上之N301處確認單一N-糖基化位點。mAb 0318-IgG1.3f之熱穩定性($T_{m1} = 66.2^{\circ}\text{C}$ ； $T_{m2} = 78.4^{\circ}\text{C}$ ； $T_{m3} = 83.2^{\circ}\text{C}$)及熱可逆性(在 77°C 下24%)在用於典型人類IgG1.3單株抗體之範圍內。

【0285】 mAb 0318-IgG1.3f變異體之穩定性特徵提供於表4 (下文)中。

表4. 抗TREM-1 0318-IgG1.3f抗體之穩定性

特性	(多種)方法	結果
冷凍/解凍(在 -80°C 下2 h，在RT下4 h×3次)	UV，SEC，DLS， iCIEF	未顯露冷凍/解凍穩定性風險
溶解度/濃度分佈	UV，SEC	於調配物緩衝液(20 mM組胺酸、150 mM蔗糖、50 mM氯化鈉、25 mM精胺酸，pH 6.0)中>150 mg/mL
對於構形及膠體穩定性之pH篩選	Optim2 (T_m 及Tagg起點)	最佳構形穩定性= pH 6-8 最佳膠體穩定性= pH 5-6
緩衝劑及賦形劑篩選	Optim2 (T_m 及Tagg起點)	穩定劑：蔗糖、山梨糖醇、精胺酸(高濃度)、甘油
在調配物(20 mM組胺酸、150 mM蔗糖、50 mM氯化鈉、25 mM精胺酸，pH 6.0)中在 4°C 、 25°C 及 40°C 下之加速穩定性150 mg/mL 12 w	SEC，cIEF、 HIC，LC-MS/MS (肽圖分析)， LC/MS (完整質量)，2D-LC/MS (片段)，Biacore， 生物檢定，UV-Vis，DLS	在 40°C 下之12 w = 1.2%/月之HMW增加 2.4%/月之LMW增加 在 40°C 下之12 w = Rh及Pd增加 在 40°C 下之12 w = 11%/月之酸性變異體增加 在 40°C 下之12 w = 3%/月之VSNK脫醯胺
黏度評估	確定濃度-黏度分佈	在~130 mg/mL下之溶液達到9 cP，且在150 mg/mL下之所預測之黏度為12 cP

【0286】在所描述之調配物(20 mM組胺酸、150 mM蔗糖、50 mM氯化鈉、25 mM精胺酸，pH 6.0)中在150 mg/mL下在冷凍-解凍應力(3個循環)期間未觀測到物理穩定性問題。在150 mg/mL下之所研究調配物中之強制降解研究設置在4°C、25°C及40°C下(至多3個月)。如藉由SPR所測定，CDR化學修飾在整個所有溫度條件中保持低且不影響活性。與IgG1.3f構架上之其他單株抗體(在40°C儲存下之3%/月之增加)相比，VSNK脫醯胺低於預期，其變化為時間及溫度依賴性的。如在穩定性研究期間所監視，所有其他化學修飾(氧化、脫醯胺、異構化)亦保持低。值得重視地，在40°C下之儲存指示HMW變異體及LMW變異體兩者之形成(分別證實1.2%/月及2.4%/月)。所觀測到之變化為時間及溫度依賴性的，以使得在研究期內在4°C儲存下HMW增加0.25%/月，LMW保持不變。在40°C儲存下之低LMW形成係藉由利用高解析度準確質量量測進行之2D-LC/MS來表徵為假定在上鉸鏈區中之保守序列處之1 Fab以及Fab臂累積物種損失。

實例13：對於食蟹獼猴中之mAb 0318-IgG1.3f變異體之PK/TK/PD研究

【0287】對於抗TREM-1 0318-IgG1.3f抗體之單劑量之藥物動力學(PK)、毒理動力學(TK)及藥效動力學(PD)研究係在食蟹獼猴中進行。動物中之一些靜脈內接受2 mg 0318-IgG1.3f抗體/kg (n=3)。其他動物皮下接受以下0318-IgG1.3f抗體劑量中之一種：(i) 0 mg/kg (亦即對照) (n=4)、(ii) 0.1 mg/kg (n=4)、(iii) 0.5 mg/kg (n=4)、(iv) 2 mg/kg (n=3)或(v) 10 mg/kg (n=4)。在抗體投與時，在預定時間點檢驗藥物動力學、抗藥物抗體(ADA)、TREM-1受體佔用(RO)及離體藥效動力學反應。

藥物動力學(PK)

【0288】為評估藥物動力學，在動物中用配位體結合檢定使用生物素標記重組TREM-1蛋白作為捕獲試劑且使用商業多株山羊抗TREM-1抗體作為偵測試劑來評估0318-IgG1.3f抗體之血清濃度。

【0289】如圖12中所示，0318-IgG1.3f抗體之藥物動力學確定非線性介於0.1 mg/kg與10 mg/kg之間，此主要係由於標靶介導之清除(亦即抗體在結合至TREM-1受體時之內化及降解；參見實例2)。

【0290】基於非隔室分析之PK參數呈現於表5 (靜脈內投與)及表6 (皮下投與)中。簡言之，劑量中之100倍增加引起血清暴露中之830倍增加(AUC)。參見表6。在2 mg/kg IV劑量之後之清除為 0.1 ± 0.02 mL/h/kg且類似於猴中之其他基於IgG1之mAb。參見表4。在 36 ± 5 mL/kg下之Vss類似於指示有限血管外分佈之血漿體積。0318-IgG1.3f抗體之半衰期自對於0.1 mg/kg劑量之2天增加至在2 mg/kg及10 mg/kg下之10天(單次皮下劑量投與)。參見表6。在皮下投與(2 mg/kg)之後之0318-IgG1.3f抗體之生物可用性為84%高。

表5. 在單次IV劑量之後之食蟹獼猴中之mAb 0318-IgG1.3f之PK參數

食蟹獼猴中之mAb 0318-IgG1.3f IV-PK參數	
劑量(mg/kg)	2
N	3
Vss (mL/kg)	36 ± 5
CL (mL/h/kg)	0.1 ± 0.02
T _{1/2} (天)	10 ± 2
AUC _{最終} (μM*h)	116 ± 20
ADA陽性/總檢驗	3/3 (1/3)*

*顯示持久ADA之總檢驗中之猴之數目。

表5. 在單次SC劑量之後之食蟹獼猴中之mAb 0318-IgG1.3f之PK參數

食蟹獼猴中之mAb 0318-IgG1.3f SC-PK參數				
劑量(mg/kg)	0.1	0.5	2	10

N	4	4	3	4
Cmax (nM)	13 ± 4	50 ± 3	189 ± 22	1419 ± 93
Tmax (h)	24	48	168 ± 96	84 ± 24
AUC _{最終} (μM*h)	1 ± 0.2	15 ± 1	94 ± 13	649 ± 64
T _{1/2} (天)	2 ± 0.4	4 ± 2	10 ± 5	10 ± 3
SC生物可用性			84%	
ADA陽性/總檢驗	3/4 (2/4)*	4/4 (2/4)*	3/3 (2/3)*	3/4 (1/4)*

*顯示持久ADA之總檢驗中之猴之數目。

抗藥物抗體(ADA)

【0291】當在單次劑量之後在大部分猴(18個中之16個)中偵測到血清ADA (與投與途徑無關)時，大部分ADA陽性動物中之0318-IgG1.3f抗體暴露及TREM-1受體佔用(RO)未受損。參見表4及5。僅在兩個猴中觀測到伴隨ADA形成之0318-IgG1.3f抗體之最終暴露中之加速減少(一個在0.1 mg/kg劑量組中在第7天，且一個在0.5 mg/kg劑量組中在第21天)。因為ADA在末期影響此等兩個猴中之暴露，故排除對應資料點以用於PK分析。

TREM-1受體佔用(RO)及總TREM-1受體量

【0292】接下來，評估表現於末梢血液單核球及粒細胞上之TREM-1受體之佔用。如圖15A及15B中所示，對於所測試之所有劑量，單核球與粒細胞之間之所佔用TREM-1受體(亦即結合至抗TREM-1抗體)之百分比類似。此外，受體佔用持續時間似乎視向動物投與之0318-IgG1.3f抗體之劑量而定。在0.5 mg/kg下，在抗體投與之後達至多2週觀測到≥85% RO。相反地，在2 mg/kg及10 mg/kg之情況下，≥85%之TREM-1受體在投與之後保持佔用達至少1個月。

【0293】在0318-IgG1.3f抗體給藥之後，單核球及粒細胞兩者上之總TREM-1受體量減少。參見圖14A及14B。如先前所論述，此減少大概

係由於抗體結合之後之增加之受體轉換。表面TREM-1受體表現中之減少為可逆的，且至少在所檢驗之劑量水準下表面受體損失之持續時間與受體佔用之持續時間相關。

【0294】在有所測試之劑量組中，在單次劑量之mAb 0318 mAb-IgG1.3f變異體之後，可溶性TREM-1 (sTREM-1)之量似乎增加10倍至50倍。(資料未示出)。若sTREM-1量中之增加與抗TREM-1抗體投與相關或與研究過程期間之動物一般處置相關，則其不明確。在任何情況下，因為藥物濃度大大超出(>1000倍) sTREM-1量，故預期可溶性標靶不實現mAb 0318 mAb-IgG1.3f變異體與細胞表面TREM-1之結合。

實例14：對於由具有於中央隔室中之TMDD之2室PK模型所描述之食蟹獼猴中的mAb 0318-IgG1.3f變異體的PK/TK/PD研究

【0295】使用具有於中央隔室中以容納所觀測非線性PK之可飽和標靶介導之藥物處置(TMDD)之2室PK模型描述猴PK、RO、總受體量及PD資料(參見實例12及圖13)。直接效應抑制性模型用於描述PD反應。此模型能夠有效地捕獲於猴中所觀測之PK/RO/PD之時程。所觀測之端點(開口圓)及模型所預測之端點(實線)提供於圖16A (0.1 mg/kg皮下給藥)及16B (10 mg/kg皮下給藥)中。表7提供所估計之PK/PD參數。當自所有猴彙集mAb 0318-IgG1.3f變異體之血清暴露及TREM-1 RO資料時，觀測到RO中之濃度依賴性增加。參見圖16A及16B。Emax模型用於描述濃度-RO關係，估計活體內RO EC₅₀為1.6 ± 0.2 nM。

表7. 用於描述猴PK/TK/PD資料之PK/PD模型之參數估計值及預計人類參數估計值

PK參數	描述	食蟹獼猴模型估計值(CV%)	預計人類估計值
Ka (h ⁻¹)	吸收速率常數	0.049 (15)	0.049

V1 (mL/kg)	中央隔室分佈體積	22 (5)	22
Ke (h-1)	自中央隔室之消除速率常數	0.003 (10)	0.0019
K12 (h-1)	分佈速率常數	0.024 (14)	0.015
K21 (h-1)		0.022 (7)	0.014
F (%)	SC生物可用性	80 (5)	80
Kdeg (h-1)	標靶轉換率常數	0.09 (20)	0.09
Kint (h-1)	標靶mAb複合物內化速率常數	0.39 (18)	0.39
R0 (nmol/kg)	中央隔室中之基線標靶水準	0.024 (22)	0.024
KD (nM)	mAb對TREM-1之親和力	0.64 (12)	0.24
Koff (h-1)	mAb與TREM-1之解離速率	0.37 (7)	0.30
IC50 (nM)	將PGN+PGRP介導之活體外 TREM-1刺激抑制50%之濃度	1.9 (92)	0.1
E0 (%)	基本PGN+PGRP介導之活體外 TREM-1刺激(給藥前)	100 (固定)	100

表8.

SEQ ID	描述	序列
50	318-IgG1.3f重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQ ASGKGLEWVGRIIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDMGIRRQFAYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
51	318-IgG1.1f重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQ ASGKGLEWVGRIIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDMGIRRQFAYWGQGTLVTV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE

SEQ ID	描述	序列
		EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
52	318-IgG1-Aba 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQ ASGKGLEWVGRIIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDMGIRRFAYWGQGTLLTVV SSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPELLGGS SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
53	318-IgG4-Aba 重鏈	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSTYAMHWVRQ ASGKGLEWVGRIIRTKSSNYATYYAASVKGRFTISRDDSKNT AYLQMNSLKTEDTAVYYCTRDMGIRRFAYWGQGTLLTVV SSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGKTKY TCNVDHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPSPAPELLGGSS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
54	318-IgG1.3f、 IgG1.1f、IgG1- Aba、IgG4- Aba輕鏈	DIVLTQSPDLSAVSLGERATINCRASQSVDTFDYSFLHWYQ QKPGQPPKLLIYRASNLESGVPDRFSGSGSGTDFTLTIS SLQAEDVAVYYCQQSNQDPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPP SDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS QESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQ GLSSPVTKSFNRGEC

【0296】此PCT申請主張2018年4月2日申請之美國臨時申請第62/651,605號之優先權，該案以全文引用之方式併入本文中。

【序列表】

<110> 美商必治妥美雅史谷比公司(BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY)

<120> 抗TREM-1抗體及其用途

<130> TW108111513

<150> US 62/651,605

<151> 2018-04-02

<160> 86

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 234

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
1 5 10 15

Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
20 25 30

Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
35 40 45

Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
50 55 60

Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
65 70 75 80

Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
85 90 95

Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
100 105 110

Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
115 120 125

Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn
130 135 140

Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys
145 150 155 160

Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro
165 170 175

Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu
180 185 190

Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Val Pro Val Phe Asn Ile Val Ile
195 200 205

Leu Leu Ala Gly Gly Phe Leu Ser Lys Ser Leu Val Phe Ser Val Leu
210 215 220

Phe Ala Val Thr Leu Arg Ser Phe Val Pro
225 230

<210> 2
<211> 225
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
1 5 10 15

Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
20 25 30

Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
35 40 45

Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
50 55 60

Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
65 70 75 80

Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
85 90 95

Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
100 105 110

Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
115 120 125

Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Ser Gly Thr Pro Gly Ser Asn
130 135 140

Glu Asn Ser Thr Gln Asn Val Tyr Lys Ile Pro Pro Thr Thr Thr Lys
145 150 155 160

Ala Leu Cys Pro Leu Tyr Thr Ser Pro Arg Thr Val Thr Gln Ala Pro
165 170 175

Pro Lys Ser Thr Ala Asp Val Ser Thr Pro Asp Ser Glu Ile Asn Leu
180 185 190

Thr Asn Val Thr Asp Ile Ile Arg Tyr Ser Phe Gln Val Pro Gly Pro
195 200 205

Leu Val Trp Thr Leu Ser Pro Leu Phe Pro Ser Leu Cys Ala Glu Arg
210 215 220

Met
225

<210> 3
<211> 150
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser
1 5 10 15

Glu Leu Arg Ala Ala Thr Lys Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Leu Lys
20 25 30

Glu Gly Gln Thr Leu Asp Val Lys Cys Asp Tyr Thr Leu Glu Lys Phe
35 40 45

Ala Ser Ser Gln Lys Ala Trp Gln Ile Ile Arg Asp Gly Glu Met Pro
50 55 60

Lys Thr Leu Ala Cys Thr Glu Arg Pro Ser Lys Asn Ser His Pro Val
65 70 75 80

Gln Val Gly Arg Ile Ile Leu Glu Asp Tyr His Asp His Gly Leu Leu
85 90 95

Arg Val Arg Met Val Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln
100 105 110

