



(21)申請案號：105141750

(22)申請日：中華民國 105 (2016) 年 12 月 16 日

(51)Int. Cl. : *C07K16/24 (2006.01)*

A61K39/395 (2006.01)

(30)優先權：2015/12/18 英國

1522391.0

(71)申請人：U C B 生物製藥公司 (比利時) UCB BIOPHARMA SPRL (BE)
比利時

(72)發明人：艾當斯 羅夫 ADAMS, RALPH (GB)；柏哈塔 帕拉畢 BHATTA, PALLAVI (GB)；大衛 愛瑪 DAVE, EMMA (GB)；海伍德 山姆 菲利普 HEYWOOD, SAM PHILIP (GB)；胡弗瑞斯 大衛 保羅 HUMPHREYS, DAVID PAUL (GB)；馬修爾 黛安 MARSHALL, DIANE (GB)；蕭 史蒂芬 葛瑞漢 SHAW, STEVAN GRAHAM (GB)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：65 項 圖式數：15 共 212 頁

(54)名稱

對 TNF- α 、IL-17A 及 IL-17F 具特異性之多重特異性抗體分子

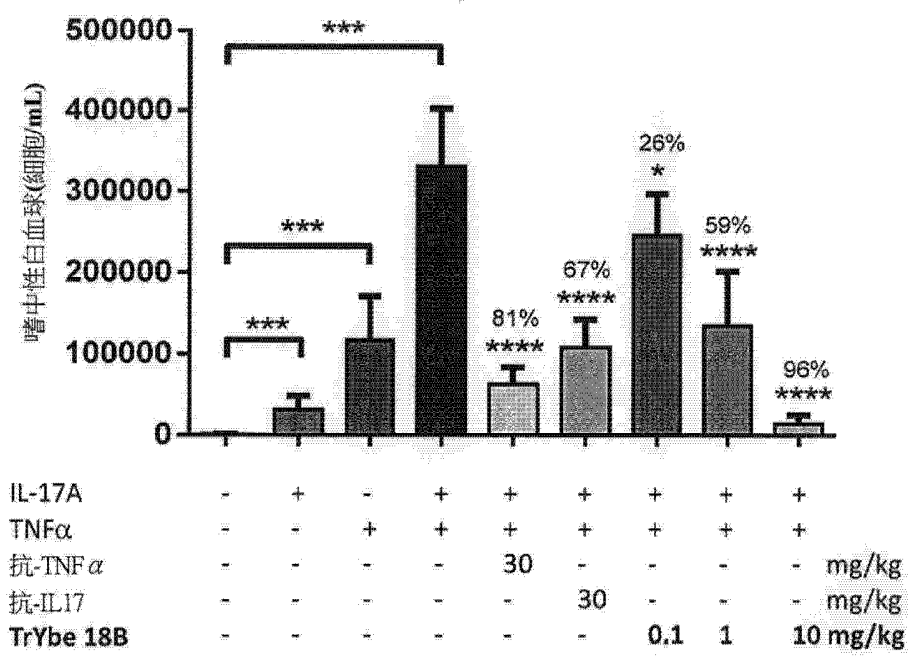
MULTI-SPECIFIC ANTIBODY MOLECULES HAVING SPECIFICITY FOR TNF-ALPHA, IL-17A AND IL-17F

(57)摘要

本發明係關於對 TNF α 、IL-17A 及 IL-17F 具特異性之多重特異性抗體分子、該等抗體分子之治療用途及用於製備該等抗體分子之方法。

The invention relates to multi-specific antibody molecules having specificity for TNF alpha, IL-17A and IL-17F, therapeutic uses of the antibody molecules and methods for producing said antibody molecules.

指定代表圖：



【圖12】

【發明說明書】

【中文發明名稱】

對TNF- α 、IL-17A及IL-17F具特異性之多重特異性抗體分子

【英文發明名稱】

MULTI-SPECIFIC ANTIBODY MOLECULES HAVING
SPECIFICITY FOR TNF-ALPHA, IL-17A AND IL-17F

【技術領域】

本發明係關於對人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之多重特異性抗體分子。本發明亦關於抗體分子的治療性用途及用於製備彼等的方法。

【先前技術】

TNF α 在類風濕性關節炎(RA)患者中作為疾病的關鍵驅動因素之作用係眾所周知的。事實上，抗-TNF α 抗體已改觀患者護理。然而，儘管達成該成就，但因為許多患者沒有達成臨床緩解而仍存在顯著未被滿足的醫療需求。因此，治療RA之下一個臨床目的在於解決該未被滿足的臨床需求且提供可顯著提高達成臨床緩解之患者的比例之治療。最新的研究已強調RA患者中Th17/IL-17生物路徑似乎有所增強。已顯示，RA患者相比健康志願者其周邊血液中Th17細胞的百分比增加及在以抗-TNF α 治療之後進一步增加(Alzabin等人，2012；Chen等人，2011；Aerts等人，2010)。在抗-TNF α 治療之後對互補生物路徑的此種增強可部分地解釋為何許多患者對療法僅具有部分反應或為何一些患者雖然在一開始對治療有反應但仍復發。

現有一文獻針對IL-17在RA病理中的作用提供證據。IL-17家族細胞

激素由6個基於結構相似性之具有23-36 kDa的分子質量及二聚體結構之成員組成。創始成員IL-17A(在文獻中常仍簡單地稱為IL-17)與其他成員：IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-17E(亦稱為IL-25)及IL-17F共有16% - 50%之胺基酸序列同一性。IL-17A及IL-17F共有最大同源性(50%)且與相同受體複合物結合，從而注意到此等2種細胞激素之間共有生物活性。另外，IL-17A及IL-17F不僅呈同質二聚體的形式存在，而且呈IL-17A/F異二聚體的形式存在。IL-17E (IL-25)與IL-17A具有最少的相似性。IL-17A及IL-17F之生物活性的重要性及相關性在於發現彼等共有相同的IL-17RA/IL-17RC受體複合物，其中IL-17A具有對IL-17RA之最大親和力，而IL-17F更強力地與IL-17RC結合。其他家族的利用IL-17RA之成員為IL-17E，其經由IL-17RA/IL-17RB受體複合物傳遞信號。

IL-17A及IL-17F係由CD4⁺ T細胞的Th17子集產生。另外，其他T細胞子集產生IL-17A及IL-17F，包括細胞激素CD8⁺ T細胞(Tc17)、gdT細胞及NK T細胞。經報導會分泌IL-17A之其他細胞群體包括嗜中性白血球、單核細胞、NK細胞、淋巴組織誘導樣(LTi-樣)細胞、腸潘氏(paneth)細胞及甚至B細胞及肥大細胞。另外，已報導上皮細胞會分泌IL-17F。

對IL-17細胞激素回應的細胞類型係藉由不同受體的表現反映。IL-17RA以特別高的水平在造血組織中普遍表現而IL-17RC在關節、肝臟、腎臟、甲狀腺及前列腺的非免疫細胞中較高度表現。此種差別性表現可解釋IL-17A及IL-17F生物活性差異，因為表現高含量的IL-17RC之細胞可對IL-17F更具反應而具有IL17-RA相比IL-17RC的更高表現之細胞可更容易對IL-17A回應。對IL-17A及F反應之特異性細胞類型包括纖維母細胞、上皮細胞、角質細胞、滑膜細胞及內皮細胞，亦報道IL-17A對T及B細胞及

巨噬細胞作用。

IL-17A及IL-17F為來自纖維母細胞、內皮細胞及上皮細胞之促發炎細胞激素、趨化細胞素及基質金屬蛋白酶(包括IL-6、IL-8及MMP-13)的誘導劑。已報導IL-17F的活性通常比L-17A小，然而，當將IL-17F與TNFa組合時，注意到增加的生物反應(Zrioual等人，2009)。與TNFa之此種加成或協同生物活性係針對IL-17A及IL-17F二者均觀察到且可歸因於漸增的mRNA穩定性。已顯示在現明確公開於文獻(Hot & Miossec 2011；Truchetet等人，2013)中之T細胞及IL-17在RA病理中的貢獻下RA患者中IL-17A及IL-17F二者的表現有所增加(Zrioual等人，2009)。以人類滑膜及骨外植體的工作已證實IL-17A增進軟骨及骨降解(Chabaud等人，2001)。小鼠膠原蛋白誘導型關節炎(CIA)模型中之進一步的研究亦已證實IL-17A的過度表現引起滑膜發炎及關節損傷且已顯示CIA受到IL-17A阻斷抑制及在缺少IL-17的小鼠中受到抑制(Lubberts 2001 & 2004；Nakae 2003)。

同時阻斷TNFa及IL-17兩個生物路徑的治療因此具有顯著提高反應速率且解決RA患者及由TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F介導之其他病理性疾病的治療中現存未滿足需求之潛力。

WO2014/044758 (Covagen AG)揭示一種能夠抑制糖基化IL-17A且結合TNF- α 之融合構築體。WO2013/063110 (Abbvie Inc.)揭示一種能夠結合TNF及IL-17之多價DVD-Ig結合蛋白。WO2014/137961 (Eli Lilly and Company)揭示抗-TNF及抗-IL-17A雙特異性抗體。然而，此等分子以往在IL-17F不被中和時可能僅達成有限的療效，及如上所述，IL-17F賦予IL-17A相似的生物活性，因此可用此等治療性分子達成IL-17生物路徑

之僅部分抑制。IL-17A及IL-17F二者的抑制與TNF- α 的抑制之組合可提供優於僅TNF- α 及IL-17A阻斷劑之經改良之療效。

本發明者已開發能夠抑制TNF- α 、IL-17A及IL-17F的新穎多重特異性抗體，此將為患者提供一種新穎治療選擇。

【發明內容】

本發明提供一種能夠結合特定言之TNF- α 、IL-17A及IL-17F之多重特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域，其中該抗體分子係能夠中和人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F的生物活性。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子係三特異性的且另外含有對人類血清白蛋白具特異性之結合域。

【圖式簡單說明】

圖1至7顯示根據本發明之抗體分子的胺基酸及核酸序列

圖8顯示Fab-2xdsscFv及Fab-dsscFv-dsFv格式

圖9顯示CA2109小鼠Fab(fwk18 FAB) IgG1 (fwk18 IgG)之滴定曲線

圖10a顯示經放線菌素-D/及人類TNF- α 及TrYbe 18B或對照化合物Enbrel處理之L929細胞之代表性細胞存活曲線。

圖10b顯示經放線菌素-D/及食蟹獼猴TNF- α 及TrYbe 18B或對照化合物Enbrel處理之L929細胞之代表性細胞存活曲線。

圖11顯示TrYbe 18B抑制小鼠中人類TNF α 誘導之嗜中性白血球增多症(neutrophilia)。

圖12顯示TrYbe 18B抑制小鼠中人類TNF α 及人類IL-17A的組合誘導之嗜中性白血球增多症。

圖13顯示對不同批次的TrYbe 18B之SDS PAGE分析。

圖14顯示TrYbe 18B抑制活體外嗜中性白血球遷移。

圖15顯示對食蟹獼猴IV單次推注劑量的TrYbe 18B後TrYbe18B的血清濃度。

【實施方式】

如本文中所使用，「抗原結合位點」或「結合位點」係指分子的一部分，其包含一或多個可變域的一部分或全部(例如可變域對的一部分或全部)，其與靶抗原特異性相互作用。

如本文中所使用，「結合域」係指分子的一部分，其包含一或多個可變域(例如可變域對VH及VL)，其與靶抗原及視情況一或多個恆定域(例如CH1域及/或CL域，為 κ 或 λ 中任一形式)特異性相互作用。結合域可包含單域抗體。在一個實施例中，各結合域係單價的。較佳地，各結合域包含不超過一個VH及一個VL。

如本文中所使用，「特異性地」欲指結合位點或結合域僅識別特異性抗原或結合位點或結合域具有比對非特異性抗原之親和力顯著更高的對特異性抗原之結合親和力，例如高5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍之結合親和力。

如本文中所使用，「多重特異性抗體」係指如本文中所述之具有兩種或更多種結合域(例如兩種或三種結合域)之抗體分子。

在一個實施例中，該構築體為雙特異性抗體。

如本文中所使用，「雙特異性抗體」係指具有兩種抗原結合位點之抗體分子，其中一種結合位點結合人類TNF- α 及另一種結合位點結合人類IL-17A及人類IL-17F。

在一個實施例中，該抗體構築體為三特異性抗體。

如本文中所使用，「三特異性抗體」係指具有三種抗原結合位點之抗體分子。

在本發明之一個實施例中，提供一種能夠與人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F結合之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子能夠中和人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F的生物活性。

在一個實施例中，該多重特異性抗體分子包含對人類TNF- α 具特異性之第一結合域、對人類IL-17A具特異性之第二結合域及對人類IL-17F具特異性之第三結合域。

在一替代實施例中，該多重特異性抗體分子包含對人類TNF- α 具特異性之第一結合域及對人類IL-17A及人類IL-17F二者皆具特異性之第二結合域。

在一個實施例中，該抗體分子包含三種結合域，且兩種結合域與同一抗原結合(包括與同一抗原上的相同抗原決定基或不同抗原決定基結合)，及第三結合域與另一(不同)抗原結合。在一個實例中，多重特異性抗體分子與抗原人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F結合，其中兩種結合域與人類TNF- α 結合及第三結合域與人類IL-17A及人類IL-17F結合。在另一個實例中，多重特異性抗體分子與抗原人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F結合，其中兩種結合域每一者能夠與人類IL-17A及人類IL-17F結合及第三結合域與人類TNF- α 結合。

在一個實施例中，根據本發明之抗體分子包含不超過一個對人類TNF- α 具特異性之結合域及不超過一個對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。因此，在該實施例中，該抗體分子與人類TNF- α 單價結合

且與人類IL-17A及人類IL-17F單價結合。

在一個實施例中，本發明之多重特異性抗體分子包含與三種不同抗原獨立結合的三種結合域。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子與抗原人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F結合，其中第一結合域與人類TNF- α 結合，第二結合域與人類IL-17A結合及第三結合域與人類IL-17F結合。

在另一個實施例中，該多重特異性抗體分子與抗原人類TNF- α 、人類IL-17A、人類IL-17F及人類血清白蛋白結合，其中第一結合域與人類IL-17A及人類IL-17F結合，第二結合域與人類TNF- α 結合及第三結合域與能夠延長抗體分子之半衰期的抗原結合。與能夠延長抗體分子之半衰期的抗原結合的第三結合域可與人類血清載體蛋白、循環免疫球蛋白分子或CD35/CR1結合。

如本文中所使用，「血清載體蛋白」包括甲狀腺素結合蛋白、轉甲狀腺素蛋白、 α 1-酸醣蛋白、轉鐵蛋白、纖維蛋白原及白蛋白、或其任何片段。

如本文中所使用，「循環免疫球蛋白分子」包括IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、sIgA、IgM及IgD、或其任何片段。

CD35/CR1為存在於具有36天的半衰期(正常範圍為28至47天；Lanaro等人，1971，Cancer，28(3): 658-661)之紅血球細胞上的蛋白質。

在一個具體實施例中，該多重特異性抗體分子包含三種結合域或由三種結合域組成，其中第一結合域對人類TNF- α 具特異性，第二結合域對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性及第三結合域對人類血清白蛋白具特

異性。

在一個實施例中，根據本發明之抗體分子包含不超過一個對人類TNF- α 具特異性之結合域、不超過一個對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及不超過一個對人類血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)具特異性之結合域。因此，在該實施例中，該抗體分子與人類TNF- α 單價結合，與人類IL-17A及人類IL-17F單價結合及與人類血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)單價結合。

包含結合至同一靶抗原(其中該靶抗原為同源多聚體(homomultimer)，例如人類TNF- α 三聚體或人類IL-17二聚體)的多個結合域之抗體分子可更有可能活體內形成大抗體及抗原複合物。在其中抗體分子包含不超過一個結合至各靶抗原的結合域之本發明實施例中，該抗體可宜具有比彼等包含結合至同一靶抗原的多個結合域之抗體分子更低的活體內形成大抗體及抗原複合物之傾向。

本發明提供一種經改良之多重特異性抗體，其能夠與IL-17A及IL-17F二者以高親和力結合。特定言之，本發明之多重特異性抗體能夠與IL-17A及IL-17F二者特異性結合。特異性結合意指抗體具有對IL-17A及IL-17F多肽(包括IL-17A/IL-17F異二聚體)相比對其他多肽更大的親和力，且在一個實施例中，抗體不與IL-17之其他同功異型物(isoform)結合。本發明之多重特異性抗體能夠與IL-17A同型二聚體及IL-17F同型二聚體特異性結合。較佳地，本發明之多重特異性抗體亦與IL-17A/IL-17F異二聚體結合。

較佳地，本發明之多重特異性抗體中和IL-17A及IL-17F二者的活性。在一個實施例中，本發明之多重特異性抗體亦中和IL-17A/IL-17F異

二聚體的活性。因此，本發明之多重特異性抗體具有其等可抑制IL-17A及IL-17F二者之生物活性的有利性質。

如本文中所使用，術語「中和抗體」描述能夠中和IL-17A及IL-17F二者的生物信號傳遞活性(例如藉由阻斷IL-17A及IL-17F與其等受體中之一或多者結合及藉由阻斷IL-17A/IL-17F異二聚體與其受體中之一或多者結合)之抗體。應明瞭，如本文中所使用，術語「中和」係指減小生物信號傳遞活性，其可為部分或全部的。此外，應明瞭由抗體中和IL-17A及IL-17F活性的程度可相同或不同。在一個實施例中，將IL-17A/IL-17F異二聚體之活性的中和程度可與IL-17A或IL-17F活性的中和程度相同或不同。相關技術中已知用於確定中和之適合試驗且該等試驗中的某些在此提供於實例中。

較佳地，IL-17A及IL-17F多肽為人類的。在一個實施例中，抗體亦與石蟹獼猴IL-17A及IL-17F結合。

該多重特異性抗體亦宜能夠與TNF- α 以高親和力結合。特定言之，本發明之多重特異性抗體能夠與TNF- α 特異性結合。

較佳地，本發明之多重特異性抗體中和TNF- α 的活性，例如藉由阻斷TNF- α 與TNF- α 的受體中之一或多者結合。應明瞭，如本文中所使用，術語「中和」係指減小生物信號傳遞活性，其可為部分或全部的。較佳地，TNF- α 多肽為人類的。在一個實施例中，該抗體亦與食蟹獼猴TNF- α 結合。相關技術中已知用於確定中和之適合的試驗且該等試驗中的某些在此提供於實例中。

因此，本發明亦提供該等抗體於治療及/或預防由TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F介導的疾病(諸如自體免疫或發炎性疾病或癌症)中之用途。

結合親和力(KD)可藉由標準實驗(例如表面電漿共振，諸如BIAcore)來測定。

在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有為200 pM或更小，例如100 pM或更佳，50 pM或更佳，20 pM或更佳，15 pM或更佳或12 pM或更佳的對人類TNF- α 之結合親和力。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有在50 pM至1 pM，20 pM至1 pM，15 pM至1 pM或12 pM至1 pM範圍內的對人類TNF- α 之結合親和力。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有在15 pM至5 pM或12 pM至11 pM範圍內的對人類TNF- α 之結合親和力。

在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有為200 pM或更小，例如100 pM或更佳，50 pM或更佳，20 pM或更佳，10 pM或更佳，8 pM或更佳，5 pM或更佳或2 pM或更佳的對人類IL-17A之人類類結合親和力。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有在50 pM至1 pM，20 pM至1 pM，10 pM至1 pM，8 pM至1 pM，5 pM至1 pM或2 pM至1 pM範圍內的對人類IL-17A之結合親和力。

在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有為200 pM或更小，例如100 pM或更佳，50 pM或更佳，20 pM或更佳，15 pM或更佳或10 pM或更佳的對人類IL-17F之結合親和力。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有在50 pM至1 pM，20 pM至1 pM，15 pM至1 pM或10 pM至1 pM範圍內的對人類IL-17F之結合親和力。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有在10 pM至5 pM或8 pM至7 pM範圍內的對人類IL-17F之結合親和力。

在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有為3 nM或更佳，2 nM

或更佳，1.9 nM或更佳或1.8 nM或更佳之對人類血清白蛋白之結合親和力。在一個實施例中，該多重特異性抗體分子具有在3 nM至1 pM，2 nM至1 nM，2 nM至1.5 nM或1.8 nM至1.7 nM範圍內的對人類血清白蛋白之結合親和力。

在本發明之一個態樣中，各結合域包含兩個抗體可變域，較佳為VH/VL對。在一個態樣中，各結合域包含不超過兩個抗體可變域。

本發明之多重特異性抗體分子可具有能夠與如上所述的兩種或更多種抗原(例如三種抗原)結合之任何適合的抗體格式。

在一個態樣中，該抗體分子格式係選自雙功能抗體、sc雙功能抗體(scdiobody)、三功能抗體、串聯scFv、FabFv、Fab'Fv、FabdsFv、Fab-scFv、Fab-dsscFv、Fab-(dsscFv)₂、FabFvFv、FabFvFc、二Fab、二Fab'、三體(tribody)、串聯scFv-Fc、scFv-Fc-scFv、sc雙功能抗體-Fc、sc雙功能抗體-CH₃、Ig-scFv、scFv-Ig、V-Ig、Ig-V、Duobody及DVD-Ig。

在一個實施例中，該對人類TNF- α 具特異性之結合域及該對IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域係獨立地選自Fab、scFv、Fv、dsFv及dsscFv。

在本發明之一個實施例中，該抗體分子不包含CH₂域及/或CH₃域。缺少CH₂域及/或CH₃域(亦稱為Fc域)的抗體分子在不需要歸屬於Fc域的功能性質(諸如補體結合)情況下係有利的。

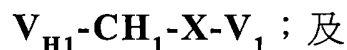
抗體療法中存在Fc域(特別是活性Fc域，諸如IgG1同型Fc)會導致活體內與促發炎蛋白質(諸如FcGR)及補體相互作用。因此，在其中本發明之抗體分子不包含Fc域的實施例中，抗體相比含Fc域的抗體分子可具有

較少的活體內與促發炎蛋白質(諸如FcGR)及補體之相互作用。

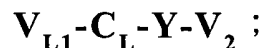
包含結合至同一靶抗原(其中該靶抗原為同源多聚體)之多個結合域及Fc域二者的抗體可將形成大抗體:抗原複合物之傾向與形成大免疫複合物之多個活性Fc域組合。大免疫複合物可不適當地活體內沉積而導致免疫系統活化。在本發明之實施例中,其中該抗體包含不超過一個結合至各靶抗原的結合域且不包含Fc域,該抗體可具有減小的形成大免疫複合物之能力及因此具有較小的不適當沉積及活體內免疫活化之可能性。

在本發明之一個態樣中,該多重特異性抗體分子係呈包含以下或由以下組成之二聚體的形式提供:

a)式(I)之多肽鏈:



b)式(II)之多肽鏈:



其中:

V_{H1} 表示重鏈可變域;

CH_1 表示重鏈恆定區的域,例如其域1;

X表示鍵或連接子;

Y表示鍵或連接子;

V_1 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv;

V_{L1} 表示輕鏈可變域;

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域,諸如 C_{κ} ;

V_2 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv。

在一個實施例中, V_{H1} 與 V_{L1} 共同形成對選自人類TNF- α 、人類IL-

17A及人類IL-17F的第一抗原具特異性之結合域。在一個實施例中，VH1與VL1共同形成對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。

在一個實施例中，V₁包含對選自人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F的第二抗原具特異性之結合域。在一個實施例中，V₁包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。

在一個實施例中，V₂包含對選自人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F的第二或第三抗原具特異性之結合域。在一個實施例中，V₂包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。

在一個實施例中，VH1及VL1包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及V₁及/或V₂包含對人類TNF- α 具特異性之結合域。在其中V₁及V₂包含對人類TNF- α 具特異性的結合域之實施例中，V₁及V₂可與人類TNF- α 之相同或不同抗原決定基結合。

在一個實施例中，VH1及VL1包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及V₁及/或V₂包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。在其中V₁及V₂包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性的結合域之實施例中，V₁及V₂可與人類IL-17A及人類IL-17F之相同或不同抗原決定基結合。

在一個實施例中，該抗體分子包含如式(I)及式(II)中所定義之多肽鏈或由該多肽鏈組成且包含不超過一個對人類TNF- α 具特異性之結合域及不超過一個對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。

在本發明之一個態樣中，該多重特異性抗體分子能夠與一其他抗原結合，且包含對血清載體蛋白、循環免疫球蛋白分子或CD35/CR1具特異性之結合域，例如以用於提供抗體分子之延長的半衰期。

在一個實施例中，V_{H1}/V_{L1}具特異性的所述抗原為血清載體蛋白，諸

如人類類血清載體，諸如人類血清白蛋白。

在一個實施例中， V_1 具特異性的所述抗原為血清載體蛋白，諸如人類血清載體，諸如人類血清白蛋白。

在一個實施例中， V_2 具特異性的所述抗原為血清載體蛋白，諸如人類血清載體，諸如人類血清白蛋白。

在一個實施例中，僅 V_{H1}/V_{L1} 、 V_1 或 V_2 中之一者對血清載體蛋白，諸如人類血清載體，諸如人類血清白蛋白具特異性。

因此，在一個實施例中，該抗體分子包含如上述式(I)及式(II)中所定義之多肽鏈或由該多肽鏈組成，其中：

a. V_{H1} 及 V_{L1} 包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域；及

b. V_1 包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及 V_2 包含對血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)具特異性之結合域；或 V_2 包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及 V_1 包含對血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)具特異性之結合域。

在一個實施例中，該抗體分子包含如式(I)及式(II)中所定義之多肽鏈或由該多肽鏈組成且包含不超過一個對人類TNF- α 具特異性之結合域、不超過一個對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及不超過一個對血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)具特異性之結合域。

該 V_{H1} - CH_1 部分與該 V_L - C_L 部分共同形成功能性Fab或Fab'片段。

V_{H1} 表示可變域，例如重鏈可變域。在一個實施例中， V_{H1} 表示重鏈可變域。在一個實施例中， V_{H1} 為嵌合可變域，也就是說，其包含衍生自至少兩個物種的成分，例如人類框架及非人類CDR。在一個實施例中，

V_{H1} 為人類化的。在一個實施例中， V_{H1} 為人類的。

V_{L1} 表示可變域，例如輕鏈可變域。在一個實施例中， V_{L1} 表示輕鏈可變域。在一個實施例中， V_{L1} 為嵌合可變域，也就是說，其包含衍生自至少兩個物種的成分，例如人類框架及非人類CDR。在一個實施例中， V_{L1} 為人類化的。在一個實施例中， V_{L1} 為人類的。在一個實施例中， V_L 為人類的。

一般而言， V_{H1} 與 V_{L1} 共同形成抗原結合域。在一個實施例中， V_{H1} 與 V_{L1} 形成同源對。

如本文中所使用，「同源對」係指來自活體內產生的單一抗體之可變域對，即，單離自主體的天然生成之可變域對。因此，同源對為 V_H 及 V_L 對。在一個實施例中，同源對以可共同操作方式與抗原結合。

如本文中所使用，「可變區」係指抗體鏈中包含CDR及框架(特定言之適合的框架)的區域。

用於本發明中之可變區一般將衍生自可由相關技術中已知的任何方法產生的抗體。

如本文中所使用，「衍生自」係指所使用序列或與所使用序列高度相似的序列從初始遺傳物質(諸如抗體之輕鏈或重鏈)獲得的事實。

如本文中所使用，「高度相似」欲指於胺基酸序列全長上為95%相似或更大，諸如96、97、98或99%相似的胺基酸序列。

用於本發明中的如上文針對 V_{H1} 及 V_{L1} 所述之可變區可來自任何適合的來源且可為例如完全人類或人類化的。

在一個實施例中，該 CH_1 域為來自抗體重鏈的天然生成之域1或其衍生物。

在一個實施例中，輕鏈中的 C_L 片段為恆定 κ 序列或恆定 λ 序列或其衍生物。

如本文中所使用的天然生成之域之衍生物欲指天然生成之序列中一個、兩個、三個、四個或五個胺基酸已被置換或刪除，例如以將域的性質最佳化，諸如藉由消除非所需性質但其中保留域之特徵性特徵的情況。

在一個實施例中，一或多個天然或經改造鏈間(即輕鏈及重鏈間)雙硫鍵存在於功能性Fab或Fab'片段中。

在一個實施例中，「天然」雙硫鍵存在於式(I)及(II)之多肽鏈中的 CH_1 與 C_L 之間。

當 C_L 域衍生自 κ 或 λ 中任一者時，形成鍵之半胱胺酸的天然位置在人類 $c\kappa$ 及 $c\lambda$ 中為214(Kabat編號第4版1987)。

形成雙硫鍵之半胱胺酸在 CH_1 中的確切位置取決於實際上所使用的特定域。因此，例如在人類 γ -1中，雙硫鍵的天然位置位於位置233 (Kabat編號第4版1987)。已知就其他人類類同型物(諸如 γ 2、3、4、IgM及IgD)而言形成鍵之半胱胺酸的位置，例如就人類類IgD及IgA2B的重鏈之人類IgM、IgE、IgG2、IgG3、IgG4及128而言位置127。

視情況，可在式I及II之多肽的 V_H 與 V_L 之間存在雙硫鍵。

在一個實施例中，根據本發明之多重特異性抗體在與天然生成於 CH_1 與 C_L 之間的位置等效或對應之位置具有雙硫鍵。

在一個實施例中，包含 CH_1 之恆定區及諸如 C_L 之恆定區具有在非天然生成之位置的雙硫鍵。此可藉由將半胱胺酸引入胺基酸鏈的所需位置中而改造至分子中。該非天然雙硫鍵為存於 CH_1 與 C_L 之間的天然雙硫鍵的附加或替代。在天然位置的半胱胺酸可由無法形成雙硫橋的胺基酸諸如絲胺

酸替代。

經改造半胱胺酸之引入可使用相關技術中已知的任何方法進行。此等方法包括(但不限於)PCR延伸重疊誘變、定點誘變或序列盒誘變(一般可參見Sambrook等人, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbour Laboratory Press, Cold Spring Harbour, NY, 1989; Ausbel 等人, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing & Wiley-Interscience, NY, 1993)。定點誘變套組可從市面購得, 例如QuikChange®定點誘變套組(Stratagene, La Jolla, CA)。序列盒誘變可基於Wells等人, 1985, Gene, 34: 315-323進行。或者, 突變體可藉由全基因合成法經退火、連接及PCR擴增及選殖重疊寡核苷酸而得到。

在一個實施例中, CH₁與C_L之間的雙硫鍵完全不存在, 例如鏈間半胱胺酸可用另一胺基酸諸如色胺酸替代。因此, 在一個實施例中, 分子的功能性Fab片段中不存在鏈間雙硫鍵。以引用方式併入本文中的揭示案諸如WO2005/003170描述如何提供不含鏈間雙硫鍵的Fab片段。

在一個實施例中, 如上文所定義之包含如式(I)及式(II)中所定義之多肽鏈或由該等多肽鏈組成的抗體分子不包含CH₂域及/或CH₃域。

V₁表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv, 例如dsFv、scFv或dsscFv。

V₂表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv, 例如dsFv、scFv或dsscFv。

如本文中所使用, 「單鏈可變片段」或「scFv」係指包含重鏈可變域(V_H)及輕鏈可變域(V_L)或由該重鏈可變域(V_H)及輕鏈可變域(V_L)組成的藉由該V_H可變域與該V_L可變域之間的肽連接子穩定的單鏈可變片段。該V_H及V_L可變域可在任何適合的方向, 例如V_H的C-端可連接至V_L的N-端或

V_L 的C-端可連接至 V_H 的N-端。

如本文中所使用，「經二硫化物穩定之單鏈可變片段」或「**dsscFv**」係指藉由介於V_H可變域與V_L可變域之間的肽連接子穩定且亦包含介於V_H與V_L之間的域間雙硫鍵之單鏈可變片段。

如本文中所使用，「經二硫化物穩定之可變片段」或「dsFv」係指不含介於V_H可變域與V_L可變域之間的肽連接子而是藉由介於V_H與V_L之間的域間雙硫鍵穩定之單鏈可變片段。

如本文中所使用，「單域抗體」或「sdAb」係指由單一單體可變抗體域(諸如V_H或V_L)或VHH組成之抗體片段。

在一個實施例中， V_1 及 V_2 皆為dsFv。當 V_1 及 V_2 二者皆為dsFv時， V_1 及 V_2 中的 V_H 可變域或 V_L 可變域中之任一者相同。在一個實施例中， V_1 及 V_2 具有相同的 V_H 可變域。在另一個實施例中， V_1 及 V_2 具有相同的 V_L 可變域。在一個實施例中， V_1 及 V_2 中的 V_H 及 V_L 可變域相同。後者允許交聯，該交聯可能為一些標靶所需。

在一個實施例中， V_1 為dsFv及 V_2 為scFv。在一個實施例中， V_1 為scFv及 V_2 為dsFv。在一個實施例中， V_1 為dsscFv及 V_2 為dsFv。在一個實施例中， V_1 為dsFv及 V_2 為dsscFv。在一個實施例中， V_1 為dsscFv及 V_2 為scFv。在一個實施例中， V_1 為scFv及 V_2 為dsscFv。在一個實施例中， V_1 不為scFv。在一個實施例中， V_2 不為scFv。在一個實施例中， V_1 及 V_2 二者皆不為scFv。

在其中V₁及/或V₂為dsFv或dsscFv的實施例中，V₁之輕鏈及重鏈可變域及/或V₂之輕鏈及重鏈可變域係藉由介於兩個經改造半胱胺酸殘基之間的雙硫鍵連接。介於V₁及/或V₂之可變域V_H與V_L之間的雙硫鍵係介於下

文所列殘基中之兩者之間(除非本文另外指明Kabat編號用於下文陳列中)。在參考Kabat編號的任何地方，相關參考文獻為Kabat等人，1987，Sequences of Proteins of Immunological Interest，美國衛生及公共服務部(US Department of Health and Human Services)，NIH，USA。