Cys Val Ile Tyr Gln Pro Pro Lys Glu Pro His Met Leu Phe Asp Arg
115 120 125

Ile Arg Leu Val Val Thr Lys Gly Phe Arg Cys Ser Thr Leu Ser Phe
130 135 140

Ser Trp Leu Val Asp Ser
145 150

<210> 4
<211> 3333
<212> DNA

<213> 智人

<400> 4

gtgcaacttt ccgaagcctc taggtcattg tggtagccttg tagctgtccc gggagccctc	60
agcagcagtt ggagctggtg cacaggaagg atgaggaaga ccaggctctg ggggctgctg	120
tggatgctct ttgtctcaga actccgagct gcaactaaat taactgagga aaagtatgaa	180
ctgaaagagg ggcagaccct ggatgtgaaa tgtgactaca cgctagagaa gtttgccagc	240
agccagaaag cttggcagat aataagggac ggagagatgc ccaagaccct ggcatgcaca	300
gagaggcctt caaagaattc ccatccagtc caagtgggga ggatcatact agaagactac	360
catgatcatg gtttactgcg cgtccgaatg gtcaaccctc aagtggaga ttctggactg	420
tatcagtgtg tgatctacca gcctcccaag gagcctcaca tgcgtttcga tcgcatccgc	480
ttggtgggtga ccaagggttt ttcagggacc cctggctcca atgagaattc taccagaat	540
gtgtataaga ttcttcctac caccactaag gccttgtgcc cactctatac cagccccaga	600
actgtgacct aagctccacc caagtcaact gccgatgtct ccactcctga ctctgaaatc	660
aaccttacia atgtgacaga tatcatcagg gtccgggtgt tcaacattgt cattctcctg	720
gctgggtgat tcctgagtaa gagcctggtc ttctctgtcc tgtttgctgt cacgctgagg	780
tcatttgtac cctaggccca cgaaccacg agaatgtcct ctgacttcca gccacatcca	840
tctggcagtt gtgccaaggg aggagggagg aggtaaaagg caggaggtta ataacatgaa	900
ttaaactctgt aatcacccgc tattttctaaa gtcagcgtct cactttcctg cccactgccc	960
tcgttcctct aataatcttg ggtgggcatt tgtgcctcag aaaagaagtt acagccccaa	1020
acatgcttgg tccttcattc caccagccac ttgggggttg catgaaatac agacagctca	1080
atgcttttca ccgtaattct cttgtggggg ctgtgacatg cagaaggcac acctgatact	1140
tctcctgctc agttttgccc tggaccatac aattttggcc tgacctggac agagctccca	1200
ctacagaagc atcctgctcg ccccatgctg ggacttcctc ttcttagcat cagacacttg	1260
ggtttcatgc ttatgtgtgg ttctttccaa cactcccaga aaagggtgtt gaagattgtg	1320
gaacctggag aaataagaca tcgtggtgag aaagtgcac cttctcagag aaaagagtta	1380
aactgagtat cttcttctgg ggaaatactg gcaggccgag atgggatcca taggagagca	1440

acaacagacc atgtcagaca tectgtgtgc atttatcgct ggatccctgaa aatagccccg	1500
tgaaggcaga aatglatgtg actagaacga ggccacatga ataagccact gcccactggc	1560
aggagtgaaa actgaagcgc tecttacctg aaggacccca aaacatata gaatagaata	1620
accaggagtt ccgcctgtgt ctaaatgcct cttttccctg atcacacaag ggtcagggat	1680
ggtggagtaa aagctctccc cctgggaggc ttctggaggc tgtcccatg tgcttgcta	1740
gttccccact ctgccctcct cctcttctct cagtctgtct ctggaacacc tgccctcagtt	1800
tccatgctct ctccagtgcc ctccccggtg aagcaggtag gtgttcaggc caccacagag	1860
acaatctctg tgggagattg tcttgcaatc tcccacagat ttcaatcagg attttgttat	1920
ttctacttt gagctttaaa gggaaatggg cctcatgggt ggggaaagga tggtaggtcc	1980
ttccagccca atttagtgat gcccagggca gatattatcc tcagttccca agagcaatca	2040
tacttttcca cacataccgt gtgtctcatg ttaggtaaat gtatttttac aatgagcacc	2100
acttctgtgg aaaaagtcc ctgcacgggg aggtccagct tccagactgc tccatcgcat	2160
aaggacttcc ccattcccct aaatgctgct ctgtcagaac ctgcccaggt aatggtaatg	2220
accctagaga gatgatttct gaaccgcaat tttagccca ttagaagggt tgtggtagggc	2280
atttatttca tctgatgct ctggtgagaa tctttgcaga cgcactagat ccagaagctg	2340
ttaatcttgg tgcatttatt ttctaccta aaagaaccaa gcagctcaga ggcagtgact	2400
gtacaggatg cagtgtttat aataatgctg agcttgctgg tctggaacc cacttttag	2460
caatcccagc attgttctg tttatgaagt tgacaaagt accagggcaa gggggtatta	2520
tcattaaata cactctagga gaggcagaac acatgagggc aatgtttttc agaggctttt	2580
aggccaccgc atcagattct cctggagcat aaagcaaag ctttatgagt ccagggcccc	2640
tgcagacct ctgtatacta gtatacagct cctctttagt ggaatcaag cttgtttcca	2700
aaaagtcatt acactcctta ccaaagccca tgacacattc atacagattc atccagacat	2760
aaccactgc atgggccagt gcatgcttgt gtgcttaact tattatagat caagtgttat	2820
ttaagtcaa catattaaac gtgactgaaa tattatatgc actaaatcgg aagacaaatg	2880
gccgtgctgg atactctccc atttgactt acaggccacg ccattgtcca tcttcccat	2940

cctgcctggg aacctgacca atgtggctaa accagcaggc tccctggctg ccagcttctg 3000

gctgggttag ccaatgggaa gcatgagagg agagccgagg gtggggagac agtcagatca 3060

gggtttctgt cctcagggct cctccctgg cagggtggagg caggagtggc tgcattcccc 3120

tctgaaggct ccttcaagcc tctcagcaaa cagctcccat ctccaagtcc agccacctgt 3180

tccatcctct cctctgtagg cccagcagtg ggaatgaccc accactattg ccagcctcag 3240

catactgaag cacccecttac tggattccct aaattctatg cacatgttta ttaaagtctc 3300

ctcaattacc cagttaaaaa aaaaaaaaaa aaa 3333

<210> 5

<211> 2102

<212> DNA

<213> 智人

<400> 5

attgtggtgc cttgtagctg tcccgggagc cctcagcagc agttggagct ggtgcacagg 60

aaggatgagg aagaccaggc tctgggggct gctgtggatg ctctttgtct cagaactccg 120

agctgcaact aaattaactg aggaaaagta tgaactgaaa gaggggcaga ccctggatgt 180

gaaatgtgac tacacgctag agaagtttgc cagcagccag aaagcttggc agataataag 240

ggacggagag atgccaaga ccctggcatg cacagagagg ccttcaaaga attcccatcc 300

agtccaagtg gggaggatca tactagaaga ctacatgat catggtttac tgcgcgtccg 360

aatggtcaac cttcaagtgg aagattctgg actgtatcag tgtgtgatct accagcctcc 420

caaggagcct cacatgctgt tcgatcgcac ccgcttggtg gtgaccaagg gtttttcagg 480

gacccctggc tccaatgaga attctaccca gaatgtgtat aagattcctc ctaccaccac 540

taaggccttg tgccactct ataccagccc cagaactgtg acccaagctc cacccaagtc 600

aactgccgat gtctccactc ctgactctga aatcaacctt acaaagtga cagatatcat 660

caggatatgt ttccagggtc ctgggccctt ggtttgaca ctgagccctt tgtttccag 720

tctgtgtgct gagaggatgt gaaagtgagg gaaaggggag ggtggggcag gagaagactt 780

gagtcacatt agtctgggta gaaatgtcca ggggaagaag gaagtggatga tggagaatag 840

gggaggctct cagccaggct gtccttctcc ccagttcacc ttctttgttt ccttgcaacc	900
tgagtattaa agagagggaa atggcatctt cccaagttc cagtggagct catccaaccc	960
caggggcctg atgggcagtg ggaaagcact ctgagtgagg ggccctggat ctagtgttgg	1020
cctgactaac tgaatgtgac ttgggtgag tcaggaaccc tctctggctt tagcttcttt	1080
gacaattcag taggcatggt agaaacccaa agctggaaga cattgtccac ctaataactc	1140
tcagcaggag ctggagctgg ggctaaatgc agtattgggt ttgacctat tgttttttaa	1200
ataacattgt tgcatgtgcc caattataga taaatagaat cagaattttt gcagatgagg	1260
tccctctcag tatttttaat aagatgttta ggagatttct aatgtgtagg caaacttaag	1320
aaccactaac ttagcaattt cacacctctt tacagttatt aaatgttgat ttatattaga	1380
atgtgtttat cattaaatac tgaattatca ggatggaaat acttttccac atcaccacta	1440
gtctaacatg tcttttttct catattctct tctagtcttt attcatgttt atacatattt	1500
taatatggca gtaagictaa ttatacatgt tttattctt ttccttgctg aaattattct	1560
ttgatgctgc tacctaaatt tcataaatat aatttcaatg agtgcataat tttctatcaa	1620
ttgggaaagc cataacttac ataaccattg gcctgttctt agacattgat atagtgttga	1680
taactctgag ataaacatat tcttgcatat atatttttct tcttttaaata aattaaactg	1740
aaatttccat gagataattt aaacactgat atcattttgt atacaaatag catctaccaa	1800
tggctttcca aaagattgga aacaatttgc agtgtgatcc attaagcata aataaagcag	1860
tgtcatggca ggcttacaga cacggattta gtctttttaa tcattaaata gtgtgagtta	1920
aatcacattc ctgctaaaac aaatgtgaac tggcgcctgc tctaatttct ctatgagtgt	1980
agactccacc tccatatggg tagtggcagt gcctttttcc ccattatgtt gtttggggaa	2040
caaagtgctc attaaacttc tgtggaataa atcaaacgaa tgatcaaaaa aaaaaaaaaa	2100
aa	2102

<210> 6
<211> 3140
<212> DNA
<213> 智人

<400> 6	
gtgcaacttt ccgaagcctc taggtcattg tggatgccttg tagctgtccc gggagccctc	60
agcagcagtt ggagctggtg cacaggaagg atgaggaaga ccaggctctg ggggctgctg	120
tggatgctct ttgtctcaga actccgagct gcaactaaat taactgagga aaagtatgaa	180
ctgaaagagg ggcagaccct ggatgtgaaa tgtgactaca cgctagagaa gtttgccagc	240
agccagaaag cttggcagat aataagggac ggagagatgc ccaagaccct ggcatgcaca	300
gagaggcctt caaagaattc ccatccagtc caagtgggga ggatcatact agaagactac	360
catgatcatg gtttactgcg cgtccgaatg gtcaaccctc aagtgggaaga ttctggactg	420
tatcagtgtg tgatctacca gcctcccaag gagcctcaca tgcgtgtcga tcgcatccgc	480
ttggttggtga ccaaggggtt ccggtgttca acattgtcat tctcctggct ggtggattcc	540
tgagtaagag cctggctctc tctgtcctgt ttgctgtcac gctgaggcca tttgtaccct	600
aggcccacga acccacgaga atgtcctctg acttccagcc acatccatct ggcagttgtg	660
ccaagggagg agggaggagg taaaaggcag ggagttaata acatgaatta aatctgtaat	720
caccggtat ttctaaagtc agcgtctcac ctctctgccc actgccctcg ttctctaat	780
aatcttgggt gggcatttgt gcctcagaaa agaagttaca gcccacaaca tgcttggtec	840
ttcattccac cagccacttg gggttggcat gaaatacaga cagctcaatg cttttaccg	900
taattctctt gtgggggctg tgacatgcag aaggcacacc tgatacttct cctgtcagt	960
tttgccctgg accatacaat tttagcctga cctggacaga gctcccacta cagaagcatc	1020
ctgtctgccc catgtcggga ctctctcttt ctagcatcag acacttgggt ttcattgctta	1080
tgtgtggttc ttccaacac tcccagaaaa ggtgtttgaa gattgtggaa cctggagaaa	1140
taagacatcg tggtagaaaa gtgcatcctt ctacagagaaa agagttaaac tgagtatctt	1200
ctctctggga aatactggca ggccgagatg ggatccatag gagagcaaca acagaccatg	1260
tcagacatcc tgtgtgcatt tatcgttga tctgaaaaat agccccgtga aggcagaaat	1320
gtatgtgact agaacgaggc cacatgaata agccactgcc cactggcagg agtgaaaact	1380
gaagcgctcc ttacctgaag gacccccaaa ccatatagaa tagaataacc aggagtccg	1440
cctgtgtcta aatgcctctt ttctgtatc acacaagggt cagggatggt ggagtaaaag	1500

ctctccccct gggaggcttc tggaggctgt ccccatgtgc ttgcctagtt cccactctg	1560
ccctctctct cttctctcag tctgtctctg gaacacctgc ctacgtttcc atgtctctct	1620
cagtgccttc cccggtgaag caggtaggtg ttcaggccac cacagagaca atctctgtgg	1680
gagattgtct tgcaatctcc cacagatttc aatcaggatt ttgttatttc ctactttgag	1740
ctttaaaggg aaatgggcct catgggtggg gaaaggatgg tgggtccttc cagcccaatt	1800
tagtgatgcc cagggcagat attatcctca gtcccaaga gcaatcatac tttccacac	1860
ataccgtgtg tctcatgtta ggtaaatgta tttttacaat gagcaccact tctgtggaaa	1920
aagtccctg cacggggagg tccagcttcc agactgtccc atcgcataag gacttcccca	1980
ttcccctaaa tgctgtcttg tcagaacctg cccaggtaat ggtaatgacc ctagagagat	2040
gatttctgaa ccgcaatfff gagcccatta gaagggtgtg ggtgggcatt tatttcatcc	2100
tgatgtcttg gtgagaatct ttgcagacgc actagatcca gaagctgtta atcttgggtgc	2160
atttattttc ctacctaaaa gaaccaagca gctcagaggc agtgactgta caggatgcag	2220
tgtttataat aatgtctgagc ttgtctgtct ggaacccac actttagcaa tcccagcatt	2280
gttctctgtt atgaagtga caaagtgacc agggcaaggg ggtattatca ttaaatacac	2340
tctaggagag gcagaacaca tgagggcaat gtttttcaga ggtctttagg ccaccgcac	2400
agattctctt ggagcataaa gcaaagtctt tatgagtcca gggcccctgc agacctactg	2460
tatactagta tacagctccc tcttagtgga tctcaagctt gtttccaaaa agtcattaca	2520
ctcettacca aagcccatga cacattcata cagattcacc cagacataac ccactgcatg	2580
gtccagtgca tgcttgtgtg ctttaacttat tatagatcaa gtgttattta agtccaacat	2640
attaaacgtg actgaaatat tatatgcact aaatcggaag acaaattggc gtgctggata	2700
ctctcccatt tgcaattaca ggccacgcca tgcctcatcc tcccatactt gcctgggaac	2760
ctgaccaatg tggctaaacc agcaggtccc ctggctgcca gcttctggct ggttgagcca	2820
atgggaagca tgagaggaga gccgagggtg gggagacagt cagatcaggg tttctgtcct	2880
cagggtcccc tccctggcag gtggtggcag gagtggctgc attcccctct gaaggctcct	2940
tcaagcctct cagcaaacag ctcccctctc caagtccagc cactgttcc atctctctct	3000

ctgtaggccc agcagtgggga atgaccacc actattgccca gcctcagcat actgaagcac3060

cccttactgg attccctaaa ttctatgcac atgtttatta aatgctcctc aattaccag3120

ttaaaaaaaaa aaaaaaaaaa3140

<210> 7

<211> 233

<212> PRT

<213> 食蟹獼猴

<400> 7

Met Arg Lys Thr Arg Leu Trp Gly Leu Leu Trp Met Leu Phe Val Ser

151015

Glu Leu Arg Ala Thr Thr Glu Leu Thr Glu Glu Lys Tyr Glu Tyr Lys

202530

Glu Gly Gln Thr Leu Glu Val Lys Cys Asp Tyr Ala Leu Glu Lys Tyr

354045

Ala Asn Ser Arg Lys Ala Trp Gln Lys Met Glu Gly Lys Met Pro Lys

505560

Ile Leu Ala Lys Thr Glu Arg Pro Ser Glu Asn Ser His Pro Val Gln

65707580

Val Gly Arg Ile Thr Leu Glu Asp Tyr Pro Asp His Gly Leu Leu Gln

859095

Val Gln Met Thr Asn Leu Gln Val Glu Asp Ser Gly Leu Tyr Gln Cys

100105110

Val Ile Tyr Gln His Pro Lys Glu Ser His Val Leu Phe Asn Pro Ile

115120125

Cys Leu Val Val Thr Lys Gly Ser Ser Gly Thr Pro Gly Ser Ser Glu

130135140

Asn	Ser	Thr	Gln	Asn	Val	Tyr	Arg	Thr	Pro	Ser	Thr	Thr	Ala	Lys	Ala
145					150					155					160
Leu	Gly	Pro	Arg	Tyr	Thr	Ser	Pro	Arg	Thr	Val	Thr	Gln	Ala	Pro	Pro
				165					170					175	
Glu	Ser	Thr	Val	Val	Val	Ser	Thr	Pro	Gly	Ser	Glu	Ile	Asn	Leu	Thr
			180					185					190		
Asn	Val	Thr	Asp	Ile	Ile	Arg	Val	Pro	Val	Phe	Asn	Ile	Val	Ile	Ile
		195				200					205				
Val	Ala	Gly	Gly	Phe	Leu	Ser	Lys	Ser	Leu	Val	Phe	Ser	Val	Leu	Phe
	210					215					220				
Ala	Val	Thr	Leu	Arg	Ser	Phe	Gly	Pro							
225					230										
<210>	8														
<211>	196														
<212>	PRT														
<213>	智人														
<400>	8														
Met	Ser	Arg	Arg	Ser	Met	Leu	Leu	Ala	Trp	Ala	Leu	Pro	Ser	Leu	Leu
1				5					10					15	
Arg	Leu	Gly	Ala	Ala	Gln	Glu	Thr	Glu	Asp	Pro	Ala	Cys	Cys	Ser	Pro
			20					25					30		
Ile	Val	Pro	Arg	Asn	Glu	Trp	Lys	Ala	Leu	Ala	Ser	Glu	Cys	Ala	Gln
		35					40					45			
His	Leu	Ser	Leu	Pro	Leu	Arg	Tyr	Val	Val	Val	Ser	His	Thr	Ala	Gly
	50					55					60				
Ser	Ser	Cys	Asn	Thr	Pro	Ala	Ser	Cys	Gln	Gln	Gln	Ala	Arg	Asn	Val
65					70					75					80

Gln His Tyr His Met Lys Thr Leu Gly Trp Cys Asp Val Gly Tyr Asn
85 90 95

Phe Leu Ile Gly Glu Asp Gly Leu Val Tyr Glu Gly Arg Gly Trp Asn
100 105 110

Phe Thr Gly Ala His Ser Gly His Leu Trp Asn Pro Met Ser Ile Gly
115 120 125

Ile Ser Phe Met Gly Asn Tyr Met Asp Arg Val Pro Thr Pro Gln Ala
130 135 140

Ile Arg Ala Ala Gln Gly Leu Leu Ala Cys Gly Val Ala Gln Gly Ala
145 150 155 160

Leu Arg Ser Asn Tyr Val Leu Lys Gly His Arg Asp Val Gln Arg Thr
165 170 175

Leu Ser Pro Gly Asn Gln Leu Tyr His Leu Ile Gln Asn Trp Pro His
180 185 190

Tyr Arg Ser Pro
195

<210> 9
<211> 330
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35

40

45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
			245						250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
			260					265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
		275					280					285				
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
	290					295					300					
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	
305					310					315					320	
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys							
			325					330								
<210>	10															
<211>	327															
<212>	PRT															
<213>	智人															
<400>	10															
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	
1			5					10					15			
Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	
			20					25					30			
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	
		35					40				45					
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	
	50					55				60						
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Lys	Thr	
65					70				75					80		

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 11
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1-Aba重鏈恆定區

<400> 11

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Ser	Pro	Pro	Ser
100				105				110							
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
115				120				125							
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
130				135				140							
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp
145				150				155				160			
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
165				170				175							
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu
180				185				190							
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
195				200				205							
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly
210				215				220							
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu
225				230				235				240			
Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
245				250				255							
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
260				265				270							
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
275				280				285							
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
290				295				300							

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 12
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG4-Aba重鏈恆定區

<400> 12

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 13
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 14
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> mAb 0318 VH

<400> 14

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

I839050

1 5 10 15
Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 15
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> mAb 0318 VL

<400> 15

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 16
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VH

<400> 16

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

859095

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100105110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115120

<210> 17
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VL

<400> 17

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
151015

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
202530

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
354045

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
505560

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
65707580

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
859095

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100105110

<210> 18

<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VH

<400> 18

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 19
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VL

<400> 19

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 20
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba VH

<400> 20

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 21
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba VL

<400> 21

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 22
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VH

<400> 22

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 23
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VL

<400> 23

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 24
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VH CDR1

<400> 24

Thr Tyr Ala Met His

15

<210> 25
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VH CDR2

<400> 25

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
151015

Val Lys Gly

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

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VH CDR3

<400> 26

Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1510

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VL CDR1

<400> 27

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
151015

<210> 28

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VL CDR2

<400> 28

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 29
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f VL CDR3

<400> 29

Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 30
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VH CDR1

<400> 30

Thr Tyr Ala Met His
1 5

<210> 31
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VH CDR2

<400> 31

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

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

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VH CDR3

<400> 32

Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 33
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VL CDR1

<400> 33

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 34
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VL CDR2

<400> 34

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 35
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f VL CDR3

<400> 35

Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 36
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba VH CDR1

<400> 36

Thr Tyr Ala Met His
1 5

<210> 37
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba VH CDR2

<400> 37

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 38
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba VH CDR3

<400> 38

Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba VL CDR1

<400> 39

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 40

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba VL CDR2

<400> 40

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 41

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318-IgG1-Aba VL CDR3

<400> 41

Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr

15

<210> 42
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VH CDR1

<400> 42

Thr Tyr Ala Met His
15

<210> 43
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VH CDR2

<400> 43

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala Ser
151015

Val Lys Gly

<210> 44
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VH CDR3

<400> 44

Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1510

<210> 45

<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VL CDR1

<400> 45

Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 46
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VL CDR2

<400> 46

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 47
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba VL CDR3

<400> 47

Gln Gln Ser Asn Gln Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 48
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LSPGK (重鏈之C端)

<400> 48

Leu Ser Pro Gly Lys
1 5

<210> 49
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> LSPG (重鏈之C端)

<400> 49

Leu Ser Pro Gly
1

<210> 50
<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f HC

<400> 50

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

859095

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100105110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115120125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130135140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145150155160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165170175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180185190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195200205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210215220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
225230235240

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245250255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260265270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275280285

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> 51
- <211> 450
- <212> PRT
- <213> 人工序列

I839050

<220>
<223> 0318-IgG1.1f HC

<400> 51

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu 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

180185190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195200205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys
210215220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
225230235240

Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245250255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260265270

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275280285

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290295300

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305310315320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
325330335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340345350

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
355360365

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370375380

Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	
				85					90						95	
Tyr	Cys	Thr	Arg	Asp	Met	Gly	Ile	Arg	Arg	Gln	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	
			100					105						110		
Gln	Gly	Thr	Leu	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	Ser	Pro	Pro	Ser	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Ser	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	

I839050

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 Asp Glu Leu 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> 53
<211> 451
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318-IgG4-Aba HC

<400> 53

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp 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 Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240

Gly Ser 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 Asp Glu Leu 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> 54
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f LC

<400> 54

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser

I839050

65

70

75

80

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn

859095

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100105110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115120125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130135140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145150155160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165170175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180185190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195200205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210215

<210> 55
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f LC

<400> 55

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly

1	5	10	15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe	20	25	30
Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro	35	40	45
Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp	50	55	60
Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser	65	70	75
Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn	85	90	95
Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	100	105	110
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln	115	120	125
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr	130	135	140
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser	145	150	155
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr	165	170	175
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys	180	185	190
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro	195	200	205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 56
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba LC

<400> 56

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

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

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

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

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 57
<211> 218
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba LC

<400> 57

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Asp Thr Phe
20 25 30

Asp Tyr Ser Phe Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Asp
50 55 60

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

Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn
85 90 95

Gln Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

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

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

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

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
165 170 175

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

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

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 58
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f HC

<400> 58
atgagggtt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgaagtgcag 60

ctcgtggagt ccggcggagg actggtccaa cctggcggct ccctgaagct gtccctgcgt 120

gcctccggct tcaccttctc cacctacgcc atgcaactggg tcaggcaggc ctccggaag	180
ggcctggaat gggtcggccg gattaggacc aagtccagca actacgtac ctactacgcc	240
gccagcgtca agggccggtt cacaatctcc cgggacgact ccaagaacac cgcctatctc	300
cagatgaaca gcctgaagac agaggacacc gccgtgtact attgcacccg ggatatgggc	360
attcggaggc agttcgcta ttggggccag ggcacccctgg tgacagtcag ctccgccagc	420
acaaaaggac ctacgctgtt ccccttggcc cctagcagca agtcacaag cggcggcacc	480
gctgccctgg gctgtctggt gaaagactac ttccccgagc ccgtgacagt gagctggaac	540
tctggcgccc tgacatccgg agtgcacacc ttccctgccg tgctccagtc cagcggcctg	600
tacagcctga gcagcgtcgt gaccgtccct agcagcagcc tgggaacca gacctacatc	660
tgcaacgtga accacaagcc ctccaacacc aagggtggaca agagggtgga gccaagtcc	720
tgtgacaaga cccataacctg cccccctgt cctgctcctg aagctgaggg cggcccttcc	780
gtcttctctgt tccctcctaa gccaaggac accctgatga tctccaggac ccccgaggtg	840
acctgtgtgg tgggtgatgt gtcccacgag gaccccgagg tgaagttcaa ttggtacgtc	900
gacggcgtgg aggtgcacaa cgccaagacc aaaccccggg aggagcagta taacagcacc	960
taccgggtgg tgtccgtgct caccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac	1020
aagtgttaagg tcagcaataa ggccctgcct gcccccatcg agaagaccat tagcaaggct	1080
aagggccagc ccagggaacc ccaggtgtat accctcccc ctagccggga ggagatgacc	1140
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtg aaaggattct accctagcga catcgtgtg	1200
gagtgggaga gcaatggaca gcccgagaac aactacaaaa ccacctctc cgtcctggac	1260
tccgatggca gcttctttct gtactccaag ctacccgtcg acaagagccg gtggcagcag	1320
ggcaatgtgt ttagctgctc cgtgatgcac gaggtctctg acaaccacta tacccaaaag	1380
tcctgtccc tcagccccgg caagtga	1407

<210> 59
<211> 1404
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f HC

<400> 59

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgaagtgcag	60
ctggtggaaa gcggcggagg actggtgcag ccaggcggca gcctgaagct gtcttgcgcc	120
gccagcggct tcaccttcag cacctacgcc atgcaactggg tccgccaggc cagcggcaag	180
ggcctggaat gggtcggacg gatccggacc aagagcagca actacgccac ctactacgcc	240
gcctccgtga agggccggtt caccatcagc cgggacgaca gcaagaacac cgcctacctg	300
cagatgaaca gcctgaaaac cgaggacacc gccgtgtact actgcacccg ggacatgggc	360
atccggcggc agtttgccta ctggggccag ggcacccctgg tcacagtgtc cagcgcgtcg	420
accaagggcc catcggctct ccccttggca cctctctcca agagcacctc tgggggcaca	480
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac tccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac	540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc tccccgctg tcctacagtc ctcaggactc	600
tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc	660
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggttgaca agagagttga gccc aaatct	720
tgtgacaaaa ctacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aagccgaagg ggccccgtca	780
gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccgac cctgaggtc	840
acatgcgtgg tggtygacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg	900
gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg	960
taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac	1020
aagtgcagg tctccaacaa agccctccca agcagcatcg agaaaacat ctccaaagcc	1080
aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga ggagatgacc	1140
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catgccgtg	1200
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac	1260
tccgacggt ccttcttct ctatagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag	1320
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag	1380

agcctctccc tgtccccggg ttga 1404

<210> 60
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba HC

<400> 60
atgagggtt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgaggccag 60

ctggtggaga gcggaggagg actcgtgcag cctggaggat ccctgaagct gtctgcgct 120

gcctccggct ttaccttctc cacctacgcc atgcattggg tgaggcaggc ctccggcaag 180

ggcctggaat gggtagggcag gatcaggaca aagagctcca actacgccac ctactacgcc 240

gccagcgtga aaggacggtt caccatctcc cgggacgatt ccaaaaacac cgcctacctc 300

cagatgaata gcctgaagac cgaggacacc gccgtctact actgcaccag ggatatgggc 360

atccggcggc agtttgcta ctggggccag ggcacctgg tgacagtgtc cagcgctagc 420

accaaaggcc cctccgtgtt cccctgggt cctccagca agtccacatc cggcggaacc 480

gccgctctgg gatgtctggt gaaggactac tccccgagc ccgtgacagt gagctggaac 540

tctggcgctc tgacctccgg cgtgcacacc ttctctgtg tgctgcagtc ctccggcctc 600

tacagcctgt cctccgtcgt gacagtgcgc tcctccagcc tgggcaccca gacctacatc 660

tgcaacgtga accacaagcc ttccaacacc aaggtggata agcgggtcga acccaagagc 720

tgcgacaaga cccacaccag cccccctcc cctgctcccg agctcctggg aggcagctcc 780

gtgtttctgt tccccccaa gcctaaggac accctgatga tcagcaggac cccgaagtg 840

acatgcgtgg tggtcgacgt gtcccacgag gaccccgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900

gatggagtgg aggtccataa tgccaagacc aagccccggg aggagcagta caattccacc 960

taccgggtgg tgtccgtgct gacagtcctg catcaggact ggctcaacgg caaggagtac 1020

aaatgcaagg tgtccaacaa ggctctgccc gccccatcg agaagacaat cagcaaggct 1080

aagggccagc ctagggagcc ccaggtgtac accctgcccc cttccaggga cgagctcacc 1140

aagaaccagg tgtccctgac atgcctcgtg aagggctttt accctagcga catcgtgtg 1200

gagtgggagt ccaacggaca gcccgagaac aactacaaga caacaccccc tgtgtggac 1260

tccgacggct ccttcttctt gtacagcaag ctacccgtgg acaaatcccg gtggcagcag 1320

ggaaacgtgt tcagctgctc cgtgatgcat gaggccctgc acaaccatta caccagaaa 1380

tcctgtccc tgtcccccg caagtga 1407

<210> 61
<211> 1407
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba HC

<400> 61

atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgaggccag 60

ctggtcgaga gcggcggagg actggtccag cctggaggat ccctgaagct ctctgtgcc 120

gctagcggat ttaccttcag cacctacgt atgcattggg tgaggcaggc ttccggcaag 180

ggactggagt ggggtgggacg gattcggacc aagagctcca attacgccac ctattacgcc 240

gcttccgtga agggccggtt caccatctcc agggacgact ccaagaacac cgcttacctg 300

cagatgaact ccctcaagac cgaggacacc gccgtgtatt actgcacccg ggacatgggc 360

atccggaggc agttcgctta ttggggacag ggcacccctgg tgaccgtgag ctccgcctcc 420

accaagggcc ctccgtgtt ccctctggcc cctgttagca ggtccaccag cgagtccaca 480

gctgctctgg gctgtctggt gaaggattat tccccgagc ccgtgacagt gtcttggaat 540

agcggcgccc tgacctccgg cgtgcatacc ttccctgccg tcctgcaaag cagcggcctg 600

tacagcctgt cctccgtggt gacagtcctt tcctccagcc tgggaaccaa gacctacacc 660

tgcaatgtgg accacaagcc tagcaacacc aaggtggaca agagggtcga gccaagtcc 720

tgcgataaga cacacacctc ccctccttcc cctgctcctg agctgctcgg cggaagcagc 780

gtgttcctgt tccctcctaa gcctaaggac accctgatga tcagccggac ccctgaggtg 840

acctgtgtcg tggtggacgt gtcccacgaa gaccccgagg tgaaattcaa ctggtacgtg 900

gacggcgtcg aggtgcacaa cgctaagaca aaaccaggg aggagcagta caattccacc	960
taccgggtcg tgtccgtgct gaccgtgctg caccaggact ggctgaacgg caaagagtac	1020
aagtgttaagg tcagcaataa ggccctgcct gccccattg agaagaccat ttccaaggcc	1080
aagggccagc ccagggaacc tcaggtgtac accctgcctc cctcccggga cgagctgacc	1140
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctcgtg aagggtttct accctagcga catcgccgtg	1200
gagtgggagt ccaacggcca gcctgagaac aattacaaga ccaccccccc tgtcctggac	1260
tccgacggat ctttcttctt gtactccaag ctgacagtgg ataagtcccg gtggcagcag	1320
ggaaatgtgt tctcctgctc cgtcatgcac gaagccctgc ataaccacta cacacagaag	1380
agcctgtccc tgagccctgg caagtga	1407

<210> 62
<211> 708
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.3f LC

<400> 62	
atgagggtt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgatatcgtg	60
ctgaccacga gccccgatag cctggctgtg agcctgggcy agagagccac catcaactgc	120
agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttcc tccactggtg ccagcagaag	180
cctggccagc cccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgccc	240
gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttaccc tcaccatcag ctccctgcag	300
gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta cacctttggc	360
cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgccc cctccgtgtt catcttcct	420
cccagcgacg agcagctgaa gagcgaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc	480
taccccaggg aggccaaggt gcagtgaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc	540
caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcaccctg	600
accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag	660

ggactgagca gccccgtgac aaagagcttt aacaggggcy agtgctga 708

<210> 63
<211> 708
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1.1f LC

<400> 63
atgagggtt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgatatcgtg 60

ctgaccaga gccccgatag cctggctgtg agcctgggcy agagagccac catcaactgc 120

agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttcc tccactggtg ccagcagaag 180

cctggccagc cccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtggcc 240

gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttaccc tcaccatcag ctccctgcag 300

gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta cacctttggc 360

cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccggcc cctccgtgtt catcttcct 420

cccagcgacg agcagctgaa gagcgggaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 480

taccacaggg aggccaaggt gcagtggaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc 540

caggagagcy tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcacctg 600

acctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag 660

ggactgagca gccccgtgac aaagagcttt aacaggggcy agtgctga 708

<210> 64
<211> 708
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG1-Aba LC

<400> 64
atgagggtt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgatatcgtg 60

ctgaccaga gccccgatag cctggctgtg agcctgggcy agagagccac catcaactgc 120

agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttcc tccactggta ccagcagaag	180
cctggccagc cccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgtcc	240
gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttaccc tcaccatcag ctccctgcag	300
gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta cacctttggc	360
cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgccc cctccgtgtt catcttcct	420
cccagcgacg agcagctgaa gagcggaaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc	480
taccccaggg aggccaaggt gcagtggaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc	540
caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcacctg	600
acctgagca aggccgacta cgagaagcac aagggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag	660
ggactgagca gccccgtgac aaagagcttt aacaggggcg agtgctga	708

<210> 65
<211> 708
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba LC

<400> 65 atgagggctt ggatcttctt tctgctctgc ctggccgggc gcgccttggc cgatatcgtg	60
ctgaccaga gcccgatag cctggctgtg agcctgggcg agagagccac catcaactgc	120
agggcctccc agagcgtcga caccttcgac tacagcttcc tccactggta ccagcagaag	180
cctggccagc cccccaagct gctgatctac agggccagca acctggagag cggagtgtcc	240
gataggttca gcggcagcgg ctccggaacc gactttaccc tcaccatcag ctccctgcag	300
gccgaggatg tggccgtcta ctactgccag cagagcaacc aggacccta cacctttggc	360
cagggcacca agctggagat caagaggacc gtggccgccc cctccgtgtt catcttcct	420
cccagcgacg agcagctgaa gagcggaaacc gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc	480
taccccaggg aggccaaggt gcagtggaag gtcgacaacg ccctgcagag cggcaatagc	540
caggagagcg tgaccgaaca ggacagcaag gactccacct actccctgag cagcacctg	600

accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgtgaggt gaccaccag 660

ggactgagca gccccgtgac aaagagcttt aacaggggcg agtgctga 708

<210> 66
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - VH CDR1

<400> 66

Thr Tyr Ala Met His
1 5

<210> 67
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - VH CDR2

<400> 67

Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
1 5 10 15

Val Lys Asp

<210> 68
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - VH CDR3

<400> 68

Asp Met Gly Gln Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 69
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - VL CDR1

<400> 69

Arg Ala Ser Glu Ser Val Asp Thr Phe Asp Tyr Ser Phe Leu His
1 5 10 15

<210> 70
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - VL CDR2

<400> 70

Arg Ala Ser Asn Leu Glu Ser
1 5

<210> 71
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - VL CDR3

<400> 71

Gln Gln Ser Asn Glu Asp Pro Tyr Thr
1 5

<210> 72
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 AB - VH CDR3 (突變體)

<400> 72

Asp Gln Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 73

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318 AB - VH CDR3 (突變體)

<400> 73

Asp Leu Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr
1 5 10

<210> 74

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318 Ab - VH CDR1 (突變體)

<400> 74

Thr Tyr Ala Gln His
1 5

<210> 75

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318 Ab - VH CDR1 (突變體)

<400> 75

Thr Tyr Ala Leu His
1 5

<210> 76

<211> 451
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318 Ab - HC (IgG4)