在一個實施例中，雙硫鍵係在選自包括下列之群的位置：

- $V_H37 + V_L95$ ，參見例如Protein Science 6，781-788 Zhu等人(1997)；
- $V_H44 + V_L100$ ，參見例如；Biochemistry 33 5451-5459 Reiter等人(1994)；或Journal of Biological Chemistry，第269卷，第28期，第18327-18331頁，Reiter等人(1994)；或Protein Engineering，第10卷，第12期，第1453-1459頁，Rajagopal等人(1997)；
- $V_H44 + V_L105$ ，參見例如J Biochem. 118，825-831 Luo等人(1995)；
- $V_H45 + V_L87$ ，參見例如Protein Science 6，781-788 Zhu等人(1997)；
- $V_H55 + V_L101$ ，參見例如FEBS Letters 377 135-139 Young等人(1995)；
- $V_H100 + V_L50$ ，參見例如 Biochemistry 29 1362-1367 Glockshuber等人(1990)；
- $V_H100b + V_L49$ ；
- $V_H98 + V_L46$ ，參見例如Protein Science 6，781-788 Zhu等人(1997)；
- $V_H101 + V_L46$ ；

- $V_H105 + V_L43$ ，參見例如；Proc. Natl. Acad. Sci. USA，第90卷，第7538-7542頁，Brinkmann等人(1993)；或Proteins 19，35-47 Jung等人(1994)，

- $V_H106 + V_L57$ ，參見例如FEBS Letters 377 135-139 Young等人(1995)

其中 V_H 及 V_L 值獨立地選自所給的 V_1 或 V_2 。

上文所列胺基酸對係在有利於改由半胱胺酸替代而可形成雙硫鍵的位置。半胱胺酸可藉由已知技術經改造至此等所需位置中。因此，在一個實施例中，根據本發明之經改造半胱胺酸係指在所給胺基酸位置的天然生成之殘基已經替代為半胱胺酸殘基的情況。

經改造半胱胺酸之引入可使用相關技術中已知的任何方法進行。此等方法包括(但不限於)PCR延伸重疊誘變、定點誘變或序列盒誘變(一般可參見，Sambrook等人，Molecular Cloning，A Laboratory Manual，Cold Spring Harbour Laboratory Press，Cold Spring Harbour，NY，1989；Ausbel等人，Current Protocols in Molecular Biology，Greene Publishing & Wiley-Interscience，NY，1993)。定點誘變套組可從市面購得，例如QuikChange®定點誘變套組(Stratagen，La Jolla，CA)。序列盒誘變可基於Wells等人，1985，Gene，34: 315-323進行。或者，突變體可藉由全基因合成法經退火、連接及PCR擴增及選殖重疊寡核苷酸而得到。

因此，在一個實施例中，當 V_1 及/或 V_2 為dsFv或dsscFv時， V_1 之可變域 V_H 及 V_L 及/或 V_2 之可變域 V_H 及 V_L 可藉由介於兩個半胱胺酸殘基之間的雙硫鍵連接，其中該對半胱胺酸殘基的位置係選自由以下組成之群：

V_{H37} 及 V_{L95} 、 V_{H44} 及 V_{L100} 、 V_{H44} 及 V_{L105} 、 V_{H45} 及 V_{L87} 、 V_{H100} 及 V_{L50} 、 V_{H100b} 及 V_{L49} 、 V_{H98} 及 V_{L46} 、 V_{H101} 及 V_{L46} 、 V_{H105} 及 V_{L43} 及 V_{H106} 及 V_{L57} 。

在一個實施例中，當 V_1 及/或 V_2 為dsFv或dsscFv時， V_1 之可變域 V_H 及 V_L 及/或 V_2 之可變域 V_H 及 V_L 可藉由介於在CDR外的兩個半胱胺酸殘基(一者在 V_H 中及一者在 V_L 中)之間的雙硫鍵連接，其中該對半胱胺酸殘基的位置係選自由以下組成之群： V_{H37} 及 V_{L95} 、 V_{H44} 及 V_{L100} 、 V_{H44} 及 V_{L105} 、 V_{H45} 及 V_{L87} 、 V_{H100} 及 V_{L50} 、 V_{H98} 及 V_{L46} 、 V_{H105} 及 V_{L43} 及 V_{H106} 及 V_{L57} 。

在一個實施例中，當 V_1 為dsFv或dsscFv時， V_1 之可變域 V_H 及 V_L 係藉由介於兩個經改造半胱胺酸殘基(一者在位置 V_{H44} 及另一者在 V_{L100})之間的雙硫鍵連接。

在一個實施例中，當 V_2 為dsFv或dsscFv時， V_2 之可變域 V_H 及 V_L 係藉由介於兩個經改造半胱胺酸殘基(一者在位置 V_{H44} 及另一者在 V_{L100})之間的雙硫鍵連接。

在一個實施例中，當 V_1 及 V_2 為dsFv或dsscFv時， V_1 及 V_2 之可變域 V_H 及 V_L 係藉由介於兩個經改造半胱胺酸殘基(一者在位置 V_{H44} 及另一者在 V_{L100})之間的雙硫鍵連接。

在一個實施例中，當 V_1 及 V_2 皆為dsscFv時， V_1 及 V_2 之可變域 V_H 及 V_L 係藉由介於兩個經改造半胱胺酸殘基(一者在位置 V_{H44} 及另一者在 V_{L100})之間的雙硫鍵連接。

在一個實施例中，當 V_1 為dsFv、dsscFv或scFv時， V_1 之 V_H 域係與X連接，例如經由肽鍵。

在一個實施例中，當 V_1 為dsFv、dsscFv或scFv時， V_1 之 V_L 域係與X連接，例如經由肽鍵。

在一個實施例中，當 V_2 為dsFv、dsscFv或scFv時， V_2 之 V_H 域係與Y連接，例如經由肽鍵。

在一個實施例中，當 V_2 為dsFv、dsscFv或scFv時， V_2 之 V_L 域係與Y連接，例如經由肽鍵。

熟練技術者當明瞭，當 V_1 及/或 V_2 表示dsFv時，該多重特異性抗體將包含編碼未連接至X或Y之對應游離 V_H 或 V_L 域的第三多肽。當 V_1 及 V_2 皆為dsFv時，則該「游離可變域」(即經由雙硫鍵連接至多肽其餘部分的域)將為兩個鏈所共有。因此，雖然經由X或Y融合或連接至多肽的實際可變域在各多肽鏈中可不同，但與其成對的游離可變域一般將彼此相同。

在一個實施例中，X為鍵。

在一個實施例中，Y為鍵。

在一個實施例中，X及Y二者皆為鍵。

在一個實施例中，X為連接子，較佳為肽連接子，例如用於連接部分 CH_1 及 V_1 之適合的肽。

在一個實施例中，Y為連接子，較佳為肽連接子，例如用於連接部分 C_L 及 V_2 之適合的肽。

在一個實施例中，X及Y二者皆為連接子。在一個實施例中，X及Y二者皆為肽連接子。

如本文中所使用，「肽連接子」係指由胺基酸組成的肽。熟習此項技術者將知曉一些適合的肽連接子。

在一個實施例中，X及/或Y肽連接子為50個胺基酸長度或更少，例

如20個胺基酸或更少，諸如約15個胺基酸或更少，諸如9個、10個、11個、12個、13個或14個胺基酸長度。

在一個實施例中，X及/或Y連接子係選自以序列1至67顯示的序列。

在一個實施例中，X及/或Y連接子係選自SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2顯示之序列。

在一個實施例中，X具有序列SGGGGTGGGGS(SEQ ID NO:1)。

在一個實施例中，Y具有序列SGGGGTGGGGS(SEQ ID NO:1)。

在一個實施例中，X具有序列SGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:2)。

在一個實施例中，Y具有序列SGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:2)。

在一個實施例中，X具有SEQ ID NO:1給出的序列且Y具有SEQ ID NO:2給出的序列。

在一個實施例中，X具有SEQ ID NO:2給出的序列且Y具有SEQ ID NO:1給出的序列。

在一個實施例中，X具有SEQ ID NO:2給出的序列且Y具有SEQ ID NO:2給出的序列。

在一個實施例中，X具有SEQ ID NO:69或70給出的序列。在一個實施例中，Y具有SEQ ID NO:69或70給出的序列。在一個實施例中，X具有SEQ ID NO:69給出的序列且Y具有SEQ ID NO:70給出的序列。

用於X及/或Y之適合的連接子序列亦提供於下表1及2中。

表1. 鉸鏈連接子序列

SEQ ID NO:	序列
3	DKTHTCAA
4	DKTHTCPPCPA
5	DKTHTCPPCPATCPPCPA
6	DKTHTCPPCPATCPPCPATCPPCPA

7	DKTHTCPPCPAGKPTLYNSLVMSDTAGTCY
8	DKTHTCPPCPAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCY
9	DKTHTCCEVECPPCA
10	DKTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPA
11	DKTHTCPCSPA

表2.可撓連接子序列

SEQ ID NO:	序列
12	SGGGGSE
13	DKTHTS
14	(S)GGGGS
15	(S)GGGGSGGGGS
16	(S)GGGGSGGGGSGGGGS
17	(S)GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
18	(S)GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS
19	AAAGSG-GASAS
20	AAAGSG-XGGGS-GASAS
21	AAAGSG-XGGGSXGGGS -GASAS
22	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGS -GASAS
23	AAAGSG- XGGGSXGGGSXGGGSXGGGS-GASAS
24	AAAGSG-XS-GASAS
25	PGGNRGTTTTTRRPATTTGSSPGPTQSHY
26	ATTTGSSPGPT
27	ATTTGS
-	GS
28	EPSGPISTINSPPSKESHKSP
29	GTVAAPSVFIFPPSD
30	GGGGIAPSMVGGGGS
31	GGGGKVEGAGGGGGS
32	GGGGSMKSHDGGGGS
33	GGGGNLITIVGGGGS
34	GGGGVVPSLPGGGGS
35	GGEKSIPGGGGS
36	RPLSYRPPFPFGFPSVRP

37	YPRSIYIRRRHPSPSLTT
38	TPSHLSHILPSFGLPTFN
39	RPVSPFTFPRLSNSWLPA
40	SPA AHFPR SIPRPGPIRT
41	APGPSAPSHRSLPSRAFG
42	PRNSIHFLHPLLVA PLGA
43	MPSLSGVLQVRYLSPPDL
44	SPQYPSPLTLTLPPHPSL
45	NPSLNPPSYLHRAPSRIS
46	LPWRTSLLPSLPLRRRP
47	PPLFAKGPVGLLSRSFPP
48	VPPAPVVSLRSAHARPPY
49	LRPTPPRVRSYTCCPTP-
50	PNVAHVLPLLTVPWDNLR
51	CNPLLPLCARSPAVRTPF

(S)視情況在序列14至18中。

剛性連接子的實例包括肽序列GAPAPAAPAPA(SEQ ID NO:52)、PPPP(SEQ ID NO:53)及PPP。

在一個實施例中，肽連接子為白蛋白結合肽。

白蛋白結合肽的實例提供於WO2007/106120中且包括：

表3

SEQ ID NO:	序列
54	DLCLRDWGCLW
55	DICLPRWGCLW
56	MEDICLPRWGCLWGD
57	QRLMEDICLPRWGCLWEDDE
58	QGLIGDICLPRWGCLWGRSV
59	QGLIGDICLPRWGCLWGRSVK
60	EDICLPRWGCLWEDD
61	RLMEDICLPRWGCLWEDD
62	MEDICLPRWGCLWEDD

63	MEDICLPRWGCLWED
64	RLMEDICLARWGCLWEDD
65	EVRSFCTRWP AEKSCKPLRG
66	RAPESFVCYWETICFERSEQ
67	EMCYFPGICWM

有利地，使用白蛋白結合肽作為連接子可增加多重特異性抗體分子的半衰期。

在一個實施例中， V_1 及 V_2 中之至少一者為scFv或dsscFv。例如， V_1 為scFv或dsscFv及 V_2 為scFv或dsscFv。

在一個實施例中， V_1 為dsscFv及 V_2 為dsscFv。

在其中 V_1 為scFv或dsscFv之實施例中， V_1 包含以下之多肽鏈或由以下之多肽鏈組成：

- a. 式(III)： $VH_2-Z_1-VL_2$ 且 VH_2 係與X連接，例如經肽鍵；或
- b. 式(IV)： $VL_2-Z_1-VH_2$ 且 VL_2 係與X連接，例如經肽鍵；

其中 VH_2 表示重鏈可變域， Z_1 表示連接子，例如肽連接子及 VL_2 表示輕鏈可變域。

在其中 V_2 為scFv或dsscFv之實施例中， V_2 包含以下之多肽鏈或由以下之多肽鏈組成：

- a. 式(V)： $VH_3-Z_2-VL_3$ 且 VH_3 係與Y連接，例如經肽鍵；或
- b. 式(VI)： $VL_3-Z_2-VH_3$ 且 VL_3 係與Y連接，例如經肽鍵；

其中 VH_3 表示重鏈可變域， Z_2 表示連接子，例如肽連接子且 VL_3 表示輕鏈可變域。

在一個實施例中，scFv或dsscFv中的肽連接子 Z_1 及/或 Z_2 係在範圍約12至25個胺基酸長度(諸如15至20個胺基酸)內。

在一個實施例中，當 V_1 為scFv或dsscFv時，將 V_1 之可變域 V_H 及 V_L 連

接的連接子 Z1 具有序列 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:68)。

在一個實施例中，當 V_2 為 scFv 或 dsscFv 時，將 V_2 之可變域 V_H 及 V_L 連接的連接子 Z2 具有序列 GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:68)。

在一個實施例中，當 V_1 為 scFv 或 dsscFv 時，將 V_1 之可變域 V_H 及 V_L 連接的連接子 Z1 具有序列 SGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:69)。

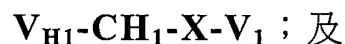
在一個實施例中，當 V_2 為 scFv 或 dsscFv 時， V_2 之可變域 V_H 及 V_L 連接的連接子 Z2 具有序列 SGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:69)。

在一個實施例中，當 V_1 為 scFv 或 dsscFv 時，將 V_1 之可變域 V_H 及 V_L 連接的連接子 Z1 具有序列 SGGGGSGGGGTGGGGS(SEQ ID NO:70)。

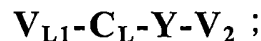
在一個實施例中，當 V_2 為 scFv 或 dsscFv 時，將 V_2 之可變域 V_H 及 V_L 之可變域連接的連接子 Z2 具有序列 SGGGGSGGGGTGGGGS SEQ ID NO:70)。

因此，在一個態樣中，提供一種多重特異性抗體分子，其包含以下或由以下組成：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X表示具有SEQ ID NO:2給出的序列之連接子；

Y表示具有SEQ ID NO:2給出的序列之連接子；

V₁表示包含式(III)：VH2-Z1-VL2之多肽鏈或由其組成的dsscFv，其中VH2表示重鏈可變域，Z1表示具有SEQ ID NO:68給出的序列之連接子，VL2表示輕鏈可變域，VH2係與X連接，例如經肽鍵，及V1之可變域VH2及VL2係藉由介於兩個經改造半胱胺酸(一者在位置VH44及另一者在VL100)之間的鍵連接；

V_{L1}表示輕鏈可變域；

C_L表示來自輕鏈恆定區的域，諸如C_K；

V₂表示包含式(V)：VH3-Z2-VL3之多肽鏈或由該多肽鏈組成之dsscFv，其中VH3表示重鏈可變域，Z2表示具有SEQ ID NO:68給出的序列之連接子，VL3表示輕鏈可變域，VH3係與Y連接，例如經肽鍵，及V2之可變域VH3及VL3係藉由介於兩個經改造半胱胺酸殘基(一者在位置VH44及另一者在位置VL100)之間的雙硫鍵連接；

其中VH1及VL1包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域；及V1包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及V2包含對人類血清白蛋白具特異性之結合域；或V2包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及V1包含對人類血清白蛋白具特異性之結合域。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列之CDR、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列之CDR、具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之CDR中之至少一者。在一個實施例中，該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序

列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR。在一個實施例中，該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含3個重鏈CDR且CDRH1之序列與SEQ ID NO:85給出的序列具有至少60%之同一性或相似性，CDRH2之序列與SEQ ID NO:86給出的序列具有至少60%之同一性或相似性及CDRH3之序列與SEQ ID NO:87給出的序列具有至少60%之同一性或相似性。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:136給出的CDRL1序列之CDR、具有SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139給出的CDRL2序列之CDR及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之CDR中之至少一者。在一個實施例中，該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139給出的CDRL2序列或具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。在一個實施例中，該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含3個輕鏈CDR且CDRL1之序列與SEQ ID NO:88或SEQ ID NO:136給出的序列具有至少60%之同一性或相似性，CDRL2之序列與SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139給出的序列具有至少60%之同一性或相似性及CDRL3之序列與SEQ ID NO:90給出的序列具有至少60%之同一性或相似性。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3

序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:137、SEQ ID NO:138或SEQ ID NO:139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列；與SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列之重鏈可變域，其中CDRH1、CDRH2及CDRH2具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出之CDRH3序列。

在一個實例中，對人類TNF- α 具特異性之結合域為人類化的。在本發明之人類化抗體中，受體重鏈及輕鏈不必一定衍生自相同抗體且若需要則可包含具有衍生自不同鏈的框架區之複合鏈。

在一個實例中，本發明之TNF- α 結合域的重鏈之一種此類適合的框架區係衍生自人類VH3 1-3 3-21 JH4受體框架。

因此，在一個實例中，對TNF- α 具特異性之結合域包含重鏈可變

域，其包含一或多個選自SEQ ID NO:85給出的CDR-H1序列、SEQ ID NO:86給出的CDR-H2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之CDR，其中該重鏈框架區係衍生自人類受體框架VH3 1-3 3-21 JH4。

在本發明之人類化抗體中，框架區不一定完全具有與受體抗體之序列完全相同的序列。例如，非尋常殘基可經改變為該受體鏈類別或類型的更頻繁生成之殘基。或者，可改變受體框架區中的所選殘基使得彼等對應於在供體抗體中的相同位置發現的殘基(參見Reichmann等人，1998，Nature，332，323-324)。該等變化應保持至恢復供體抗體之親和力所需的最低程度。用於選擇可能需要改變之受體框架區中的殘基之方案陳述於WO91/09967中。

因此，在一個實施例中，重鏈及/或輕鏈框架中的1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個或10個殘基係經替代性胺基酸殘基置換。

因此，在一個實例中，對TNF- α 具特異性之結合域包含重鏈可變域，其中在重鏈的可變域之位置24、48、49、71、73、78及93 (Kabat編號)的殘基中之至少一者為供體殘基，參見例如SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基24係經替代性胺基酸(例如蘇胺酸)置換。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基48係經替代性胺基酸(例如異白胺酸)置換。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基49係經替代性胺基酸(例如甘胺酸)置換。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基71係經替代性胺基酸(例如纈胺

酸)置換。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基73係經替代性胺基酸(例如離胺酸)置換。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基78係經替代性胺基酸(例如丙胺酸)置換。

在一個實施例中，重鏈可變域之殘基93係經替代性胺基酸(例如蘇胺酸)置換。

在一個實施例中，根據本發明之人類化抗-TNF α 重鏈可變域中的殘基48為異白胺酸，殘基49為甘胺酸，71為纈胺酸，73為離胺酸，78為丙胺酸及殘基93為蘇胺酸。

因此，在一個實施例中，提供一種人類化TNF- α 結合域，其中在重鏈的可變域之位置48、49、71、73、78及93 (Kabat編號)各者處之殘基中的至少一者為供體殘基，參見例如SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列。

在一個實例中，提供一種人類化TNF- α 結合域，其中至少在重鏈的可變域之位置24、48、49、71、73、78及93 (Kabat編號)各者處的殘基為供體殘基。

在一個實例中，用於本發明之人類化TNF- α 結合域的輕鏈之適合的框架區係衍生自人類受體框架VK1 2-1(U) A20 JK2。

因此，在一個實例中，對TNF- α 具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:88或136給出的CDR-L1序列、SEQ ID NO:89、137、138或139給出的CDR-L2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之輕鏈可變域，其中該輕鏈框架區係衍生自人類受體框架VK1 2-1(U) A20 JK2。

在一個實例中，對TNF- α 具特異性之結合域包含人類化輕鏈可變域，其中在輕鏈的可變域之位置65、71及87 (Kabat編號)的殘基中之一或多者為供體殘基，參見例如SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列。

在一個實例中，提供一種人類化TNF- α 結合域，其中至少在輕鏈的可變域之位置65、71及87 (Kabat編號)各處的殘基為供體殘基，參見例如SEQ ID NO:91或95給出的序列。

在一個實施例中，輕鏈可變域之殘基65係經替代性胺基酸(例如蘇胺酸)置換。

在一個實施例中，輕鏈可變域中之殘基71係經替代性胺基酸(例如酪胺酸)置換。

在一個實施例中，輕鏈可變域中之殘基87係經替代性胺基酸(例如苯丙胺酸)置換。

在一個實施例中，根據本發明之人類化抗-TNF- α 輕鏈可變區中的殘基65為蘇胺酸，殘基71為酪胺酸及殘基87為苯丙胺酸。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列；與SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列之輕鏈可變域，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:91給出的序列之輕鏈可

變域及含有SEQ ID NO:92給出的序列之重鏈可變域。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:147給出的序列之輕鏈可變域及含有SEQ ID NO:92給出的序列之重鏈可變域。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:95給出之輕鏈可變域及含有SEQ ID NO:96給出的序列之重鏈可變域。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該抗體包含對TNF- α 具特異性之dsscFv且該dsscFv包含SEQ ID NO:101給出的序列；與SEQ ID NO:101給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:101給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列且CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該抗體包含對人類TNF- α 具特異性之scFv且scFv包含SEQ ID NO:99給出的序列；與SEQ ID NO:99給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:99給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列且CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序

列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列。

在本發明的其中抗體分子包含如上所定義的式(I)及式(II)之多肽鏈或由其組成之態樣中，抗體分子可包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88或136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89或137或138或139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR，其係在抗體分子中的位置 V_{H1}/V_{L1} 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88或136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89或137或138或139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR係在本發明構築體中的位置 V_1 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及以具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88或136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89或137或138或139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明構築體中的位置 V_2 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88或136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89或137或138或139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明構築體中的 V_1 及 V_2 。在一個實施例中，

具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88或136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89或137或138或139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_1 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88或136給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:89或137或138或139給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_2 。

在一個實施例中，在包含本發明式(I)及式(II)的多肽鏈之抗體分子中的TNF- α 結合位點包含選自SEQ ID NO:92及SEQ ID NO:96之重鏈可變域及選自SEQ ID NO:91及SEQ ID NO:95之輕鏈可變域，特別地，重鏈及輕鏈分別為SEQ ID NO:92及91或SEQ ID NO:96及95。在一個實施例中，此等域係在本發明之構築體的位置 V_{H1}/V_{L1} 中。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_1 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_2 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_1 及 V_2 。在一個實施例中，此等可變域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_1 。在一個實施例中，此等可變域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_2 。當可變域係在本發明之構築體的兩個位置時，相同對的可變域可在各個位置或可使用兩個不同對的可變域。

在一個實施例中，在包含本發明式(I)及式(II)之多肽鏈的抗體分子中之TNF- α 結合位點包含對人類TNF- α 具特異性之dsscFv且該dsscFv包含

SEQ ID NO:101給出的序列。在一個實施例中，包含SEQ ID NO:101給出的序列之dsscFv係在位置V₁及/或V₂。在一個實施例中，包含SEQ ID NO: 101給出的序列之dsscFv係在位置V₁。在一個實施例中，包含SEQ ID NO: 101給出的序列之dsscFv係在位置V₂。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含3個重鏈CDR，其具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列。在一個實施例中，該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含3個重鏈CDR且該CDRH1之序列與SEQ ID NO:71給出的序列具有至少60%之同一性或相似性，該CDRH2之序列與SEQ ID NO:72給出的序列具有至少60%之同一性或相似性及該CDRH3之序列與SEQ ID NO:73給出的序列具有至少60%之同一性或相似性。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含3個輕鏈CDR，其具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列。在一個實施例中，該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域另外包含3個輕鏈CDR且該CDRL1之序列與SEQ ID NO:74給出的序列具有至少60%之同一性或相似性，該CDRL2之序列與SEQ ID NO:75給出的序列具有至少60%之同一性或相似性及該CDRL3之序列與SEQ ID NO:76給出的序列具有至少60%之同一性或相似性。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的

CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:78給出的序列；與SEQ ID NO:78給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:78給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列之重鏈可變域，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:77給出的序列；與SEQ ID NO:77給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:77給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之輕鏈可變域。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:78給出的序列之重鏈可變域及含有SEQ ID NO:77給出的序列之輕鏈可變域。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:82給出的序列；與SEQ ID NO:82給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序

列；或與SEQ ID NO:82給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列之重鏈可變域及重鏈恆定域，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:81給出的序列；與SEQ ID NO:81給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:81給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列之輕鏈可變域及輕鏈恆定域，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:82給出的序列之重鏈及具有SEQ ID NO:81給出的序列之輕鏈。

在本發明的其中抗體分子包含如上文所述的式(I)及式(II)之多肽鏈或由該多肽鏈組成之態樣中，該抗體分子可包含具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、具有SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及具有SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、具有SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及具有SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR，該3個重鏈CDR及該3個輕鏈CDR係在該抗體分子的位置 V_{H1}/V_{L1} 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的

CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_1 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_2 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR係在本發明構築體中的位置 V_1 及 V_2 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_1 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列的3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_2 。

在一個實施例中，包含本發明的式(I)及式(II)之多肽鏈的抗體分子中之IL-17A及IL-17F結合位點包含SEQ ID NO:78給出的重鏈可變域及SEQ ID NO:77給出的輕鏈可變域。在一個實施例中，此等域係在本發明之構

築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_1 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_2 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_1 及 V_2 。在一個實施例中，此等可變域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_1 。在一個實施例中，此等可變域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_2 。

在一個實施例中，包含本發明的式(I)及式(II)之多肽鏈的抗體分子中之IL-17A及IL-17F結合位點包含具有在位置 V_{H1} 之SEQ ID NO:82給出的序列之重鏈及具有在位置 V_{L1} 之SEQ ID NO:81給出的序列之輕鏈。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包含對人類血清白蛋白具特異性之結合域，該結合域包含具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR。在一個實施例中，該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含3個重鏈CDR且該CDRH1之序列與SEQ ID NO:103給出的序列具有至少60%之同一性或相似性，該CDRH2之序列與SEQ ID NO:104給出的序列具有至少60%之同一性或相似性及該CDRH3之序列與SEQ ID NO:105給出的序列具有至少60%之同一性或相似性。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包含對人類血清白蛋白具特異性之結合域，該結合域包含具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。在一個實施例中，該對人類血清白蛋白具特異性之結合域另外包含3個輕鏈CDR且該CDRL1之序列與SEQ ID NO:106給出的序列具有至少60%之同一性或相似性，該

CDRL2之序列與SEQ ID NO:107給出的序列具有至少60%之同一性或相似性及該CDRL3之序列與SEQ ID NO:108給出的序列具有至少60%之同一性或相似性。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包含對人類血清白蛋白具特異性之結合域，該結合域包含SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體結合分子，其中該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:114給出的序列；與SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:114給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:114給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列之重鏈可變域，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列。

本發明提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其中該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:109或SEQ ID NO:113給出的序列、與SEQ ID NO:109或SEQ ID NO:113給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:109或SEQ ID NO:113給出的序列具有至少80%之同一性或相似性之輕鏈可變域，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、

SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體結合分子，其中該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:110給出的序列之重鏈可變域及含有SEQ ID NO:109給出的序列之輕鏈可變域。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體結合分子，其中該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含含有SEQ ID NO:114給出的序列之重鏈可變域及含有SEQ ID NO:113給出的序列之輕鏈可變域。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體結合分子，其中該抗體包含對人類血清白蛋白具特異性之dsscFv且該dsscFv包含SEQ ID NO:119給出的序列；與SEQ ID NO:119給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:119之序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列、SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列，及CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體結合分子，其中該抗體包含對人類血清白蛋白具特異性之scFv且該scFv包含SEQ ID NO:117給出的序列；與SEQ ID NO:117給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:117給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列及CDRL1、CDRL2及CDRL3具有SEQ ID

NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列。

在本發明的其中抗體分子包含如上文所定義的式(I)及式(II)之多肽鏈或由該多肽鏈組成之態樣中，該抗體分子可包含具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR，該3個重鏈CDR及該3個輕鏈CDR係在抗體分子中的位置 V_{H1}/V_{L1} 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_1 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_2 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_1 及 V_2 。在一個實施例中，具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列

及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_1 。在一個實施例中，SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之該3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之該3個輕鏈CDR係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_2 。

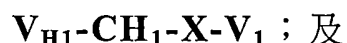
在一個實施例中，本發明的包含式(I)及式(II)之多肽鏈的抗體分子中之人類血清白蛋白結合位點包含選自SEQ ID NO:110及SEQ ID NO:114之重鏈可變域及選自SEQ ID NO:109及SEQ ID NO:113之輕鏈可變域，特定言之，重鏈及輕鏈分別為SEQ ID NO:110及109或SEQ ID NO:114及113。在一個實施例中，此等域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_1 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_2 。在一個實施例中，此等可變域係在位置 V_1 及 V_2 。在一個實施例中，此等可變域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_1 。在一個實施例中，此等可變域係在本發明之構築體中的位置 V_{H1}/V_{L1} 及 V_2 。當可變域在本發明之構築體中的兩個位置時，可以是相同的可變域對在每個位置或可使用兩個不同的可變域對。

在一個實施例中，本發明的包含式(I)及(II)之多肽鏈的抗體分子中之人類血清白蛋白結合位點包含對人類血清白蛋白具特異性之dsscFv且該dsscFv包含SEQ ID NO:119給出的序列。在一個實施例中，該包含SEQ ID NO:119給出的序列之dsscFv係在位置 V_1 及/或 V_2 。在一個實施例中，

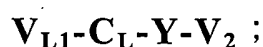
該包含SEQ ID NO:119給出的序列之dsscFv係在位置V₁。在一個實施例中，該包含SEQ ID NO:119給出的序列之dsscFv係在位置V₂。

在本發明之一個態樣中，如上文所定義之多重特異性抗體分子係呈包含以下或由以下組成之二聚體的形式提供：

a)式(I)之多肽鏈：



b)式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1}表示包含具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR之重鏈可變域；

CH₁表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X表示鏈或連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y表示鏈或連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

V₁表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR；

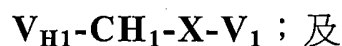
V_{L1}表示包含具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR之輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域，諸如 C_{κ} ；

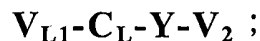
V_2 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

在本發明之一個態樣中，如上文所定義之多重特異性抗體分子係呈包含以下或由以下組成之二聚體的形式提供：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示包含具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR之重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X表示鏈或連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y表示鏈或連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

V_1 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之3個輕鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的

CDRL3序列之3個輕鏈CDR；

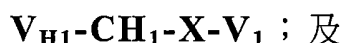
V_{L1} 表示包含具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR之輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域，諸如 C_K ；

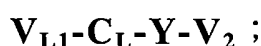
V_2 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

在一個態樣中，提供一種包含以下或由以下組成之多重特異性抗體分子：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示具有SEQ ID NO:78給出的序列之重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X 表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y 表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

V_1 表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:96給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:95給出的序列之輕鏈可變域；

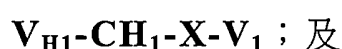
V_{L1} 表示具有SEQ ID NO:77給出的序列之輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域，諸如 C_K ；

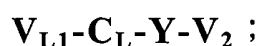
V_2 表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:114給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:113給出的序列之輕鏈可變域。

在一個態樣中，提供一種包含以下或由以下組成之多重特異性抗體分子：

a)式(I)之多肽鏈：



b)式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示具有SEQ ID NO:78給出的序列之重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X 表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y 表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

V_1 表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:114給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:113給出的序列之輕鏈可變域；

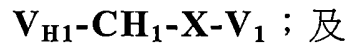
V_{L1} 表示具有SEQ ID NO:77給出的序列之輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域，諸如 C_K ；

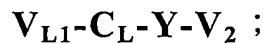
V_2 表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:96給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:95給出的序列之輕鏈可變域。

在一個態樣中，提供一種多重特異性抗體分子，其包含以下或由以下組成：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 及 CH_1 表示具有SEQ ID NO:82給出的序列之重鏈可變域及重鏈恆定域；

X 表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y 表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

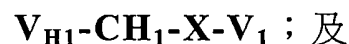
V_1 表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:96給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:95給出的序列之輕鏈可變域；

V_{L1} 及 C_L 表示具有SEQ ID NO:81給出的序列之輕鏈可變域及輕鏈恆定域；

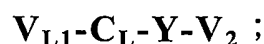
V_2 表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:114給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:113給出的序列之輕鏈可變域。

在一個態樣中，提供一種多重特異性抗體分子，其包含以下或由以下組成：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 及 CH_1 表示具有SEQ ID NO:82給出的序列之重鏈可變域及重鏈

恆定域；

X表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

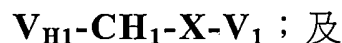
V₁表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:114給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:113給出的序列之輕鏈可變域；

V_{L1}及C_L表示具有SEQ ID NO:81給出的序列之輕鏈可變域及輕鏈恆定域；

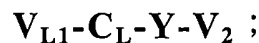
V₂表示dsscFv，其包含具有SEQ ID NO:96給出的序列之重鏈可變域及具有SEQ ID NO:95給出的序列之輕鏈可變域。

在一個態樣中，提供一種多重特異性抗體分子，其包含以下或由以下組成：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1}及CH₁表示具有SEQ ID NO:82給出的序列之重鏈可變域及重鏈恆定域；

X表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

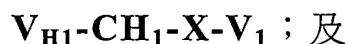
V₁表示dsscFv，其包含SEQ ID NO:101給出的序列；

V_{L1}及C_L表示具有SEQ ID NO:81給出的序列之輕鏈可變域及輕鏈恆定域；

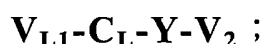
V_2 表示dsscFv，其包含SEQ ID NO:119給出的序列。

在一個態樣中，提供一種多重特異性抗體分子，其包含以下或由以下組成：

a)式(I)之多肽鏈：



b)式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 及 CH_1 表示具有SEQ ID NO:82給出的序列之重鏈可變域及重鏈恆定域；