<400> 76

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

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

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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

165170175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180185190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195200205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly
210215220

Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
225230235240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245250255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
260265270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275280285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290295300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305310315320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
325330335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340345350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355360365

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

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

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

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

Leu His Asn Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val
435 440 445

Ser Leu Gly
450

<210> 77
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> WT IgG1恆定區(異型變異體)

<400> 77

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	
65					70					75					80	
Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	
			85					90						95		
Arg	Val	Glu	Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	
			100					105					110			
Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
		115					120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
	130					135					140					
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
145					150					155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
			165						170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
		195					200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
		210				215						220				
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	
225					230					235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
			245						250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	

260265270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275280285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290295300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305310315320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325330

<210> 78
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.1f HC恆定區

<400> 78

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
151015

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
202530

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
354045

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
505560

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65707580

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

859095

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100105110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115120125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130135140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145150155160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165170175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180185190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195200205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210215220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225230235240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245250255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260265270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275280285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 79
<211> 330
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> IgG1.3f HC恆定區

<400> 79

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Glu	Gly	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	
		115					120					125				
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	
	130					135					140					
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	
145					150					155					160	
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	
				165					170					175		
Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	
			180					185					190			
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	
		195					200					205				
Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	
	210					215					220					
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	
225					230					235					240	
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	
				245					250					255		
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	
			260					265					270			
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	
		275					280					285				
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	
	290					295					300					
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	

305310315320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325330

<210> 80
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 連接子

<400> 80

Pro Val Gly Val Val
15

<210> 81
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 318 Ab - 突變體

<400> 81

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
151015

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
202530

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
354045

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
505560

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65707580

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Gln Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 82
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 319 Ab - 突變體

<400> 82

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 83
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 320 Ab - 突變體

<400> 83

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 84
<211> 121
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 321 Ab - 突變體

<400> 84

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

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

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

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
50 55 60

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

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 85

<211> 450

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 0318-IgG1.3f HC Kdel

<400> 85

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1				5					10					15		
Ser	Leu	Lys	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr	
			20					25					30			
Ala	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Ser	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	
	35						40					45				
Gly	Arg	Ile	Arg	Thr	Lys	Ser	Ser	Asn	Tyr	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Ala	
50						55					60					
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asp	Ser	Lys	Asn	Thr	
65					70					75					80	
Ala	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	
			85						90					95		
Tyr	Cys	Thr	Arg	Asp	Met	Gly	Ile	Arg	Arg	Gln	Phe	Ala	Tyr	Trp	Gly	
			100					105					110			
Gln	Gly	Thr	Leu	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	Ala	Glu	Gly
225					230					235					240
Ala	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

405410415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420425430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435440445

Pro Gly
450

<210> 86
<211> 450
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 0318-IgG4-Aba HC Kdel

<400> 86

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
151015

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr
202530

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
354045

Gly Arg Ile Arg Thr Lys Ser Ser Asn Tyr Ala Thr Tyr Tyr Ala Ala
505560

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Thr
65707580

Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
859095

Tyr Cys Thr Arg Asp Met Gly Ile Arg Arg Gln Phe Ala Tyr Trp Gly

100					105					110						
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	
115					120					125						
Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	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	Lys	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	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	Ser	Pro	Pro	Ser	Pro	Ala	Pro	Glu	Leu	Leu	Gly	
225					230					235					240	
Gly	Ser	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 Asp Glu Leu 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
450

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種特異性結合至TREM-1之經分離之抗體，其包含重鏈CDR1、CDR2、CDR3；輕鏈CDR1、CDR2、CDR3；及IgG1重鏈恆定區，

其中該重鏈CDR1、CDR2及CDR3分別為TYAMH (SEQ ID NO: 24)、RIRTKSSNYATYYAASVKG (SEQ ID NO: 25)及DMGIRRQFAY (SEQ ID NO: 26)；

其中該輕鏈CDR1、CDR2及CDR3分別為RASQSVDTFDYSFLH (SEQ ID NO: 27)、RASNLES (SEQ ID NO: 28)及QQSNQDPYT (SEQ ID NO: 29)；

其中該IgG1重鏈恆定區包含根據EU編號之以下胺基酸取代：S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S；且該IgG1重鏈恆定區視情況缺少一或多個C端胺基酸殘基。

【請求項2】

如請求項1之抗體，其包含重鏈可變區(VH)及輕鏈可變區(VL)，其中該VH包含SEQ ID NO: 14且該VL包含SEQ ID NO: 15。

【請求項3】

如請求項1之抗體，其包含重鏈，其中該重鏈缺少C端離胺酸殘基。

【請求項4】

如請求項1之抗體，其包含重鏈，其中該重鏈C端離胺酸殘基存在。

【請求項5】

如請求項1或2之抗體，其中該IgG1重鏈恆定區具有11個胺基酸取

代，其中該胺基酸取代根據EU編號為：S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S。

【請求項6】

如請求項1或2之抗體，其中該IgG1重鏈恆定區具有11個胺基酸取代，其中該胺基酸取代根據EU編號為：S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S，且該IgG1重鏈恆定區的C端離胺酸殘基存在。

【請求項7】

如請求項1或2之抗體，其中該IgG1重鏈恆定區具有11個胺基酸取代，其中該胺基酸取代根據EU編號為：S131C、K133R、G137E、G138S、Q196K、I199T、N203D、K214R、C226S、C229S及P238S，且其中該重鏈缺乏C端離胺酸殘基。

【請求項8】

如請求項1之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈包含SEQ ID NO: 53，且其中該輕鏈包含SEQ ID NO: 54。

【請求項9】

如請求項1之抗體，其包含重鏈及輕鏈，其中該重鏈包含SEQ ID NO: 86，且其中該輕鏈包含SEQ ID NO: 54。

【請求項10】

一種包含如請求項1至9中任一項之抗體之一或多個結合臂的雙特異性分子，其連接至具有第二結合特異性之第二結合臂。

【請求項11】

一種免疫結合物，其包含連接至藥劑之如請求項1至9中任一項之抗

體。

【請求項12】

一種組合物，其包含如請求項1至9中任一項之抗體及載體。

【請求項13】

一種套組，其包含如請求項1至9中任一項之抗體及使用說明書。

【請求項14】

一種重鏈，其包含SEQ ID NO: 53或SEQ ID NO: 86。

【請求項15】

如請求項14之重鏈，其包含SEQ ID NO: 53。

【請求項16】

如請求項14之重鏈，其包含SEQ ID NO: 86。

【請求項17】

一種如請求項1至9中任一項之抗體之用途，其係用於製備在有需要之人類個體中抑制TREM-1活性之醫藥品。

【請求項18】

一種如請求項1至9中任一項之抗體之用途，其係用於製備在有需要之人類個體中治療發炎性疾病或自體免疫疾病之醫藥品。

【請求項19】

如請求項18之用途，其中該發炎性疾病或該自體免疫疾病係選自由以下組成之群：發炎性腸病(IBD)、克羅恩氏病(Crohn's disease；CD)、潰瘍性結腸炎(UC)、大腸急躁症、類風濕性關節炎(RA)、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、狼瘡性腎炎、血管炎、敗血症、全身性發炎反應症候群(SIRS)、I型糖尿病、格雷氏病(Grave's disease)、多

發性硬化症(MS)、自體免疫心肌炎、川崎病(Kawasaki disease)、冠狀動脈疾病、慢性阻塞性肺病、間質性肺病、自體免疫甲狀腺炎、硬皮病、全身性硬化症、骨關節炎、異位性皮膚炎、白斑病、移植物抗宿主病、休格倫氏症候群(Sjogrens's syndrome)、自體免疫腎炎、古巴士德氏症候群(Goodpasture's syndrome)、慢性發炎脫髓鞘型多發性神經病變、過敏、哮喘、由急性或慢性發炎引起之其他自體免疫疾病及其任何組合。

【請求項20】

如請求項19之用途，其中該發炎性疾病或該自體免疫疾病係克羅恩氏病。

【請求項21】

如請求項19之用途，其中該發炎性疾病或該自體免疫疾病係潰瘍性結腸炎。

【發明圖式】

變異體	分析物	Kon (1/Ms)	koff (1/Ms)	KD (nM)
IgG1.3f	hu-TREM1	1.4E+06	1.3E-03	0.91
IgG1.3f	cy-TREM1	4.0E+05	1.4E-03	3.4

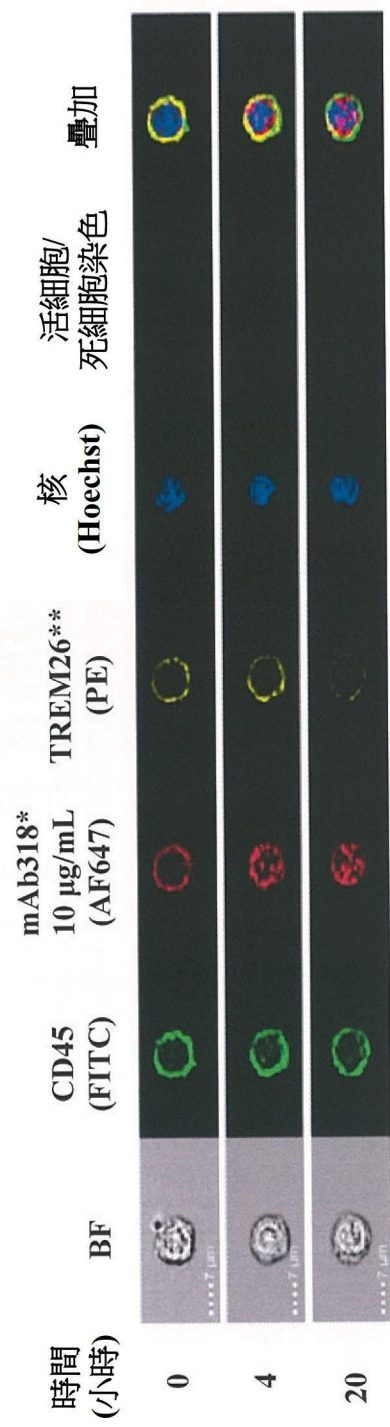
【圖1A】

變異體	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	Rmax (RU)	Chi ² (RU ²)
IgG4 A	1.42E+06	1.43E-03	1.01E-09	333	0.234
IgG4 B	1.46E+06	1.43E-03	9.8E-10	334	0.228
IgG1.1f	1.64E+06	1.42E-03	8.66E-10	400	0.301
IgG1.3f	1.65E+06	1.40E-03	8.50E-10	373	0.282
IgG4-Aba CT (mod)	1.70E+06	1.51E-03	8.89E-10	374	0.25
IgG1-Aba CT (mod)	1.62E+06	1.45E-03	8.99E-10	342	0.255
IgG1.1f (M至Q突變體)	1.66E+06	1.88E-03	1.13E-09	347	0.277
IgG4 (M至Q突變體)	1.46E+06	1.85E-03	1.26E-09	376	0.262
IgG4 (M至L突變體)	1.29E+06	3.56E-03	2.75E-09	340	0.348

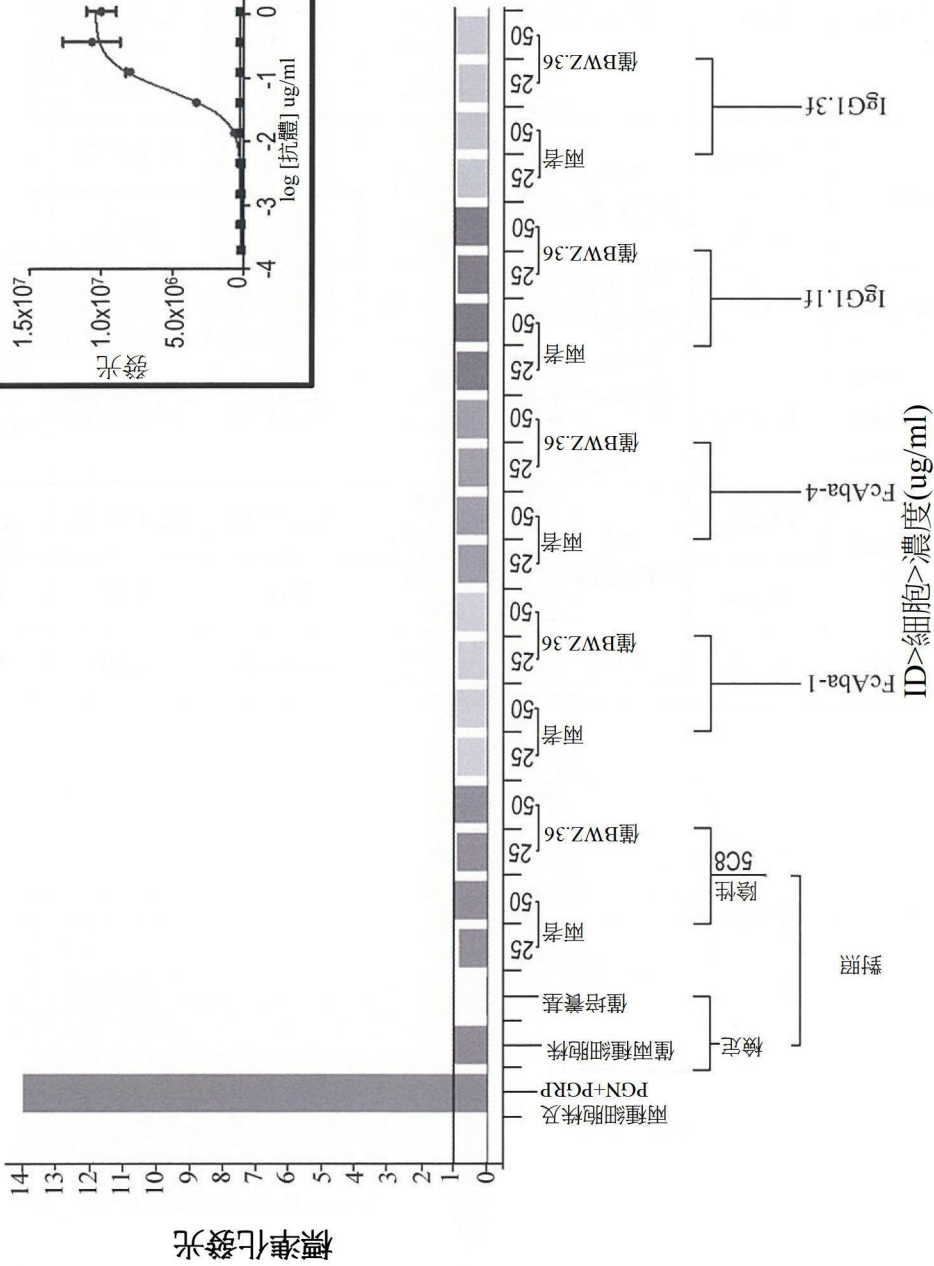
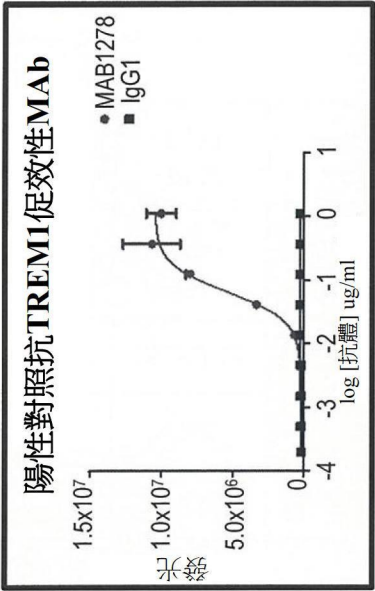
【圖1B】



【圖2A】



【圖2B】



【圖3】

細胞類型	檢定	刺激物	mAb 0318- IgG4 IC50 (pM)	mAb 0318- IgG1.3f IC50 (pM)	mAb 0318- IgG1.1f IC50 (pM)	mAb 0318- IgG1- Aba IC50 (pM)	mAb 0318- IgG4- Aba IC50 (pM)
PBMC	TNF- α	PGRP + PGN-Ecndss	42 (N=3)	25 (N=12)	14 (N=9)	20 (N=3)	19 (N=3)
	IL-6		N/D	32.26 (N=2)	N/D	N/D	N/D
單核球	TNF- α	PGRP + PGN-Ecndss	4 (N=3)	11 (N=9)	9 (N=12)	12.5 (N=3)	15.5 (N=3)
內源性配位 體Stim單核 球	TNF- α	PMA-Stim嗜 中性白血球 內源性PGRP	44 (N=3)	22 (N=6)	19 (N=6)	26 (N=6)	17 (N=6)
RBC沈降 之全血	TNF- α	PGRP + PGN-Ecndss	55 (N=6)	96 (N=6)	63 (N=9)	58 (N=3)	94 (N=3)
	IL-6		68.4 (N=6)	N/D	N/D	N/D	N/D
嗜中性 白血球	IL-8	PGRP + PGN-Ecndss	37.5 (N=3)	9 (N=3)	N/D	N/D	N/D

【圖4】

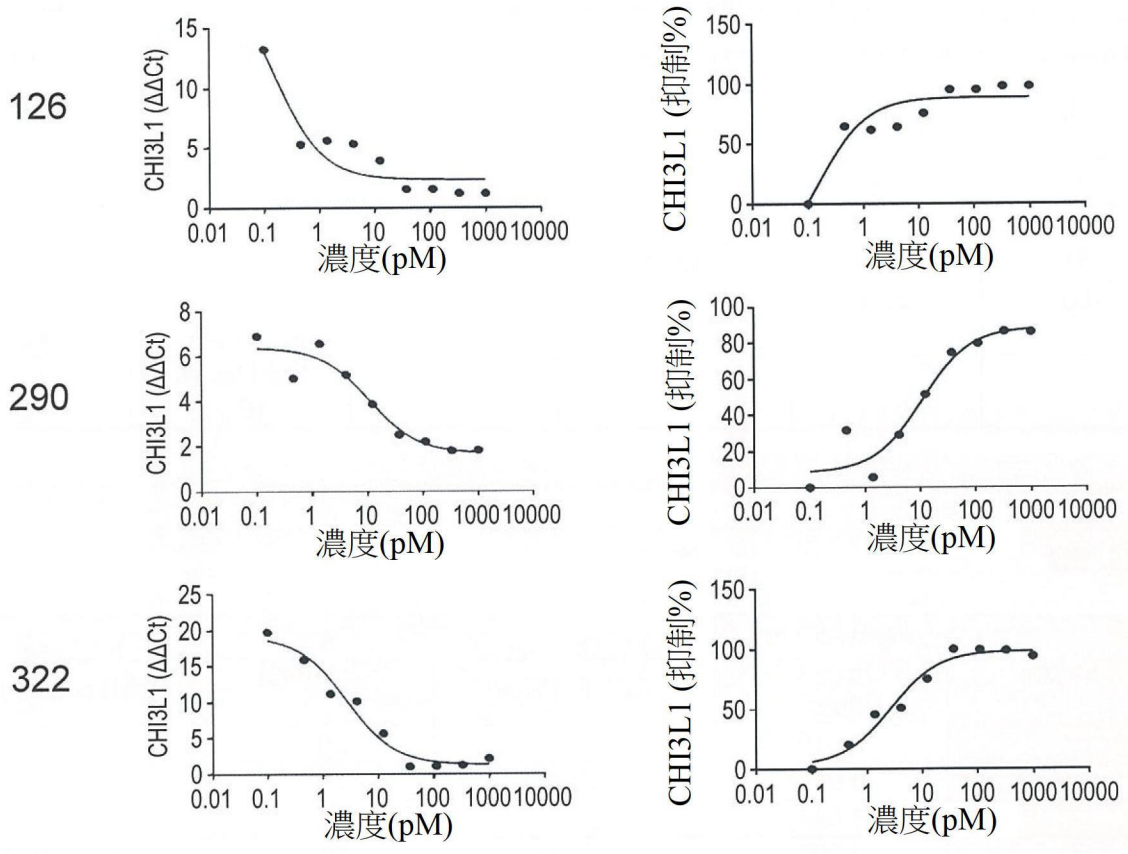
供體	IL-8細胞介素表現(pg/mL)			mAb 0318-IgG1.3抑制	
	僅PGN	PGRP/PGN	變化倍數	最大抑制(%)	IC ₅₀ (pM)
298	518	4886	9	81	11
294	391	2319	6	81	14
322	425	1420	3	82	11
344	393	1188	3	61	12
351	388	1318	3	92	9
356	276	1377	5	62	12
				平均IC ₅₀	12
				IC ₅₀ 之標準差	2

【圖5A】

供體	IL-8陽性細胞% (僅PGN)	IL-8 +細胞% (PGRP+PGN)	IC ₅₀ (pM)	IC ₅₀ pM (平均值±SD)
A	0.019	19.2	20.5	19.6±0.012
B	0.057	12.4	27.5	
C	0.043	21.1	36.0	
D	0.097	03.90	ND*	
E	0.025	29.25	5.2	
F	0.046	19.25	8.7	
G	0.021	04.04	ND*	