X表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

Y表示連接子，例如具有SEQ ID NO:2給出的序列；

V_1 表示dsscFv，其包含SEQ ID NO:119給出的序列；

V_{L1} 及 C_L 表示具有SEQ ID NO:81給出的序列之輕鏈可變域及輕鏈恆定域；

V_2 表示dsscFv，其包含SEQ ID NO:101給出的序列。

本發明提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，其中該抗體分子包含以下或由以下組成：

a)包含以下或由以下組成之第一多肽：

i SEQ ID NO:125給出的序列；

ii 與SEQ ID NO:125給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或

iii 與SEQ ID NO:125給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中該序列包含具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR、具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR；及

b)包含以下或由以下組成之第二多肽：

i SEQ ID NO:131給出的序列；

ii 與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%之同一性或相似性；或

iii 與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中該序列包含3具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之個輕鏈CDR、具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列SEQ ID NO:105給出的及CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

在一個實施例中，該抗體分子包含以下或由以下組成：具有SEQ ID NO:125給出的序列之第一多肽；及具有SEQ ID NO:131給出的序列之第二多肽。

本發明亦提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，且包含以下或由以下組成：

a) 包含以下或由以下組成之第一多肽：

- i SEQ ID NO:127給出的序列；
- ii 與SEQ ID NO:127給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或
- iii 與SEQ ID NO:127給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中該序列包含具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR、具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR；及；

b) 包含以下或由以下組成之第二多肽：

- i SEQ ID NO:131給出的序列；
- ii 與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列；或
- iii 與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%之同一性或相似性的序列，其中該序列包含具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR、具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ

ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列之3個重鏈CDR及具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列之3個輕鏈CDR。

在一個實施例中，該抗體分子包含以下或由以下組成：具有SEQ ID NO:127給出的序列之第一多肽及具有SEQ ID NO:131給出的序列之第二多肽。

本發明亦提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，且包含以下或由以下組成：具有SEQ ID NO:121給出的序列之第一多肽；及具有SEQ ID NO:129給出的序列之第二多肽。

本發明亦提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，且包含以下或由以下組成：具有SEQ ID NO:123給出的序列之第一多肽；及具有SEQ ID NO:129給出的序列之第二多肽。

本發明亦提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，其包含由SEQ ID NO:126給出的多核苷酸序列編碼之第一多肽及由SEQ ID NO:132給出的多核苷酸序列編碼之第二多肽或由該等多肽組成。

本發明亦提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異

性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，其包含由SEQ ID NO:144給出的多核苷酸序列編碼之第一多肽及由SEQ ID NO:146給出的多核苷酸序列編碼之第二多肽或由該等多肽組成。

本發明亦提供一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，其包含由SEQ ID NO:143給出的多核苷酸序列編碼之第一多肽及由SEQ ID NO:145給出的多核苷酸序列編碼之第二多肽或由該等多肽組成。

在一個實施例中，根據本發明的三特異性抗體分子包含以下或由以下組成：由選自SEQ ID NO:132、SEQ ID NO:146或SEQ ID NO:145之多核苷酸序列編碼的第一多肽及由選自SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:144或SEQ ID NO:143之多核苷酸序列編碼的第二多肽。如上文所定義之三特異性抗體分子較佳能夠中和人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F的生物活性。

本發明亦提供與本文中所揭示的序列具有80%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相似的序列。

如本文中所使用，「同一性」指示經比對之序列中的任何特定位置之胺基酸殘基在該等序列間係相同。

如本文中所使用，「相似性」指示在經比對之序列中的任何特定位置之胺基酸殘基在該等序列間係具有相似類型。例如，白胺酸可由異白胺酸或纈胺酸取代。可常彼此取代之其他胺基酸包括(但不限於)：

- 苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸(具有芳族側鏈之胺基酸)；

- 離胺酸、精胺酸及組胺酸(具有鹼性側鏈之胺基酸)；
- 天冬胺酸及麩胺酸(具有酸性側鏈之胺基酸)；
- 天冬醯胺酸及麩醯胺酸(具有醯胺側鏈之胺基酸)；及
- 半胱胺酸及甲硫胺酸(具有含硫側鏈之胺基酸)。

可輕易地計算得同一性及相似性的程度(Computational Molecular Biology, Lesk, A.M.編, Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W.編, Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, 第1章, Griffin, A.M.及Griffin, H.G.編, Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M.及Devereux, J.編, M Stockton Press, New York, 1991, BLAST™軟體從NCBI獲得(Altschul, S.F.等人, 1990, J. Mol. Biol. 215: 403-410; Gish, W. & States, D.J.1993, Nature Genet. 3: 266-272. Madden, T.L.等人, 1996, Meth. Enzymol. 266: 131-141; Altschul, S.F.等人, 1997, Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402; Zhang, J. & Madden, T.L.1997, Genome Res. 7: 649-656)。

用於本發明的多重特異性構築體之抗體可由相關技術中已知的任何適宜方法生產。

針對抗原多肽所生產之抗體可(在動物需要免疫接種的情況下)藉由使用熟知且常規的方案(參見例如Handbook of Experimental Immunology, D. M. Weir(編), 第4卷, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, England, 1986)對動物(較佳為非人類動物)投與該等多肽而獲得。可免疫

接種許多溫血動物諸如兔、小鼠、大鼠、羊、牛、駱駝或豬。然而，小鼠、兔、豬及大鼠一般最適合。

單株抗體可藉由相關技術中已知的任何方法，諸如融合瘤技術(Kohler & Milstein, 1975, Nature, 256:495-497)、三元融合瘤(trioma)技術、人類B-細胞融合瘤技術(Kozbor等人 1983, Immunology Today, 4:72)及EBV-融合瘤技術(Cole等人, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, 第77-96頁, Alan R Liss, Inc., 1985)來製備。

抗體亦可使用單淋巴細胞抗體方法藉由選殖並表現從單淋巴細胞產生的免疫球蛋白可變區cDNA來產生，免疫球蛋白可變區cDNA係藉由例如Babcook, J.等人 1996, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(15): 7843-78481; WO92/02551; WO2004/051268及WO2004/106377所述的方法，自經篩選以用於產生特異性抗體之單一淋巴細胞得到。

用於本發明中之抗體亦可使用相關技術中已知的各種噬菌體顯示方法來產生且包括彼等由以下各案所揭示者：Brinkman等人(J. Immunol. Methods, 1995, 182: 41-50)、Ames等人(J. Immunol. Methods, 1995, 184: 177-186)、Kettleborough等人(Eur. J. Immunol. 1994, 24: 952-958)、Persic等人(Gene, 1997 187 9-18)、Burton等人(Advances in Immunology, 1994, 57:191-280)及WO90/02809; WO91/10737; WO92/01047; WO92/18619; WO93/11236; WO95/15982; WO95/20401; 及US 5,698,426; 5,223,409; 5,403,484; 5,580,717; 5,427,908; 5,750,753; 5,821,047; 5,571,698; 5,427,908; 5,516,637; 5,780,225; 5,658,727; 5,733,743; 5,969,108及WO20011/30305。

在一個實施例中，根據本發明之多重特異性分子為人類化的。

如本文中所使用，人類化(其包括CDR-移植抗體)係指具有來自非人類物種之一或多個互補決定區(CDR)及來自人類免疫球蛋白分子的框架區之分子(參見，例如US 5,585,089；WO91/09967)。應明瞭，可僅需要轉移CDR的決定特異性之殘基替代整個CDR(參見例如Kashmiri等人，2005，Methods，36，25-34)。人類化抗體可視情況另外包含一或多個衍生自衍生CDR之非人類物種之框架殘基。

如本文中所使用，術語「人類化抗體分子」係指其中重鏈及/或輕鏈包含來自供體抗體(例如鼠單株抗體)的移植至受體抗體(例如人類抗體)的重鏈及/或輕鏈可變區框架中之一或多個CDR(若需要則包含一或多個經修飾之CDR)的抗體分子。回顧可參見Vaughan等人，Nature Biotechnology，16，535-539，1998。在一個實施例中，替代轉移整個CDR，僅將來自上文中所述CDR中之任何一者的特異性決定殘基中之一或多者轉移至人類抗體框架(參見例如Kashmiri等人，2005，Methods，36，25-34)。在一個實施例中，僅將來自上文中所述CDR中之一或多者的特異性決定殘基轉移至人類抗體框架。在另一個實施例中，僅將來自上文中所述CDR中之各者的特異性決定殘基轉移至人類抗體框架。

當CDR或特異性決定殘基係經移植時，考慮到衍生得到CDR之供體抗體的類別/類型，包括小鼠、靈長類動物及人類框架區，可使用任何適合的受體可變區框架序列。適當地，根據本發明之人類化抗體具有包含人類受體框架區之可變域以及其中所提供的CDR中之一或多者。

可用於本發明中之人類框架的實例為KOL、NEWM、REI、EU、TUR、TEI、LAY及POM(Kabat等人，同上)。例如，KOL及NEWM可用於重鏈，REI可用於輕鏈及EU、LAY及POM可用於重鏈及輕鏈二者。或

者，可使用人類生殖系序列；此等可在：<http://www.imgt.org/> 或 <http://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/vbase/list2.php> 下得到。

在本發明之人類化抗體分子中，受體重鏈及輕鏈不一定衍生自相同抗體且可(若需要)包含具有衍生自不同鏈之框架區的複合鏈。

該等框架區不一定恰好具有與受體抗體的序列完全相同的序列。例如，非尋常殘基可經改變成該受體鏈類別或類型的更頻繁生成之殘基。或者，受體框架區中的所選殘基可經改變使得彼等對應於在供體抗體中的相同位置所發現的殘基(參見Reichmann等人 1998，Nature，332，323-324)。該等變化應保持至恢復供體抗體之親和力所必需的最低程度。用於選擇可能需要改變之受體框架區中的殘基之方案陳述於WO91/09967中。

框架之衍生物可具有1個、2個、3個或4個經替代性胺基酸(例如經供體殘基)置換之胺基酸。

供體殘基為來自供體抗體(即，最初衍生CDR的抗體)之殘基。供體殘基可經衍生自人類受體框架之適合的殘基(受體殘基)置換。

在一個實施例中，本發明之多重特異性抗體為全人類的，特定言之，可變域中之一或多者為全人類的。

全人類分子為其中重鏈及輕鏈二者之可變區及恆定區(若存在)全源自人類，或與源自人類的序列(不一定源自相同抗體)實質上相同之分子。全人類抗體的實例可包括例如藉由上述噬菌體顯示方法產生的抗體及由其中鼠免疫球蛋白可變區及視情況恆定區基因已經彼等人類對應物(例如如EP0546073、US5,545,806、US5,569,825、US5,625,126、US5,633,425、US5,661,016、US5,770,429、EP 0438474及EP0463151中概述)置換的小鼠所產生的抗體。

在一個實施例中，本發明之多重特異性抗體分子係經處理以提供經改良之針對靶抗原之親和力。該等變體可藉由多種親和力成熟方案包括使CDR突變(Yang等人 J. Mol. Biol. , 254 , 392-403 , 1995)、鏈混組(chain shuffling)(Marks等人 , Bio/Technology , 10 , 779-783 , 1992)、使用大腸桿菌的突變株(Low等人 , J. Mol. Biol. , 250 , 359-368 , 1996)、DNA混組(Patten等人 , Curr. Opin. Biotechnol. , 8 , 724-733 , 1997)、噬菌體顯示(Thompson 等人 , J. Mol. Biol. , 256 , 77-88 , 1996)及有性PCR(Cramer等人 Nature , 391 , 288-291 , 1998)來獲得。Vaughan等人(同上)論述此等親和力成熟方法。

如此處在該情況中所使用的經改良之親和力係指優於起始分子的改良。

若需要，用於本發明中之多重特異性抗體構築體可共軛至一或多個效應分子。應明瞭，該效應分子可包含單一效應分子或經如此連接以便形成可連接至本發明之抗體的單一部分之兩個或更多個該等分子。在希望獲得連接至效應分子之抗體片段的情況下，此可藉由其中抗體片段直接或經由偶聯劑連接至效應分子的標準化學或重組DNA程序來製備。相關技術中熟知用於將該等效應分子共軛至抗體之技術(參見，Hellstrom等人 Controlled Drug Delivery , 第2版，Robinson等人編，1987，第623-53頁；Thorpe等人 1982 , Immunol. Rev. , 62:119-58及Dubowchik等人 1999 , Pharmacology and Therapeutics , 83 , 67-123)。特定的化學程序包括(例如)彼等述於WO93/06231、WO92/22583、WO89/00195、WO89/01476及WO03031581中的程序。或者，在效應分子為蛋白質或多肽的情況下，可使用重組DNA程序，例如如WO86/01533及EP0392745中

所述，來達成連接。

如本文中所使用，術語「效應分子」包括(例如)生物活性蛋白質(例如酵素、其他抗體或抗體片段)、合成或天然生成之聚合物、核酸及其片段(例如DNA、RNA及其片段)、放射性核素(特別為放射性碘、放射性同位素)、螯合金屬、奈米粒子及報導子基團(諸如螢光化合物或可藉由NMR或ESR光譜偵測到的化合物)。

其他效應分子可包括經螯合之放射性核素，諸如 ^{111}In 及 ^{90}Y 、 $\text{Lu}177$ 、 $\text{Bi}213$ 、 $\text{Po}252$ 、 $\text{Ac}192$ 及 $\text{Po}188/\text{Po}188$ ；或藥物，諸如(但不限於)烷基磷酸膽鹼、拓撲異構酶I抑制劑、類紫杉醇(taxoid)及蘇拉明(suramin)。

其他效應分子包括蛋白質、肽及酵素。所關注的酵素包括(但不限於)蛋白質分解酵素、水解酶、裂解酶、異構酶、轉移酶。所關注的蛋白質、多肽及肽包括(但不限於)免疫球蛋白、毒素(諸如相思豆毒素、蓖麻毒素A、假單胞菌外毒素或白喉毒素)、蛋白質(諸如胰島素、 α -干擾素、 β -干擾素、神經生長因子、血小板衍生之生長因子或組織胞漿素原活化物)、血栓形成劑或抗血管生成劑(例如血管抑素或內皮抑素)或生物反應調節劑(諸如淋巴細胞活素、介白素-1 (IL-1)、介白素-2 (IL-2)、粒細胞巨噬細胞群落刺激因子(GM-CSF)、粒細胞群落刺激因子(G-CSF)、神經生長因子(NGF)或其他生長因子)及免疫球蛋白。

其他效應分子可包括可用於例如診斷中之可偵測物質。可偵測物質的實例包括各種酵素、輔基、螢光材料、發光材料、生物發光材料、放射性核種、正電子發射金屬(用於正電子發射斷層攝影術)及非放射性順磁性金屬離子。可共軛至用作診斷的抗體之金屬離子一般參見US4,741,900。

穩定酵素包括辣根過氧化物酶、鹼性磷酸酶、 β 半乳糖苷酶或乙醯膽鹼酯酶；適合的輔基包括鏈黴親和素、抗生物素蛋白(avidin)及生物素；適合的螢光材料包括傘形酮(umbelliferone)、螢光素、異硫氰酸螢光素、若丹明(rhodamine)、二氯三嗪胺螢光素、丹磺醯氯及藻紅素；適合的發光材料包括魯米諾(luminol)；適合的生物發光材料包括螢光素酶、蟲螢光素(luciferin)及水母素(aequorin)；及適合的放射性核種包括 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{111}In 及 ^{99}Tc 。

在另一個實施例中，效應分子可增加抗體於活體內的半衰期，且/或降低抗體的免疫原性且/或增進抗體跨上皮障壁遞送至免疫系統。此種類型之適合效應分子的實例包括聚合物、白蛋白、白蛋白結合蛋白或白蛋白結合化合物，諸如彼等述於WO05/117984中者。

在效應分子為聚合物的情況下，其一般可為合成或天然生成之聚合物，例如視情況經取代之直鏈或分支鏈聚伸烷基、聚伸烯基或聚氧伸烷基聚合物或分支鏈或非分支鏈多醣，例如同質-或異質-多醣。

可存在於上述合成聚合物上之具體可選取代基包括一或多個羥基、甲基或甲氧基。

合成聚合物的具體實例包括視情況經取代之直鏈或分支鏈聚(乙二醇)、聚(丙二醇)聚(乙烯醇)或其衍生物，尤其為視情況經取代之聚(乙二醇)，諸如甲氧基聚(乙二醇)或其衍生物。

具體的天然生成之聚合物包括乳糖、直鏈澱粉、葡聚糖、糖原或其衍生物。

如本文中所使用，「衍生物」欲包括反應性衍生物，例如硫醇-選擇性反應性基團，諸如馬來醯亞胺及類似者。反應性基團可直接或經由連接

段與聚合物連接。應明瞭，該基團的殘基在一些情況中將呈介於抗體片段與聚合物之間之連接基團之形式形成產物的一部分。

聚合物的大小可視需要改變，但一般將在從500Da至50000Da，例如從5000至40000Da，諸如從20000至40000Da之平均分子量範圍內。聚合物大小可特定言之基於產物的所欲用途，例如定位至特定組織諸如腫瘤或延長循環半衰期之能力來選擇(回顧可參見Chapman，2002，Advanced Drug Delivery Reviews，54，531-545)。因此，例如，在產物欲離開循環並穿透組織(例如)以用於治療腫瘤的情況下，可有利地使用小分子量聚合物(例如具有約5000Da分子量)。對於產物留在循環中的應用，可有利地使用較高分子量之聚合物(例如具有在從20000Da至40000Da範圍之分子量)。

適合的聚合物包括聚伸烷基聚合物，諸如聚(乙二醇)，或尤其為甲氧基聚(乙二醇)或其衍生物，且尤其具有在從約15000Da至約40000Da範圍內之分子量。

在一個實施例中，用於本發明中之抗體係連接至聚(乙二醇)(PEG)部分。在一個特定實例中，該抗體為抗體片段且該PEG分子可經由位於該抗體片段中的任何可用胺基酸側鏈或末端胺基酸官能基，例如任何游離胺基、亞胺基、硫醇基、羥基或羧基連接。該等胺基酸可天然地生成於抗體片段中或可使用重組DNA方法(參見例如US5,219,996；US 5,667,425；WO98/25971、WO2008/038024)而改造至片段中。在一個實施例中，本發明之抗體分子為經修飾之Fab片段，其中該修飾係在其重鏈的C-末端新增一或多個胺基酸以允許連接效應分子。適宜地，該等額外的胺基酸形成含有一或多個可連接效應分子的半胱胺酸殘基的經修飾之鉸鏈區。可使用

多個位點以連接兩個或更多個PEG分子。

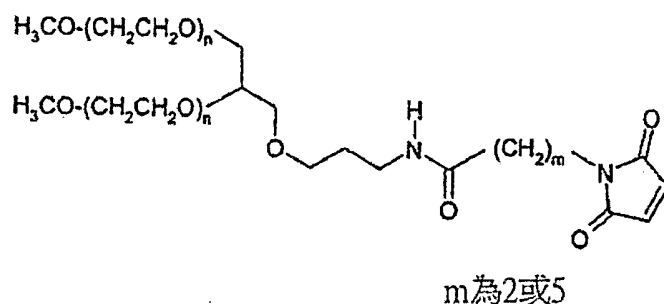
適宜地，PEG分子係經由位於抗體片段中的至少一個半胱胺酸殘基之硫醇基共價連接。連接至經修飾之抗體片段的各聚合物分子可共價連接至位於片段中的半胱胺酸殘基之硫原子。共價連接將一般為雙硫鍵，或特定言之為硫-碳鍵。在使用硫醇基作為經適當活化之效應分子的連接點的情況下，可使用例如硫醇選擇性衍生物，諸如馬來醯亞胺及半胱胺酸衍生物。可使用經活化之聚合物作為製備如上所述的經聚合物修飾之抗體片段中的起始物質。經活化之聚合物可為含有硫醇反應性基團之任何聚合物，諸如 α -鹵代羧酸或酯，例如碘乙醯胺、醯亞胺，例如馬來醯亞胺、乙烯砜或二硫化物。該等起始物質可從市面購得(例如購自Nektar，原名Shearwater Polymers Inc.，Huntsville，AL，USA)或可由市售起始物質使用習知化學程序來製得。特定的PEG分子包括20K甲氧基-PEG-胺(可獲自Nektar，原名為Shearwater；Rapp Polymere；及SunBio)及M-PEG-SPA(可獲自Nektar，原名為Shearwater)。

在一個實施例中，分子中的 $F(ab')_2$ 、Fab或Fab'係經聚乙二醇化，即，其具有與其共價連接之PEG(聚(乙二醇))，例如依揭示於EP 0948544或EP1090037中之方法[亦可參見「Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications」，1992，J. Milton Harris(編)，Plenum Press，New York，「Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications」，1997，J. Milton Harris及S. Zalipsky(編)，American Chemical Society，Washington DC及「Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences」，1998，M. Aslam及A. Dent，Grove Publishers，New

York ; Chapman, A. 2002 , Advanced Drug Delivery Reviews 2002 , 54:531-545]。在一個實施例中，PEG係連接至鉸鏈區中的半胱胺酸。在一個實例中，經PEG修飾之Fab片段具有共價連接至經修飾之鉸鏈區中的單一硫醇基之馬來醯亞胺基。離胺酸殘基可共價連接至馬來醯亞胺基且該離胺酸殘基上的胺基中之各者可連接具有約20,000Da的分子量之甲氧基聚(乙二醇)聚合物。因此，連接至Fab片段之PEG的總分子量可為約40,000Da。

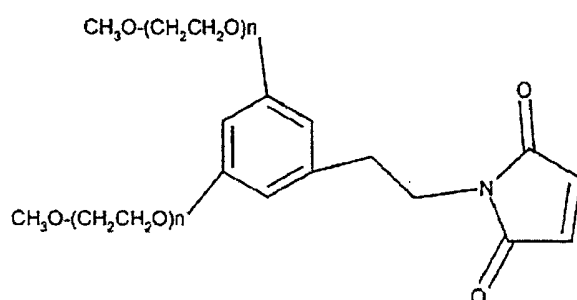
特定的PEG分子包括經N,N'-雙(甲氧基聚(乙二醇) MW 20,000)修飾之離胺酸的2-[3-(N-馬來醯亞胺基)丙醯胺基]乙基醯胺，亦稱為PEG2MAL40K (可獲自Nektar，原名為Shearwater)。

PEG連接子之替代性來源包括NOF，NOF供應GL2-400MA2(其中下方結構中的m為5)及GL2-400MA(其中m為2)及n為約450：



也就是說，各PEG為約20,000Da。

以下類型的其他替代性PEG效應分子：



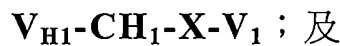
可從Dr Reddy、NOF及Jenkem獲得。

在一個實施例中，提供一種抗體分子，其係經聚乙二醇化(例如具有本文所述之PEG)，經由位於鏈中的胺基酸226 (例如重鏈的胺基酸226(藉由連續編號))或附近之半胱胺酸胺基酸殘基連接。

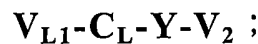
在一個實施例中，提供一種編碼本發明分子之多核苷酸序列，諸如DNA序列。

在一個實施例中，提供一種多核苷酸序列，其編碼本發明分子之一或多種，諸如兩種或更多種，或三種或更多種多肽成分，例如：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X 表示鏈或連接子；

Y 表示鏈或連接子；

V_1 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv；

V_{L1} 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域，諸如 C_k ；

V_2 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv。

在一個實施例中，該多核苷酸諸如DNA包含於載體中。

熟練技術者當明瞭，當 V_1 及/或 V_2 表示dsFv時，該多重特異性抗體將包含編碼對應之未連接至 X 或 Y 的游離 V_H 或 V_L 域之第三多肽。因此，本發

明之多重特異性蛋白質可由一或多個，兩個或更多個或三個或更多個多核苷酸編碼且此等多核苷酸可併入一或多種載體中。

熟習此項技術者熟知可構建載體的一般方法、轉染方法及培養方法。在該態樣中，參考「Current Protocols in Molecular Biology」，1999，F. M. Ausubel(編)，Wiley Interscience，New York及Maniatis Manual，由Cold Spring Harbor Publishing生產。

亦提供一種宿主細胞，其包含一或多種選殖或表現載體，該等載體包含一或多個編碼本發明之多重特異性蛋白質之DNA序列。任何適合的宿主細胞/載體系統可用於表現編碼本發明抗體分子之DNA序列。可使用細菌(例如大腸桿菌)及其他微生物系統或亦可使用真核生物(例如哺乳動物)、宿主細胞表現系統。適合的哺乳動物宿主細胞包括CHO、骨髓瘤、NSO骨髓瘤細胞及SP2細胞、COS細胞或融合瘤細胞。

本發明亦提供一種用於製備根據本發明之多重特異性蛋白質的方法，其包括在適合用於引起蛋白質自編碼本發明多重特異性蛋白質之DNA表現的條件下培養含有本發明載體之宿主細胞，及分離該多重特異性蛋白質。

為產生包含重鏈及輕鏈二者的產物，細胞系可以兩種載體(編碼輕鏈多肽之第一載體及編碼重鏈多肽之第二載體)轉染。或者，可使用單一載體，該載體包含編碼輕鏈及重鏈多肽之序列。在一個實例中，細胞系可以兩種載體(每種載體皆編碼本發明抗體分子之多肽鏈)轉染。在V₁及/或V₂為dsFv的情況下，細胞系可以三種載體(每種載體皆編碼本發明多重特異性蛋白質之多肽鏈)轉染。

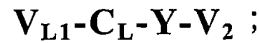
在一個實施例中，細胞系係以兩種載體轉染，每一種載體係編碼選

自以下之不同多肽：

a) 式(I)之多肽鏈：



b) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X 表示鏈或連接子；

Y 表示鏈或連接子；

V_1 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv；

V_{L1} 表示輕鏈可變域；

C_L 表示來自輕鏈恆定區的域，諸如 C_{κ} ；

V_2 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv。

在一個實施例中，當 V_1 為dsFv及 V_1 的 V_H 域係與 X 連接時，細胞系可以編碼 V_1 的 V_L 域之第三載體轉染。

在一個實施例中，當 V_1 為dsFv及 V_1 的 V_L 域係與 X 連接時，細胞系可以編碼 V_1 的 V_H 域之第三載體轉染。

在一個實施例中，當 V_2 為dsFv及 V_2 的 V_H 域係與 Y 連接時，細胞系可以編碼 V_2 的 V_L 域之第三載體轉染。

在一個實施例中，當 V_2 為dsFv及 V_2 的 V_L 域係與 Y 連接時，細胞系可以編碼 V_2 的 V_H 域之第三載體轉染。

在一個實施例中，當 V_1 及 V_2 二者皆為dsFv且 V_2 的 V_L 域係與 Y 連接及

V₁的V_L域係與X連接時，細胞系可以編碼V₁及V₂二者的共同V_H域之第三載體轉染。

在一個實施例中，當V₁及V₂二者皆為dsFv且V₂的V_H域與Y連接及V₁的V_H域與X連接時，細胞系可以編碼V₁及V₂二者的共同V_L域之第三載體轉染。

應明瞭，轉染至宿主細胞中的各載體之比率可經改變以使多重特異性抗體產物的表現最佳化。在一個使用兩種載體的實施例中，載體之比率可為1:1。在一個使用三種載體的實施例中，載體之比率可為1:1:1。應明瞭，熟練技術者能夠藉由常規測試轉染後的蛋白質表現水平而找到最佳比率。或者或另外，來自各載體之多重特異性構築體的各多肽鏈之表現水平可藉由使用相同或不同啟動子來控制。

應明瞭多肽成分中之兩者或更多者或在存在的情況下三者可由單一載體中的多核苷酸編碼。亦應明瞭在多肽成分中之兩者或更多者，特別為三者或更多者由單一載體中的多核苷酸的情況下，各編碼本發明之多肽成分的多核苷酸可藉由利用不同啟動子改變各多肽成分的相對表現。

在一個實施例中，載體包含在單一啟動子的控制下編碼本發明之多重特異性抗體分子之兩個或在存在的情況下三個多肽鏈之單一多核苷酸序列。

在一個實施例中，載體包含編碼本發明之多重特異性抗體分子之兩個或在存在的情況下三個多肽鏈之單一多核苷酸序列，其中編碼各多肽鏈之各多核苷酸序列係在不同啟動子的控制下。

根據本發明之多重特異性蛋白質係以良好水平自宿主細胞表現。因此，抗體及/或片段之性質似乎係最佳化且有利於商業處理。

有利地，本發明之多重特異性抗體分子將純化之後所看到聚集的量最小化及將醫藥濃度之構築體調配物中單體的量最大化，例如該單體可呈總蛋白質之50%、60%、70%或75%或更大，諸如80或90%或更大，諸如91、92、93、94、95、96、97、98或99%或更大存在。在一個實例中，本發明多重特異性抗體分子之純化樣品在4°C下儲存28天之後保留大於98%或99%之單體性。在一個實例中，本發明多重特異性抗體分子以5 mg/ml含在磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中之純化樣品在4°C下儲存28天之後保留大於98%之單體性。

本發明之抗體分子及包含其之組合物可用於治療，例如用於治療及/或預防病理性病症。

本發明亦提供一種醫藥或診斷組合物，其包含本發明的抗體分子與醫藥上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑中之一或多者之組合。相應地，提供本發明抗體用於治療及用於製造藥物(特別為針對本文所揭示之適應症)之用途。

該組合物將通常呈將通常包含醫藥上可接受之載劑的無菌醫藥組合物之一部分之形式供應。本發明之醫藥組合物可另外包含醫藥上可接受之助劑。

本發明亦提供一種用於製備醫藥或診斷組合物的方法，其包括添加本發明抗體分子且將其與醫藥上可接受之賦形劑、稀釋劑或載劑中之一或多者混合在一起。

該抗體分子可為醫藥或診斷組合物中的單一活性組分或可伴隨其他活性組分，包括其他抗體組分，例如抗-IL-1 β 、抗-T細胞、抗-IFN γ 或抗-LPS抗體、或非抗體組分(諸如黃嘌呤)。其他適合的活性組分包括能夠誘

導耐受性的抗體，例如，抗-CD3或抗-CD4抗體。

在另一實施例中，根據本發明之抗體、片段或組合物係與另一醫藥活性劑組合使用。

醫藥組合物適宜地包含治療有效量之本發明抗體分子。如本文中所使用，術語「治療有效量」係指治療、改善或預防目標疾病或病症，或顯示可偵測治療或預防效應所需要的治療劑的量。對於任何抗體而言，治療有效量可在細胞培養試驗或在動物模型中(通常在齧齒動物、兔、狗、豬或靈長類動物中)初步估算。動物模型亦可用於確定適當的濃度範圍及投藥途徑。該資訊可接著用於確定在人類中的有用的劑量及投藥途徑。

用於人類個體之準確的治療有效量將取決於疾病狀態的嚴重度、個體的一般健康、個體的年齡、體重及性別、飲食、投藥時間及頻率、藥物組合、反應敏感性及對療法的耐受/反應。該量可藉由常規實驗確定且在臨床醫師之判斷範圍內。一般而言，治療有效量將為從0.01 mg/kg至50 mg/kg，例如0.1 mg/kg至20 mg/kg。或者，該劑量可為1至500 mg/天，諸如10至100、200、300或400 mg/天。醫藥組合物可方便地呈包含預定量之本發明活性劑的單位劑型之形式存在。

組合物可個別地投與患者或可組合其他試劑、藥物或激素(例如同時、連續或分開)投與。

本發明抗體分子投與的劑量取決於待治療病症的性質、所存在的發炎的程度及抗體分子是否以預防方式使用或用於治療現有病症。

給藥頻率將取決於抗體分子的半衰期及其藥效的持續時間。若抗體分子具有短半衰期(例如2至10小時)，則可能需要每天提供一或多次劑量。或者，若抗體分子具有長半衰期(例如2至15天)，則可能僅需要每天

一次、每週一次或甚至每1或2個月一次提供劑量。

醫藥上可接受之載劑本身不應誘導產生對接受組合物的個體有害之抗體且不應具毒性。適合的載劑可為大、緩慢代謝之大分子，諸如蛋白質、多肽、脂質體、多醣、聚乳酸、聚乙醇酸、聚合胺基酸、胺基酸共聚物及非活性病毒顆粒。

可使用醫藥上可接受之鹽，例如無機酸鹽，諸如鹽酸鹽、氫溴酸鹽、磷酸鹽及硫酸鹽，或有機酸之鹽，諸如乙酸鹽、丙酸鹽、丙二酸鹽或苯甲酸鹽。

治療性組合物中的醫藥上可接受之載劑可另外包含液體，諸如水、鹽水、甘油及乙醇。此外，輔助物質諸如潤濕劑或乳化劑或pH緩衝物質可存於該等組合物中。該等載劑能夠使醫藥組合物調配成適合患者攝入的錠劑、丸劑、糖錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、漿液及懸浮液。

適合的投藥形式包括適合用於非經腸投與之形式，例如，藉由注射或輸注，例如藉由一次全劑量注射或連續輸注。在產品係用於注射或輸注的情況下，其可採用在油性或水性媒劑中的懸浮液、溶液或乳液之形式且其可包含調配劑，諸如懸浮劑、防腐劑、穩定劑及/或分散劑。或者，抗體分子可呈乾燥形式，以用於在與適合的無菌液體一起使用之前復水。

當完成調配時，本發明之組合物即可直接投與個體。待治療的個體可為動物。然而，在一或多個實施例中，該等組合物適合投與人類個體。

在一個實施例中，於根據本發明之調配物中，最終調配物的pH與抗體或片段的等電點值不相似，例如若調配物的pH為7，則8-9或更高之pI可能適合。當不希望受理論約束時，認為此最終可提供具有改良穩定性之最終調配物，例如該抗體或片段保留在溶液中。