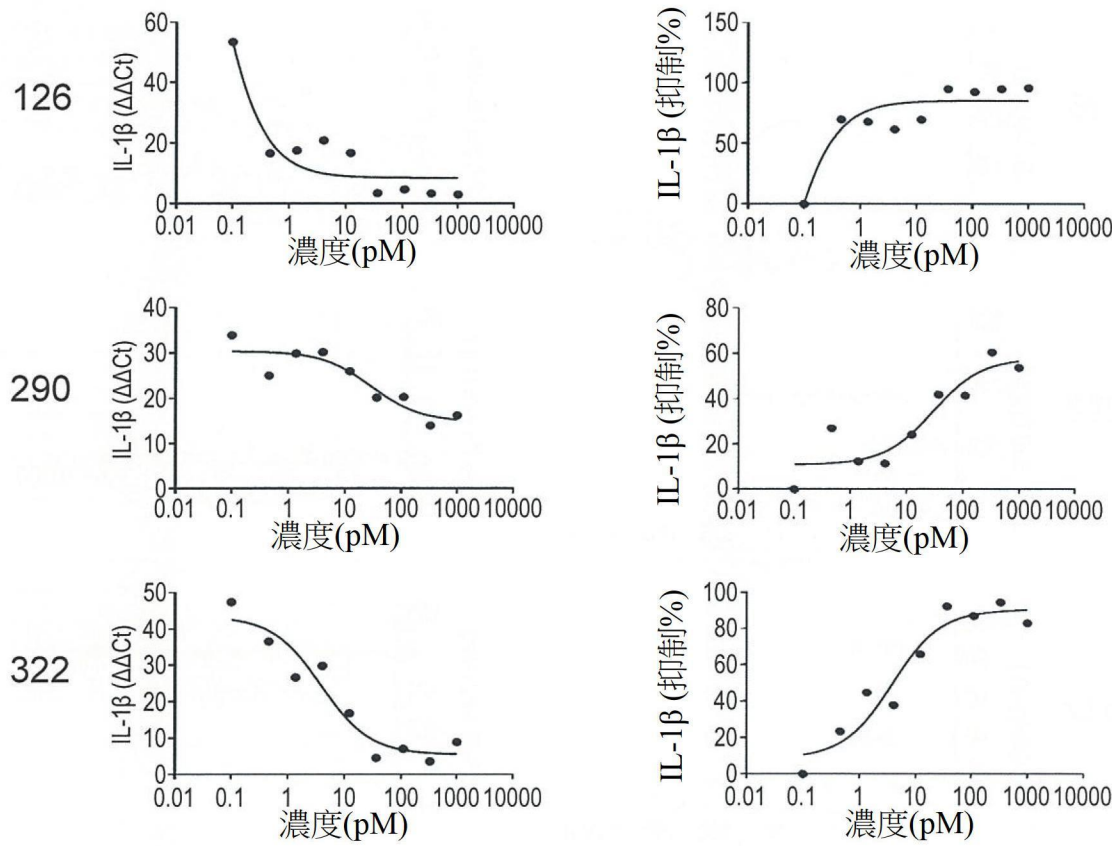
【圖5B】

供體編號



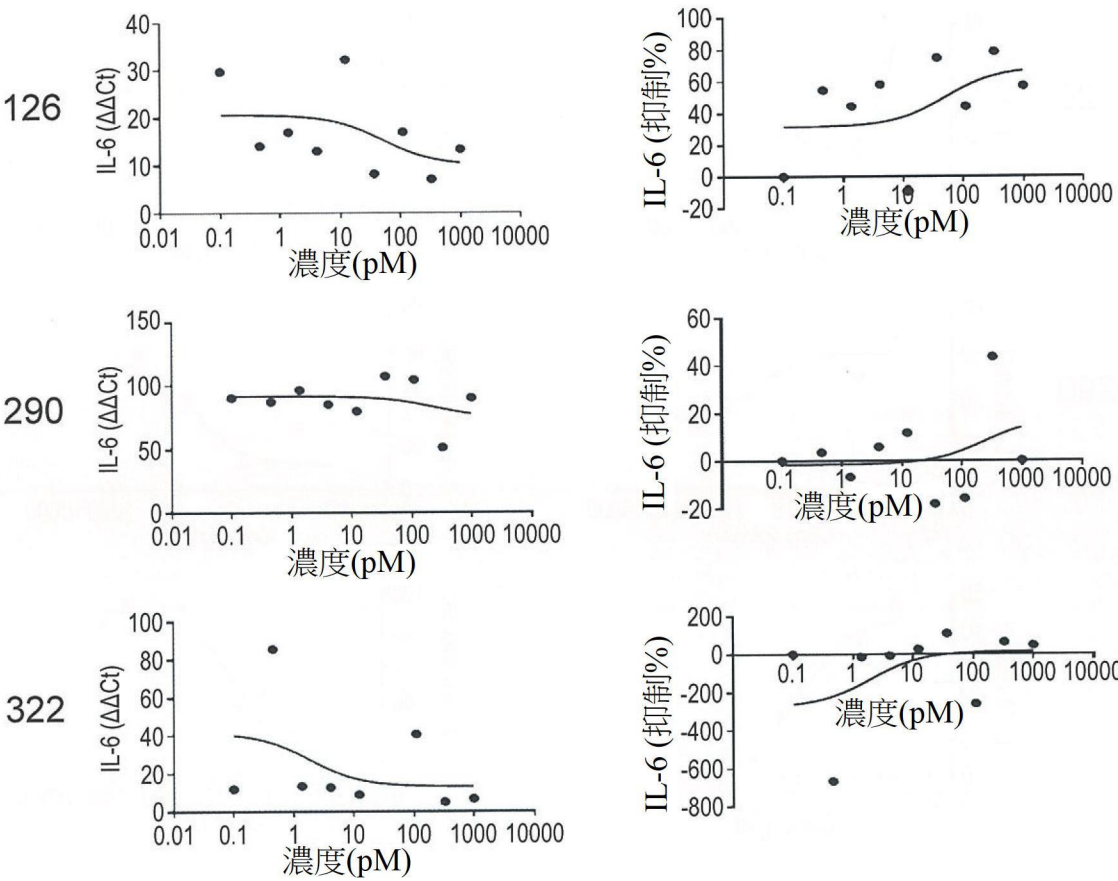
【圖6A】

供體編號

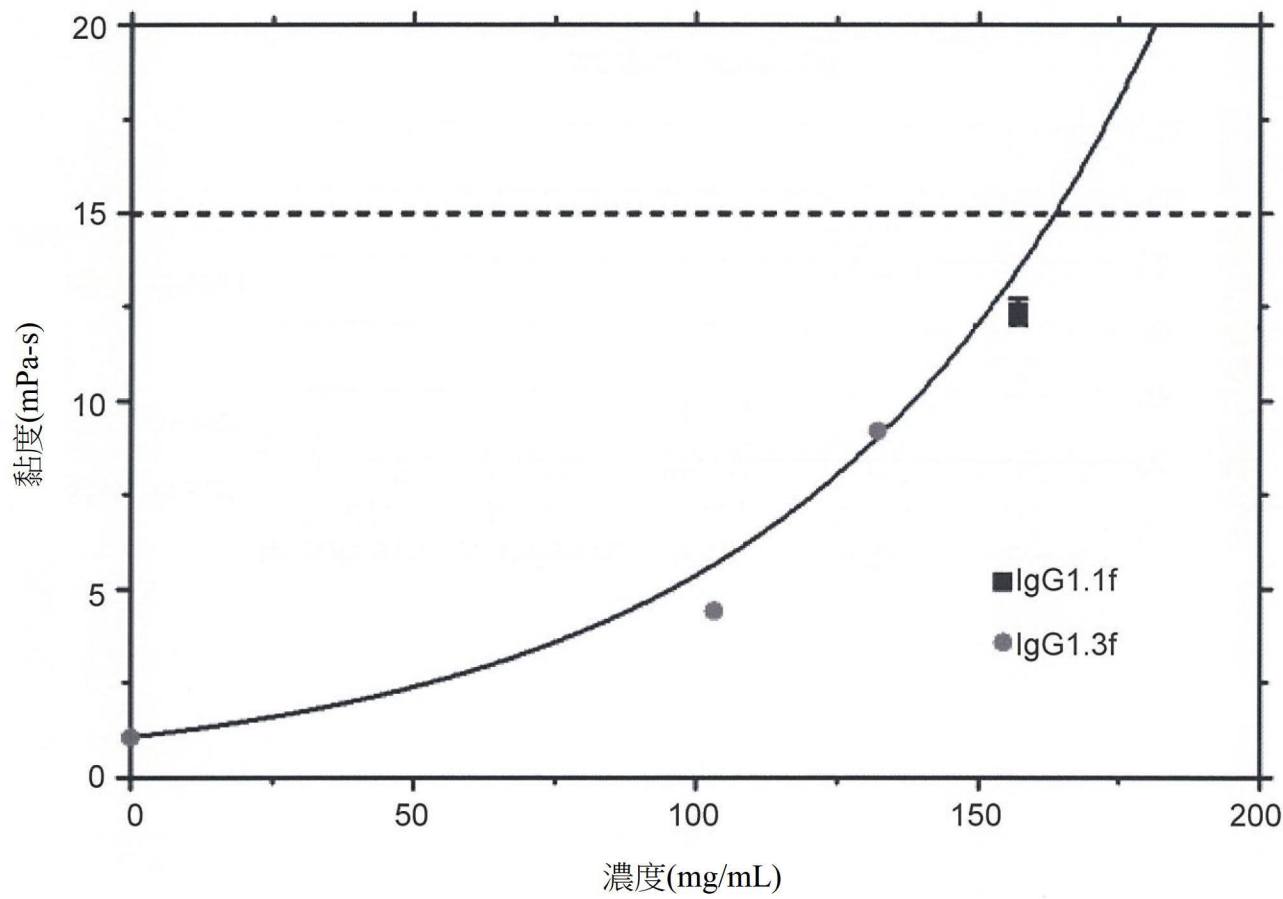


【圖6B】

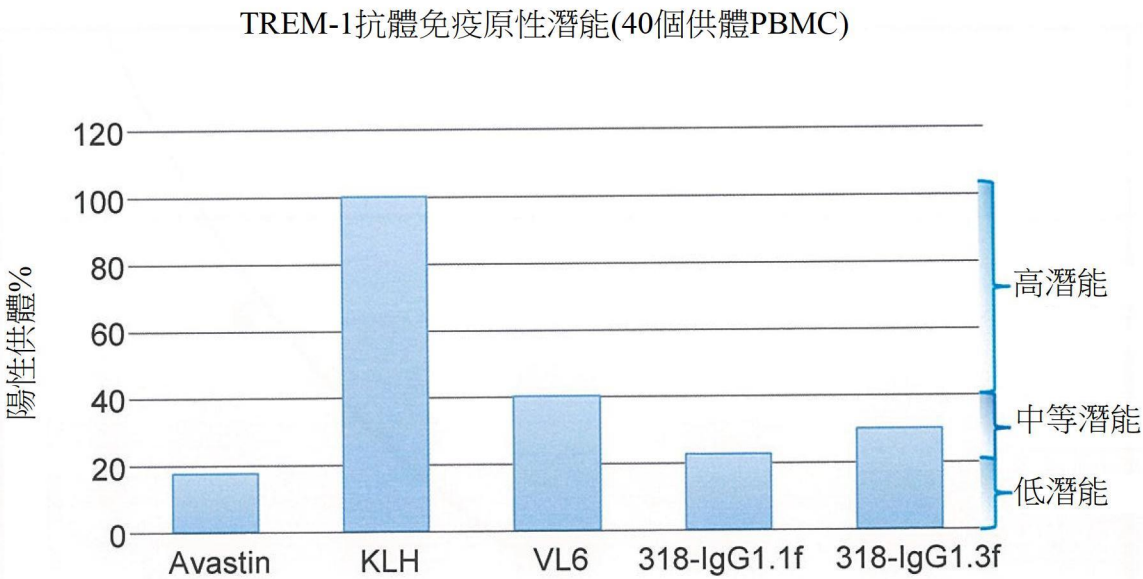
供體編號



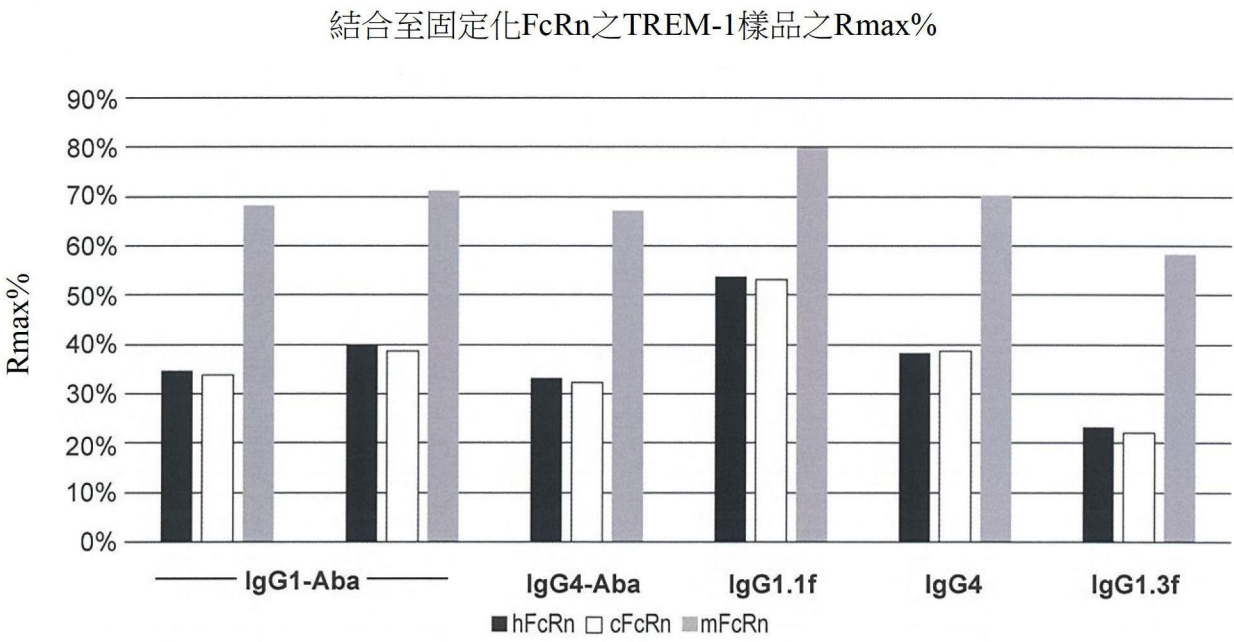
【圖6C】



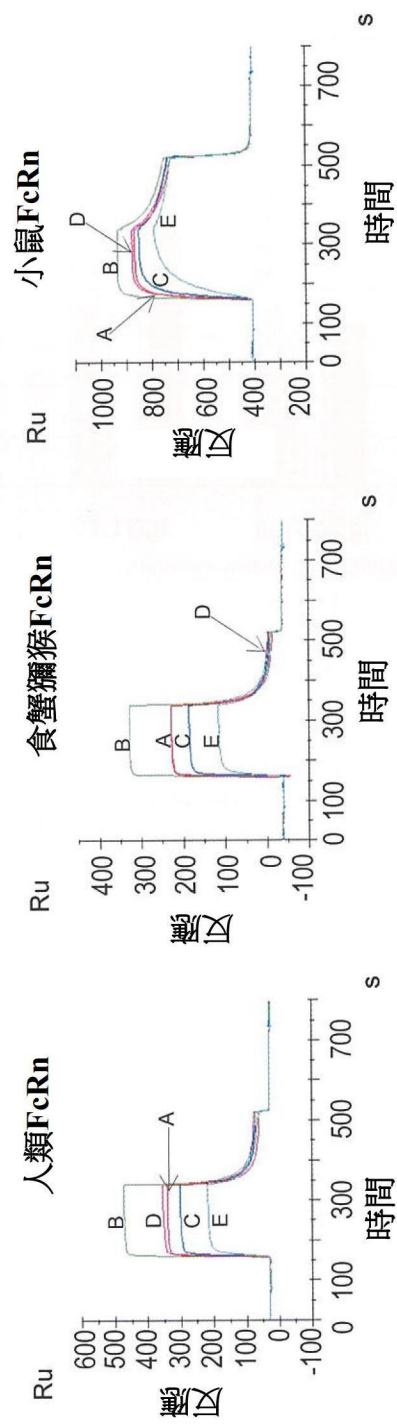
【圖7】



【圖8】

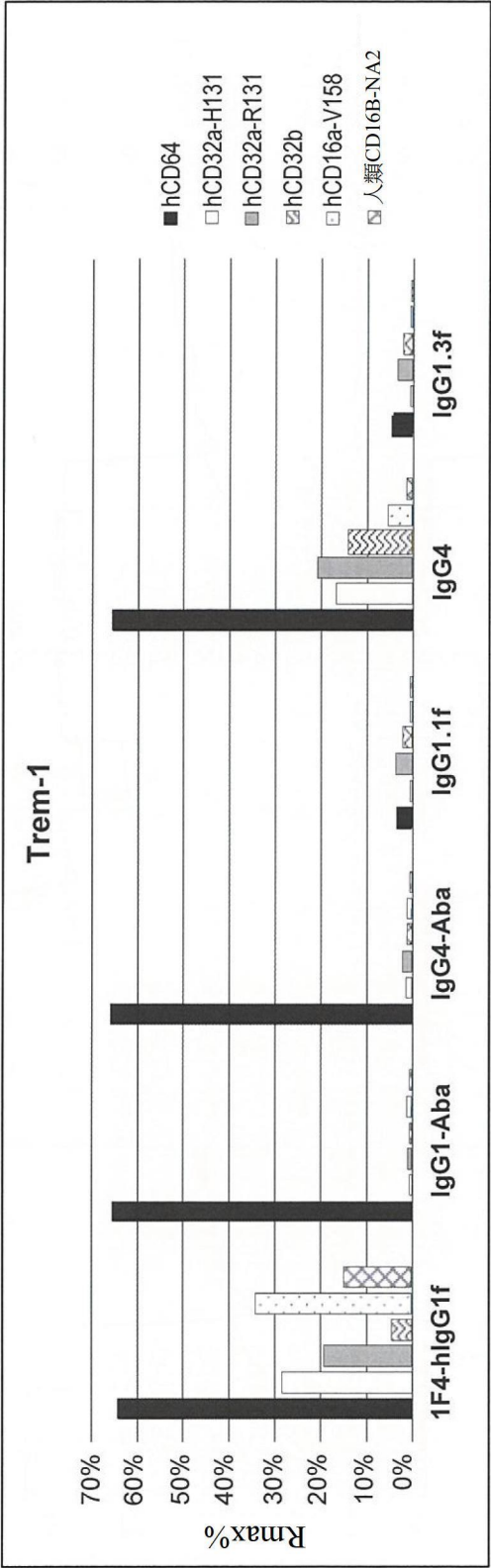


【圖9A】

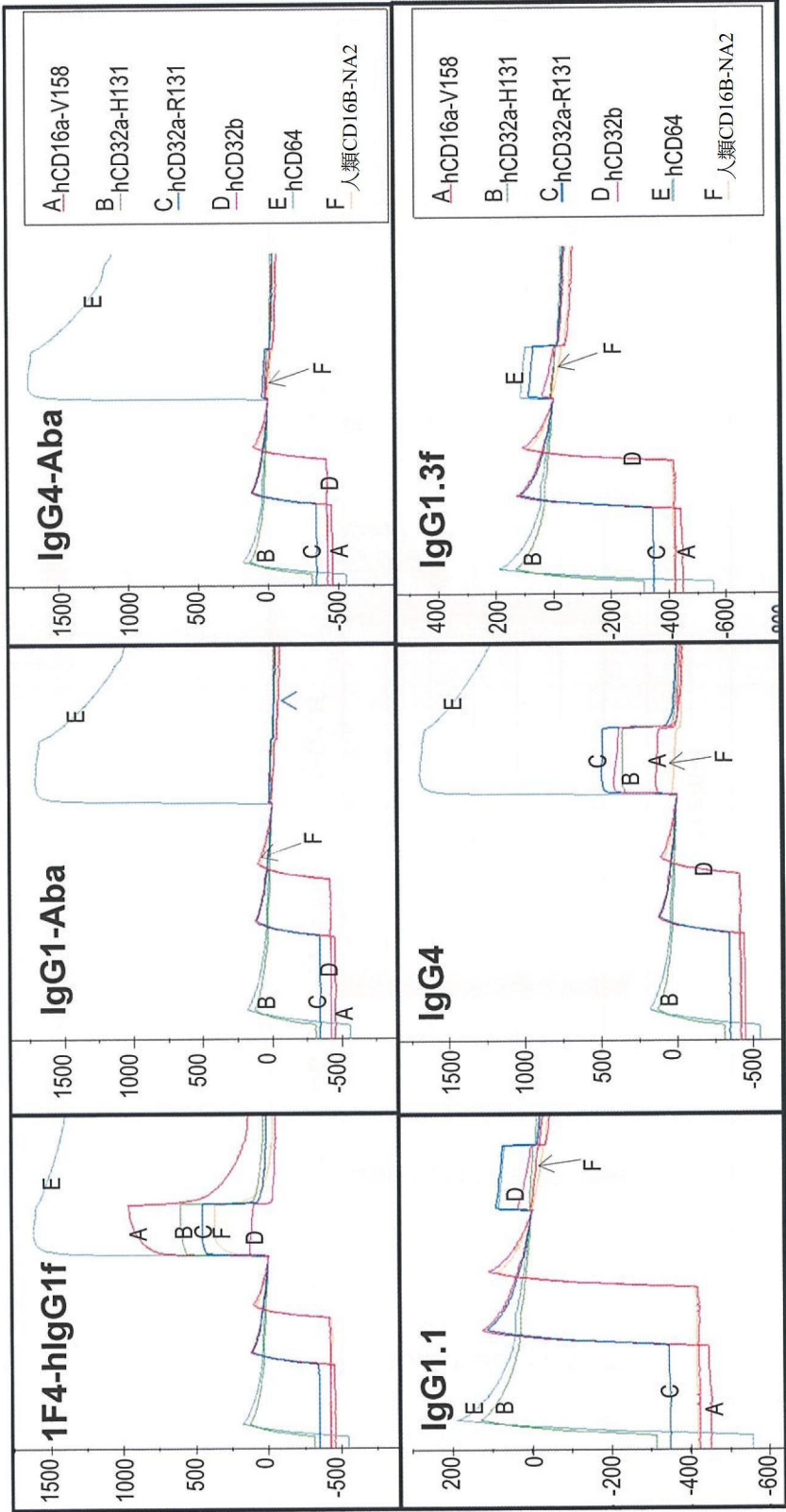


A	IgG4
B	IgG1.1f
C	IgG4-Aba
D	IgG1-Aba
E	IgG1.3f

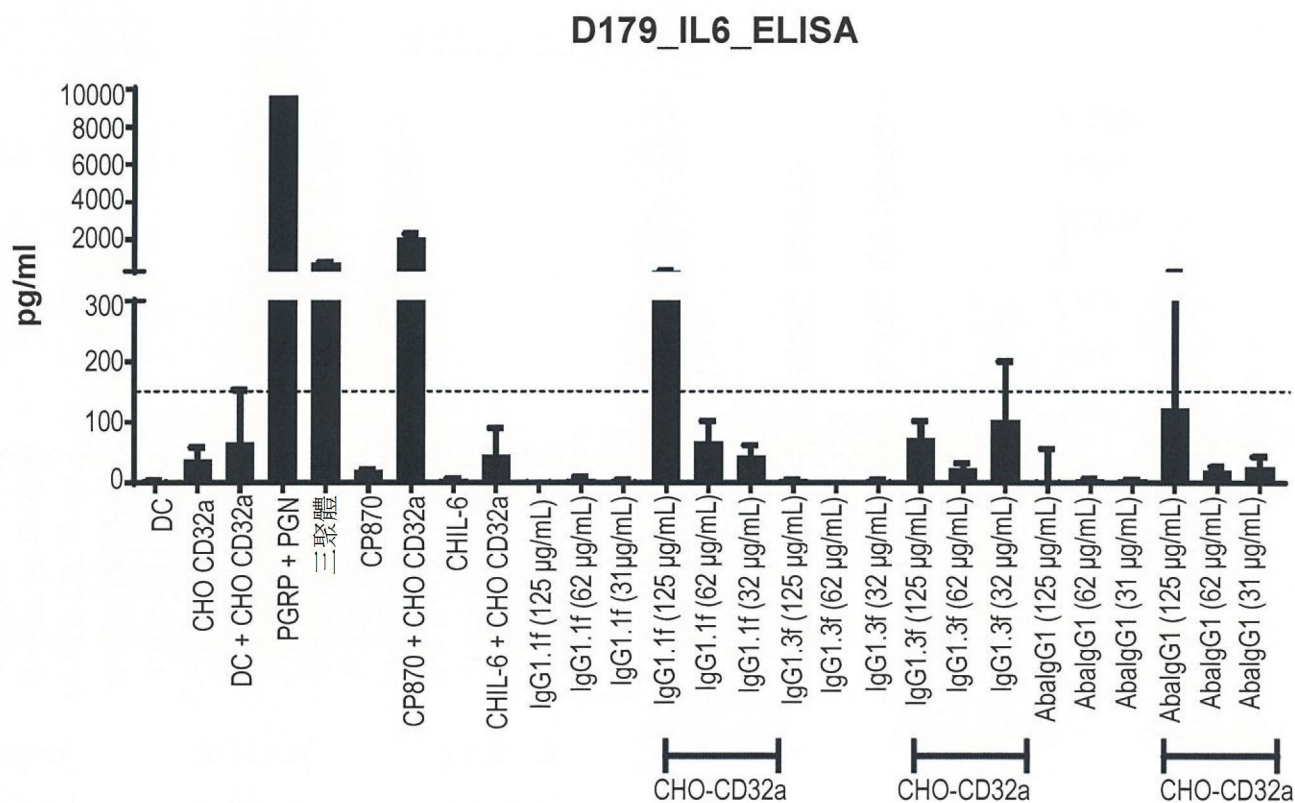
【圖9B】



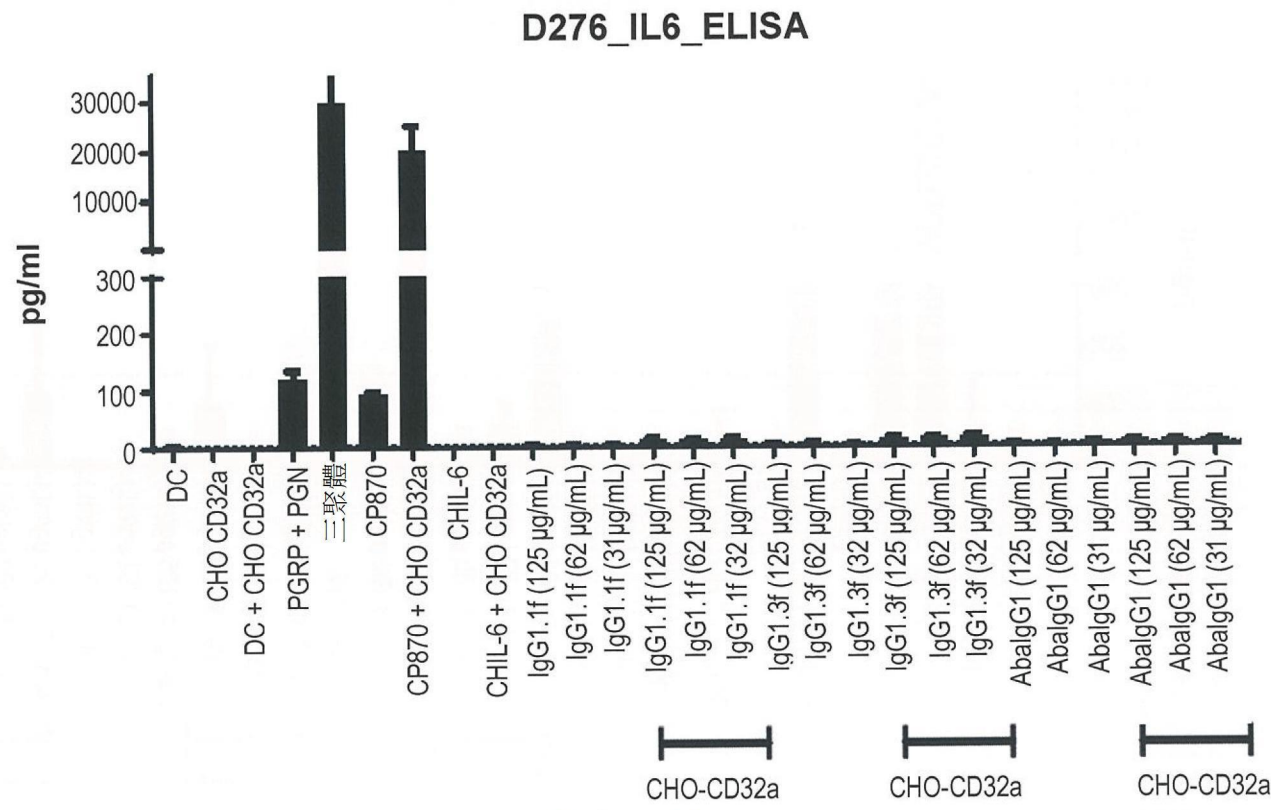
【圖10A】



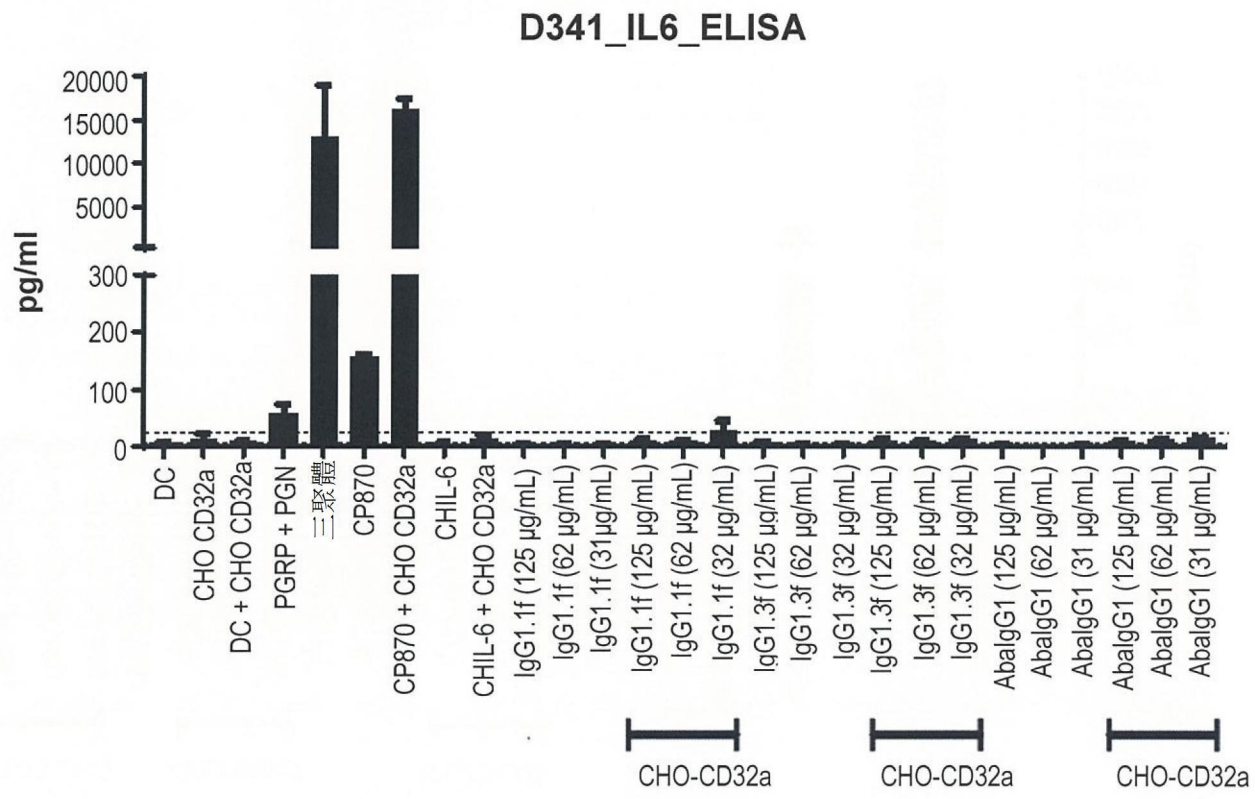
【圖10B】



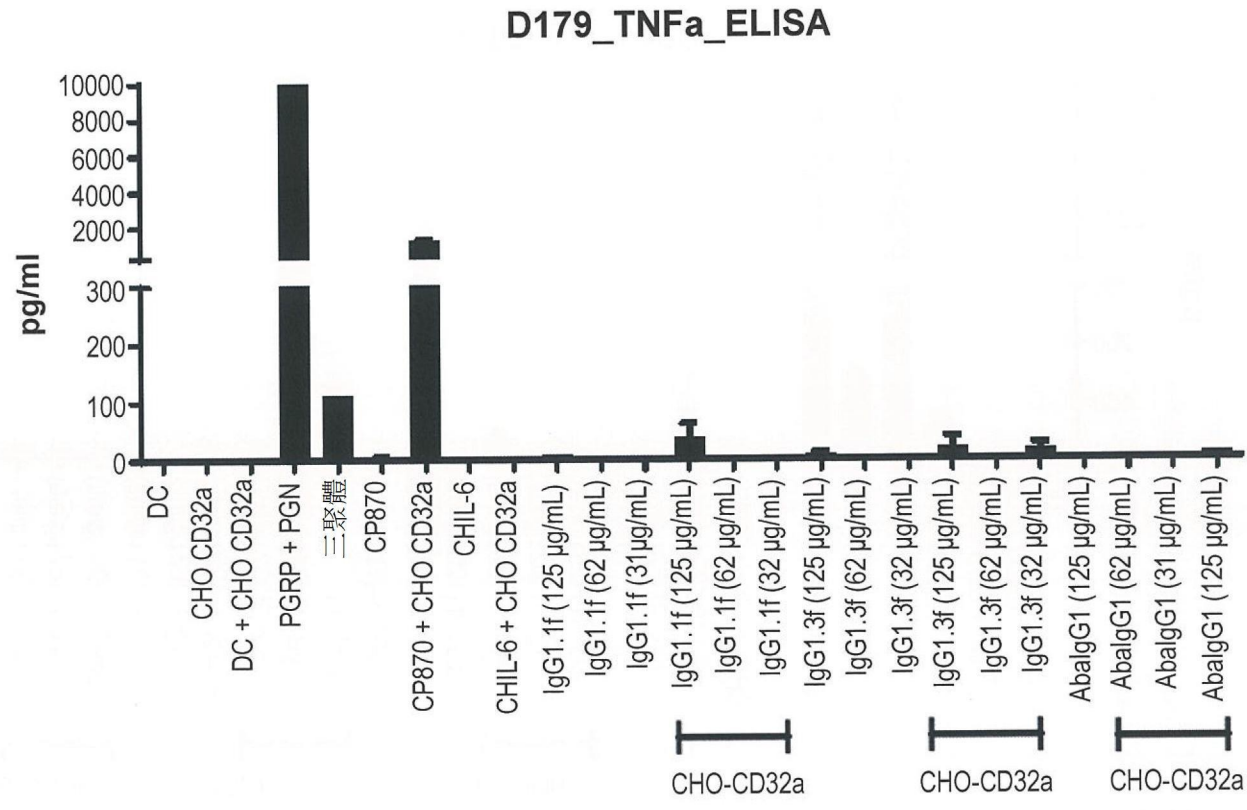
【圖11A】



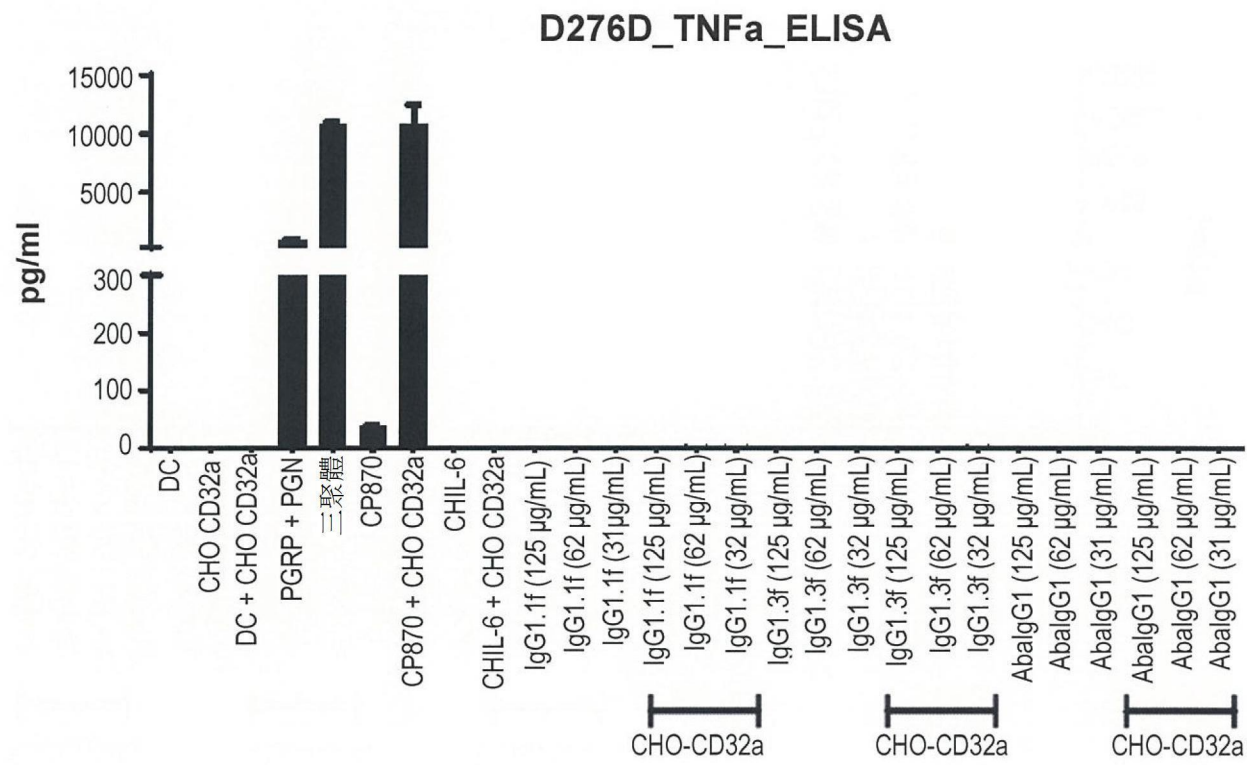
【圖11B】



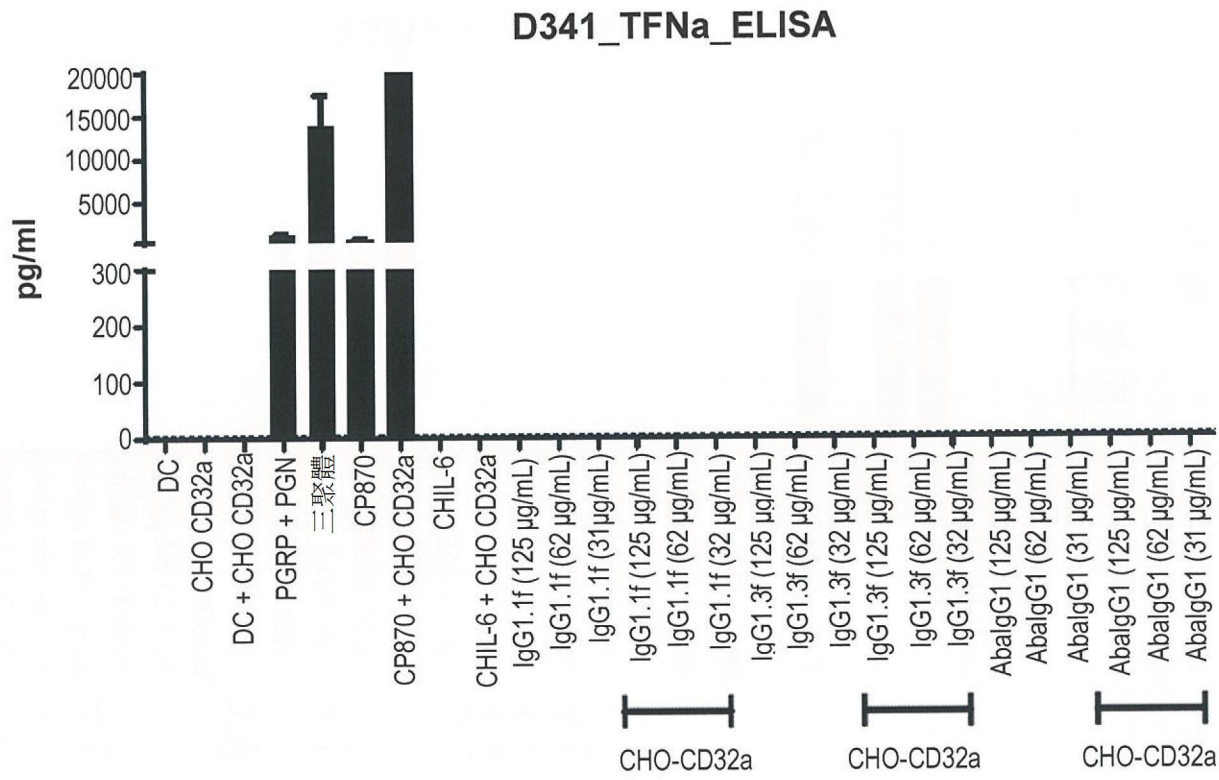
【圖11C】



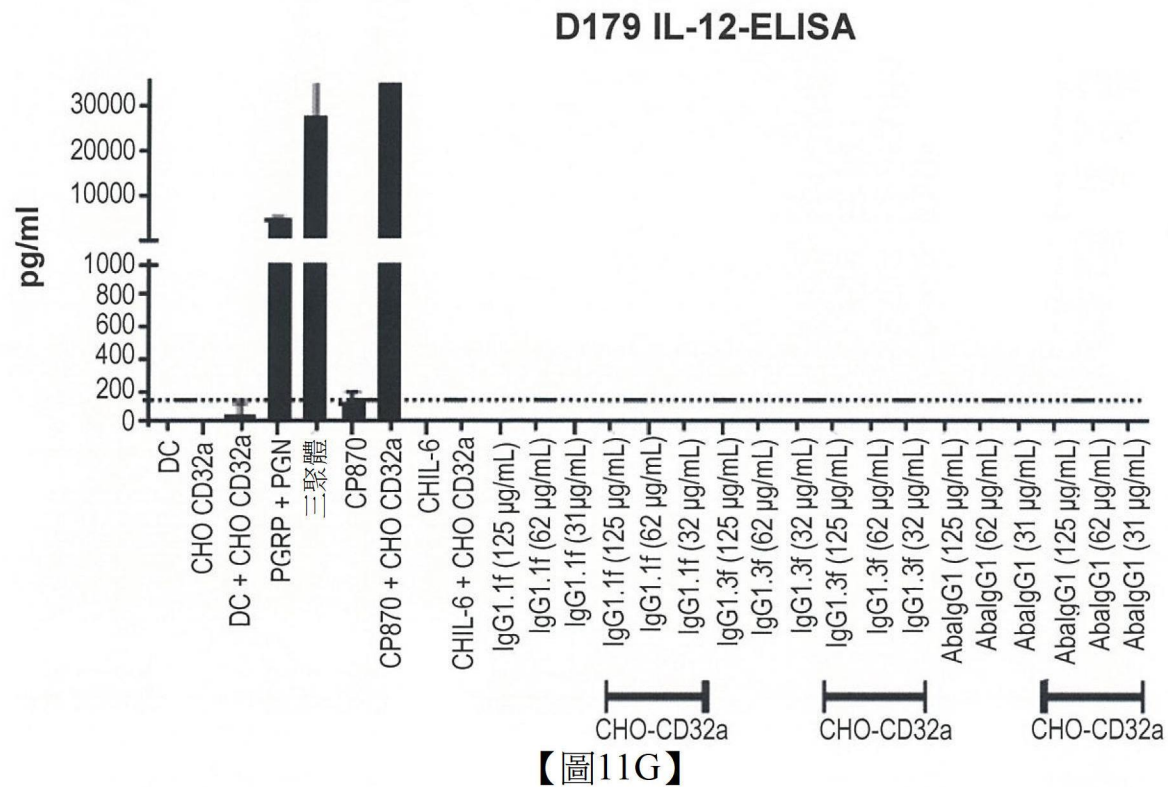
【圖11D】