本發明之醫藥組合物可藉由很多途徑投與，包括(但不限於)口服、靜脈內、肌肉內、動脈內、髓內、鞘內、室內、經皮(transdermal)、經皮(transcutaneous)(例如參見WO98/20734)、皮下、腹膜內、鼻內、腸內、局部、舌下、陰道內或直腸途徑。亦可使用無針注射器(Hypospray)來投與本發明之醫藥組合物。通常，治療性組合物可製備成呈液體溶液或懸浮液之注射液。亦可製備適合用於注射之前在液體媒劑中形成溶液或懸浮液之固體形式。較佳地，本發明之抗體分子係經皮下投與、經吸入投與或經局部投與。

該等組合物之直接遞送將一般藉由注射(皮下、腹膜內、靜脈內或肌肉內、或遞送至組織間隙空間)來達成。該等組合物亦可投與至所關注的特定組織中。劑量治療可為單劑量方案或多劑量方案。

應明瞭組合物中的活性組分將為抗體分子。因此，其將容易在胃腸道中降解。因此，若組合物欲藉由使用胃腸道的途徑投與，則該組合物將需要包含保護抗體以防降解但在已被胃腸道吸收時釋放抗體之藥劑。

醫藥上可接受之載劑的深入討論可在Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N. J. 1991)中獲得。

在一個實施例中，調配物係呈局部投與(包括吸入)之調配物提供。

適合的可吸入製劑包括可吸入粉末、含有推進氣體之計量氣霧劑或不含推進氣體之可吸入溶液(諸如可噴霧溶液或懸浮液)。根據本發明含有活性物質之可吸入粉末可僅由上述活性物質組成或由上述活性物質與生理上可接受之賦形劑之混合物組成。

此等可吸入粉末可包括單醣(例如葡萄糖或阿拉伯糖)、二醣(例如乳糖、蔗糖、麥芽糖)、寡醣及多醣(例如葡聚糖)、多元醇(例如山梨糖醇、

甘露醇、木糖醇)、鹽(例如氯化鈉、碳酸鈣)或此等物質彼此的混合物。適宜地，使用單醣或二醣，使用乳糖或葡萄糖，特別但非排他地，以彼等水合物之形式。

用於沉積在肺中的顆粒需要粒度小於10微米，諸如1-9微米，例如從0.1至5 μm ，特別為從1至5 μm 。活性劑(諸如抗體或抗體片段)的粒度係首要的。

相關技術中已知可用於製備可吸入氣霧劑的推進氣體。適合的推進氣體係選自烴(諸如正丙烷、正丁烷或異丁烷)及鹵代烴(諸如甲烷、乙烷、丙烷、丁烷、環丙烷或環丁烷之氯化及/或氟化衍生物)。上述推進氣體可單獨地或以其混合物形式使用。

特別適合的推進氣體為選自TG 11、TG 12、TG 134a及TG227之鹵化烴衍生物。上述鹵化烴中TG134a(1,1,1,2-四氟乙烷)及TG227(1,1,1,2,3,3,3-七氟丙烷)及其混合物特別適合。

含推進氣體之可吸入氣霧劑亦可包含其他組分，諸如共溶劑、穩定劑、表面活性劑、抗氧化劑、潤滑劑及用於調節pH之手段。技術中已知所有此等組分。

根據本發明的含推進氣體之可吸入氣霧劑可包含多達5重量%之活性物質。根據本發明的氣霧劑包含例如0.002至5重量%、0.01至3重量%、0.015至2重量%、0.1至2重量%、0.5至2重量%或0.5至1重量%之活性劑。

或者，肺部的局部投與亦可藉由投與液體溶液或懸浮液調配物，例如使用裝置，諸如噴霧器，例如連接至壓縮器之噴霧器(例如，連接至Pari Master(R)壓縮器之Pari LC-Jet Plus(R)噴霧器，由Pari Respiratory Equipment, Inc.，Richmond，Va.製造)。

在一個實施例中，該調配物係呈包含用於藉由噴霧傳遞的單位劑量之離散安瓿提供。

在一個實施例中，該抗體係呈凍乾形式(用於復水)又或者呈懸浮液調配物供應。

本發明之抗體可經遞送而分散於溶劑中，例如，呈溶液或懸浮液之形式。其可懸浮在適當的生理溶液，例如，生理鹽水、醫藥上可接受之溶劑或緩衝溶液中。技術中已知的緩衝溶液每1 ml水可包含0.05 mg至0.15 mg己二胺四乙酸二鈉、8.0 mg至9.0 mg NaCl、0.15 mg至0.25 mg聚山梨醇酯、0.25 mg至0.30 mg無水檸檬酸及0.45 mg至0.55 mg檸檬酸鈉以便達成約4.0至5.0的pH。如上所述，可例如從冷凍抗體製得懸浮液。

治療性懸浮液或溶液調配物亦可包含一或多種賦形劑。賦形劑為相關技術所熟知且包括緩衝劑(例如，檸檬酸鹽緩衝劑、磷酸鹽緩衝劑、乙酸鹽緩衝劑及碳酸氫鹽緩衝劑)、胺基酸、脲、醇、抗壞血酸、磷脂、蛋白質(例如血清白蛋白)、EDTA、氯化鈉、脂質體、甘露醇、山梨糖醇及甘油。溶液或懸浮液可囊封在脂質體或生物可降解微球體中。調配物將一般利用無菌製程呈實質上無菌形式利用無菌製程提供。

此可包括生產且過濾滅菌用於調配之緩衝溶劑溶液，將抗體無菌懸浮於無菌緩衝溶劑溶液中，及藉由一般技術者熟悉的方法將調配物分散至無菌容器中。

根據本發明之可噴霧調配物可例如呈包裝在箔套(foil envelope)中的單劑量單位(例如，密封塑料容器或小瓶)之形式提供。各小瓶包含某一單位體積劑量(例如，2 ml)之溶劑/溶液緩衝液。

認為本發明之抗體適合經由噴霧遞送。

亦設想本發明之抗體可藉由使用基因療法來投與。為達成此點，將在控制適當DNA成分下編碼抗體分子之重鏈及輕鏈的DNA序列引入至患者中以使該等抗體鏈自DNA序列表現且在原位組裝。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其係用於治療。

本發明亦提供一種如上文所定義之多重特異性抗體分子，其係用於控制發炎性疾病。較佳地，多重特異性抗體分子可用於減少發炎過程或防止發炎過程。

本發明亦提供本發明多重特異性抗體分子，其係用於治療或預防由TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F介導的病理性疾病或與TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F含量的增加有關的病理性疾病。較佳地，該病理性病症係選自由以下組成之群：感染(病毒性、細菌性、真菌性及寄生性)、與感染有關的內毒素性休克、關節炎、類風濕性關節炎、牛皮癬性關節炎、全身型幼年特發性關節炎(JIA)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、哮喘、慢性阻塞性呼吸道疾病(COAD)、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、急性肺部損傷、骨盤發炎性疾病、阿茲海默氏症(Alzheimer's Disease)、克羅恩氏病(Crohn's disease)、發炎性腸病、大腸激燥症候群、潰瘍性結腸炎、卡索曼氏病(Castleman's disease)、僵直性脊椎炎及其他脊椎關節炎、皮肌炎、心肌炎、葡萄膜炎、突眼症(exophthalmos)、自體免疫甲狀腺炎、佩洛尼氏病(Peyronie's Disease)、乳糜瀉、膽囊疾病、藏毛疾病(Pilonidal disease)、腹膜炎、牛皮癬、異位性皮膚炎、血管炎、手術黏連(surgical adhesions)、中風、自體免疫糖尿病、I型糖尿病、萊姆關節炎(lyme arthritis)、腦膜腦炎、中樞及周邊神經系統之免疫介導炎症(諸如多發性

硬化症及格林-巴利症候群(Guillain-Barr syndrome))、其他自體免疫病症、胰腺炎、創傷(手術)、移植物抗宿主疾病、移植排斥、纖維性疾病(包括肺纖維化、肝纖維化、腎纖維化、硬皮病或全身性硬化症)、癌症(實體腫瘤(諸如黑色素瘤、肝母細胞瘤、肉瘤、鱗狀細胞癌、移行細胞癌、卵巢癌)及惡性血液病且特別為急性髓性白血病、慢性骨髓性白血病、慢性淋巴性白血病、胃癌及結腸癌)、心臟疾病(包括缺血性疾病，諸如心肌梗塞)以及動脈粥樣硬化、血管內凝血、骨吸收、骨質疏鬆症、牙周炎及胃酸缺乏症(hypochlorhydria)。

在一個實施例中，本發明之抗體係用於治療或預防選自由關節炎、類風濕性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、全身型幼年特發性關節炎(JIA)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、哮喘、慢性阻塞性呼吸道疾病、慢性阻塞性肺部疾病、異位性皮膚炎、硬皮病、全身性硬化症、肺纖維化、發炎性腸病、僵直性脊椎炎及其他脊椎關節病及癌症組成之群的病理性病症。

在一個實施例中，本發明之抗體係用於治療或預防選自由關節炎、類風濕性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、全身型幼年特發性關節炎(JIA)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、哮喘、慢性阻塞性呼吸道疾病、慢性阻塞性肺部疾病、異位性皮膚炎、硬皮病、全身性硬化症、肺纖維化、克羅恩氏病、潰瘍性結腸炎、僵直性脊椎炎及其他脊椎關節病及癌症組成之群的病理性疾病。

在一個實施例中，本發明之抗體係用於治療或預防選自由關節炎、類風濕性關節炎、牛皮癬、牛皮癬性關節炎、全身型幼年特發性關節炎(JIA)、全身性紅斑狼瘡(SLE)、哮喘、慢性阻塞性呼吸道疾病、慢性阻塞性肺部疾病、異位性皮膚炎、硬皮病、全身性硬化症、肺纖維化、克羅恩

氏病、潰瘍性結腸炎、僵直性脊椎炎及其他脊椎關節病組成之群的病理性疾病。

在一個實施例中，本發明之抗體係用於治療或預防選自由關節炎、牛皮癬性關節炎、全身型幼年特發性關節炎(JIA)、克羅恩氏病、發炎性腸病、潰瘍性結腸炎、僵直性脊椎炎及其他脊椎關節病、牛皮癬、化膿性汗腺炎、貝西氏病(Behcet's disease)、類風濕性關節炎、全身性紅斑狼瘡(SLE)、哮喘、心肌炎、葡萄膜炎、異位性皮膚炎、血管炎、中樞及周邊神經系統之免疫介導炎症(諸如多發性硬化症及格林-巴利症候群)、其他自體免疫疾病、骨質疏鬆症、骨吸收、痛風、類肉瘤病、休格倫氏症候群(Sjogren syndrome)及壞疽性膿皮症組成之群的病理性病症。

在一個實施例中，該病理性病症為類風濕性關節炎。

在一個實施例中，該病理性病症為克羅恩氏病。

在一個實施例中，該病理性病症為潰瘍性結腸炎。

在一個實施例中，該病理性病症為葡萄膜炎。

在一個實施例中，本發明之抗體係用於治療與發炎或免疫有關的疾病。在一個實施例中，該與發炎或免疫有關的疾病係選自由類風濕性關節炎、克羅恩氏病及潰瘍性結腸炎組成之群。

本發明亦提供根據本發明之抗體分子，其係用於治療或預防疼痛，特別為與發炎有關的疼痛。

本發明進一步提供根據本發明之抗體分子於製造用於治療或預防由TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F介導或與IL-17A及/或IL-17F含量的增加有關之病理性病症的藥物中之用途。較佳地，該病理性病症為上文所述醫學適應症中之一者。本發明另外提供根據本發明之抗體分子於製造用於治療或

預防疼痛(特別為與發炎有關的疼痛)的藥物中之用途。

本發明之抗體分子可用於其中希望減低TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F在人類或動物身體中之效應的任何療法中。TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F可循環於體內或可以非所欲之高含量存在於體內特定部位(例如發炎部位)。

根據本發明之抗體分子較佳用於控制發炎性疾病、自體免疫疾病或癌症。

本發明亦提供一種治療罹患由TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F介導的病症或處在該病症風險中之人類或動物個體的方法，該方法包括對個體投與有效量之本發明抗體分子。

根據本發明之抗體分子亦可用於診斷中，例如用於涉及TNF- α 及IL-17A及/或IL-17F之疾病狀態的活體內診斷及成像中。

因此，提供根據本發明之多重特異性抗體，其係用於治療及利用該多重特異性抗體治療的方法中。

在一個實施例中，提供一種用於純化多重特異性抗體(特定言之根據本發明之抗體或片段)之方法。

在一個實施例中，提供一種用於純化多重特異性抗體(特定言之根據本發明之抗體或片段)之方法，其包括以下步驟：以非結合模式進行陰離子交換層析使得雜質保留於管柱上及抗體維持於未結合的溶離份中。該步驟可例如在pH約6-8下進行。

該方法可另外包括利用陽離子交換層析的初始捕捉步驟，例如在約4至5的pH下進行。

該方法可另外包括確保產物及方法相關雜質適當地從產物流離析的

額外層析步驟。

純化製程亦可包括一或多個超過濾步驟，諸如濃縮及透濾步驟。

如上述所使用的純化形式欲指至少90%純度，諸如91、92、93、94、95、96、97、98、99% w/w或更大純度。

實質上不含內毒素一般欲指每mg抗體產物具有1 EU或更少(諸如每mg產物具有0.5或0.1 EU)之內毒素含量。

實質上不含宿主細胞蛋白質或DNA一般欲指每mg抗體產物具有400 μ g或更少(視情況，諸如每mg具有100 μ g或更少，特定言之每mg具有20 μ g)之宿主細胞蛋白質及/或DNA含量。

本發明之抗體亦可用於診斷中，例如用於活體內診斷及疾病狀態的成像中。

在一個實施例中，提供一種篩選根據本發明之多重特異性蛋白質構築體之方法，其包括：

a)當所給出的可變區對之 V_1 或 V_2 中任一者為dsscFv時，確定單體多重特異性蛋白質的產率

b)當已在(a)中測試過的相同可變區對之 V_1 或 V_2 中任一者為dsFv時，確定單體多重特異性蛋白質的產率及

c)將在(a)及(b)中得到的單體的產率進行比較並選擇具有最高單體產率之多重特異性蛋白質。

通常，該方法的步驟(a)及(b)中之「可變區對」為 V_H 及 V_L 對。一般而言， V_H 及 V_L 共同形成抗原結合域(V_1 或 V_2)。該方法因此允許測試 V_H 及 V_L 對，因為本發明之構築體及最具單體性之構築體中之dsscFv及dsFv二者皆在步驟(c)中進行選擇。

通常，在該方法之步驟(a)及(b)中，產率係於純化後諸如於親和力層析後確定。單體產率可使用任何適合的方法諸如尺寸排除層析來確定。

在本說明書內文中，「包含」欲指包括。在技術上適合的情況下，可將本發明之實施例組合。實施例在本文中描述作包含特定特徵/元件。本發明亦延伸至由或基本上由該等特徵/元件組成之個別實施例。

技術性參考文獻(諸如專利及申請案)係以引用的方式併入本文中。

本文中具體且明確列出的任何實施例可單獨地或以與一或多個其他實施例組合形式形成免責聲明的基礎。

本發明另外以僅以例示方式述於以下實例中，參考附圖，其中：

實例

實例1：中和抗人類TNF- α 之可變區的分離：

進行以下免疫接種以便產生用於B細胞培養及抗體篩選的物質：

5隻斯潑累格多雷(Sprague Dawley)大鼠以3次注射與小分子苯并咪唑化合物(化合物1 (如WO2013/186229及PCT/EP2015/074527中所述))預複合的人類TNF- α 來免疫。產生血清且在ELISA中測試與人類TNF- α 的結合。效價可在超過100,000倍稀釋下檢測到及因此被視為係B細胞培養所可接受的。

B細胞培養物係採用類似於Zubler等人(1985)及Lightwood等人(2013)所述的方法之方法來製備。簡言之，在37°C及5% CO₂的氛圍中，含B細胞之脾細胞以約5000個細胞/孔的密度在具有補充10% FCS(PAA laboratories ltd)、2% HEPES(Sigma Aldrich)、1% L-麩醯胺酸(Gibco BRL)、1%青黴素/鏈黴素溶液(Gibco BRL)、0.1% β -巰基乙醇(Gibco BRL)、2-5%經活化之脾細胞培養上清液及經 γ 照射之鼠胸腺瘤細胞(5 x

10^4 /孔)之200 μ l/孔RPMI 1640培養基(Gibco BRL)的條碼化96-孔組織培養板中培養七天。在此工程期間篩選出超過7000萬的B細胞。

使用基於均相螢光之結合檢測，使用塗覆生物素化人類TNF的10微米superavidin聚合珠粒(Bangs laboratories)作為靶抗原來源，來確定B細胞培養上清液中人類TNF-特異性抗體的存在。使用Matrix Platemate液體處理器將10 μ l上清液從條碼化96-孔組織培養板轉移至含有5000個經塗覆珠粒的條碼化384-孔黑壁分析板中。結合係以山羊抗大鼠或小鼠IgG Fc γ -特異性Cy-5共軛物(Jackson)顯示。在Applied Biosystems 8200細胞偵測細胞上讀取板。

或者，使用ELISA分析以識別陽性孔。將384-孔ELISA分析板塗覆2 μ g/ml TNF，接著添加10 μ l B細胞培養上清液至阻斷板。在培養1小時後，洗滌該等板且以山羊抗-大鼠Fc-特異性HRP共軛物(Jackson)顯示結合。

在初步篩選之後，使用Aviso Onyx命中-拾取機器人將陽性上清液固結至96-孔條碼化樣板上及使細胞培養板中的B細胞於-80°C下冷凍。然後在Biacore試驗中篩選樣板以便識別含有高親和力抗體的孔。

為識別能夠中和TNF α 之生物活性的抗體，吾人使用樣板中的B細胞培養上清液，進行基於細胞之TNF α 報導子分析。該分析利用HEK-293-CD40-BLUE細胞(Invivogen)，其等係經改造以回應許多經由包含人類TNF α 的NF κ B路徑操作的刺激而分泌鹼性磷酸酶。含有抗體的上清液以1:2.5的單次稀釋直接用於該分析中。篩選出含有高親和力阻斷抗體的孔(在Biacore中低於100 pM及在報導子分析中顯示>90%抑制)以用於進一步的發展。

為允許從所選的受關注的孔回收抗體可變區基因，必須進行反迴旋步驟以能夠鑑定所給的含有異質B細胞群體之孔中的抗原特異性B細胞。此係使用螢光焦點法來達成。簡言之，將來自陽性孔的分泌免疫球蛋白之B細胞與塗覆生物素化人類TNF的鏈黴親和素珠粒(New England Biolabs)及1:1200最終稀釋度的山羊抗-大鼠Fc γ 片段-特異性FITC共軛物(Jackson)混合。在37°C下靜態培養1小時後，可根據螢光鹵素存於該B細胞周圍來鑑定抗原特異性B細胞。此等個別B細胞然後用Eppendorf顯微操縱器挑出使用Olympus顯微鏡鑑定且沉積至PCR管中。

藉由逆轉錄(RT)-PCR，使用重鏈及輕鏈可變區-特異性引子，從單細胞回收四種不同抗體(稱為2102、2101、2109及211)之抗體可變區基因。在Aviso Onyx液體處理機器人上進行兩輪PCR，其中巢式2° PCR併入限制位點係在3'及5'端，從而允許將大鼠可變區選殖至小鼠 γ 1 IgG或Fab(VH)或小鼠 κ (VL)哺乳動物表現載體中。使用Fectin 293(Invitrogen)將重鏈及輕鏈構築體共轉染至HEK-293細胞中及重組抗體表現於48-孔板中之1 ml體積中。在表現5-7天之後，收集上清液且將抗體經受進一步篩選。

於HEK-293-CD40-BLUE報導子分析中在多種濃度下篩選重組大鼠/小鼠嵌合IgG及Fab分子以能夠計算得EC50值並確定最大抑制百分比。測試Fab片段以確保抗體在為單價時具活性。亦在Biacore實驗中分析IgG以確定對人類TNF之結合親和力。Biacore實驗的分析格式係藉由經固定之抗-小鼠IgG-Fc捕捉小鼠IgG，然後將人類TNF滴定於經捕捉表面上。使用Biacore T200 (GE Healthcare)來進行BIA(生物分子相互作用分析)。經由胺偶聯化學品將親和純化F(ab')₂片段山羊抗-小鼠IgG，Fc特異性片段

(Jackson ImmunoResearch)固定於CM5感測器晶片上達到~5000反應單位(RU)的程度。HBS-EP緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05%表面活性劑P20, GE Healthcare)用作操作緩衝液,流速為10 μ L/min。使用10 μ L 0.5 μ g/mL的小鼠IgG注射液以進行藉由經固定之抗小鼠IgG-Fc的捕捉。人類TNF在20 nM下以30 μ L/min之流速注射於所捕捉的小鼠IgG上兩次。表面係藉由2 x 10 μ L注射40 mM HCl再生,藉由以10 μ L/min的流速5 μ L注射5 mM NaOH散佈。使用T200評估軟體(1.0版)依標準程序分析減去背景之結合曲線。

表4：

抗體	EC50 (ng/ml)	抑制%	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (pM)
CA2109 IgG	0.31	100	4.70E+06	1.19E-04	25
CA2109 Fab	3.8	100	ND	ND	ND

使用HEK-293-CD40-BLUE報導子分析(Invivogen)來確定中和。顯示EC50及中和%。進行Biacore分析以確定結合動力學。顯示結合率(ka)、解離率(kd)及親和力常數(KD)。

圖9顯示CA2109大鼠/小鼠Fab (fwk18 FAB) IgG1 (fwk18 IgG)之滴定曲線。使用如上所述的HEK-293-CD40-BLUE報導子分析(Invivogen)確定數據。

如上所述分離得的所有四種抗體(2101、2109、2111及2102)係基於對人類TNF(hTNF)及食蟹獼猴TNF(cTNF)之食蟹獼猴及人類TNF交叉反應性篩選為大鼠/人類嵌合Fab,如下表4a中所顯示。

Biacore實驗的分析格式係藉由經固定之抗-人類F(ab')捕捉大鼠/人類嵌合Fab,然後將人類或食蟹獼猴TNF滴定於經捕捉表面上。使用Biacore T200 (GE Healthcare)來進行BIA(生物分子相互作用分析)。經由胺偶聯

化學品將親和純化F(ab')₂片段山羊抗-人類IgG-F(ab')₂特異性片段(Jackson ImmunoResearch)固定於CM5感測器晶片上達到~5000反應單位(RU)的程度。HBS-EP緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05%表面活性劑P20, GE Healthcare)用作操作緩衝液,流速為10 μ L/min。使用10 μ L 0.5 μ g/mL的大鼠/人類嵌合注射液以進行藉由經固定之人類IgG-F(ab')₂的捕捉。人類或食蟹獼猴TNF (分別在5 nM或3.125 nM下)以30 μ L/min之流速注射於所捕捉的大鼠/人類嵌合Fab上。表面係藉由2 x 10 μ L注射50 mM HCl再生,藉由以10 μ L/min的流速5 μ L注射5 mM NaOH散佈。使用T200評估軟體(1.0版)依標準程序分析減去背景之結合曲線。

表4a

			ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	KD (pM)
02101	人類嵌合Fab	hTNF	4.63E+06	1.39E-04	2.99E-11	30
02109	人類嵌合Fab	hTNF	4.09E+06	1.43E-04	3.49E-11	35
02111	人類嵌合Fab	hTNF	2.89E+06	1.39E-04	4.81E-11	48
02102	人類嵌合Fab	hTNF	2.59E+06	2.27E-04	8.73E-11	87

			ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	KD (pM)
02101	人類嵌合Fab	cTNF	4.54E+06	9.72E-05	2.14E-11	21
02109	人類嵌合Fab	cTNF	3.71E+06	1.02E-04	2.74E-11	27
02111	人類嵌合Fab	cTNF	2.26E+06	2.25E-04	9.98E-11	100
02102	人類嵌合Fab	cTNF	4.17E+05	8.64E-03	2.07E-08	20720

發現抗體2102對食蟹獼猴TNF具有低得多的親和力。該抗體在人類類化期間亦損失親和力,因此未做任何其他的發展。

基於該研究,CA2109因其食蟹獼猴/人類交叉反應性、高親和力(表4)及強力中和活性(圖9及表4)而被選為主要候選者。該抗體基於此等性質

而被選擇用於人類化。

類似於CA2109，選擇具有相似親和力及中和性質之兩種其他抗體用於人類化，此等抗體為2101及2111。然而，2101在人類化後未保留對TNF的親和力，因此該抗體未做任何其他的發展。抗體2109及抗體2111皆成功地人類化且接著轉化成scFv格式並在L929 TNF抑制分析(述於下文實例6中之分析)中篩選以證實中和活性。抗體2111在該分析中與scFv一樣沒有保留活性，因此不適合用於多重特異性TrYbe抗體分子中。僅抗體2109與scFv一樣保留食蟹獼猴-人類交叉反應性、高親和力及中和能力及熱穩定性。抗體CA2109的人類化更詳細描述於下。

實例2：抗-TNF- α 抗體CA2109的人類化

抗體CA2109係藉由移植互補決定區(CDR)至人類生殖系框架上而人類化。圖6及7中顯示大鼠抗體(供體)序列與人類生殖系(受體)框架之比較，及所設計的人類化序列。

所選的輕鏈生殖系受體序列為人類VK1 2-1(U) A20 V-區加上JK2 J-區(V BASE, <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)。所選的重鏈生殖系受體序列為人類VH3 1-3 3-21 V-區加上JH4 J-區(V BASE, <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)。從供體移植至受體序列的CDR係如Kabat (Kabat等人1987)所定義，但使用Chothia/Kabat組合定義的CDR-H1除外。

設計編碼初始V-區序列之基因且藉由自動合成方法由Entelechon GmbH構築，並藉由寡核苷酸定點誘變修飾以生產出移植形式gL1、gL18、gH1及gH2。將gL18基因序列次選殖至包含編碼人類C- κ 恆定區(Km3同功異型物)之DNA的UCB Celltech人類輕鏈表現載體pMhCK δ 中。將gH2序列次選殖至包含編碼人類重鏈 γ -1 CH1恆定區之DNA的UCB

Celltech表現載體pMhg1Fab中。

為保留全部活性並維持高熱穩定性，保留在人類化重鏈之位置48(異白胺酸)、49(甘胺酸)、71(纈胺酸)、73(離胺酸)、78(丙胺酸)及93(蘇胺酸)(Kabat編號)處的供體殘基。類似地，保留在人類化輕鏈之位置65(蘇胺酸)、71(酪胺酸)及87(苯丙胺酸)(Kabat編號)處的供體殘基。另外，藉由使在位置31、50及52處的天冬醯胺酸殘基分別突變成絲胺酸、天冬胺酸及絲胺酸來移除輕鏈中的3個脫醯胺位點。最終的所選可變移植序列gL18及gH2顯示於圖6及7及SEQ ID NO:91及92中。在以下實例中，抗體2109係指此等人類化序列，而非初始大鼠親本序列。

實例 3：Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 及 Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645質體的構築及在哺乳動物細胞中的表現

抗人類IL-17A及人類IL-17F之抗體CA028_00496.g3 (在此亦稱為抗體496.g3)的產生先前已述於WO2008/047134及WO2012/095662中。該抗體以pM親和力結合人類IL-17A、IL-17F及IL-17A/F異二聚體。抗體496.g3的Fab格式之CDR、重鏈及輕鏈可變區及輕鏈及重鏈之胺基酸及編碼抗體496.g3的Fab格式之CDR、重鏈及輕鏈可變區及輕鏈及重鏈之DNA序列顯示於圖1中。496.g3 (IL-17A/F結合) Fab恆定區包含人類C- κ 恆定區(K1m3同功異型物)及人類 γ -1 CH1恆定區及鉸鏈(G1m17同功異型物)。

抗-人類白蛋白抗體645的產生先前已述於WO2013/068571中。抗體645之CDR、重鏈及輕鏈可變區、scFv及dsscFv格式之胺基酸及編碼抗體645之CDR、重鏈及輕鏈可變區、scFv及dsscFv格式之DNA序列顯示於圖3中。

抗體496.g3及抗體645之dsscFv各包含在殘基44(重鏈)與100(輕

鏈)(使用Kabat編號系統)之間的穩定之雙硫鍵。

抗體 645 HL 之 dsscFv 係藉由 11 個胺基酸的輕鏈連接子 (SGGGGSGGGGS) 連接至抗體 496.g3 之 Fab cκ 片段及抗體 CA2109 HL 之 dsscFv 係藉由 11 個胺基酸的重鏈連接子 SGGGGTGGGGGS [在此亦稱為 S, 2xG4S] (SEQ ID NO:2) 或 SGGGGTGGGGGS [在此亦稱為 S, G4T, G4S] (SEQ ID NO:1) 連接至抗體 496.g3 之 Fab CH1 片段。

利用暫態表現以表現 Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:127) (以連接子 SGGGGTGGGGGS 將 Fab HC 與 dsscFv2109 連接) 及 Fab496.g3-(LC) dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131) (以連接子 SGGGGSGGGGS 將 Fab LC 與 dsscFv645 連接)。從先前在密碼子層級最佳化以於大腸桿菌中表現的質體限制選殖編碼整個輕鏈及重鏈 Fab 片段之基因。從 pTrYbe HC#1 切除編碼 645 dsHL scFv 之 AgeI-EcoRI 基因片段且選殖至 pED489 中以在 UCB 內部表現載體 pNAFL (Dhami, 2012) 中產生「輕鏈單基因載體」496.g3 LC-645 dsHL scFv。藉由 DNA2.0 合成編碼 2109 dsHL scFv 之 DNA (BspEI-EcoRI 片段) 且選殖至 pTrYbe HC#1 (Dhami, 2012) 中以在 UCB 內部表現載體 pNAFH (Dhami, 2012) 中產生「重鏈單基因載體」496.g3 Fab-2109 dsHL scFv。在兩種單基因載體於 HEK293 細胞中的暫態共表現後，從細胞培養上清液純化包含具有重鏈連接子 SGGGGTGGGGGS 之 Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 及 Fab496.g3-(LC) dsscFv(HL)645 之 TrYbe 蛋白質。經純化之 TrYbe 呈現高單體含量(89%)及高熱穩定性(Tm 71°C)，及因此進行生產穩定細胞系的發展。

使用穩定表現以自哺乳動物 CHO 細胞系以約 1 g/L 之生產率水平及約 70% 單體來表現 Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125) (以連

接子SGGGGSGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)，其在此亦稱為抗體分子Trybe 18B。進行下游純化製程以便產生經純化之TrYbe18B。

實例 4 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)之Biacore親和力及同時抗原標靶結合

包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125)(以連接子SGGGGSGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為抗體分子Trybe 18B，如依實例3中的方法製得)之抗人類TNF- α 、人類IL-17A、人類IL-17F及人類血清白蛋白之親和力依下述方法進行測試：

實驗格式係藉由經固定之抗-人類IgG-F(ab')₂捕捉TrYbe 18B，然後將人類TNF、人類IL-17A、人類IL-17F及人類血清白蛋白滴定於經捕捉表面上。使用Biacore T200 (GE Healthcare)進行BIA(生物分子相互作用分析)。經由胺偶聯化學品將親和純化F(ab')₂片段山羊抗-人類IgG，F(ab')₂特異性片段(Jackson ImmunoResearch)固定於CM5感測器晶片上達到~5000反應單位(RU)的捕捉程度。HBS-EP緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05%表面活性劑P20，GE Healthcare)用作操作緩衝液，流速為10 μ L/min。使用10 μ L 0.5 μ g/mL的TrYbe 18B注射液以進行藉由經固定之抗-人類IgG-F(ab')₂的捕捉。人類TNF、人類IL-17A、人類IL-17F及HSA在各種濃度(分別為5 nM至0.15625 nM、5 nM至0.15625 nM、10 nM至0.3125 nM及100 nM至3.125

nM)下以30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速滴定於所捕捉的TrYbe 18B上。表面係藉由2 x 10 μL 注射50 mM HCl再生，藉由以10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速5 μL 注射5 mM NaOH散佈。使用T200評估軟體(1.0版)依標準程序分析減去背景之結合曲線。由擬合演算法確定動力學參數。結果顯示於表5中。

表5

樣品	$k_a(1/\text{Ms})$	$k_d(1/\text{s})$	KD(M)	KD(pM)
人類TNF	5.54E+06	6.43E-05	1.16E-11	11.6
人類IL-17A	5.52E+06	1.00E-05*	1.81E-12	1.81
人類IL-17F	5.06E+06	3.80E-05	7.51E-12	7.51
人類白蛋白	7.75E+04	1.35E-04	1.74E-09	1740

1.00E-05* 解離限值由儀器限度所致

進行另一分析以測定抗體分子TrYbe 18B與食蟹獼猴TNF、食蟹獼猴IL-17A、食蟹獼猴IL-17F及食蟹獼猴白蛋白之結合。分析格式係藉由經固定之抗-人類IgG-F(ab')₂捕捉TrYbe 18B，然後將食蟹獼猴TNF、IL-17A、IL-17F及白蛋白滴定於經捕捉表面上。使用Biacore T200(GE Healthcare)來進行BIA(生物分子相互作用分析)。經由胺偶聯化學品將親和純化F(ab')₂片段山羊抗-人類IgG，F(ab')₂片段(Jackson ImmunoResearch)固定於CM5感測器晶片上達到~5000反應單位(RU)的捕捉程度。HBS-EP緩衝液(10 mM HEPES pH 7.4、0.15 M NaCl、3 mM EDTA、0.05%表面活性劑P20，GE Healthcare)用作操作緩衝液，流速為10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。使用10 μL 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的TrYbe 18B注射液以進行藉由經固定之抗-人類IgG-F(ab')₂的捕捉。將食蟹獼猴TNF、IL-17A、IL-17F及白蛋白在各種濃度(分別為5 nM至0.15625 nM、10 nM至0.3125 nM、40 nM至1.25 nM及100 nM至3.125 nM)下以30 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速滴定於所捕捉的TrYbe 18B上。表面係藉由2 x 10 μL 注射50 mM HCl再生，藉由以10