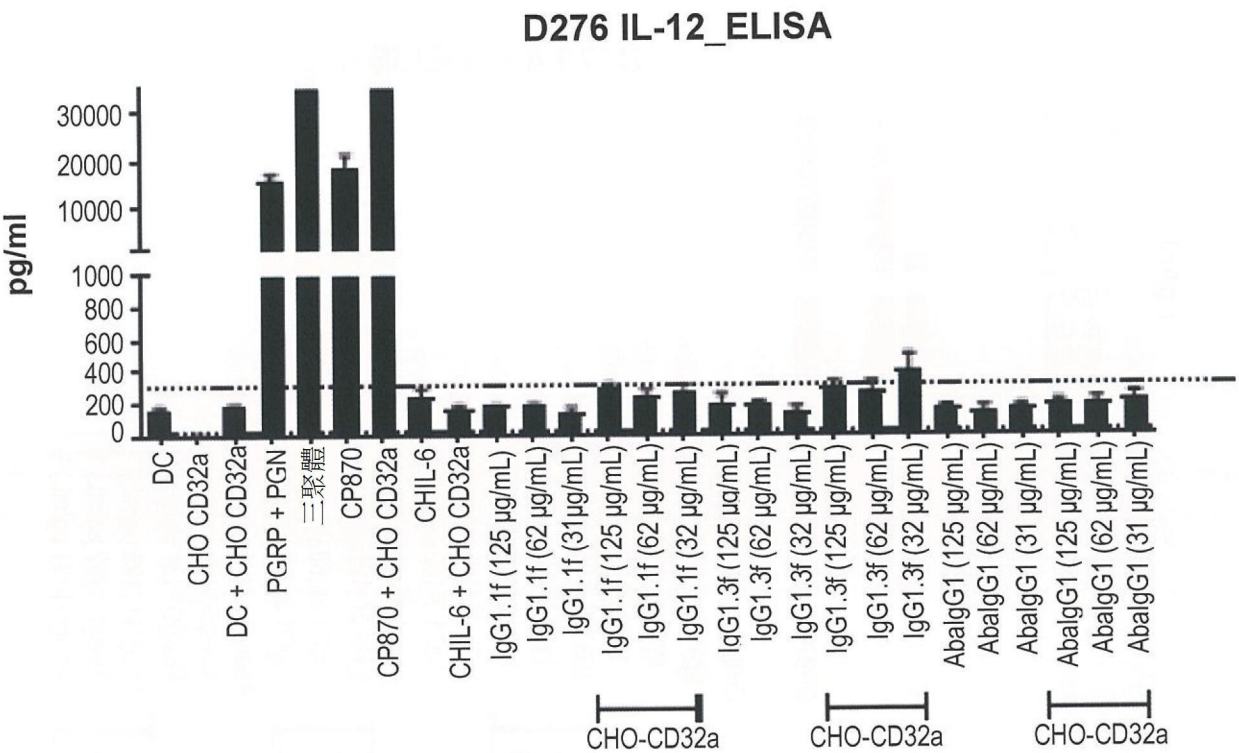


【圖11E】

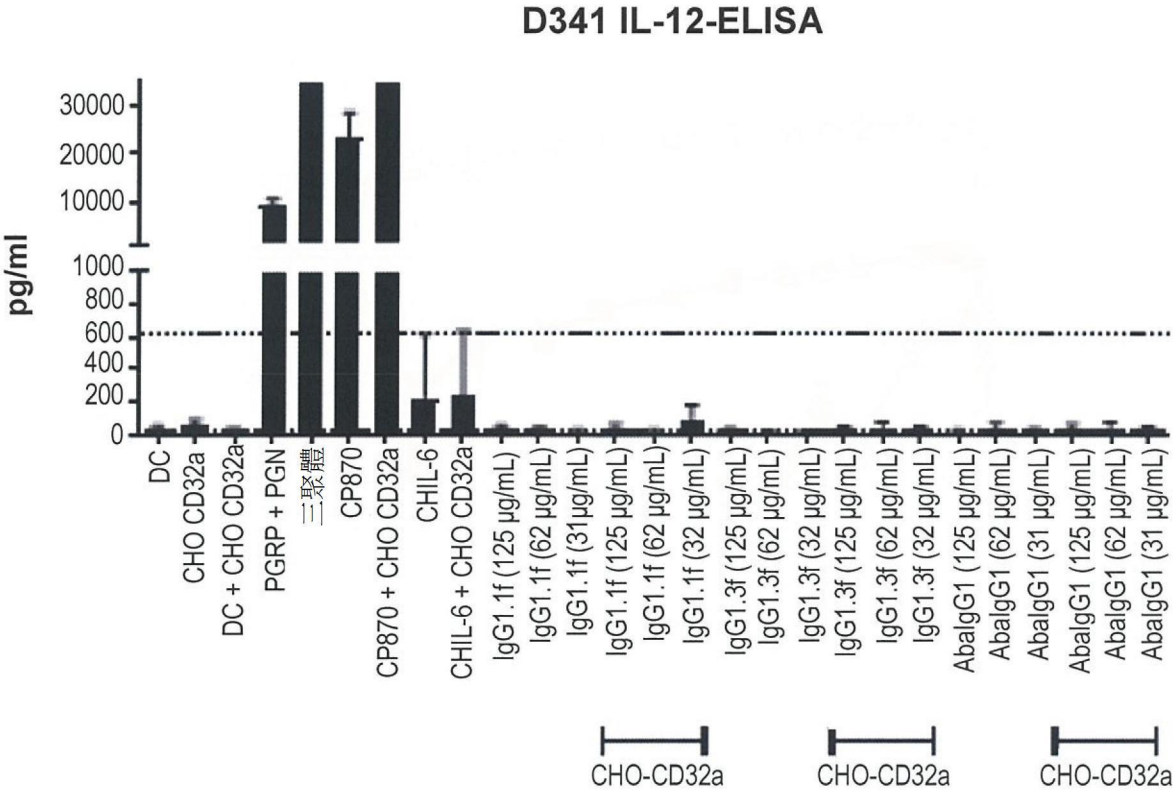


【圖11F】

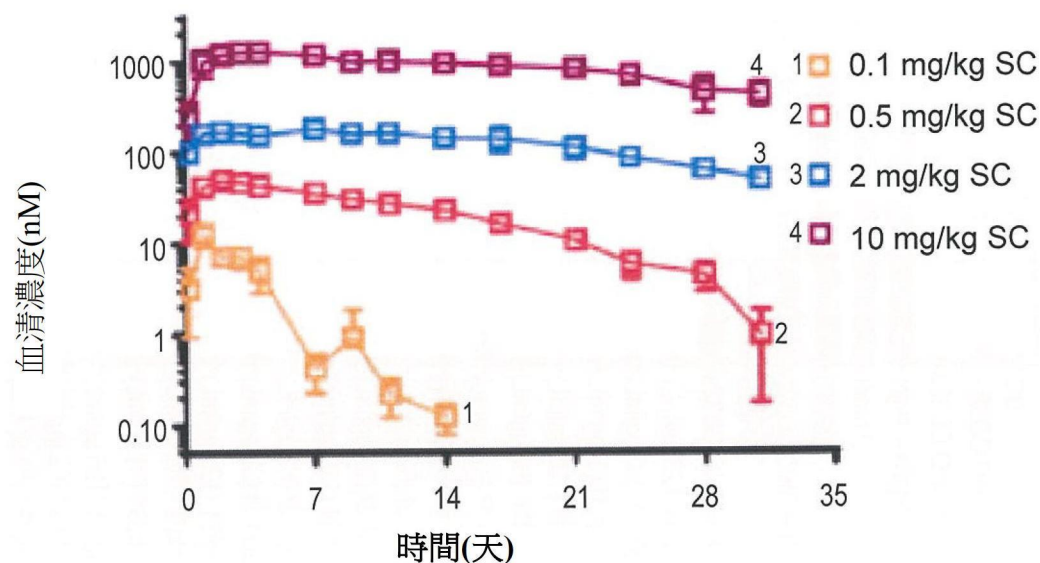




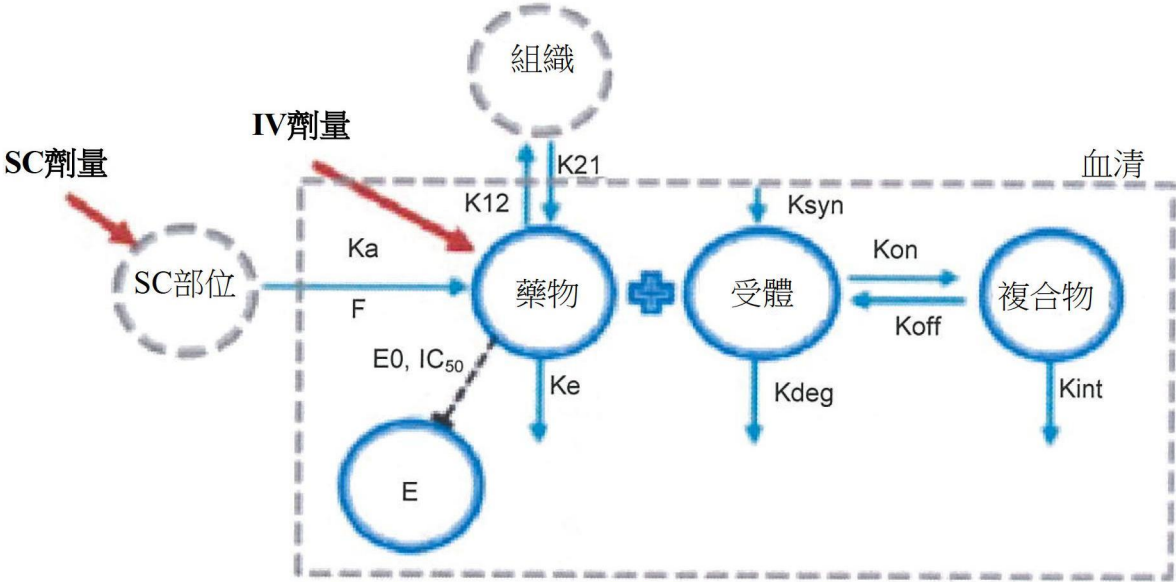
【圖 11H】



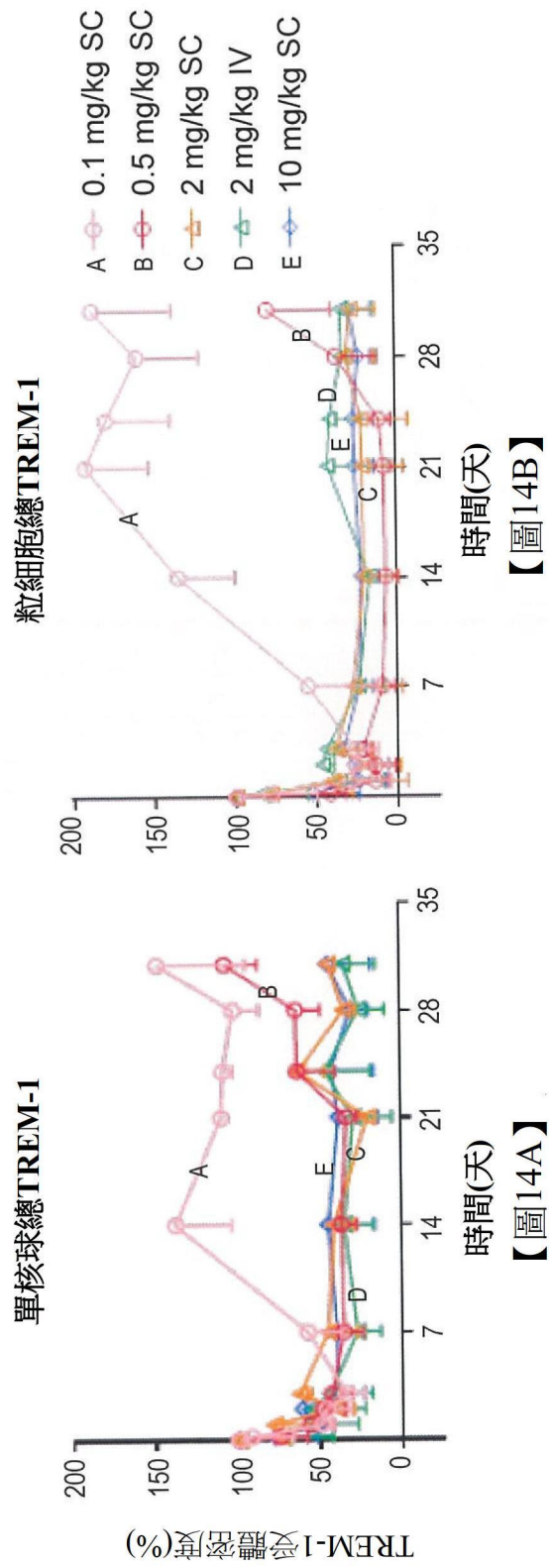
【圖11I】

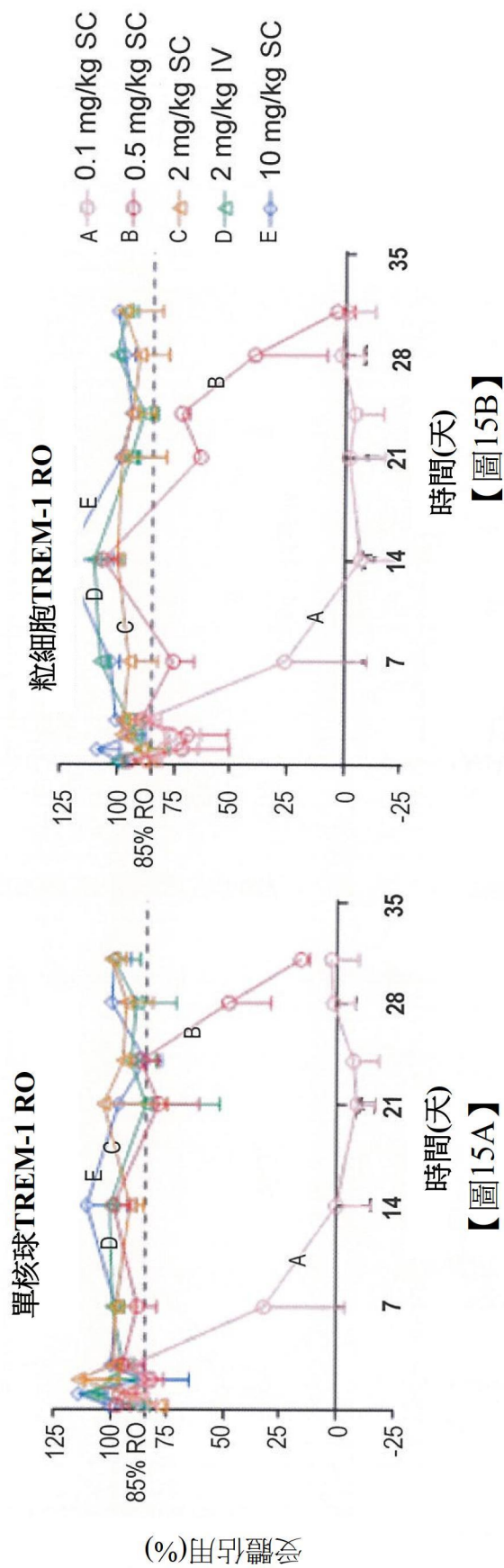


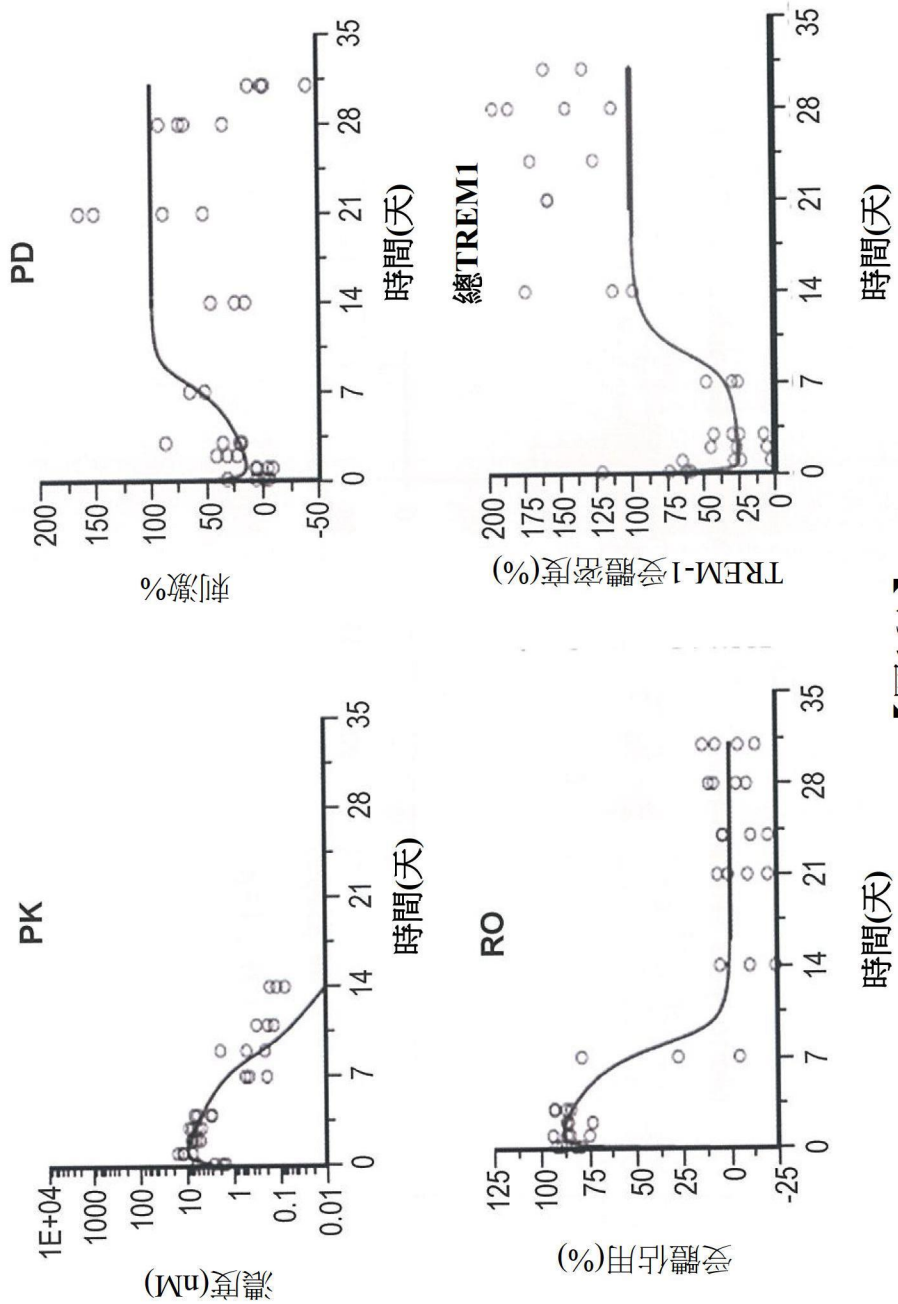
【圖12】



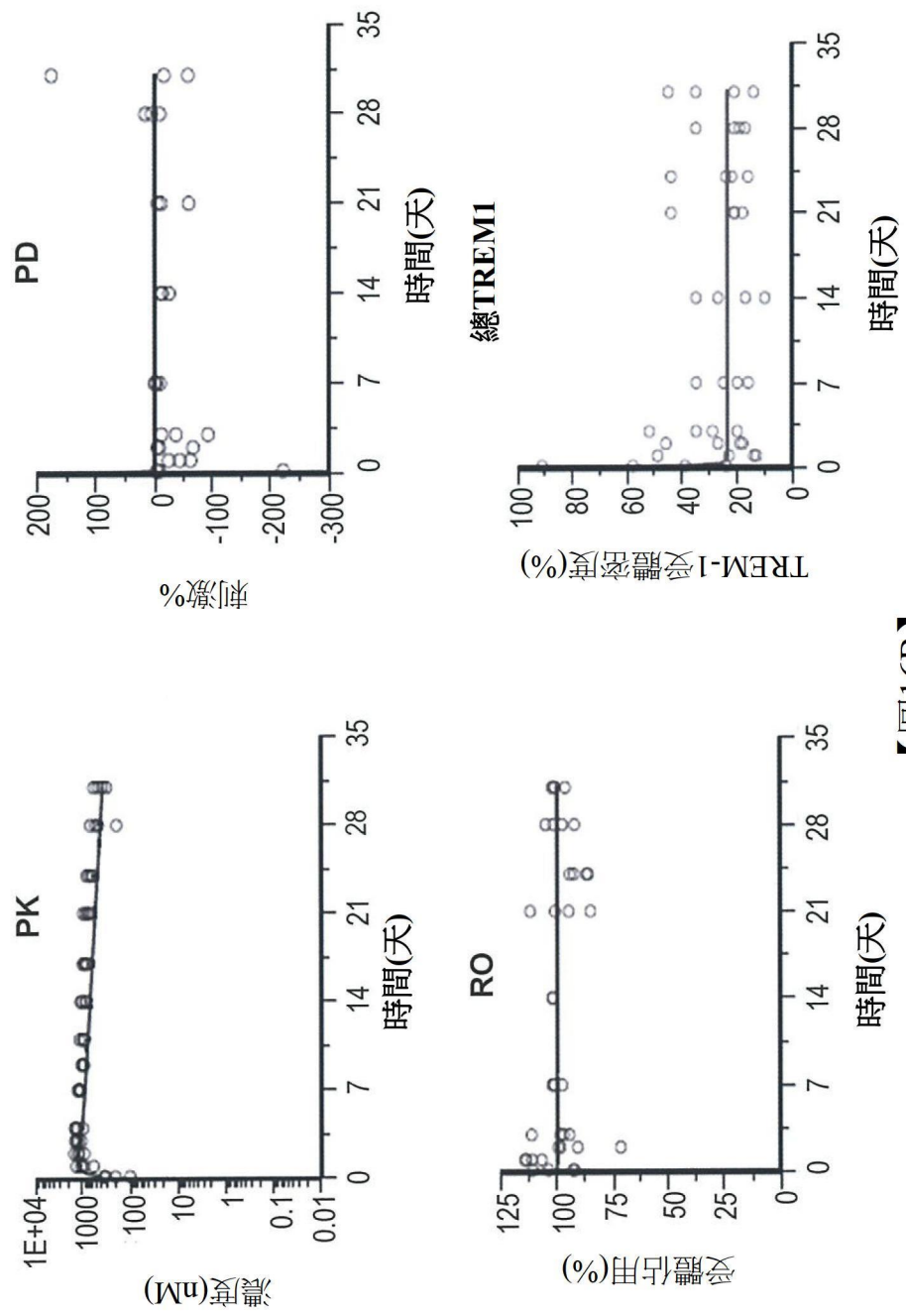
【圖13】







【圖16A】



【圖16B】