$\mu\text{L}/\text{min}$ 的流速5 μL 注射5 mM NaOH散佈。使用T200評估軟體(1.0版)依標準程序分析減去背景之結合曲線。由擬合演算法確定動力學參數。結果顯示於表6中。

表6

樣品	$k_a(1/\text{Ms})$	$k_d(1/\text{s})$	KD(M)	KD(nM)
食蟹獼猴TNF	8.90E+06	6.38E-05	7.16E-12	7.16
食蟹獼猴IL-17A	1.67E+06	1.00E-05*	5.99E-12	5.99
食蟹獼猴IL-17F	5.82E+05	1.67E-04	2.88E-10	288
食蟹獼猴白蛋白	5.83E+04	1.59E-04	2.72E-9	2723

1.00E-05* 解離限值由儀器限度所致

評估人類IL-17A、人類TNF及人類血清白蛋白與TrYbe 18B的同時結合。TrYbe 18B構築體係藉由經固定之抗-人類IgG- F(ab')₂捕捉至感測器晶片，然後將僅hIL-17A、僅hTNF、僅HSA、或hIL-17A、hTNF及HSA之混合溶液分別滴定於所捕捉的TrYbe 18B上。

使用Biacore T200 (GE Healthcare)來進行BIA(生物分子相互作用分析)。如上述針對TrYbe 18B結合人類TNF、IL-17A、IL-17F及HSA的Biacore動力學的方法中所陳述，將TrYbe 18B構築體捕捉至感測器晶片表面。將100 nM HSA、20 nM hIL-17A、20 nM hTNF、或最終濃度之100 nM HSA、20 nM hIL-17A、20 nM hTNF之混合溶液分別滴定於所捕捉的TrYbe 18B上。

組合型hIL-17A/hTNF/HSA溶液之結合反應等同於單獨注射液之反應的總和，如表7中所顯示。此證實TrYbe 18B能夠與人類IL-17A、人類TNF及HSA同時結合。

表7

樣品	分析物	結合(RU)	
TrYbe18B	hTNF		47
	hIL-17A		38
	HSA		58
	hTNF + hIL-17A +HSA		130 (143)

進行另一分析以測定食蟹獼猴IL-17A、TNF及白蛋白與TrYbe 18B的同時結合。TrYbe 18B構築體係藉由經固定之抗-人類IgG-F(ab')₂捕捉至感測器晶片，然後將僅食蟹獼猴IL-17A、僅食蟹獼猴TNF、僅食蟹獼猴HSA、或食蟹獼猴IL-17A、TNF及白蛋白之混合溶液分別滴定於所捕捉的TrYbe 18B上。

使用Biacore T200 (GE Healthcare)來進行BIA(生物分子相互作用分析)。如上述針對TrYbe 18B結合食蟹獼猴TNF、IL-17A、IL-17F的Biacore動力學的方法中所陳述，將TrYbe 18B構築體捕捉至感測器晶片表面。將100 nM CSA、20 nM食蟹獼猴IL-17A、20 nM食蟹獼猴TNF、或最終濃度之100 nM HSA、20 nM食蟹獼猴IL-17A、20 nM食蟹獼猴TNF之混合溶液分別滴定於所捕捉的TrYbe 18B上。

組合型食蟹獼猴IL-17A/食蟹獼猴TNF/CSA溶液之結合反應等同於單獨注射液之反應的總和，如表8中所顯示。此證實TrYbe 18B能夠與食蟹獼猴IL-17A、食蟹獼猴TNF及CSA同時結合。

表8

樣品	分析物	結合(RU)	
TrYbe18B	cTNF		42
	cIL-17A		44
	CSA		41
	cTNF + cIL-17A +CSA		118 (127)

實例 6 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)抗TNF(人類及食蟹獼猴)之基於活體外細胞的活性

包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125)(以連接子SGGGGSGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為抗體分子Trybe 18B，如依實例3中的方法製得)在活體外細胞分析中進行抗人類TNF- α 活性之測試。L929細胞系為對TNF- α 之細胞毒性效應敏感之鼠纖維肉瘤細胞系。TNF經由TNF受體產生刺激，該等TNF受體結合人類、食蟹獼猴或鼠TNF- α 以誘導細胞凋亡。細胞經放線菌素D共處理，此舉增加被TNF- α 殺死的易感性。藉由經由螢光素酶反應(CellTiter-Glo，Promega)偵測ATP含量(其係隨著存活率的提高而減小)來測定L929細胞在經放線菌素-D/TNF- α 及TrYbe 18B處理後的存活率。

L929細胞在1小時的預培養後用2.35 $\mu\text{g/ml}$ 放線菌素D及100 pg/ml 之人類TNF α 在TrYbe 18B(濃度範圍 $8.12\text{E-}9\text{M}$ 至 $1.23\text{E-}13\text{M}$)或對照化合物Enbrel(濃度範圍 $1.3\text{E-}9\text{M}$ – $2\text{E-}14\text{M}$)的存在下以30 μl 的最終體積於384孔平底板進行處理。在 37°C ，5% CO_2 下經過24小時之後，藉由CellTiter-Glo (Promega Ltd)測定細胞存活率。圖10a顯示經放線菌素-D/及人類TNF- α 及TrYbe 18B或對照化合物Enbrel處理之L929細胞之代表性細胞存活率曲線。

L929細胞亦在1小時的預培養後用2.35 $\mu\text{g/ml}$ 放線菌素D及20 pg/ml 之食蟹獼猴TNF α 在TrYbe 18B (濃度範圍 $8.12\text{E}^{-9}\text{M}$ 至 $1.23\text{E}^{-13}\text{M}$)或對照化合物Enbrel(濃度範圍 $1.3\text{E}^{-9}\text{M}$ – $2\text{E}^{-14}\text{M}$)的存在下以30 μl 的最終體積於

384孔平底板中進行處理。在37℃，5% CO₂下經過24小時之後，藉由CellTiter-Glo (Promega Ltd)測定細胞存活率。圖10b顯示經放線菌素-D/及食蟹獼猴TNF- α 及TrYbe 18B或對照化合物Enbrel處理之L929細胞之代表性細胞存活率曲線。

當受到人類或食蟹獼猴TNF- α 刺激時，TrYbe 18B能夠以劑量依賴方式完全地抑制TNF- α 的殺死效應；EC₅₀平均值為5.87 pM (人類，N=3)及EC₅₀平均值為4.97 pM (食蟹獼猴，N=2)。TrYbe 18B不與鼠TNF交叉反應及因此不抑制鼠TNF- α 的殺死效應(N=3)。

實例 7 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)抗IL-17A及IL-17F之基於活體外細胞的活性

包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125)(以連接子SGGGGSGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為抗體分子Trybe 18B，如依實例3中的方法製得)在活體外細胞分析中進行抗人類及食蟹獼猴IL-17A及F活性之測試。

IL-17A及IL-17F與IL-1 β 的組合誘導鼠纖維母細胞細胞系NIH 3T3釋放IL-6。此構成測試抗-IL-17A及抗-IL-17F分子的中和能力之分析系統的基礎。

在37℃下將述於WO2012/095662中之TrYbe 18B或抗-IL17A/F抗體CA028_00496.g3(濃度範圍5000 ng/mL至19.5 ng/mL)與重組人類IL-17A(30 ng/mL)及重組人類IL-1 β (50 pg/mL)預培養4小時。然後將TrYbe/抗體蛋白質複合物轉移至在96-孔平底板中的NIH-3T3細胞。在37℃，5%

CO₂，100%濕度下培養3天之後，收集無細胞上清液且藉由MSD測定IL-6的含量。

在37°C下將TrYbe 18B或抗-IL17A/F抗體CA028_00496.g3(濃度範圍5000 ng/mL至19.5 ng/mL)與重組人類IL-17F(300 ng/mL)及重組人類IL-1 β (50 pg/mL)預培養4小時。然後將TrYbe/抗體蛋白質複合物轉移至在96-孔平底板中的NIH-3T3細胞。在37°C，5% CO₂，100%濕度下培養3天之後，收集無細胞上清液且藉由MSD測定IL-6的含量。

在37°C下將TrYbe 18B或抗-IL17A/F抗體CA028_00496.g3(濃度範圍5000 ng/mL至19.5 ng/mL)與重組食蟹獼猴IL-17A(30 ng/mL)及重組人類IL-1 β (50 pg/mL)預培養4小時。然後將TrYbe/抗體蛋白質複合物轉移至在96-孔平底板中的NIH-3T3細胞。在37°C，5% CO₂，100%濕度下培養3天之後，收集無細胞上清液且藉由MSD測定IL-6的含量。

在37°C下將TrYbe 18B或抗-IL17A/F抗體CA028_00496.g3(濃度範圍5000 ng/mL至19.5 ng/mL)與重組食蟹獼猴IL-17F(300 ng/mL)及IL-1 β (50 pg/mL)預培養4小時。然後將三體/抗體蛋白質複合物轉移至在96-孔平底板中的NIH-3T3細胞。在37°C，5% CO₂，100%濕度下培養3天之後，收集無細胞上清液且藉由MSD測定IL-6的含量。

在37°C下將TrYbe 18B或抗-IL17A/F抗體CA028_00496.g3(濃度範圍5000 ng/mL至19.5 ng/mL)與重組食蟹獼猴IL-17F(300ng/mL)及IL-1 β (50 pg/mL)預培養4小時。然後將三體/抗體蛋白質複合物轉移至在96-孔平底板中的NIH-3T3細胞。在37°C，5% CO₂，100%濕度下培養3天之後，收集無細胞上清液且藉由MSD測定IL-6的含量。

在NIH 3T3生物分析中，TrYbe 18B以濃度依賴性方式同時抑制人類

及食蟹獼猴IL-17A及IL-17F誘導的IL-6釋放(資料未顯示)。TrYbe 18B具有等同於對照抗體CA028_00496.g3的效力(資料未顯示)。

實例 8 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)抗TNF- α 之活體外活性

包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125)(以連接子SGGGGSGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為如以實例3中的方法所製得的抗體分子Trybe 18B)在活體內分析中進行測試TNF- α 的抑制作用之測試。

在小鼠中腹膜投與外源人類TNF α 引起與嗜中性白血球症有關的局部發炎反應。該反應主要藉由小鼠TNF受體I(TNFR1)的活化及在後來於由NF- κ B介導的轉錄後釋放嗜中性趨化細胞數而引起。該種由人類TNF α 誘導的嗜中性白血球症模式可用於測定TrYbe 18B抗人類TNF α 在獨立於人類IL-17A/F之生理系統中之活體內療效及效力。由於人類TNF α 為該模式中唯一的發炎刺激，因此假設以TrYbe 18B進行的預防性治療將抑制人類TNF α 誘導的腹膜嗜中性白血球症。

Balb/c小鼠以PBS或漸增濃度之TrYbe 18B (0.1、1或10 mg/kg)靜脈內處理。在PBS或TrYbe 18B處理1小時後，小鼠以PBS或人類TNF α (0.3 μ g/kg)腹膜內激發。4小時後，人道終止小鼠的生命且收集腹腔灌洗液以供流式細胞儀評估針對嗜中性白血球症。結果為n=8隻/組的平均值(+/-SEM)。使用單因子ANOVA與杜納事後檢驗(Dunnett's post-test)(**** = $p \leq 0.0001$)來計算統計學比較。

圖11顯示TrYbe 18B能夠劑量依賴地抑制人類TNF α 誘導的嗜中性白

血球症，其中在1及10 mg/kg下幾乎完全消除反應(分別為96%及100%抑制)。由於該系統中不存在人類IL-17A/F，此表明TrYbe 18B之抗-人類TNF α dsscFv在活體內有效且強力。

實例 9 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)抗TNF-alpha及IL-17A之活體內活性

包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125)(以連接子SGGGGSGGGGS 將 Fab HC 與 dsscFv2109 連接)及 Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為抗體分子Trybe 18B，如依實例3中的方法製得)在活體內分析中進行測試TNF- α 及IL-17A的抑制作用之測試。

重要地，顯示TrYbe 18B抗體可抑制源自同時存在的兩種細胞激素之生物反應。以往的研究已顯示人類TNF α 及IL-17A之組合活體內產生大於任何一種單獨的刺激之總和之協同嗜中性反應。因此，測試TrYbe 18B抗人類TNF α 與人類IL-17A的組合與之活體內有效性及效力。為進一步鑑別在該模式中的人類TNF α 及人類IL-17A之協同貢獻，使用抗人類TNF α (101.4)及人類IL-17A/F(抗體CA028_00496.g3)之單特異性抗體。

Balb/c 小鼠以PBS、抗體CA028_00496.g3 (30 mg/kg)、101.4 (30mg/kg)或漸增濃度之TrYbe 18B(0.1、1或10 mg/kg)靜脈內處理。在投與抗體1小時後，小鼠以PBS、人類IL-17A (10 μ g/kg)、人類TNF α (0.3 μ g/kg)、或人類IL-17A (10 μ g/kg)與人類TNF α (0.3 μ g/kg)之組合腹膜內激發。4小時後，人道終止小鼠的生命且收集腹腔灌洗液以供流式細胞儀評估嗜中性白血球症。結果為n=8隻/組的平均值(+/- SEM)。使用單因子

ANOVA與杜納事後檢驗(*= $p \leq 0.05$, ** = $p \leq 0.01$ = *** = $p \leq 0.001$ = **** = $p \leq 0.0001$)來計算統計學比較。

圖12顯示人類IL-17A與人類TNF α 的組合之腹膜內投與誘導遠大於任何一種單獨投與的刺激之總和之局部嗜中性反應。此外，在該模式中抑制人類TNF α (使用過量的抗-TNF α 抗體101.4)使得組合型IL-17A/TNF α 誘導的反應減低至類似於在僅投與IL-17A後所觀察到程度的程度。類似地，抑制人類IL-17A/F(使用過量的抗體CA028_00496.g3)可僅抑制組合型IL-17A/TNF α 誘導的反應至在僅投與TNF α 後所觀察到的相同程度。相反地，TrYbe 18B能夠劑量依賴地抑制IL-17A/TNF α 誘導的嗜中性白血球症至超過藉由抗體CA028_00496.g3或101.4中任一者所達成程度的程度(在10 mg/kg TrYbe 18B下的96%抑制相對於分別利用30 mg/kg 101.4及抗體CA028_00496.g3的81%及67%抑制)。總而言之，在活體內模型中，該數據顯示TrYbe 18B能夠同時抑制人類TNF α 及人類IL-17A二者。

實例10 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)之生物物理表徵

包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:125)(以連接子SGGGGSGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將FabLC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為抗體分子Trybe 18B，如依實例3中的方法製得)及包含Fab496.g3-(HC)dsscFv(HL)2109 (SEQ ID NO:127)(以連接子SGGGGTGGGGGS將Fab HC與dsscFv2109連接)及Fab496.g3-(LC)dsscFv(HL)645 (SEQ ID NO:131)(以連接子SGGGGSGGGGS將Fab LC與dsscFv645連接)之抗體分子(其在此亦稱為

抗體分子Trybe 18T，如依實例3中的方法製得)在生物物理表徵實驗中進行測試。

分析三個批次的抗體分子(參見表9)。該研究可測定TrYbe 18B分子之總體生物化學及生物物理特徵。

此外，分析來自穩定批次2的純化以不同於親本TrYbe 18B分子的方式溶離得到的溶離份(A3)以證實同一性且因此能夠解釋TrYbe 18B分子之意外雜質及/或生物物理特徵。

表9 用於生物物理表徵之TrYbe 18B的批次

	樣品	濃度(mg/ml)
暫態批次	TrYbe T(暫態)	4.6
穩定批次1	TrYbe 18B (最少收集之溶出液LP10)	2.64
穩定批次2	TrYbe 18B(最少收集之溶出液MP77)	14.18

該等批次的純度係藉由尺寸排除HPLC (SEC HPLC)(資料未顯示)及SDS PAGE(在非還原及還原條件下)來測定(圖13)。

如藉由SEC HPLC判斷，在相同滯留時間下溶離的所有樣品具有小於2.2%高分子量物種(暫態批次：0.56%；穩定批次1：0.59%；穩定批次2：2.2%)。暫態樣品含有低分子量污染物，如寬峰比主峰更晚溶離所指示。

圖13顯示TrYbe 18B的不同批次之使用SDS PAGE 4-20% Novex Tris/甘胺酸(Invitrogen)進行的SDS PAGE分析。在(A)非還原(+N-乙基馬來醯亞胺(NEM)及(B)還原條件下分析。泳道1=參見Blue Invitrogen標記物；泳道2=A3 (來自穩定批次2之純化的溶離份)；泳3=暫態批次；泳道4=穩定批次1；泳道5=穩定批次2。所有三個批次藉由SDS PAGE顯示相似的純度，~130 kDa的帶(在非還原條件下)歸因於完全組裝、經雙硫鍵成

對的抗體分子及~50 kDa的雙峰(在還原條件下)與經分別還原之重鏈及輕鏈一致。在非還原條件下，存在~ 50 kDa的帶，此相當於A3(泳道2)所觀察到的帶。A3藉由完整質譜分析(50.8 kDa)及N端序列分析(主要的輕鏈)證實為經半胱胺酸封端之輕鏈。所關注的樣品之50 kDa的帶(非還原凝膠)被認為是輕鏈，因為質譜分析未識別到任何重鏈。此在後來藉由Ponseau S染色墨點轉漬法切下的帶之N端序列分析得到證實；僅識別到輕鏈N端(AIQLTQSPSS)。

pI測量：

方法1：30 μ l 1 mg/ml蛋白質樣品、0.35%甲基纖維素、4% pH3-10兩性電解質(Pharmalyte)、1 μ l的每種合成pI標記物(4.65及9.77)及HPLC級水達到100 μ l最終體積。然後，使用iCE3 IEF分析儀(ProteinSimple)，在1500 V下預聚焦1分鐘，接著在3000 V下聚焦5分鐘，來分析該混合物。然後，使用Empower軟體(來自Waters)來整合經校準之電泳圖。

方法2：30 μ l 2 mg/ml蛋白質樣品、105 μ l 1%甲基纖維素、12 μ l pH3-8 兩性電解質(Pharmalyte)、1.5 μ l的每種合成pI標記物(4.65及9.77)及HPLC級水達到300 μ l最終體積。然後，如方法1所述，使用iCE3來分析該混合物。

TrYbe T及18B的所有批次之實驗pI皆高(範圍9.2-9.4)且因此在預期的調配物pH (~ pH 5)下不可能具有約零的總分子電荷(約零的總分子電荷會使聚集風險增大)。

發現溶離份A3的pI主要為8.31 (48.6%)。

分子穩定性：

分子穩定性藉由熔融溫度(T_m)(解摺疊之測定)及攪拌效應(藉由物理

應力解摺疊接著聚集)來測定。

TrYbe T及18B的所有批次的示差掃描熱量法(DSC)分析可區分兩個主要的域。較低的解摺疊事件歸因於2109 scFv。緩衝液種類及pH似乎不影響熔融溫度。

Thermofluor分析得到類似於源自DSC分析的T_m值的T_m值(觀測到)，然而，不容易區別不同域。僅穩定批次1及穩定批次2獲得較高解摺疊域之證實。可區分暫態批次之較早解摺疊轉變(48-50°C)，此極有可能歸因於過量輕鏈的存在。

表10 藉由示差掃描熱量法(DSC)及Thermofluor分析衍生T_m：所有TrYbe 18B分子顯示相比IgG4分子(~68°C)更低的初始解摺疊事件。

		暫態批次	穩定批次1	穩定批次2
Thermo fluor	分析 1 (PBS pH 7.40)	3次轉變證據：48.85±0.52 °C；60.95±0.35 °C； 70.9±0.2°C	61.63±0.29 °C；71.2±0.23 °C	ND
	分析 2(PBS pH 7.40)	50.1±0.6°C；71.3±0.3°C	71.0±0.2°C	71.9±0.2
	分析 2(PBS pH 7.40 + NEM)	71.0±0.2；61.4±0.3°C	61.4±0.3°C	71.5±0.2°C
DSC	PBS pH 7.4	2次轉變：63.8±0.4 °C； 72.6±0.1°C	2次轉變： 62.9±0 °C； 71.8±0.1°C	ND
	Ac pH 5	2次轉變：61.8±0.1 °C； 72.2±0.1°C	2次轉變： 61.7±0 °C； 71.9±0.1°C	ND

ND表示分析未完成(由於材料之可利用性的緣故)

總而言之，從上述分析證實TrYbe T及18B的三個批次間不存在顯著差異。

TrYbe 18B具有高pI，但相比習知格式(IgG及Fab'分子)呈現中等低的T_m，似乎是由該分子之2109scFv成分的CDR所決定。所有批次皆包含過量輕鏈而較大地造成所觀測到的異質性/不穩定性，然而，其可藉由純化移除。

實例11 Fab496.g3-(HC)dsHLscFv2109 (LC)dsHLscFv645(Trybe 18B)抗IL-17A及IL-17F之基於活體外細胞的活性

除了IL-17A及IL-17F同功異型物以外的TNF α 為由Th17細胞所產生的主要細胞激素且已知間接地誘導嗜中性白血球藉由非造血性組織諸如關節滑膜細胞的活化而募集。在該研究中，將TrYbe18B於嗜中性白血球遷移之複雜活體外模型中之療效與靶向IL-17AF的組合型個別抗體及靶向TNF α 的Enbrel進行比較。

RA滑膜細胞之活化：第1天：將所培養的RA滑膜細胞(繼代6)以 10^4 個細胞/孔接種於24孔transwell板的較低區室中且在37°C下培養24小時。
第2天：第二天，將滑膜細胞用源自Th17細胞(EWBE-037388)的經含或不合其他抗-TNF α 中和Enbrel的IL-17A (抗體497，如WO2008/001063中所述)或IL-17F或IL-17AF(抗體CA028_00496.g3)特異性抗體預阻斷(1小時的室溫)之上清液(在1:10稀釋度下)活化。亦將Th17與陰性對照A33 IgG或TrYbe18B預培養以中和IL-17A+F及TNF α 。培養在總體積為0.5 ml之對照或刺激培養基中進行。所測試的所有抗體係過量(10 ug/ml)使用的，以完全地中和存於Th17上清液中的靶細胞激素。然後在遷移分析之前將經刺激之纖維母細胞再培養24小時。

嗜中性白血球遷移分析：第3天：為從人類全血分離人類白血球(白細胞)，在室溫下將40 ml ACK溶胞緩衝液與10 ml人類血液混合10分鐘以

有效地溶解RBC。然後將白細胞於400 g下離心10分鐘且另外於20 ml PBS中洗兩次，接著以 10^6 個細胞/ml再懸浮於空白RPMI培養基(Gibco)中進行計數。將 5×10^5 個白細胞(0.5 ml)接種於transwell之上方區室上且在37°C下培養6小時。分離穿過3.0 μ M滲透膜遷移至下方區室中的白細胞並用抗-人類CD18特異性抗體(Ebioscience)標記30分鐘(2 μ l/測試，於冰上)以識別嗜中性白血球。然後，抗體染色樣品用磷酸鹽緩衝鹽水(PBS) pH7.4洗一次，接著在BD LSR II Fortessa X20流式細胞計數分析儀上進行FACS擷取。將所有樣品再懸浮於200 μ L外加Sigma參考珠粒的PBS中。使用單因子Anova與杜納事後檢驗，使用IgG (-抗-TNF α)作為比較物，進行統計分析。

使用TrYbe18B或IL-17特異性同功異型物中任一者及TNF α 阻斷抗體，可在複雜臨床前活體外分析中測定IL-17及TNF α 於調節人類嗜中性白血球的遷移中之個別及集體影響。使用來自Th17細胞的上清液所活化的RA滑膜細胞明顯地增加嗜中性白血球的趨化細胞素反應(圖14)。相對於與同型物相匹配的陰性對照，嗜中性白血球遷移受到特異性IL-17A阻斷顯著抑制。在RA滑膜細胞活化之前僅中和Th17上清液中的IL-17F不改變嗜中性白血球遷移能力。相反地，IL-17A及IL-17F之雙重抑制會抑制嗜中性白血球遷移至相比單單IL-17A抑制更大的程度。使用Enbrel預阻斷TNF α 亦顯著影響嗜中性白血球趨化性，嗜中性白血球趨化性另外受到額外IL-17同型物特異性中和抗體抑制。重要的是，使用TrYbe18B三特異性阻斷IL-17A、IL-17F及TNF證實與使用個別抗體以中和此等細胞激素相似之針對嗜中性白血球遷移之抑制。

在該研究中，吾人證實經由中和IL-17AF及TNF α (使用個別阻斷劑

(抗-IL-17AF + Enbrel)或經由使用TrYbe18B進行的三特異性阻斷)可達成嗜中性白血球遷移之最佳抑制。

實例12 活體內TrYbe 18B之藥物動力學(PK)分析

對四隻雄性食蟹獼猴投與10 mg/kg靜脈內(IV)單次推注劑量之TrYbe18B及歷時28天以選定時間間隔收集血清樣品。使用免疫分析法(其證實IL17A/F及TNF結合區二者皆存在)，分析樣品中TrYbe18B的濃度。實施兩區室PK分析。

TrYbe18B之血清濃度係與有能力結合至FcRn且藉由FcRn再循環之大分子量蛋白質一致(圖15)。該性質由其白蛋白結合域賦予TrYbe18B。TrYbe18B在IV給藥之後的初始濃度係與具有類似於血漿體積之中央區室體積的分子一致。濃度以雙指數方式衰減，其中終點(β)半衰期為約5.6天(表11)。慢終點半衰期符合TrYbe18B之相對低清除率；與結合至FcRn且藉由FcRn再循環一致。慢清除率亦證實TrYbe之活體內穩定性，因為分子之結合性成分中任一者的實質清除率將表現為增加的表觀清除率。

表11. TrYbe18B在IV投藥至食蟹獼猴後的估算PK參數。

動物	C _{max} ($\mu\text{g/mL}$)	中央區室體積 (mL/kg)	穩態體積 (mL/kg)	CL (mL/天/kg)	終點半衰期(天)
平均值	329	31.2	48.1	6.70	5.59
SD	62.8	6.01	12.8	3.01	1.29

CL = 清除率

C_{max} = 最大血清濃度

SD = 標準偏差

【序列表】

<110> 比利時商UCB生物製藥公司

<120> 對 TNF- α 、IL-17A 及 IL-17F 具特異性之多重特異性抗體分子

<130> PF0054-WO

<150> GB1522391.0

<151> 2015-12-18

<160> 147

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽連接子

<400> 1

Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 肽連接子

<400> 2

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 3

Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala
1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 4

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10

<210> 5
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 5

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15

Pro Ala

<210> 6
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 6

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys
1 5 10 15

Pro Ala Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
20 25

<210> 7
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 7

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Gly Lys Pro Thr Leu
1 5 10 15

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

<210> 8
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鉸鏈連接子

<400> 8

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Gly Lys Pro Thr His
 1 5 10 15

Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys Tyr
 20 25 30

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 9

Asp Lys Thr His Thr Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

<210> 10

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 10

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 1 5 10 15

Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala
 20 25

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鉸鏈連接子

<400> 11

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Ser Cys Pro Ala
 1 5 10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 12

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu

1

5

<210> 13
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 13

Asp Lys Thr His Thr Ser
 1 5

<210> 14
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 14

Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5

<210> 15
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 15

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10

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

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 16

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 17
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 17

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 18

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 18

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 20 25

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 19

Ala Ala Ala Gly Ser Gly Gly Ala Ser Ala Ser
 1 5 10

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<220>

<221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<400> 20

Ala Ala Ala Gly Ser Gly Xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser
 1 5 10 15

<210> 21

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<400> 21

Ala Ala Ala Gly Ser Gly Xaa Gly Gly Gly Ser Xaa Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Gly Ala Ser Ala Ser
 20

<210> 22
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<400> 22

Ala Ala Ala Gly Ser Gly Xaa Gly Gly Gly Ser Xaa Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser
 20 25

<210> 23
 <211> 31
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<400> 23

Ala Ala Ala Gly Ser Gly Xaa Gly Gly Gly Ser Xaa Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

Xaa Gly Gly Gly Ser Xaa Gly Gly Gly Ser Gly Ala Ser Ala Ser
 20 25 30

<210> 24
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)
 <223> Xaa 可為天然生成之胺基酸

<400> 24

Ala Ala Ala Gly Ser Gly Xaa Ser Gly Ala Ser Ala Ser
 1 5 10

<210> 25
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 25

Pro Gly Gly Asn Arg Gly Thr Thr Thr Thr Arg Arg Pro Ala Thr Thr
 1 5 10 15

Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr Gln Ser His Tyr
 20 25

<210> 26
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 26

Ala Thr Thr Thr Gly Ser Ser Pro Gly Pro Thr
 1 5 10

<210> 27
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 27

Ala Thr Thr Thr Gly Ser
 1 5

<210> 28
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 28

Glu Pro Ser Gly Pro Ile Ser Thr Ile Asn Ser Pro Pro Ser Lys Glu
 1 5 10 15

Ser His Lys Ser Pro
 20

<210> 29
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 29

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

<210> 30
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 30

Gly Gly Gly Gly Ile Ala Pro Ser Met Val Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 31

Gly Gly Gly Gly Lys Val Glu Gly Ala Gly Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 32

Gly Gly Gly Gly Ser Met Lys Ser His Asp Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 33

Gly Gly Gly Gly Asn Leu Ile Thr Ile Val Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 34

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

<210> 35

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 35

Gly Gly Gln Lys Ser Ile Pro Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 36

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

Arg Pro

<210> 37

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 37

Tyr Pro Arg Ser Ile Tyr Ile Arg Arg Arg His Pro Ser Pro Ser Leu
1 5 10 15

Thr Thr

<210> 38

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 38

Thr Pro Ser His Leu Ser His Ile Leu Pro Ser Phe Gly Leu Pro Thr
1 5 10 15

Phe Asn

<210> 39

<211> 18

<212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 39

Arg Pro Val Ser Pro Phe Thr Phe Pro Arg Leu Ser Asn Ser Trp Leu
 1 5 10 15

Pro Ala

<210> 40
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 40

Ser Pro Ala Ala His Phe Pro Arg Ser Ile Pro Arg Pro Gly Pro Ile
 1 5 10 15

Arg Thr

<210> 41
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 41

Ala Pro Gly Pro Ser Ala Pro Ser His Arg Ser Leu Pro Ser Arg Ala
 1 5 10 15

Phe Gly

<210> 42
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 42

Pro Arg Asn Ser Ile His Phe Leu His Pro Leu Leu Val Ala Pro Leu
 1 5 10 15

Gly Ala

<210> 43
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 43

Met Pro Ser Leu Ser Gly Val Leu Gln Val Arg Tyr Leu Ser Pro Pro
 1 5 10 15

Asp Leu

<210> 44
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 44

Ser Pro Gln Tyr Pro Ser Pro Leu Thr Leu Thr Leu Pro Pro His Pro
 1 5 10 15

Ser Leu

<210> 45
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 45

Asn Pro Ser Leu Asn Pro Pro Ser Tyr Leu His Arg Ala Pro Ser Arg
 1 5 10 15

Ile Ser

<210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 46

Leu Pro Trp Arg Thr Ser Leu Leu Pro Ser Leu Pro Leu Arg Arg Arg
 1 5 10 15

Pro

<210> 47
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 47

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

Pro Pro

<210> 48
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 48

Val Pro Pro Ala Pro Val Val Ser Leu Arg Ser Ala His Ala Arg Pro
 1 5 10 15

Pro Tyr

<210> 49
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 49

Leu Arg Pro Thr Pro Pro Arg Val Arg Ser Tyr Thr Cys Cys Pro Thr
 1 5 10 15

Pro

<210> 50
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 50

Pro Asn Val Ala His Val Leu Pro Leu Leu Thr Val Pro Trp Asp Asn
 1 5 10 15

Leu Arg

<210> 51

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 可撓連接子

<400> 51

Cys Asn Pro Leu Leu Pro Leu Cys Ala Arg Ser Pro Ala Val Arg Thr
 1 5 10 15

Phe Pro

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 剛性連接子

<400> 52

Gly Ala Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala
 1 5 10

<210> 53

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 剛性連接子

<400> 53

Pro Pro Pro Pro
 1

<210> 54

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 白蛋白結合肽

<400> 54

Asp Leu Cys Leu Arg Asp Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10

<210> 55

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 白蛋白結合肽

<400> 55

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 白蛋白結合肽

<400> 56

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Gly Asp
 1 5 10 15

<210> 57

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 白蛋白結合肽

<400> 57

Gln Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Glu Asp Asp Glu
 20

<210> 58

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 白蛋白結合肽

<400> 58

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Gly Arg Ser Val

20

<210> 59
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 59

Gln Gly Leu Ile Gly Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
 1 5 10 15

Gly Arg Ser Val Lys
 20

<210> 60
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 60

Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp
 1 5 10 15

<210> 61
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 61

Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
 1 5 10 15

Asp Asp

<210> 62
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 62

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp Asp
 1 5 10 15

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

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 63

Met Glu Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu Asp
 1 5 10 15

<210> 64
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 64

Arg Leu Met Glu Asp Ile Cys Leu Ala Arg Trp Gly Cys Leu Trp Glu
 1 5 10 15

Asp Asp

<210> 65
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 65

Glu Val Arg Ser Phe Cys Thr Arg Trp Pro Ala Glu Lys Ser Cys Lys
 1 5 10 15

Pro Leu Arg Gly
 20

<210> 66
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 66

Arg Ala Pro Glu Ser Phe Val Cys Tyr Trp Glu Thr Ile Cys Phe Glu
 1 5 10 15

Arg Ser Glu Gln
 20

<210> 67
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 67

Glu Met Cys Tyr Phe Pro Gly Ile Cys Trp Met
 1 5 10

<210> 68
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 白蛋白結合肽

<400> 68

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
 20

<210> 69
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 69

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 70
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 可撓連接子

<400> 70

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 71
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 496g3-CDRH1 之 CDR 序列

<400> 71

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Asn Met Ala
1 5 10

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 496g3-CDRH2 之 CDR 序列

<400> 72

Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 73

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 496g3-CDRH3 之 CDR 序列

<400> 73

Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe Ala His
1 5 10 15

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 496g3-CDRL1 之 CDR 序列

<400> 74

Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu Met His
1 5 10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 496g3-CDRL2 之 CDR 序列

<400> 75

Leu Val Ser Asn Ser Glu Ile
1 5

<210> 76
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 496g3-CDRL3 之 CDR 序列

<400> 76

Gln Gln Thr Trp Ser Asp Pro Trp Thr
 1 5

<210> 77
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 496g3 之輕鏈可變區

<400> 77

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu
 20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 78
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 496g3 之重鏈可變區

<400> 78

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

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

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

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
100 105 110

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 79
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 496g3 之輕鏈可變區的 DNA

<400> 79
gcgatccagc tgacgcaate gccgtcctcg ctgtcagcga gcgtgggcga tagggtcacg 60
atcaccctgc ggccgatga atcggctccgc actctgatgc attggtatca gcaaagccg 120
ggaaaggccc cgaagctgct catctaccig gtgagcaatt ccgagatcgg agtcccggac 180
cgcttcagcg gtccggcag cggaaccgac ttccgcctga ctatttcctc gctgcaaccc 240
gaggacttcg ctacttacta ctgccagcag acctggtcag atccgtggac ttccggcag 300
ggaaccaag tggaatcaa gcggact 327

<210> 80
<211> 375
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 496g3 之重鏈可變區的 DNA

<400> 80
gaagtgcagc tggtggaatc cggcggagga ctggtgcagc ccggtggatc attgagactt 60
tcgtgtgcag catcaggcct taccttctcg gactacaata tggcatgggt gcgccaagcg 120
cctggtaaag gactggaatg ggtcgcgact atcacctatg aggggcggaa tacttactat 180
agggatagcg lcaaaggcag cttaccatc tcacgggaca acgctaagaa ctccctgtac 240

ctccaaatga actcactcag ggcagaagat acggccgtgt actactgigc ctcgcctccg 300
 cagtactacg aagggtccat ctaccgcctt tggctcggcc attggggaca gggaacgctg 360
 gtgactgtgt cctcg 375

<210> 81
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 496g3 之輕鏈(VL-CL)

<400> 81

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu
 20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 82
<211> 228
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體 496g3 之重鏈(VH-CH1)

<400> 82

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

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

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

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
100 105 110

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Pro Lys Ser Cys
225

<210> 83
<211> 642
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 496g3 之輕鏈的 DNA(不含信號序列)

<400> 83
gcgatccagc tgacgcaatc gccgtccctcg ctgtcagcga gcgtggcgca tagggtcacg 60
atcacctgtc gggccgatga atcggctcgc actctgatgc atiggtatca gcaaaagccg 120
ggaaaggccc cgaagctgct catctacctg gtgagcaatt ccgagatcgg agtcccgagc 180
cgcttcagcg gtccggcgag cggaaaccgac ttccgcctga ctatttctc gctgcaaccc 240
gaggacttcg ctacttacta ctgccagcag acctggtcag atccgtggac ttccggcgag 300
ggaaaccaag tggaaatcaa ggggactgtc gccgcacctt cgggttcat ctltccaccg 360
tcagacgaac aacttaaaag cggactcgc tccgtggtgt gccctcttaa caacttttac 420
cctagagaag ccaaggctca gtggaagggt gacaatgccc ttcaaagcgg aaacagccag 480
gagtcgtga ccgagcagga ctcaaaagat tgcacttata gcttgcgtc cacgctcacc 540
ctgagcaaag cagactacga aaagcacaag gtgtacgctt gcgaagtga ccaccaaggc 600
ttgtcgagcc ccgtgaccaa atccttcaac cggggagaat gc 642

<210> 84
<211> 684
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 496g3 之重鏈的 DNA(不含信號序列)

<400> 84
gaagtgcagc tggaggaaac cggcggagga ctgggtgcagc ccggtggatc atlgagactt 60
tcgtgtgcag catcaggctt taccttctcg gactacaata tggcatgggt gcgccaagcg 120
ccctgtaaaag gactggaatg ggtcgcgact atcacttatg aggggcggaa tacttactat 180
agggatagcg tcaaaggacg ctltaccatc tcacgggaca acgctaagaa ctccctgtac 240
ctccaaatga actcactcag ggcagaagat acggccgtgt actactgtgc ctgcctccg 300
cagtactacg aagggtccat ctaccgcctt tggttcgcgc attggggaca gggaacgctg 360
gtgactgtgt cctcggtctc gaccaagggg ccctcggtgt tccctctggc gcctagctcc 420
aagagcactt caggcggaac ggcctccctc ggaagcctgg tcaaggacta ctteccagag 480
cccgtgacgg tgcatggaa cagcggagct ctgactagcg gagtgcacac ctltccggcg 540

gtgctgcaaa gctcaggcct gtactegete tctcagtagg tcactgtccc gtctctctcg 600
 ctggggactc aaacgtacat ctgcaacgtc aatcacaacc cgtcaaatac caaagtcgac 660
 aagaaggtag agcctaagtc gtgc 684

<210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRH1 之 CDR 序列

<400> 85

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

<210> 86
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRH2 之 CDR 序列

<400> 86

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 1 5 10 15

Thr

<210> 87
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRH3 之 CDR 序列

<400> 87

Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr
 1 5 10

<210> 88
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL1 之 CDR 序列

<400> 88

Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala
 1 5 10

<210> 89
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL2 之 CDR 序列

<400> 89

Asp Ser Ser Thr Leu His Thr
 1 5

<210> 90
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL3 之 CDR 序列

<400> 90

Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr
 1 5

<210> 91
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 gL18 之輕鏈可變區

<400> 91

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

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

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

Tyr Asp Ser Ser Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Thr Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
 100 105

<210> 92
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 gH2 之重鏈可變區

<400> 92

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 93
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 編碼抗體 2109 gL18 之輕鏈可變區的 DNA

<400> 93

gatatacaga tgacccaatc accaagctct ctgagtgtt ccgttggcga tgcggttaca 60

attacctgcc gagcttagcga ggatatatac tcaggactgg cctggtacca gcaaaagcct 120

ggcaaagtgc ctaagctcct gatctacgac tccagtacc tgcacactgg tgtgccaagc 180

cgcttttagcg gaactggatc tggaaaccgac tatacactga cgatttcctc actgcaaccg 240

gaagacgtgg caacctactt ctgtcagcaa aactacgact tccccitgac gtttgggcaa 300

gggacaaagc tggagatcaa acgtacc 327

<210> 94
 <211> 357
 <212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼抗體 2109 gH2 之重鏈可變區的 DNA

<400> 94

```

gaagttcaac tggtcgaaag cggagggtggg ctctgaaac ctggcggatc tctgcgattg      60
tcattgtctg caagcggcta cactgttacc gataactata tccactgggt gcgacaagca      120
ccagggaagg gactgggaatg gattggatat attaacccga gctccgccta cgcacactac      180
aacgagaaat tcaagaccgg attacaccatc tccgtggaca aagccaagaa ctccgcttac      240
ctgcaaatga actctctcgg ggccgaagac actgccgtgt attactgcac ccgcggatac      300
tatagegcta tgccttttgc ctactgggga caaggacac tggtcactgt ctcaagt      357

```

<210> 95

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 2109 gL18 之輕鏈可變區

<400> 95

```

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

```

```

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

```

```

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

```

```

Tyr Asp Ser Ser Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50         55         60

```

```

Thr Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65         70         75         80

```

```

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu
85         90         95

```

```

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
100        105

```

<210> 96

<211> 119

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 2109 gH2 之重鏈可變區

<400> 96

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 97
<211> 327
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 2109 gL18 之輕鏈可變區的 DNA

<400> 97
gataaccaga tgaccacgtc gcctccagc cctccgcc cctggggaga cagagtgcg 60
atcacttgca gageatcaga ggacatctac tctggccttg ctgggtatca gcagaagccg 120
ggaaagggtc ccaactgct catctatgac tctcgaccc tccacacggg agtgccatcg 180
cgcttcagcg ggaccggatc tgggaccgac tacacctga ccatttcac gtccagccg 240
gaggatgttg ccacttactt ctgccacag aattacgact tccacttac ttttgatgt 300
ggcactaagc tcgaaatcaa ggcacc 327

<210> 98
<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 2109 gH2 之重鏈可變區的 DNA

<400> 98
gaagtcagc tggaggagc gggggaggg ttggtgaagc caggaggatc attgcggttg 60
tcatgtcggg ctccgggcta cactttcact gacaattaca ttactgggt ggcagaagca 120

ccagggaagt gcctogaatg gatiggctac atcaacccgt caagcgcata cgccattac 180
 aacgaaaagt tcaagaccgg gttcaccatc tccgiggata aggcgaaaaa cagcgcgtag 240
 cttcagatga actccctggc ggccgaggat accgccgttt actactgcac tagacggtag 300
 tacagcgcca tgccgttcgc gtactgggga caaggcatic tggtcaccgt gtcgtcg 357

<210> 99
 <211> 248
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 gH2gL18 之 scFv (VH-VL)

<400> 99

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
 130 135 140

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
 145 150 155 160

Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala Trp Tyr Gln
 165 170 175

Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ser Ser Thr
 180 185 190

Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr
195 200 205

Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr
210 215 220

Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
245

<210> 100

<211> 744

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼抗體 2109 gH2gL18 之 scFv(VH-VL)的 DNA

<400> 100

```

gaagttcaac tggtcgaaag cggaggtggg ctcgigaaac ctggcggatc tctgcgattg      60
tcatgtgctg caagcggcta cagctttacc gataactata tccactgggt gcgacaagca      120
ccagggaagg gactggaatg gattggatat attaacccga gctccgecta cgcacactac      180
aacgagaaat tcagaccgcg attcaccatc tccgtggaca aagccaagaa ctccgcttac      240
ctgcaaatga actctctgcg ggccgaagac actgcccgtg attactgcac ccgccgatac      300
tatagcgcta tgccttttgc ctactgggga caaggacac tggtcactgt ctcaagtgga      360
ggtagcggtt ctggcgggtg cggttccggt ggccgttgat cgggaggtgg cggltctgat      420
atacagatga cccaatcacc angtctctg agtcttccg ttggcgatcg cgttacaatt      480
acctgccgag ctagecgagga tatatactca ggactggcct ggtaccagca aaagcctggc      540
aaagtgccca agctccatg ctacgactcc agtaccctgc acactgggtg gccaaagccgc      600
tttagcggaa ctggaatctg aaccgactat acactgacga ttctctcact gcaaccggaa      660
gacgtggcaa cctactctg tcagcaaac tacgacttcc ccttgacgtt tgggcaaggg      720
acaaagctgg agatcaaacg tacc      744

```

<210> 101

<211> 248

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 2109 gH2gL18 之 dsscFv(VH-VL)

<400> 101

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn

20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile
 35 40 45
 Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Thr Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Asn Ser Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
 130 135 140
 Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
 145 150 155 160
 Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala Trp Tyr Gln
 165 170 175
 Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ser Ser Thr
 180 185 190
 Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr
 195 200 205
 Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr
 210 215 220
 Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly
 225 230 235 240
 Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
 245

<210> 102
 <211> 744
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 編碼抗體 2109 gH2gL18 之 dsscFv(VH-VL)的 DNA

<400> 102
 gaagtgcagt tggtagagtc ggggggaggg ttggtgaagc caggaggatc attgoggttg 60
 tcatgtgcgg ctccgggcta cactttcact gacaattaca ttactgggt gcgacaagca 120
 ccagggaagt gctcgaatg gattggctac atcaaccogt caagcgata cgccattac 180
 aacgaaaagt tcaagaccog gtaccaccac tccgtggata aggcgaaaa cagcgctac 240
 ctccagatga actccctcgg gcccgaggat accgccgttt actactgcac tagacggtag 300
 tacagcgcca tgcgttcgc gtactggga caaggcatic tggcaccgt gtcgtcggga 360
 ggaggaggct cgggtggagg cggatcgggt gccggaggga gcggcgagg cggtcggat 420
 atccagatga cccagtccc gtccagctc tccgctcgg tgggagacag agtgacgac 480
 acttcagag catcagagga catctactct ggcttgcct ggatcagca gaagccggga 540
 aaggtagcca aactgctcat ctatgactcc tcgacctcc acacgggagt gccatcggc 600
 ttacgggga ccggaatcgg gaccgactac accctgacca ttcatcgct ccagccggag 660
 gatgttgcca ctactctg ccaacagaat tacgactcc cacttacttt tggatgtgga 720
 actaagctcg aaatcaagcg cacc 744

<210> 103
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 CDRH1 之 CDR 序列

<400> 103

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

<210> 104
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 CDRH2 之 CDR 序列

<400> 104

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

<210> 105
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 CDRH3 之 CDR 序列

<400> 105

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 106
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 CDRL1 之 CDR 序列

<400> 106

Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
 1 5 10

<210> 107
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 CDRL2 之 CDR 序列

<400> 107

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser
 1 5

<210> 108
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 CDRL3 之 CDR 序列

<400> 108

Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr
 1 5 10

<210> 109
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 645 之輕鏈可變區

<400> 109

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30

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

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

<210> 110

<211> 121

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 645 之重鏈可變區

<400> 110

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
50 55 60

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

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

Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 111

<211> 336

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼抗體 645 之輕鏈可變區的 DNA

<400> 111

gatattcaga tgaccagag tccaagcagt gtltccgccg gcgtaggcga tcgtgtgact 60
 attacctgtc agtccctccc gagcggttgg tccaactccc tgagctggta ccagcagaaa 120
 ccgggtaaag ccccgaaact gctgattcac gaggcgtcta aactgacctc tgggtaccg 180
 tcccglttct ctggctctgg ctctggtagc gacttacctc tgaccatctc ctctctgeag 240
 ccggaagact ttgcaacgta ctactgcggt ggtggttact ctccatctc tgacaccacg 300
 ttcggtagag gcaccaaagt tgaatcaaa cgtacg 336

<210> 112
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 編碼抗體 645 之重鏈可變區的 DNA

<400> 112 60
 gaggttcagc tgcctggagc tggaggcggg ctgtctcagc ctggaggag cctgcgtctc
 tcttgtcagc taagcggcat cgacctgtcc aactacgcga ttaactgggt acgtcaggca 120
 ccgggtaaag gtcctggaatg gatcggcatc atctgggcct ctggtaccac ctctacgt 180
 acttgggcca aaggctgltt caccatctcc cgtgacaact ctaaaaacac cgtgtacctg 240
 cagatgaact ctctgcgtgc ggaagacact gcggtttact attgcgcgcg tacctgtccg 300
 ggctattcta ctgcaccgta ctctgacctg tgggttcagg gtactctggt tacctgtctc 360
 agt 363

<210> 113
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 645 之輕鏈可變區

<400> 113

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn
 20 25 30

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

Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
 50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile
85 90 95

Ser Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

<210> 114
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體 645 之重鏈可變區

<400> 114

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
50 55 60

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

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

Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 115
<211> 336
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 645 之輕鏈可變區的 DNA

<400> 115

gacatccaga tgacgcagtc accatcgicc gtgtcagcat ccgtgggaga cagagtgacc	60
attacttgtc agtcctcgcc ctacgtctgg tcgaattttc tgcgtggta tcaacaaaag	120
ccagggaag ccccaaagct gctgatctac gaggccagca aactcacttc gggagtcctt	180
agcagattct cgggtcggg atcgggcacc gatttcaccc tcaccattag ctactccaa	240

ccagaggait ttgccacctt ctactgcggc ggtggctaca gctcaatctc agataccact 300
ttcggatgcg gtactaaggt cgagattaag cgcact 336

<210> 116
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 645 之重鏈可變區的 DNA

<400> 116
gaagtgcagc tcttggaaac ggttggagga ctgggcagc cgggaggttc cctgaggctg 60
agctgtgctg tgtccggcat cgacctttca aactacgcc acaattgggt gaggcaggcg 120
ccaggaaaat gctcgaatg gatcggtatc atctgggcta gcggaactac cttctatgcg 180
acgtgggcca agggacggtt cactatctcg cgcgataaca gcaagaacac cgtgtacctc 240
cagatgaaca gcctccgggc tgaggacact gcagctctatt actgcgcgag aacggtgccg 300
gactactcca ctgcaccgta ctgcacttg tggggacagg gaactctgt gaccgtcagc 360
tcg 363

<210> 117
<211> 253
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體 645 之 scFv(VH-VL)

<400> 117
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30
Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu
180 185 190

Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr
225 230 235 240

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
245 250

<210> 118

<211> 759

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼抗體 645 之 scFv(VH-VL)的 DNA

<400> 118

gagggtcagc tgcctggagtc tggaggcggg ctgtgccagc ctggaggag cctgcgtctc 60

tcctgtgacg taaggcgcat cgacctgtcc aactacgca ttaactgggt acgtcaggca 120

ccgggtaaag gtcctgaatg gatcgccatc atctgggcct ctggtacgac ctctacgct 180

acttgggcca aaggicgttt caccatctcc cgtgacaact ctaaaaaac cgtgtacctg 240

cagatgaact ctctgcgtgc ggaagacact gcggtttact attgcgcgcg taccgttccg 300

ggctattcta ctgcaccgta ctctgacctg tggggtcagg gtactctggt taccgtctcg 360

agtggaggtg gcggttctgg cggtagcggt tccggtggcg gtggatcggg aggtggcggt 420

tcgtatatcc agatgaccca gattccaagc agtgtttccg ccagcgtagg cgatcgtgtg 480

actattacct gtcagtcctc tccgagcgtt tggccaact tcttgagctg gtaccagcag 540

aaaccgggta aagcccgaa actgtgatc tacgaggcgt cttaactgac ctctgggtga 600

cgtgccggtt tccttggtc tggctctggt accgactca ctctgacct ctctctctg 660

cagccggaag actttgcaac gtactactgc ggtgggtggtt actcttccat ctctgacacc 720
acgttcggtg gaggcaccaa agttgaaatc aaacgtacc 759

<210> 119
<211> 253
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體 645 之 dsscFv(VH-VL)

<400> 119

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr
20 25 30

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

Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
50 55 60

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

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

Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln
130 135 140

Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
145 150 155 160

Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser
165 170 175

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu
180 185 190

Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
195 200 205

Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp
210 215 220

Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr
225 230 235 240

Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
245 250

<210> 120
<211> 759
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼抗體 645 之 dsscFv(VH-VL)的 DNA

<400> 120
gaagtgacgc tcttggaaac gggtagagga ctggtagcgc cgggagggtc cctgaggctg 60
agctgtgctg tgtagggcat cgacctttca aactacgcca tcaattgggi gaggcaggcg 120
ccaggaaaat gctcgaatg gatcggtatc atctgggcta gcggaactac cttctatgag 180
acgtgggcca agggacgggt cactatctcg cgcgataaca gcaagaacac cgtgtacctc 240
cagaigaaca gccctcgggc taggacact gcagctctat actgcgcgag aacggtgccg 300
ggctactcca ctgcaccgta cttagacttg tggggacagg gaactctgti gaccgtcagc 360
tcgggaggag gaggtcggg cggagtggg tcgggaggag gtggaagcgg aggaggcgga 420
tcggacatcc agatgacgca gtcaccatcg tccggtcag catccgtggg agacagagtg 480
accattactt gtcagtcctc gccctcagtc tggtcgaatt tctgtcgtg giatcaacaa 540
aagccaggga aagcccaaaa gctgctgato tacgaggcca gcaaaactac ttcgggagtc 600
cctagcagat tctcggctc gggatcgggc accgatttca cctcaccat tagctcactc 660
caaccagagg attttgccac ctactactgc ggcggtggct acagctcaat ctgagatacc 720
actttcggat gcgtactaa ggtcgagatt aagccact 759

<210> 121
<211> 487
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 496.g3 HC-2109VHVL

<400> 121

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

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

Asn Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
 Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
 100 105 110
 Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
 130 135 140
 Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 145 150 155 160
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 165 170 175
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 180 185 190
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
 195 200 205
 Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
 210 215 220
 Pro Lys Ser Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
 225 230 235 240
 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
 245 250 255
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Tyr
 260 265 270
 Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
 275 280 285
 Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
 290 295 300

Thr Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Asn Ser Ala Tyr Leu
305 310 315 320

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
325 330 335

Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
340 345 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
370 375 380

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
385 390 395 400

Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
405 410 415

Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ser Ser Thr Leu
420 425 430

His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr Asp
435 440 445

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr
450 455 460

Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr
465 470 475 480

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
485

<210> 122
<211> 1461
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼 496.g3 HC-2109VHVL 的 DNA

<400> 122
gaagtgcagc tggtaggaatc cggcggagga ctggtgcagc cgggtggatc attgagactt 60
tcgtgtgcag catcaggctt tacittctcg gactacaata tggcatgggt gcgccnagcg 120
ccctggtaaag gactggaatg ggtagcgact atcacttatg aggggcggaa tactactat 180
agggatagcg tcaaaggacg cttaaccatc tcacgggaca acgctaagaa etccctgtac 240
ctccaaatga actcactcag ggcagaagat acggccgtgt actactgtgc ctgcctccg 300

cagtactacg aagggtccat ctaccgccct tgggtcgccc attggggaca gggaacgcig 360
 gtgactgtgt cctcggtctc gaccaagggg cctcgggtgt tccctctggc gcctagctcc 420
 aagagcacct caggcggaac ggctgcccic ggaatgccig tcaaggacta ctccccagag 480
 cccgtgaccg tgcctggaa cagcggagct ctgactagcg gagtgcacac ctctccggcg 540
 gtgctgcaaa gctcaggcct gtactcgctc tctcagtggt tcaactgtccc gtctctctcg 600
 ctggggactc aaacgtatct ctgcaacgtc aatcacaac cgtcaaatac caaagtcgac 660
 aagaaggctc agcctaagtc gtgcagcgga ggaggtggat ccggcgggtg aggtagcgaa 720
 gtccaactgg tcgaaagcgg aggtgggctc gigaacctg gcggatctct gcgattgicg 780
 ttgtgcigaa gcggctacac gtttaccgat aactatatcc actgggtgctg acaagcacca 840
 ggaagggac tggaatggat tggatatatt aacccgagct ccgcctacgc aactacaac 900
 gagaaatca agaccgatt caccatctcc gtggacaaag ccaagaactc cgttaactg 960
 caaatgaact ctctcggggc cgaagacact gccgtgtatt actgcaccgc ccgatactat 1020
 agcgtatgc cctttgccia ctggggacaa gggacactgg tcaactgtctc aagtgagggt 1080
 ggcggttctg gcggtggcgg ttccgggtgc ggtggatcgg gaggtagcgg ttctgatata 1140
 cagatgacc aatcaccaag ctctctgagt gcttccgttg gcgacgcgt tacaattacc 1200
 tgccgagcta gcgaggatat atactcagga ctggcctggt accagcaaaa gccctggcaa 1260
 gtgcctaagc tctgatcta cgactccagt accctgcaca ctgggtgccc aagccgcttt 1320
 agcggaaact gatctggaac cgactataca ctgacgatit cctcactgca accggaagac 1380
 gtggcaacct actctgtca gcaaaactac gacttccct tgacgtttgg gcaagggaca 1440
 aagctggaga tcaaacgtac c 1461

<210> 123
 <211> 487
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 496.g3 HC-2109VHVL

<400> 123

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

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

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

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
100 105 110

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Pro Lys Ser Cys Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu
225 230 235 240

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
245 250 255

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Tyr
260 265 270

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly
275 280 285

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
290 295 300

Thr Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Asn Ser Ala Tyr Leu
305 310 315 320

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
325 330 335

Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
340 345 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
370 375 380

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
385 390 395 400

Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
405 410 415

Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ser Ser Thr Leu
420 425 430

His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr Asp
435 440 445

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr
450 455 460

Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr
465 470 475 480

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
485

<210> 124
<211> 1461
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼 496.g3 HC-2109VHVL 的 DNA

<400> 124
gaagtcagc tggtagaatc cggcggagga ctggtgcagc ccggtggatc atigagactt 60
tcgtgtgcag catcaggctt tactttctcg gactacaata tggcatgggt gcgccaagcg 120
ccitgtaag gactggaatg ggtcgcgact atcacttatg agggcggaat tacttactat 180
agggatagcg tcaaggagcg ctttaccatc tcacgggaca acgctaagaa ctcccgtac 240
ctccaaatga actcactcag ggcagaagat acggccgtgt actactgtgc ctgcctccg 300
cagtactacg aagggtccat ctaccgcctt tggttcgccc atiggggaca gggaaagctg 360
gtgactgtgt cctcgcttc gaaccaaggg ccctcgggtg tccctctggc gcctagctcc 420
aagagcactt caggcggaac ggcctgcctc ggaagccagg tcaaggacta ctcccagag 480
cccgtgaccg tgcattgaa cagcggagct ctgactagcg gactgcacac ctttcggcg 540

gtgctgcaaa gctcaggcct gtactcgctc tcttcagtgg tcaactgtccc gtcctcctcg 600
 ctgggggactc aaacgtacaf ctgcaacgic aatcacaaac cgicaaatac caaagtcgac 660
 aagaaggctcg agcclaagtc gtgcagtggg ggtggggggca ccggagggtg cggttcagaa 720
 gtccaactgg tcgaaagcgg aggtggggctc gigaacctg gcggatctct gcgattgtca 780
 tgtctgcaaa gcggtctaac gtttaccgat aactatatcc acitgggtgcg acaagcacca 840
 gggaaggggac tggaatggat tggatataat aacccgagct ccgcctacgc acactacaac 900
 gagaattca agacccgatt caccatctcc gggacaaaag ccaagaactc cggttacctg 960
 caaatgaact ctctcggggc cgaagacact gccgtgtatt acitgcacctg ccgatactat 1020
 agcgtatgct cctttgccta ctgggggacaa gggacactgg tcactgtctc aagtggaggt 1080
 ggcggttctg gcggtggcgg ttccggtggc ggtggatcgg gaggtggcgg ttctgatata 1140
 cagatgaccc aatcaccaag ctctctgagt gcttccgttg gcgatcgctg tacaattacc 1200
 tgccgagcia gcgaggatat atactcagga ctggcctggt accagcaaaa gcctggcaaa 1260
 gtcctaagc tctgatcta cgactccagt accctgcaca ctggtgtgcc aagccgcttt 1320
 agcgggaactg gatctggaac cgactataca ctgacgattt cctcactgca accggaagac 1380
 gtggcaacct acctctgtca gcaaaactac gacttccctt tgacgtttgg gcaaggggaca 1440
 aagctggaga tcaaacgtac c 1461

<210> 125
 <211> 487
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 496.g3 HC-2109dsVHVL

<400> 125

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

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

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

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
100 105 110

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
115 120 125

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

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

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

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

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

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

Pro Lys Ser Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu
225 230 235 240

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
245 250 255

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Tyr
260 265 270

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly
275 280 285

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
290 295 300

Thr Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Asn Ser Ala Tyr Leu
305 310 315 320

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
325 330 335

Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
340 345 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
370 375 380

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
385 390 395 400

Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
405 410 415

Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ser Ser Thr Leu
420 425 430

His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr Asp
435 440 445

Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr
450 455 460

Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr
465 470 475 480

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
485

<210> 126
<211> 1461
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼 496.g3 HC-2109dsVHVL 的 DNA

<400> 126
gaagtgcagc tgggtggaatc cggcggagga cgggtgcagc cgggtggatc attgagactt 60
tcgtgtgcag catcaggcct taccttctcg gactacaata tggcatgggt gcgccaagcg 120
cctggtaaag gactggaatg ggtcgcgact atcacttatg aggggcggaa tacttactat 180
agggatagcg tcaaaggacg cttaccatc tcacgggaca acgctaagaa ctccctgtac 240
ctccaaatga atcactcag ggcagaagat acggcctgt actactgtgc ctgcctccg 300
cagtactacg aagggtccat ctaccgctt tggttcgccc attggggaca gggaacgctg 360
gtgactgtgt cctcgcttc gaccaagggg cctcgggtgt tccctctggc gcctagctcc 420
aagagcactt caggcggaaac ggctgccctc ggatgcctgg tcaaggacta ctccagag 480
ccgtgaccg tgcattgaa cagcggagct ctagtagcg gactgcacac cttccggcg 540
gtgctgcaaa gctcaggcct gtactcgtc tccctagtg tccctctcg 600
ctggggactc aaacgtacat ctgcaacgtc aatcacaac cgtcaaatc caaagtcgac 660
aagaaggtcg agcctaagtc gtgcagcggg agaggaggat cggcgggtgg aggtagcgaa 720

gtgcagttgg tggagtcggg gggagggttg gigaagccag gaggatcatt gcggttgtca 780
 tgtgcggctt cgggctacac ttctactgac aattacattc actgggtgcg acaagcacca 840
 gggaaagtgcc tcgaatggat tggctacatc aaccgcgtcaa gcgcatacgc ccattacaac 900
 gaaaagtcca agaccgggtt caccatctcc gtggataagg cgaaaaacag cgcgtacctt 960
 cagatgaact ccttcggggc cgaggatacc gccgtttact actgcactag acggtactac 1020
 agcgccatgc cgttcgcgta ctggggacaa ggcactctgg tcaccgtgic gtcgggagga 1080
 ggaggctcgg gtggaggcgg atcgggtggc ggaggagcgg gcggaggcgg ttcggatata 1140
 cagatgaccc agtcgcgcgc cagcctctcc gccctcgtgg gagacagagt gacgateact 1200
 tgcagagcat cagaggacat ctactctggc ctltgttggg atcagcagaa gccgggaaag 1260
 gtgcccaaac tgcctatcta tgactcctcg accctccaca cgggagtgcc atcgcgttcc 1320
 agcgggaccc gatctgggac cgactacacc ctgaccattt catcgtccca gccggaggat 1380
 gttgccactt acttctgcc aacagaattac gacttcccac ttacttttgg atgtggcact 1440
 aagctcgaag tcaagcgcac c 1461

<210> 127
 <211> 487
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 496.g3 HC-2109dsVHVL

<400> 127

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

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

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

Ala Thr Ile Thr Tyr Glu Gly Arg Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

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

Ala Ser Pro Pro Gln Tyr Tyr Glu Gly Ser Ile Tyr Arg Leu Trp Phe
 100 105 110

Ala His Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

Pro Lys Ser Cys Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu
225 230 235 240

Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly Ser
245 250 255

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn Tyr
260 265 270

Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly
275 280 285

Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe Lys
290 295 300

Thr Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ala Lys Asn Ser Ala Tyr Leu
305 310 315 320

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr
325 330 335

Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
340 345 350

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
355 360 365

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
370 375 380

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

385 390 395 400
 Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Ser Gly Leu Ala Trp Tyr Gln Gln
 405 410 415
 Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ser Ser Thr Leu
 420 425 430
 His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Thr Gly Ser Gly Thr Asp
 435 440 445
 Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr
 450 455 460
 Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr
 465 470 475 480
 Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr
 485

<210> 128
 <211> 1461
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 編碼 496.g3 HC-2109dsVHVL 的 DNA

<400> 128
 gaagtcgagc tggaggaaac cggcggagga ctgggtgcagc ccgggtggatc attgagactt 60
 tcgtgtgcag catcaggctt tactttctcg gactacaata tggcatgggt gcgccaagcg 120
 cctggtaaag gacttgaatg ggtcgcgact atcacttatg aggggcggaa tacttactat 180
 agggatagcg tcaaaggacg ctttaccatc tcacgggaca acgctaagaa ctccctgtac 240
 ctccaaatga actcactcag ggcagaagat acggccgtgt actactgtgc ctgcctccg 300
 cagtaacacg aagggtccat ctaccgctt tggttcgccc attggggaca gggaacgctg 360
 gtgaactgtt cctcggttc gaccaagggg ccttcgggtt tccctctggc gcctagctcc 420
 aagagcactt caggcggaac ggtgcctc ggatgcctcg tcaaggacta cttcccagag 480
 cccgtgaccg tgtcatggaa cagcggagct ctgactagcg gattgcacac cttccggcg 540
 gtgtgcgaaa gtcaggcct gtactcgtc tctcagtg tcaactgtccc gtccctctcg 600
 ctggggactc aaacgtacat ctgcaacgtc aatcacaac cgtcaaatac caaagtcgac 660
 aagaaggtcg agcctaagtc gtgcagtga ggtggggca ccggaggtgg cgttcagaa 720
 gtgcagttgg tggagtcggg gggagggttg gtgaagccag gaggatcatt gcggtgtca 780
 tgtcggctt cgggtacac ttctactgac aattacatc acitgggtcg acaagcacca 840
 gggaagtgcc tcgaatggat tggctacac aaccgtcaa gcgcatacgc ccattacaac 900
 gaaaagtcca agaccgggtt caccatctcc gtggataagg cgaaaaacag cgcgtacctt 960

cagatgaact ccctgcgggc cgaggatacc gccgtttact actgcactag acggtactac 1020
 agcgccatgc cgttcgcgta ctggggacaa ggcactcagg tcaccgtgfc gtcgggagga 1080
 ggaggctcgg gtagggcgg atcgsgtggc ggaggagcg gcggaggcgg ttgggatac 1140
 cagatgaccc agtcgccgc cagcctcicc gcctccgigg gagacagagt gacgatact 1200
 tgcagagcat cagaggacat ctactcggc ctgcttggt atcagcagaa gccgggaaag 1260
 gtagccaaac tgcctatcta tgactctcgc accctccaca cgggagtgcc atcgcgcttc 1320
 agcgggaccg gatctgggac cgactacacc ctgaccattt catcgctcca gccggaggat 1380
 gtggcaactt actctgcca acagaattac gacttcccac ttactttgg atgtggcact 1440
 aagctcgaag tcaagcgac c 1461

<210> 129
 <211> 478
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 496.g3 LC-645VHVL

<400> 129

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu
 20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

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

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

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 210 215 220
 Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
 225 230 235 240
 Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn
 245 250 255
 Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 260 265 270
 Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala
 275 280 285
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 290 295 300
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 305 310 315 320
 Ala Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp
 325 330 335
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 340 345 350
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
 355 360 365
 Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
 370 375 380
 Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu
 385 390 395 400
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
 405 410 415

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
420 425 430

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
435 440 445

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp
450 455 460

Thr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
465 470 475

<210> 130

<211> 1434

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼 496.g3 LC-645VHVL 的 DNA

<400> 130

gcgatccagc tgacgcaatc gccgtccctc cgtcagcga gcgtgggcga tagggtcacg	60
atcacctgtc gggccgatga atcgttcgc actctgatgc atgggatca gcaaaagccg	120
ggaaaggccc cgaagctgct catctacctg gtgagcaatt ccgagatcgg agtcccgac	180
cgttcacggt gtccggcag cgaacccgac ttccgctga ctatttctc gctgcaacc	240
gaggacttcg ctacttacta ctgccagcag accgtgtcag atcgtggac ttccggcag	300
ggaaccaag tggaatcaa gggactgtc gccgcacctt cgggttcat cttccaccg	360
tcagacgaac aacttaaaag cgaactggt tcgggtgtgt gcctccttaa caactttac	420
cctagagaag ccaaggtcca gtggaagggt gacaatgcc ttcaaagcgg aaacagccag	480
gagtcctga ccgagcagga ctcaaaagat tcgacttata gcttgtctc cagctcacc	540
ctgagcaaag cagactcga aaagcacaag gtgtacgctt gcaagtgac ccaccaaggc	600
ttgtcgagcc ccgtgacaa atccttcaac cggggagaat gcagcggagg cggaggctcc	660
ggaggaggag gatcagaggt tcagctgtc gagtctggag gcgggcttgt ccagcctgga	720
gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc ggcatcgacc tgtccaacta cgcgattaac	780
tgggtacgtc aggcaccagg taaaggctc gaatggatcg gcatcatctg ggcctctggt	840
acgaccttct acgtactctg ggccaaaggt cgttcacca tctcccgiga caactctaaa	900
aacaccgtgt accgtcagat gaactctctg cgtgcggaag aactgcggt ttactattgc	960
gcgcgtaccg ttccgggcta ttctactgca ccgtacttcg accgtgggg tcagggtact	1020
ctgggtaccg tctcgagtg aggtggcgtt tctggcgtg gcggttcgg tggcggtgga	1080
tcgggaggtg gcggttcga taccagatg acccagagtc caagcagigt ttccgccagc	1140
gtaggcgatc gtgagctat tacctgtcag tctctccga gcgtttggc caacttccg	1200
agctgttacc agcagaacc ggttaaagcc ccgaaactgc tgatctacga ggcgtctaaa	1260

ctgacctctg ggtaccgtc ccgttctctt ggctctggct ctggtacgga cttcactctg 1320
 accatctcct ctctgcagcc ggaagacitt gcaacgtact actgcggagg tggttactct 1380
 tccatctctg acaccacgtt cgggtggaggc accaaagtig aaatcaaacg tacg 1434

<210> 131
 <211> 478
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 496.g3 LC-645dsVHL

<400> 131

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Asp Glu Ser Val Arg Thr Leu
 20 25 30

Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

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

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

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

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

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

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
225 230 235 240

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn
245 250 255

Tyr Ala Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp
260 265 270

Ile Gly Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala
275 280 285

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
290 295 300

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
305 310 315 320

Ala Arg Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp
325 330 335

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
340 345 350

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile
355 360 365

Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg
370 375 380

Val Thr Ile Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu
385 390 395 400

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr
405 410 415

Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
420 425 430

Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
435 440 445

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp
450 455 460

Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

465

470

475

<210> 132
 <211> 1434
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 編碼 496.g3 LC-645dsVHVL 的 DNA

<400> 132
 gcgatccagc tgacgcaatc gccgtccctc ctgtcagcga gcgtgggcga tagggtcacg 60
 atcacctgtc gggccgatga atcgggtccg actctgatgc attggtatca gcaaaagccg 120
 ggaagggccc cgaagctgct catctacctg gtgagcaatt ccgagatcgg agtcccggac 180
 cgcttcacgg gtccggcgag cgggaaccgac ttccgcctga ctatttcctc gctgcaaccc 240
 gaggacttcg ctacttacta ctgccagcag acctggtcag atccgaggac ttccggcgag 300
 ggaaccaag tggaaatcaa gccgactgtc gccgcacctt cgggtgtcat ctltccaccg 360
 tcagacgaac aacttaaaag cgggaactgag tgggtggtgt gcctccttaa caacttttac 420
 cctagagaag ccaaggtcca gtggaaggta gacaatgcc ttcaaagcgg aaacagccag 480
 gagtccgiga ccgagcagga ctcaaaagat tcgacttata gcttgcgcgc cagcgtcacc 540
 ctgagcaaag cagactacga aaagcacaag ggtacgctt gcgaagtac ccaccaaggc 600
 ttgtcgagcc ccgtgacaa atccttcaac cggggagaat gcagcggtag cggaggctcc 660
 ggaggaggag gatcagaagt gcagctcttg gaatcgggtg gaggactggt gcagccggga 720
 ggttccctga ggtgagctg tctgtgtcc ggcacgacc ttcaaaacta cggcatcaat 780
 tgggtgagcc aggcgccagg aaaatgtctc gaatgagtc gtaicacttg ggttagcgga 840
 actacctct atgcgacgtg ggccaaggga cggttacta tctcgcgcga taacagcaag 900
 aacaccgigt accctcagat gaacagcctc cgggctgagg acactgcagt ctattactgc 960
 gcgagaacgg tgcggggcta ctccactgca ccgtacttcg acttgtggg acaggggaact 1020
 ctgtgaccg tcagctcggg aggaggaggt tcggccggag gtgggtcggg aggagggtga 1080
 agcggaggag gcggatcgga catccagatg acgcagtcac catcgtccgt gtcagcatcc 1140
 gtgggagaca gattgacat tacttgtcag tctcgcctt cagctgtgtc gaattttctg 1200
 tctgtgtatc aaaaaagcc agggaaagcc ccaaaagtc tgaatctaga ggccagcaaa 1260
 ctcaattcgg gattccctag cagattctcc ggtcgggat cgggcaccga ttccacctc 1320
 accatlagct cactccaacc agaggatttt gccacctact actgaggcgg tggctacagc 1380
 tcaatctcag ataccacttt cggatgcggt actaaggctg agattaagcg cact 1434

<210> 133
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 2109 之大鼠可變重鏈序列

<400> 133

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Thr Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Thr Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134

<211> 113

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有 JH4 之人類生殖系受體框架 VH3 序列 1-3 3-21

<400> 134

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Thr Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85

90

95

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

Ser

<210> 135
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 gH1 之重鏈可變區

<400> 135

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

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

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

Gly Tyr Ile Asn Pro Ser Ser Ala Tyr Ala His Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

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

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

Thr Arg Arg Tyr Tyr Ser Ala Met Pro Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 136
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL1 之 CDR 序列

<400> 136

Arg Ala Ser Gln Asp Ile Tyr Asn Gly Leu Ala
 1 5 10

<210> 137
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL2 之 CDR 序列

<400> 137

Asn Ser Asn Thr Leu His Thr
 1 5

<210> 138
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL2 之 CDR 序列

<400> 138

Asn Ser Ser Thr Leu His Thr
 1 5

<210> 139
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 抗體 2109 CDRL2 之 CDR 序列

<400> 139

Asp Ser Asn Thr Leu His Thr
 1 5

<210> 140
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 大鼠抗體 2109 之輕鏈可變區

<400> 140

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

Glu Thr Val Thr Ile Glu Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Gly
 20 25 30

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

Tyr Asn Ser Asn Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Thr Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105

<210> 141
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人類 VK1 2-1 (U) A20 JK2 受體框架

<400> 141

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

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

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 142
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 抗體 2109 gL1 之輕鏈可變區

<400> 142

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Gly
20 25 30

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

Tyr Asn Ser Asn Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Thr Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 143

<211> 1461

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 編碼 496.g3 HC-2109dsVHVL 的 DNA

<400> 143

gaggatgcagc tcgtcgaaag cggcggagga ctctgtcagc ctggaggctc attgcggttg	60
tcatgtgccg ccagcggctt cacttttcc gactataaca tggcctgggt gcgccaagct	120
cctggaaagg ggcctggaatg ggctgccacc atcacttacg agggccggaa cactactac	180
cgcgattccg tgaaggggag gttcactatt tcgcgggaca acgccaagaa ctgcgtgtac	240
cttcaaatga actccctccg cgcggaagat accgccgtgt attactgcgc ctaccaccg	300
caatactacg aggggaagcat ctacagactc tggttcgccc attggggcca gggaactttg	360
gtgaccgtca gctcagcctc cactaagggc cccagcgtgt tccctcttgc tccgtcctcc	420
aagtcacatt ciggcggcac tgcagccttg gggctgcctg tgaaggatta ctcccggaa	480
cccgtgaccg tgtcctggaa ctccggagcc ctgacctcgg gagtgcacac ctcccagcg	540
gtgctccagt cctccggcct glactcactc tcatcggtcg tgacctgcc gtccagctcc	600
ctgggaaccc agacttacat tlgcaacgtg aaccacaagc calccaacac caaggaggac	660
aagaaggagg agcctaagag ctgttcggga ggaggcgggt ctggtggcgg aggatcggag	720
gtgcagcttg tggagtccgg tggaggcctt gtgaacctg gcggaagcct gaggtgtca	780
tgtgccgctt ccggatacac ctccactgac aactacatcc actgggtgag ccaagctccg	840
ggaaagtgcc tggatggat tggctacatt aaccctcct ccgctacgc ccactacaac	900
gaaaagtcca agaccgggt caccatctcc gtgcacaagg ccaagaatag cgcctatctg	960
caaatgaaca gctccgcgc ggaagatacc ggggtgtact actgcactcg gagatactac	1020
agcgccatgc cgttcgcgta ctggggacag ggcaccttg tcacctgtc aagcggagga	1080

ggaggctccg gtggtggagg atcgggggga ggagggaagcg gagggggtgg ttcagatatt 1140
 cagatgactc agtccccctc gtccctgagc gcgtcagtgg gcgacagggt caccattacc 1200
 tgtcgggctt ccgaggacat ctactcagga ctgccttggc atcaacagaa gccgggaaag 1260
 gtcccggaagc tectgatcta cgactcgtcg accctgcaca ctggcgtgcc atccccattt 1320
 tcgggaacgg gctcagggac tgactacact ctgaacattt caagcctgca gccigaggat 1380
 gggccactt acctctgcca acaaaactac gacttcccc ttacctcgg ctgcgggact 1440
 aagctggaga tcaagcggac t 1461

<210> 144
 <211> 1480
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 編碼 496.g3 HC-2109dsVHVL 的 DNA

<400> 144
 gaagtgcagc tggiggaatc tggcggcgga ctggcgcagc ctggcggatc tctgagactg 60
 tcttgtccg cctccggctt cacttctcc gactacaaca tggcctgggt gcgacaggct 120
 cctggcaagg gactggatg ggigggcaca atcacctacg agggccggaa cacctactac 180
 cgggactctg tgaaggccg gttcaccatc tctcgggaca acgccaagaa ctccccgtac 240
 ctgcagatga acagcctgag ggccgaggac accgctgtgt actactgtgc tagccccct 300
 cagtactatg agggctccat ctaccggctg tggttcgccc attggggcca ggacacactc 360
 gtgaccgtgt cctctgcttc caccaagggc cctccgtgt ttcctctggc ccttccagc 420
 aagtcacct ctggcggaac agccgctctg gctgcctcg tgaaggacta ctccccgag 480
 cccgtgacag tgtctggaa ctctggcgcc ctgacctcg gcgtgcacac ctttccagct 540
 gtgtgcagt cctccggctt gtactcctg tctccgtcg tgaactgtgc ctccagctct 600
 ctgggcaacc agacctacat ctgcaacgtg aaccacaagc cctccaacac caaggiggac 660
 aagaaggigg aacccaagtc ctgcagcgga ggcggtggtt caggccggcg aggatctgag 720
 gtgcagctgg tggaaagtgg gggaggcctc gtgaaaccag gcggcagctt gagactgagc 780
 tgcgccgtt ctggctaac cttaccgac aactacatcc actgggtgag ccaggcccca 840
 gggaaatgcc tggaatggat cggctacatc aacccctcca gcgcctacgc ccaactaac 900
 gagaagtca agaccgctt caccatcagc gggacaagg ctaagaatag cgcctacctg 960
 cagatgaact ccttgagagc tgaggatacc gctgtgtatt attgcacccg gcggtactac 1020
 tccgccatgc ccttgccta ctggggacag ggaaccctcg tgacagtgtc tagcggcgga 1080
 ggcggaagtg gtggtgggg atctggggga ggcgggtctg gtgttgccg ctctgatata 1140
 cagatgaccc agtccccag ctccctgtct gcctctgtgg gcgacagagt gaacatcacc 1200
 tgtcgggctt ccgaggacat ctactctgac ctggcctgtt atcagcagaa acccggaag 1260
 gtgccaagc tctgatcta cgactcctcc accctgcaca ccggcgtgcc ctctagattt 1320

tccggcaccg gctciggcac cgactatacc ctgaccatct ccagccigca gccagaggac 1380
gtggccacct acctttgccg gcagaactac gacticccctc tgaccttcgg ctgcggcacc 1440
aagctggaag tcaagcggac ctgatagctc gaggetatca 1480

<210> 145
<211> 1434
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 編碼 496.g3 LC-645dsVHVL 的 DNA

<400> 145
gcaatccaac tgaccagag cccctccctc cctccgcct ccgiggaga cagagtacc 60
atcacttgcg ggcccgatga gtccgigaga actcicatgc actggatca gcaaaagcca 120
gggaaagctc cgaagctgct gatctacctg gtgtcaaat ccagattgg cgtgcccgac 180
cgggtcagcg ggagcggatc aggcaccgac ttcagactca cgtctcctc cctgcaaccg 240
gaagatttg ccacgtacta ctgccaacag accgtgtccg accctggac attcggtcag 300
ggcaccaggg tcgaaatcaa gaggactgtg gccgtccct ccgtgttat ctccctccg 360
tccgacgaac agctgaaatc cggaaaccgc agcgtcgtgt gccgtctgaa caattctac 420
ccgcgcgaag ccaaggtcca gtggaaggtc gacaacgcc tccagtccg aaactccag 480
gagtcggtga ccgaacagga ttcaaggac tcgacctact cctgtcctc gactttgac 540
ttgtccaagg ccgattacga gaagcataag gtctacgctt gcgaagtga ccatcagggg 600
ctgtcatccc ccgtgaccaa gagcttcaac cgcggggagt gctcgggagg aggaggtca 660
ggaggagggg gtccgaagt gcagctgctg gaatccggag gaggtctgt gcagccaggg 720
ggttctctgc ggcttccctg cgtgtcagc gggatcgacc tcaccaacta cgcctcaat 780
tgggtcgcac aagctccgg aaagtgcctg gattggattg gaatcatitg gccagcggc 840
actacctcti acgcgacttg ggcaagggt cgttcacca tcicccggga caattogaag 900
aacaccgtgt acttgagat gaacagcctg agagccgagg ataccgccgt gtactactgt 960
gcgaggactg tgccggcta ctgaccgcc cctactctg alctttgggg acagggcaca 1020
ctgtcacccg tgtcatccg ttgaggagga tcgggggag gaggttccg aggcggtgt 1080
agcggaggcg gaggttccg catccaaatg acccagtcct cgtcgagct gtccgctca 1140
gtcggggaca gattgacct cactgccag tctcgcctt cggcttggt caacttctg 1200
tccgggtatc agcagaaacc cggaaaggcc cccaagctg tcatctacga agcctccaag 1260
ctgaccagcg ggtgtccctc gaggttctct ggtcggggt caggcaccga ctttaccctc 1320
acgatttga gccgtcaacc ggaggatttc gcaacttact actgcggcgg tggttacagc 1380
tccattagcg acaccacctt cggctcgggg accaaggtcg agatcaagcg cact 1434

<210> 146

<211> 1447
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 編碼 496.g3 LC-645dsVHVL 的 DNA

<400> 146
 gccatccagc tgaccagag ccctccagc ctgtctgcct ctgtgggga cagagtgaac 60
 atcacctgtc gggccgatga gtccgtgcgg accctgatgc actggtatca gcagaagccc 120
 ggcaaggccc ccaagctgct gatctacctg gtgtccaact ccgagatcgg cgtgcccagc 180
 agattctccg gctctggctc tggcaccgac ttccggctga ccattcttag cctgcagccc 240
 gaggacticg ccacctacta ctgccagcag acttggagcg acccctggac ctttggccag 300
 ggaccaagg tggaaatcaa ggggaccgtg gccgtccct ccgtgttcat ctccaccct 360
 tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgtt tctgtctgtt gcctgtcga caactctac 420
 ccccgcgagg ccaagggtga ggggaagtg gacaacgcc tgcagtcgg caactccag 480
 gaatccgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact cctgttcct caccctgacc 540
 ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag ggtacgcct gcgaagtga ccaccagggc 600
 ctgtctagcc ccgtgaccaa gtctttcaac cggggcgagt gtctggcgg cggaggatct 660
 gggggaggcg gatctgaagt gcagctgtg gaatctggcg gaggcctggt gcagcctgzc 720
 ggatctctga gactgtcctg tggcgtgtcc ggcacgacc tgtccaacta cgccatcaac 780
 tgggtgcgac agggccctgg caagtgcctg gaatggatcg gcacatctg ggcctccggc 840
 accaccttct acgccacctg ggctaagggc cggttcacca tctcccgga caactccaag 900
 aacacogtgt acctgcagat gaactccctg cgggcccagg acaccgccgt gtactactgt 960
 gctagaaccg tggccggcta ctccacggc cttactttg atctgtggg ccagggaacc 1020
 ctctgaccg tctctagcgg aggcggaggt agtggcggtg gtggaagtgg cggagggggt 1080
 agtgggtggc ggggatctga taticagatg acccagtcct cctcctcctg gtccgttcc 1140
 gtgggagatc gcgtgacaat cacatgccag tctcccccct ctgtgtggc caacttctg 1200
 tcttggtatc agcagaaacc tgggaaggct cctaaactgc tgatctatga ggcctccaag 1260
 ctgacctccg gctgtccctc tagattctct ggcagcggca gcggaaccga ctttaccctg 1320
 accatcagct cctgcagcc tgaagatttt gctacctatt actgcggttg cggctacagc 1380
 tccatctccg atacaccctt cggctgcgga acaaaagtgg aaatcaaacg caccctgatag 1440
 aagcttg 1447

<210> 147
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 抗體 CA2109 gL18 之輕鏈可變區

<400> 147

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

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

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

Tyr Asp Ser Ser Thr Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Thr Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Asn Tyr Asp Phe Pro Leu
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

201726731

【發明摘要】

【中文發明名稱】

對TNF- α 、IL-17A及IL-17F具特異性之多重特異性抗體分子

【英文發明名稱】

MULTI-SPECIFIC ANTIBODY MOLECULES HAVING
SPECIFICITY FOR TNF-ALPHA, IL-17A AND IL-17F

【中文】

本發明係關於對TNF α 、IL-17A及IL-17F具特異性之多重特異性抗體分子、該等抗體分子之治療用途及用於製備該等抗體分子之方法。

【英文】

The invention relates to multi-specific antibody molecules having specificity for TNF alpha, IL-17A and IL-17F, therapeutic uses of the antibody molecules and methods for producing said antibody molecules.

【指定代表圖】

圖12

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種多重特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域，其中該抗體分子能夠中和人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F的生物活性。

【第2項】

如請求項1之多重特異性抗體分子，其中該抗體具有200 pM或更佳的對人類TNF- α 之結合親和力。

【第3項】

如請求項1或2之多重特異性抗體分子，其中該抗體具有100 pM或更佳的對人類IL-17A之結合親和力。

【第4項】

如請求項3之多重特異性抗體分子，其中該抗體具有20 pM或更佳的對人類IL-17A之結合親和力。

【第5項】

如請求項1至4中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體具有100 pM或更佳的對IL-17F之結合親和力。

【第6項】

如請求項5之多重特異性抗體分子，其中該抗體具有20 pM或更佳的對IL-17 F之結合親和力。

【第7項】

如請求項1至6中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域亦結合IL-17A/IL-17F異二聚體。

【第8項】

如請求項1至7中任一項之多重特異性抗體分子，其中各結合域包含兩個抗體可變域。

【第9項】

如請求項8之多重特異性抗體分子，其中該兩個抗體可變域為VH/VL對。

【第10項】

如請求項1至9中任一項之多重特異性抗體分子，其中該分子形式係選自雙功能抗體(diabody)、sc雙功能抗體(scdiabody)、三功能抗體(triabody)、串聯scFv、FabFv、Fab'Fv、FabdsFv、Fab-scFv、Fab-dsscFv、Fab-(dsscFv)₂、二Fab、二Fab'、三體(tribody)、串聯scFv-Fc、scFv-Fc-scFv、sc雙功能抗體-Fc、sc雙功能抗體-CH₃、Ig-scFv、scFv-Ig、V-Ig、Ig-V、Duobody及DVD-Ig。

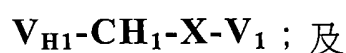
【第11項】

如請求項1至9中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域及該對IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域係獨立地選自Fab、scFv、Fv、dsFv及dsscFv。

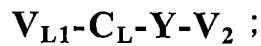
【第12項】

如請求項1至9中任一項之多重特異性抗體分子，其包含以下或由以下組成：

c) 式(I)之多肽鏈：



d) 式(II)之多肽鏈：



其中：

V_{H1} 表示重鏈可變域；

CH_1 表示重鏈恆定區的域，例如其域1；

X 表示鏈或連接子；

Y 表示鏈或連接子；

V_1 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv；

V_{L1} 表示單鏈可變域；

C_L 表示輕鏈恆定區的域，諸如 C_{κ} ；

V_2 表示dsFv、sdAb、scFv或dsscFv。

【第13項】

如請求項12之多重特異性抗體分子，其中 V_1 及 V_2 中之至少一者為scFv或dsscFv。

【第14項】

如請求項13之多重特異性抗體分子，其中 V_1 為scFv或dsscFv及 V_2 為scFv或dsscFv。

【第15項】

如請求項14之多重特異性抗體分子，其中 V_1 為dsscFv及 V_2 為dsscFv。

【第16項】

如請求項12至15中任一項之多重特異性抗體分子，其中 V_1 為scFv或dsscFv，且 V_1 包含下列之多肽鏈：

- a. 式(III)： $VH2-Z1-VL2$ 且 $VH2$ 係與 X 連接，例如經肽鏈；或

b. 式(IV)：VL2-Z1-VH2且VL2係與X連接，例如經肽鍵；

其中VH2表示重鏈可變域，Z1表示肽連接子及VL2表示輕鏈可變域。

【第17項】

如請求項12至16中任一項之多重特異性抗體分子，其中V2為scFv或dsscFv，且V2包含下列之多肽鏈：

a. 式(V)：VH3-Z2-VL3且VH3係與Y連接，例如經肽鍵；或

b. 式(VI)：VL3-Z2-VH3且VL3係與Y連接，例如經肽鍵；

其中VH3表示重鏈可變域，Z2表示肽連接子及VL3表示輕鏈可變域。

【第18項】

如請求項16或17之多重特異性抗體，其中Z1及/或Z2為12至25個胺基酸長度的肽連接子，例如SEQ ID NO:68給出的序列。

【第19項】

如請求項12至18中任一項之多重特異性抗體分子，其中X為肽連接子，例如SEQ ID NO:1或2給出的序列。

【第20項】

如請求項12至19中任一項之多重特異性抗體分子，其中Y為肽連接子，例如SEQ ID NO:1或2給出的序列。

【第21項】

如請求項19或20之多重特異性抗體分子，其中X為SEQ ID NO:2給出的序列及Y為SEQ ID NO:2給出的序列。

【第22項】

如請求項19或20之多重特異性抗體分子，其中X為SEQ ID NO:1給出的序列及Y為SEQ ID NO:2給出的序列。

【第23項】

如請求項12至22中任一項之多重特異性抗體分子，其中V₁及V₂中之至少一者為dsscFv或dsFv；且V₁之輕鏈及重鏈可變域及/或V₂之輕鏈及重鏈可變域係藉由介於兩個經改造之半胱胺酸殘基之間的雙硫鍵連接。

【第24項】

如請求項12至23中任一項之多重特異性抗體分子，其中V₁及V₂中之至少一者為dsscFv或dsFv；且V₁及/或V₂之重鏈及輕鏈可變域係藉由介於兩個半胱胺酸殘基之間的雙硫鍵連接，其中該對半胱胺酸殘基的位置係選自包括以下或由以下組成之群：V_H37及V_L95、V_H44及V_L100、V_H44及V_L105、V_H45及V_L87、V_H100及V_L50、V_H100b及V_L49、V_H98及V_L46、V_H101及V_L46、V_H105及V_L43、及V_H106及V_L57，其中該V_H及V_L值係獨立地選自所給的V₁或V₂。

【第25項】

如請求項24之多重特異性抗體分子，其中該對經改造之半胱胺酸殘基的位置為V_H44及V_L100。

【第26項】

如請求項12至25中任一項之多重特異性抗體分子，其中V_H1及V_L1包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及V₁及/或V₂包含對人類TNF- α 具特異性之結合域。

【第27項】

如請求項1至26中任一項之多重特異性抗體分子，其包含三個結合

域。

【第28項】

如請求項27之多重特異性抗體分子，其中該三個結合域各結合不同抗原。

【第29項】

如請求項28之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包含對人類血清載體蛋白具特異性之結合域。

【第30項】

如請求項29之多重特異性抗體分子，其中該人類血清載體蛋白係選自由甲狀腺素-結合蛋白、轉甲狀腺素蛋白(transthyretin)、 $\alpha 1$ -酸醣蛋白、轉鐵蛋白、纖維蛋白原及白蛋白、或其任何片段組成之群。

【第31項】

如請求項12至30中任一項之多重特異性抗體分子，其中：

- a. VH1及VL1包含對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域；及
- b. V1包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及V2包含對人類血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)具特異性之結合域；或V2包含對人類TNF- α 具特異性之結合域及V1包含對人類血清載體蛋白(例如人類血清白蛋白)具特異性之結合域。

【第32項】

如請求項1至31中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包含不超過一個對人類TNF- α 具特異性之結合域及不超過一個對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域。

【第33項】

如請求項1至32中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子不包含CH2域及/或CH3域。

【第34項】

如請求項1至33中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列之CDR、具有SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列之CDR、具有SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列之CDR中之至少一者。

【第35項】

如請求項34之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含3個重鏈CDR，其具有SEQ ID NO:85給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:86給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:87給出的CDRH3序列。

【第36項】

如請求項1至35中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列之CDR、具有SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列之CDR及具有SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列之CDR中之至少一者。

【第37項】

如請求項36之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含3個輕鏈CDR，其具有SEQ ID NO:88給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:89給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:90給出的CDRL3序列。

【第38項】

如請求項1至37中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類

TNF- α 具特異性之結合域包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列；與SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:92或SEQ ID NO:96給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH2具有請求項35中所給出的序列。

【第39項】

如請求項1至38中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類TNF- α 具特異性之結合域包含輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列；與SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:91或SEQ ID NO:95給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項37中所給出的序列。

【第40項】

如請求項1至39中任一項之多重特異性抗體，其中該抗體包含對人類TNF- α 具特異性之dsscFv且該dsscFv包含SEQ ID NO:101給出的序列；與SEQ ID NO:101給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:101給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項35中所給出的序列及CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項37中所給出的序列。

【第41項】

如請求項1至39中任一項之多重特異性抗體，其中該抗體包含對人類TNF- α 具特異性之scFv且該scFv包含SEQ ID NO:99給出的序列；與SEQ ID NO:99給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID

NO:99給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項35中所給出的序列及CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項37中所給出的序列。

【第42項】

如請求項1至41中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含3個重鏈CDR，其具有SEQ ID NO:71給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:72給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:73給出的CDRH3序列。

【第43項】

如請求項1至42中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含3個輕鏈CDR，其具有SEQ ID NO:74給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:75給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:76給出的CDRL3序列。

【第44項】

如請求項1至43中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO: 78給出的序列；與SEQ ID NO:78給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:78給出的序列具有80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項42中所給出的序列。

【第45項】

如請求項1至44中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域包含輕鏈可變域，其包含SEQ ID

NO: 77給出的序列；與SEQ ID NO:77給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:77給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項43中所給出的序列。

【第46項】

如請求項1至45中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體包含重鏈，其包含SEQ ID NO:82給出的序列；與SEQ ID NO:82給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:82給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項42中所給出的序列。

【第47項】

如請求項1至46中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體包含輕鏈，其包含SEQ ID NO:81給出的序列；與SEQ ID NO:81給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:81給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項43中所給出的序列。

【第48項】

如請求項1至47中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包含對人類血清白蛋白具特異性之結合域，該結合域包含3個重鏈CDR，其具有SEQ ID NO:103給出的CDRH1序列、SEQ ID NO:104給出的CDRH2序列及SEQ ID NO:105給出的CDRH3序列。

【第49項】

如請求項1至48中任一項之多重特異性抗體分子，其中該抗體分子包

含對人類血清白蛋白具特異性之結合域，該結合域包含3個輕鏈CDR，其具有SEQ ID NO:106給出的CDRL1序列、SEQ ID NO:107給出的CDRL2序列及SEQ ID NO:108給出的CDRL3序列。

【第50項】

如請求項1至49中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含重鏈可變域，其包含SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:114給出的序列；與SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:114給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:114給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項48中所給出的序列。

【第51項】

如請求項1至50中任一項之多重特異性抗體分子，其中該對人類血清白蛋白具特異性之結合域包含輕鏈可變域，其包含SEQ ID NO:109或SEQ ID NO:113給出的序列、與SEQ ID NO:109或SEQ ID NO:113給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:109或SEQ ID NO:113給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項49中所給出的序列。

【第52項】

如請求項1至51中任一項之多重特異性抗體，其中該抗體包含對人類血清白蛋白具特異性之dsscFv且該dsscFv包含SEQ ID NO:119給出的序列；與SEQ ID NO:119給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:119之序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項48中所給出的序列及CDRL1、

CDRL2及CDRL3具有請求項49中所給出的序列。

【第53項】

如請求項1至51中任一項之多重特異性抗體，其中該抗體包含對人類血清白蛋白具特異性之scFv且該scFv包含SEQ ID NO:117給出的序列；與SEQ ID NO:117給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:117給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中CDRH1、CDRH2及CDRH3具有請求項48中所給出的序列及CDRL1、CDRL2及CDRL3具有請求項49中所給出的序列。

【第54項】

一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，其中該抗體分子包含以下或由以下組成：

a. 包含SEQ ID NO:125給出的序列；與SEQ ID NO:125給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:125給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中該等CDR具有請求項35、37及42所給出的序列或由該等序列組成之第一多肽；及

b. 包含SEQ ID NO:131給出的序列；與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中該等CDR具有請求項43、48及49中所給出的序列或由該等序列組成之第二多肽。

【第55項】

一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特

異性之結合域，且包含以下或由以下組成：

- a. 包含SEQ ID NO:127給出的序列；與SEQ ID NO:127給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:127給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中該等CDR具有請求項35、37及42中所給出的序列或由該等序列組成之第一多肽；及
- b. 包含SEQ ID NO:131給出的序列；與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列；或與SEQ ID NO:131給出的序列具有至少80%同一性或相似性的序列，其中該等CDR具有請求項43、48及49中所給出的序列或由該等序列組成之第二多肽。

【第56項】

如請求項54或55之三特異性抗體分子，其中該抗體分子能夠中和人類TNF- α 、人類IL-17A及人類IL-17F之生物活性。

【第57項】

一種多核苷酸，其編碼如請求項1至56中任一項之多重特異性抗體分子或其多肽鏈。

【第58項】

一種載體，其包含如請求項57之多核苷酸。

【第59項】

一種宿主細胞，其包含一或多種分別如請求項57或58之多核苷酸或載體。

【第60項】

一種宿主細胞，其包含兩種載體，各載體包含編碼如請求項1至56中任一項之多重特異性抗體分子的不同多肽鏈之多核苷酸。

【第61項】

一種方法，其包括自請求項59或60之宿主細胞表現多重特異性抗體分子。

【第62項】

一種醫藥組合物，其包含如請求項1至56中任一項之多重特異性抗體分子及至少一種賦形劑。

【第63項】

如請求項1至56中任一項之多重特異性抗體分子或如請求項62之醫藥組合物，其係用於治療。

【第64項】

一種治療有需要患者之方法，其包括投與治療有效量的如請求項1至56中任一項之多重特異性抗體分子或如請求項62之醫藥組合物。

【第65項】

一種三特異性抗體分子，其包含對人類TNF- α 具特異性之結合域、對人類IL-17A及人類IL-17F具特異性之結合域及對人類血清白蛋白具特異性之結合域，且包含由SEQ ID NO:126給出的多核苷酸序列編碼之第一多肽及由SEQ ID NO:132給出的多核苷酸序列編碼之第二多肽或由該等多肽組成。

【發明圖式】

(a) 抗體496g3之CDR序列

CDRH1:	GFTFSDYNMA	(SEQ ID NO:71)
CDRH2:	TITYEGRNTYYRDSVKG	(SEQ ID NO:72)
CDRH3:	PPQYYEGSIYRLWFAH	(SEQ ID NO:73)
CDRL1:	RADESVRTLMMH	(SEQ ID NO:74)
CDRL2:	LVSNSEI	(SEQ ID NO:75)
CDRL3:	QQTWSDPWT	(SEQ ID NO:76)

(b) 抗體496g3之輕鏈可變區(SEQ ID NO:77)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRADESVRTLMMHWYQQKPGKAPKLLIYLVSNSEIGVPDRF
SGSGSGTDFRLTISSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIK

(c) 抗體496g3之重鏈可變區(SEQ ID NO:78)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGLVTVS
S

(d) 編碼抗體496g3之輕鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:79)

gcatccagctgacgcaatcgccgtcctcgtgtcagcgagcgtggcgatagggtcacgatcacctgtcgggccgatgaatcggtc
cgactctgatgcattggtatcagcaaaagccgggaagggccccgaagctgctcatctacctggtagcaattccgagatcgagtc
cggaccgcttcagcggttcgggcagcggaaccgacttcgctgactatttctcgtgcaaccggaggacttcgctacttactactgc
cagcagacctggcagatccgtggacttcgggcagggaaccaaagtggaaatcaagcgact

(e) 編碼抗體496g3之重鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:80)

gaatgcagctggtggaatccggcgaggactggtgcagcccggtggatcattgagactttcgtgtgcagcatcaggctttacttttc
ggactacaatatggcatgggtgcgcaagcgctggttaaggactggaatgggtcgcgactatcattatgagggcggaataactta
ctataggatagcgtcaaaggacgctttaccatctcacgggacaacgtaagaactccctgtacctccaaatgaactcactcaggga
gaagatacggcgtgtactactgtgctcgcctccgcagtactacgaagggtccatctaccgctttggttcgccattggggacagg
gaacgctggtgactgtgtcctcg

(f) 抗體496g3之輕鏈(VL-CL)(SEQ ID NO:81)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRADESVRTLMMHWYQQKPGKAPKLLIYLVSNSEIGVPDRF
SGSGSGTDFRLTISSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
LKSGTASVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADY
EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(g) 抗體496g3之重鏈(VH-CH1)(SEQ ID NO:82)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC

【圖1】

(h) 編碼抗體496g3之輕鏈的DNA(不含信號序列)(SEQ ID NO:83)

gcatccagctgacgcaatcgccgtcctcgctgtcagcgagcgtgggcataggggtcacgat
cacctgtcgggcccgatgaatcggtccgcactctgatgcattgggtatcagcaaaagccgggaa
aggccccgaagctgctcatctacctgggtgagcaattccgagatcggagtcccggaccgcttc
agcggttcgggcagcgggaaccgacttccgcctgactatttcctcgctgcaaccgcaggactt
cgctacttactactgccagcagacctgggtcagatccgtggactttcgggcagggaaccaaag
tggaatcaagcggactgtcgcgcaccttcgggtgtteatctttccaccgtcagacgaacaa
cttaaaagcgggaactgcgtcgggtgggtgtgcctccttaacaacttttaccctagagaagccaa
gggtccagtgggaaggtggacaatgcccttcaaagcggaaacagccaggagtccgtgaccgagc
aggactcaaaagattcgacttatagcttgtcgtccacgctcaccctgagcaaagcagactac
gaaaagcacaaggtgtacgcttgcaagtgaaccaccaaggcttgcgagccccgtgaccaa
atccttcaaccggggagaatgc

(i) 編碼抗體496g3之重鏈的DNA(不含信號序列)(SEQ ID NO:84)

gaagtgcagctgggtggaatccggcggaggactgggtgcagcccggtggatcattgagactttc
gtgtgcagcatcaggctttactttctcggactacaatatggcatgggtgcgccaagcgcttg
gtaaaggactggaatgggtcgcgactatcacttatgaggggcggaatacttactataggat
agcgtcaaaggacgctttaccatctcacgggacaacgctaagaactcctgtacctccaat
gaactcactcagggcagaagatacggccgtgtactactgtgcctcgcctccgcagtactacg
aagggtccatctaccgcctttgggttcgccattggggacagggaaacgctgggtgactgtgtcc
tcggcttcgaccaaggggcccctcggtgttcctctcggcgcttagctccaagagcacttcagg
cggaacggctgccctcggatgcctgggtcaaggactacttcccagagcccgtgaccgtgtcat
ggaacagcggagctctgactagcggagtgcacacctttccggcgggtgctgcaaagctcaggc
ctgtactcgctctcctcagtggtcactgtcccgctcctcctcgctggggactcaaacgtacat
ctgcaacgtcaatcacaaccgtcaaataccaaagtcgacaagaaggtcgagcctaagtgcgt
gc

【圖1】

(a) 抗體2109之CDR序列

CDRH1:	GYTFTDNYIH	(SEQ ID NO:85)
CDRH2:	YINPSSAYAHYNEKFKT	(SEQ ID NO:86)
CDRH3:	RYYSAMPFAY	(SEQ ID NO:87)
CDRL1:	RASEDIYSGLA	(SEQ ID NO:88)
CDRL1:	RASEDIYNGLA	(SEQ ID NO:136)
CDRL2:	DSSTLHT	(SEQ ID NO:89)
CDRL2:	NSNTLHT	(SEQ ID NO:137)
CDRL2:	NSSTLHT	(SEQ ID NO:138)
CDRL2:	DSNTLHT	(SEQ ID NO:139)
CDRL3:	QQNYDFPLT	(SEQ ID NO:90)

(b) 抗體2109 gL18之輕鏈可變區(SEQ ID NO:91)(未突變*)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSGLA~~WY~~QQKPGKVPKLLIYDSSTLHTGV
PSRFSGTGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCQQNYDFPLTFGQGTKLEIKRT

(c) 抗體2109 gH2之重鏈可變區(SEQ ID NO:92)(未突變*)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFTDNYIHWVRQAPGK~~G~~LEWIGYINPSSAY
AHYNEKFKTRFTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYY~~S~~AMPFAYWGQG
TLVTVSS

(d) 編碼抗體2109 gL18之輕鏈可變區的DNA(SEQ ID NO:93)(未突變*)

gatatacagatgacccaatcaccaagctctctgagtgcctccgttgccgatcgcttacaattacctgccgagctagcgaggatatatac
tcaggactggcctggtaccagcaaaagcctggcaaaagtgcctaagctcctgatctacgactccagctaccctgcacactggtgtgcaa
gccgcttagcggaaactggatctggaaccgactatacactgacgattcctcactgcaaccggaagacgtggcaacctactctgtcag
caaaactacgactcccccttgacgttgggcaagggaagctggagatcaaacgtacc

(e) 編碼抗體2109 gH2之重鏈可變區的DNA(SEQ ID NO:94)(未突變*)

gaagttcaactggtcgaaagcggaggtgggctcgtgaaacctggcggatctctgcgattgtcatgtgctgcaagcggctacacgttta
ccgataactatatccactgggtgcgacaagcaccagggaagggaactggaatggattggatatattaacccgagctccgcctacgcac
actacaacgagaaattcaagacccgattcaccatctccgtggacaagaactccgcttacctgcaaatgaactctctgcgggc
cgaagacactgccgtgtattactgcaccgcccatactatagcgtatgcccttgcctactgggacaagggaactggtcactgtct
caagt

(f) 抗體2109 gL 18之輕鏈可變區(SEQ ID NO:95)(突變)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASEDIYSGLA~~WY~~QQKPGKVPKLLIYDSSTLHTGV
PSRFSGTGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCQQNYDFPLTFGCGTKLEIKRT

(g) 抗體2109 gH2之重鏈可變區(SEQ ID NO:96)(突變)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFTDNYIHWVRQAPGK~~C~~LEWIGYINPSSAY
AHYNEKFKTRFTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYY~~S~~AMPFAYWGQG
TLVTVSS

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

† 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

【圖2】

(h) 編碼抗體2109 gL18之輕鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:97)(突變)

2109dsvL

gatatccagatgaccagtcgccgtccagcctctccgcctccgtgggagacagagtgcgatcacttgcagagcatcagaggacatc
tactctggccttgcttggtatcagcagaagccgggaaagtgccaaactgctcatctatgactcctcgaccctccacacgggagtgcc
atcgcgcttcagcgggaccggatctgggaccgactacacccctgaccatttcacgctccagccggaggtgtgccacttacttctgcc
aacagaattacgacttccacttacttttgatgtggcactaagctcgaatcaagcgacc

(i) 編碼抗體2109 gH2之重鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:98)(突變)

gaagtgcagttggtggagtcggggggagggttggtgaagccaggaggatcattgcggtgtcatgtgcggcttcgggctacactttca
ctgacaattacattcactgggtgcgacaagcaccagggaagtgcctcgaatggattggctacatcaaccgctcaagcgcatacgccc
ttacaacgaaaagttaagaccgggttcacatctccgtggataaggcgaaaaacagcggtaccttcagatgaactccctgcgggcc
gaggataaccgccgttactactgcactagacgggtactacagcgccatgccgttcggtactggggacaaggcactctggtcaccgtgt
cgctc

(j) 抗體2109 gH2gL18之scFv (VH-VL)(SEQ ID NO:99)(未突變*)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFTDNYIHWRQAPGKGLEWIGYINPSSAY
AHYNEKFKTRFTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSSAMPFAYWGQG
TLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDIYS
GLAWYQQKPGKVPKLLIYDSSTLHTGVPSRFSGTGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCQ
QNYDFPLTFGGTKLEIKRT

(k) 編碼抗體2109 gH2gL18之scFv (VH-VL)的DNA (SEQ ID NO:100)(未突變*)

gaagttcaactggtcgaaagcggaggtgggctcgtgaaacctggcggatctctgcgattgtcatgtgctgcaagcggctacacgttta
ccgataactatataccactgggtgcgacaagcaccagggaaggaggtggaatggattggatatataaccgagctccgcctacgcac
actacaacgagaaattcaagaccggatcaccatctccgtggacaaagccaagaactccgcttacctgcaaatgaactctctgcgggc
cgaagacactgccgtgtattactgcacccgccgatactatagcgctatgcccttgcctactggggacaagggacactggtcactgtct
caagtgagggtggcggttcggcggtggcggttcggcggtggatggcgaggtggcggttctgatatacagatgaccaatcac
caagctctctgagtgcttccgttggcgatcggttacaattacctgccgagctagcgaggatatactcaggactggcctggtaccag
caaaagcctggcaaagtgcctaagctcctgatctacgactccagtagcactggtgtgccaagccgcttagcggaactggat
ctggaaccgactatacactgacgatttctcactgcaaccggaagacgtggcaacctactctgtcagcaaaactacgacttccccttga
cgtttgggcaagggacaaagctggagatcaaacgtacc

(l) 抗體2109 gH2gL18之dsscFv (VH-VL)(SEQ ID NO:101)(突變)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGYTFTDNYIHWRQAPGKCLEWIGYINPSSAY
AHYNEKFKTRFTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSSAMPFAYWGQG
TLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDIYS
GLAWYQQKPGKVPKLLIYDSSTLHTGVPSRFSGTGSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCQ
QNYDFPLTFGGCGTKLEIKRT

(m) 編碼抗體2109 gH2gL18之dsscFv (VH-VL)的DNA(SEQ ID NO:102)(突變)

gaagtgcagttggtggagtcggggggagggttggtgaagccaggaggatcattgcggtgtcatgtgcggcttcgggctacactttca
ctgacaattacattcactgggtgcgacaagcaccagggaagtgcctcgaatggattggctacatcaaccgtaagcgcatacgccc
ttacaacgaaaagttaagaccgggttcacatctccgtggataaggcgaaaaacagcggtaccttcagatgaactccctgcgggcc
gaggataaccgccgttactactgcactagacgggtactacagcgccatgccgttcggtactggggacaaggcactctggtcaccgtgt

【圖2】

cgtcgggaggaggaggctcgggtggaggcggatcgggtggcggaggaggcggcggaggcgggtcggatatccagatgaccag
tcgccgtccagcctctccgcctccgtgggagacagagtgacgatcacttgacagagcatcagaggacatctactctggccttgcttgga
tcagcagaagccgggaaagggtgccaaactgctcatctatgactcctcgaccctccacacgggagtgccatcgcgcttcagcgggac
cggatctgggaccgactacaccctgaccatttcacgctccagccggaggatgttgccacttactctgccacagaattacgactccc
acttacttttgatgtggcactaagctcgaaatcaagcgacc

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

f 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

(n) 大鼠抗體2109之輕鏈可變區(SEQ ID NO: 140)

DIVMTQSPASLSASLGETVTIECRASEDIYNGLAWYQQKPGKSPHLLIYNSNTLHTGV
PSRFSGTGSGTQYSLKINSLSQSEDVATYFCQQNYDFPLTFGSGTKLEIK

(o) 大鼠抗體2109之重鏈可變區(SEQ ID NO:133)

EVQLHQSGAALVKPGASVKLSCKTSGYTFDNYIHWVKQSPGKSLEWIGYINPSSAY
AHYNEKFKTKATLTVDKSTNTAYMELSRLTSEDSATYFCTRRYYSSAMPFAYWGQG
TLVTVSS

(p) 人類VK1 2-1 (U) A20 JK2受體框架(SEQ ID NO:141)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQGISNYLAWYQQKPGKVPKLLIYAASLTQSGV
PSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQKYNAPYTFGQGTKLEIK

(q) 人類VH3 1-3 3-21 JH4受體框架(SEQ ID NO:134)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSISSSTSY
IYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYFDYWGQGTTLVTVSS

(r) 抗體2109 gL1之輕鏈可變區(SEQ ID NO:142)

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDIYNGLAWYQQKPGKVPKLLIYNSNTLHTG
VPSRFSGTGSGTDYTLTISLQPEDVATYFCQQNYDFPLTFGQGTKLEIK

(s) 抗體2109 gH1之重鏈可變區(SEQ ID NO:135)

EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCATSGYTFDNYIHWVRQAPGKGLEWIGYINPSSAY
AHYNEKFKTRFTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSSAMPFAYWGQG
TLVTVSS

【圖2】

(a) 抗體645之CDR序列

CDRH1:	GIDLSNYAIN	(SEQ ID NO:103)
CDRH2:	IIWASGTTFYATWAKG	(SEQ ID NO:104)
CDRH3:	TVPGYSTAPYFDL	(SEQ ID NO:105)
CDRL1:	QSSPSVWSNFLS	(SEQ ID NO:106)
CDRL2:	EASKLTS	(SEQ ID NO:107)
CDRL3:	GGGYSSISDTT	(SEQ ID NO:108)

(b) 抗體645之輕鏈可變區(SEQ ID NO:109)(未突變*)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTSGVPSR
FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGQGTKVEIKRT

(c) 抗體645之重鏈可變區(SEQ ID NO:110)(未突變*)

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKGLEWIGIIWASGTTFYATW
AKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLR AEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGLTVTVSS

(d) 編碼抗體645之輕鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:111)(未突變*)

gatatccagatgaccagagtccaagcagtggttccgccagcgtaggcgatcgtgtgactattacctgtcagtcctctccgagcggttgg
tccaaattcctgagctggtaccagcagaaaccgggtaaagccccgaaactgctgatctacgagggcgtctaaactgacctctggtgtac
cgctcccggttctctggtctggtctggtacggacttcactctgaccatctcctctctgcagccggaagacttgcacgtactactgcggt
ggtggttactcttccatctctgacaccacgttcggtggaggcaccaaagtgaaatcaaactgacg

(e) 編碼抗體645之重鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:112)(未突變*)

gaggttcagctgctggagtctggaggcgggctgtccagcctggaggggagcctgcgtctctctgtgcagtaagcggcatcgacctgt
ccaactacgcgattaactgggtacgtcaggcaccgggtaaaggtctggaatggatcgcatcatctggcctctggtacgaccttctac
gtacttgggccaaggtcggttcaccatctcccgtgacaactctaaaaacaccgtgtacctgcagatgaactctctgcgtgcggaaga
cactgcggttactattgcgcgcgtaccgttcgggctattctactgcaccgtacttcgacctgtggggtcagggtactctggttaccgtct
cgagt

(f) 抗體645之輕鏈可變區(SEQ ID NO:113)(突變)

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITTCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTSG
VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCGGGYSSISDTTFGCGTKVEIKRT

(g) 抗體645之重鏈可變區(SEQ ID NO:114)(突變)

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWASGTTF
YATWAKGRFTISRDN SKNTVYLQMNSLR AEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQ
GTLTVTVSS

(h) 編碼抗體645之輕鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:115)(突變)

【圖3】

gacatccagatgacgcagtcaccatcgtccgtgtcagcatccgtgggagacagagtaccattactgtcagtcctcgcctcagctctg
gtcgaattttctgtcgtggtatcaacaaaagccagggaagcccaagctgctgatctacgaggccagcaactcacttcgggagtc
cctagcagattctccggtcgggatcgggcaccgatttaccctcaccattagctcactccaaccagaggattttgccacctaactctgc
ggcgggtggctacagctcaatctcagataccactttcggatgcggtactaaggctcgagattaagcgact

(i) 編碼抗體645之重鏈可變區的DNA (SEQ ID NO:116)(突變)

gaagtcagctcttgaatcgggtggaggactggtgcagccgggagggtccctgaggctgagctgtgtgtgtccggcatcgacctt
caaactacgccatcaattgggtgaggcaggegccaggaaaatgtctcgaatggatcggtatcatctgggctagcggaactaccttctat
gcgacgtgggccaaggacgggtcactatctcgcgcgataacagcaagaacaccgtgtacctccagatgaacagcctccgggtga
ggacactgcagcttattactgcgcgagaacgggtgccgggtactccactgcaccgtacttcgacttggtgggacagggaaactcttg
accgtcagctcg

(j) 抗體645之scFv (VH-VL)(SEQ ID NO:117)(未突變*)

EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRL}SCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGK^{GLEWIGII}WASGTT
FYATWAKGRFTISRDN^{SKNTVY}LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWG
QGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPS
VWSN^{FLSWYQQKPGKAPK}LLIYEASKLTSGVPSRFS^{SGSGSGTDFTLTI}SSLQPEDFAT
YYCGGGYSSISD^{TTFTGQ}GTKVEIKRT

(k) 編碼抗體645之scFv (VH-VL)的DNA(SEQ ID NO:118)(未突變*)

gaggttcagctgctggagctctggaggcgggctgttcagcctggagggagcctgcgtctctctgtgcagtaagcggcatcgacctgt
ccaactacgcgattaactgggtacgtcaggcaccgggtaaggtctggaatggatcggtcatcatctgggcctctggttacgaccttctac
gtacttgggocaaaggtcgtttaccatctcccgtgacaactctaaaacaccgtgtacctgcagatgaactctctgcgtgcggaaga
cactgcggtttactattgcgcgcgtaccgttcgggctattctactgcaccgtacttcgacctgtggggtcagggtactctggttaccgtct
cgagtgagggtggcgggttctggcgggtggcgggtccgggtggcgggtggatcgggagggtggcgggtctgataccagatgaccagagt
ccaagcagtggttccgccagcgtaggcgatcgtgtactattacctgtcagtcctctccgagcgtttggtccaacttctctgagctggtacc
agcagaaaccgggtaagaccccgaaactgctgatctacgaggcgtctaaactgacctctggtgtaccgtcccggttctctggtctggc
tctggtacggacttcaactgtaccatctctctctgcagccggaagactttgcaacgtactactgcgggtggtggttactcttccatctctga
caccacgttcgggtggaggcaccaaaagttgaaatcaaacgtacg

(l) 抗體645之dsscFv (VH-VL)(SEQ ID NO:119)(突變)

EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRL}SCAVSGIDLSNYAINWVRQAPGK^{CLEWIGII}WASGTTFYATW
AKGRFTISRDN^{SKNTVY}LQMNSLRAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGTLVTVSSGGG
SGGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCQSSPSVWSN^{FLSWYQQKPGKAP}
KLLIYEASKLTSGVPSRFS^{SGSGSGTDFTLTI}SSLQPEDFATYYCGGGYSSISD^{TTFTGCGTKV}
EIKRT

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

f 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

【圖3】

(m) 編碼抗體645之dsscFv (VH-VL)的DNA(SEQ ID NO:120)(突變^f)

gaagtgcagctcttggaatcgggtggaggactggtgcagccgggaggttccctgaggctgag
ctgtgctgtgtccggcatcgacctttcaaactacgccatcaattgggtgaggcaggcgccag
gaaaatgtctcgaatggatcgggtatcatctgggctagcggaaactaccttctatgcgacgtgg
gccaagggacggttcactatctcgcgcgataacagcaagaacaccgtgtacctccagatgaa
cagcctccgggctgaggacactgcagtctattactgcgcgagaacgggtgccgggctactcca
ctgcaccgtacttcgacttgtggggacagggaaactcttgtgaccgtcagctcgggaggagga
ggttcgggaggaggtgggtcgggaggaggtggaagcggaggaggcggatcggacatccagat
gacgcagtcaccatcggtccgtgtcagcatccgtgggagacagagtgaccattacttgtcagt
cctcgccctcagttctggtcgaattttctgtcgtggtatcaacaaaagccagggaagcccca
aagctgctgatctacgaggccagcaaactcacttcgggagtccttagcagattctccggctc
gggatcgggcaccgatttcaccctcaccattagctcactccaaccagaggattttgccacct
actactgcggcggtggctacagctcaatctcagataccactttcggatgcggtactaaggctc
gagattaagcgact

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

^f 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

【圖3】

(a) 496.g3 HC-2109VHVL (SEQ ID NO:121) (未突變scFvs*)連接子 = SGGGGSGGGGS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIDYMAWRQAPGKGLEWVATITTEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGG
GLVKPGGSLRLSCAASGYTFDNYIHWRQAPGKGLEWIGYINPSSAYAHYNEKFKTRFTIS
VDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSAMPFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG
SGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASEDIYSGLAWYQQKPKGKPKLLIYDSSTLHT
GVPSRFSGTSGTDYTLTISSLPEDVATYFCQQNYDFPLTFGGQGTKLEIKRT

(b) 編碼496.g3 HC-2109VHVL(SEQ ID NO:122)(未突變scFvs*)連接子的DNA
= SGGGGSGGGGS

gaagtgcagctggtggaatccggcggaggactggtgcagcccggtggatcattgagacttctgtgcagcatcaggctttactttctc
ggactacaatatggcatgggtgcgccaagcgcctggttaaggactggaatgggtcgcgactatcacttatgaggggcggaatactta
ctatagggatagcgtcaaaggacgctttaccatctcacgggacaacgtaagaactccctgtacctccaaatgaactcactcaggga
gaagatacggcgtgtactactgtgcctcgcctccgcagttactacgaagggtccatctaccgcctttggttcgccattggggacagg
gaacgctggtgactgtgtcctcggcttcgaccaaggggcccctcggtgttccctctggtgccttagctccaagagcacttcaggcggaac
ggctgccctcggatgcctggtcaaggactactcccagagcccgtagcgtgtcatggaacagcggagctctgactagcggagtga
cacctttccggcggtgctgcaaagctcaggcctgtactcgtctcctcagtggtcactgtcccgtcctcctcgtggtgggactcaaacgta
catctgcaacgtcaatcacaacccgtcaaatacacaagtcgacaagaaggtcgagcctaagtcgtgcagcggaggaggtggatccg
gcggtggaggttagcgaagtcaactggtcgaaagcggaggtgggtcgtgaaacctggcggtatctctcgattgtcatgtgtgcaa
gcggctacacgtttaccgataactatccactgggtgcgacaagcaccagggaagggtgactggaatggattgatatattaaccgag
ctccgcctacgcacactacaacgagaaattcaagaccgattcaccatctccgtggacaagccaagaactccgcttacctgcaaagt
aactctctgcgggcccgaagacactgccgtgtattactgcacccgccgatactatagcgtatgccctttgcctactggggacaaggga
cactggtcactgtctcaagtggaggtggcggttctggcggtggcggttccggtggcggtggatcgggaggtggcggttctgatataca
gatgaccaatcaccaagctctctgagtgttccgttggcgatcgcgttacaattacctgccgagctagcgaggatatatactcaggact
ggcctggtaccagcaaaagcctggcaagtgcctaagctcctgatctacgactccagttaccctgcacactggtgtgccaaagccgctt
agcgggaactggatctggaaccgactatactgaagatttctcactgcaaccggaagacgtggcaacctacttctgtcagcaaaacta
cgactcccccttgacgtttgggcaagggacaaagctggagatcaaacgtacc

(c) 496.g3 HC-2109VHVL (SEQ ID NO:123) (未突變scFvs*)連接子
1=SGGGGTGGGGGS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIDYMAWRQAPGKGLEWVATITTEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGTLVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVFPPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGGGGTGGGGSEVQLVESGG
GLVKPGGSLRLSCAASGYTFDNYIHWRQAPGKGLEWIGYINPSSAYAHYNEKFKTRFTIS
VDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSAMPFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG
SGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASEDIYSGLAWYQQKPKGKPKLLIYDSSTLHT
GVPSRFSGTSGTDYTLTISSLPEDVATYFCQQNYDFPLTFGGQGTKLEIKRT

【圖4】

(d) 編碼496.g3 HC-2109VHVL(SEQ ID NO:124) (未突變scFvs*)連接子的DNA

1=SGGGGSGGGGS

gaagtgcagctggtggaatccggcggaggactggtgcagcccgggtggatcattgagactttcgtgtgcagcatcaggctttactttctc
ggactacaatatggcatgggtgcgccaagcgcttgtaaaggactggaatgggtcgcgactatcacttatgaggggcggaataactta
ctataggatagcgtcaaaggacgctttaccatctcacgggacaacgctaagaactccctgtacctccaaatgaactcactcaggga
gaagatacggcgtgtactactgtgcctcgcctccgcagactactcgaagggtccatctaccgctttggttcgcccattggggacagg
gaacgctggtgactgtgtcctcggcttcgaccaaggggccctcgggtgtccctctggcgcctagctccaagagcacttcaggcgggaac
ggctgcccctcggtgctgtaaggactacttcccagagcccgtgaccgtgtcatggaacagcggagctctgactagcggagtgc
cacttttcggcgggtgctgcaaagctcaggcctgtactcgtctcctcagtggtcactgtcccgtcctcctcgtggggactcaaacgta
catctgaacgtcaatcacaaccgtcaaatcacaagtcgacaagaaggctcagcctaagtcgtgcagtgagggtgggggcaccg
gaggtggcgggtcagaagtcaactggtcgaaagcggaggtgggctcgtgaaacctggcggatctctgcgattgtcatgtgtgcaag
cggtacacgtttaccgataactatccactgggtgcgacaagcaccagggaagggaactggaatggattggatatattaaccgagc
tcgcctacgcacactacaacgagaaattcaagaccgattcaccatctccgtggacaagaagcaagaactccgcttacctgcaaatga
actctctcggggccgaagacactgccgtgtattactgacccgccgatactatagcgtatgccctttgcctactggggacaaggac
actggtcactgtctcaagtggaggtggcgggttctggcgggtggcgggttcgggtggcgggtggatcgggaggtggcgggttctgatatacag
atgacccaatcaccaagctctctgagtgttcgttggcgatcgcgttacaattacctgccgagctagcaggatatactcaggactg
gcctggtaccagcaaaagcctggcaagtgcctaagctcctgactacgactccagtaccctgcacactggtgtgccaagccgctta
gcggaactggatctggaaccgactatacactgacgattcctcactgcaaccggaagacgtggcaacctacttctgcagcaaaactac
gacttccccttgacgtttgggcaagggacaaagctggagatcaaacgtacc

(e) 496.g3 HC-2109dsVHVL (SEQ ID NO:125) (突變 scFvs^f) SGGGSGGGGS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGLTVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
LYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGGGSGGGGSEVQLVESGG
GLVKPGGSLRLSCAASGYTFTDNYIHWRQAPGKCLEWIGYINPSSAYAHYNEKFKTRFTIS
VDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSAMPFAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGSGGGG
SGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGRVTTITCRASEDIYSGLAWYQQKPGKPKLLIYDSSTLHT
GVPSRFSGTSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCQQNYDFPLTFGCGTKLEIKRT

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

^f 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

(f) 編碼496.g3 HC-2109dsVHVL (SEQ ID NO:126)(突變scFvs^f)的DNA

SGGGGSGGGGS

gaagtgcagctggtggaatccggcggaggactggtgcagcccgggtggatcattgagactttc
gtgtgcagcatcaggctttactttctcggactacaatatggcatgggtgcgccaagcgctg
gtaaaggactggaatgggtcgcgactatcacttatgaggggcggaataacttactataggat
agcgtcaaaggacgctttaccatctcacgggacaacgctaagaactccctgtacctccaaat
gaactcactcagggcagaagatacggcgtgtactactgtgcctcgcctccgcagactactacg
aagggtccatctaccgctttggttcgcccattggggacaggggaacgctgggtgactgtgtcc
tcggcttcgaccaagggggccctcgggtgttccctctggcgcctagctccaagagcacttcagg
cggaacggctgccctcggtgctgtaaggactacttcccagagcccgtgaccgtgtcat
ggaacagcggagctctgactagcggagtgcacacctttccggcgggtgctgcaaagctcaggc
ctgtactcgtctcctcagtggtcactgtcccgtcctcctcgtggggactcaaacgtacat

【圖4】

ctgcaacgtcaatcacaaaccgtcaaataccaaagtcgacaagaaggtcgagcctaagtcgt
gcagcggaggaggtggatccggcgggtggaggtagcgaagtcagttggtggagtcgggggga
gggttgggaagccaggaggatcattgcggttgcatgtgcggcttcgggctacactttcac
tgacaattacattcactgggtgcgacaagcaccagggaagtcctcgaatggattggctaca
tcaaccctgcaagcgcatacgccttacaacgaaaagttcaagaccgggttcacatctcc
gtggataaggcgaaaaacagcgcgtaccttcagatgaactccctgcccggcgaggataccgc
cgtttactactgcactagacgggtactacagcgcctatgcccgttcgcgtactggggacaaggca
ctctgggtcacctgtgctgcgggaggaggaggtcgggtggaggcggatcgggtggcggagg
agcggcggaggcgggttcggatatccagatgaccagtcgcgtccagcctctccgctccgt
gggagacagagtgcagatcacttgcagagcatcagaggacatctactctggccttgcttgg
atcagcagaagccgggaaaggtgccaaactgctcatctatgactcctcgaccctccacacg
ggagtgccatcgcgcttcagcgggaccggatctgggaccgactacaccctgaccatttcac
gctccagcggaggatgttgccacttacttctgccaacagaattacgacttcccacttactt
ttggatgtggcactaagctcgaaatcaagcgcacc

(g) 編碼496.g3 HC-2109dsVHVL (SEQ ID NO:143) (突變scFvs)的DNA
SGGGGSGGGGS

gaggtgcagctcgtcgaaagcggcggaggactcgtgcagcctggaggctcattgcggttgcatgtgccccagcgggttcacctttccgacta
taacatggcctgggtgcgcaagctcctggaaaggggtggaatgggtgccaccatcacttacgaggccggaacactactaccgcatcc
gtgaagggcggttcactatttcgcgggacaacgccaagaactcgtgtaccttcaaatagaactccctccgcggaagataccgctgtatta
ctgcgcctcaccaccgaatactacgagggaagcatctacagactctggttcgccattggggccagggaactttggtgaccgtcagctcagcct
ccactaagggcccagcgtgttccctctgtccgtcctccaagtcacttctggcggcactgcagccttgggtgctcgtgaaggattactccc
cgaaccctgacccgtgtcctggaactccggagccctgacctcgggagtgacaccttcccagcgggtgctccagctcctccggcctgtactcacttc
atcggtcgtgacccgtgccgtccagctcctgggaacccagacttaccattgcaacgtgaaccacaagccatccaacaccaaggtggacaagaag
gtggagcctaagagctgttcgggaggaggcgggttctggtggcggaggatcggagggtcagcttggagtcgggtggaggccttgtgaaacctg
gcggaagcctgaggctgtcatgtgcgctccggatcaccttactgacaactacatccactgggtgcgcaagctccgggaaagtgcctgga
atggattggctacattaaccctcctccgctacgcccactacaacgaaaagttcaagaccgggttcacatctccgtcgacaaggccaagaata
gcccctatctgcaaatgaacagcctccgcggaagataccggtgtactactgcactcggagatactacagcgcctatccgttcgctactgg
ggacagggcaccttgggtcacctgtcaagcggaggaggaggtcgggtggtggaggatcggggggaggaggaaagcggaggggggtggtcag
atattcagatgactcagctcccttctgctcgtgagcgcgtcagtgggcgacagggtcaccattacctgtcgggcttcggaggacatctactcaggac
tcgcttggtatcaacagaagccgggaaaggtccgaagctcctgatctacgactcgtcgaccctgcacactggcgtgccatccgatttccggga
acgggctcaggagactgactacacttgaccatttaagcctgcagcctgaggatgtggccacttacttctgccaacaaaactacgacttccccctt
accttcggctgcgggactaagctggagatcaagcggact

(h) 編碼496.g3 HC-2109dsVHVL (SEQ ID NO:144) (突變scFvs)的DNA
SGGGGSGGGGS

gaagtgcagctgggtggaatctggcggcggactgggtgcagcctggcggatctctgagactgtcttgccgctccggcttcaccttctccgactac
aacatggcctgggtgcgacaggctcctggcaaggagctggaatgggtggccacaatcacctacgaggccggaacacactactaccgggactct
gtgaagggccggttcacatctctcgggacaacgccaagaactcctgtacctgcagatgaacagcctcggggccgaggacaccgctgtact
actgtgtagccccctcagtactatgagggtccatctaccggctgtggttcgccattggggccagggcacactcgtgaccgtgtcctctgcttc
caccaagggccctcgtgttctctgccccttcagcaagtcaccttggcgggaacagcgtctgggctgctcgtgaaggactacttccc
cgagcccgtgacagtgtcttggaaacttggcgcctgacctccggcgtgcacaccttccagctgtgctgcagtcctccggcctgtactccctgtcc
tccgtcgtgactgtccctccagctctctgggacccagacctacatctgcaacgtgaaccacaagccctccaacaccaaggtggacaagaagg
tggaaccaagtcctgcagcggaggcgggtggttcaggcggcggaggatctgagggtcagctgggtgaaagtggggaggcctcgtgaaacca
ggcggcagctctgagactgagctgcgccccttctggctacacctttaccgacaactacatccactgggtgcgccaggccccagggaatgcctgg

【圖4】

aatggatcggtacatcaaccctccagcgcctacgccactacaacgagaagttcaagaccgcttcaccatcagcgtggacaaggctaaga
 atagcgctacctgcagatgaactccctgagagctgaggataccgctgtgtattattgacccggcggtactactccgcatgcccttcttactg
 gggacagggaaacctctgtacagtgcttagcggcgaggcggaagtgggtgggtggatctgggggaggcggttctgggtggcggtctgtat
 atccagatgaccagtcctccagctcctgtctgctctgtggcgacagagtgaccatcacctgtcgggctccgaggacatctactctggcctg
 gcctggtatcagcagaaaccggcaaggtgccaagctgctgatctacgactcctccacctgcacaccggcggtgaccttagatttccggcac
 cggctctggcaccgactataccctgacctctccagcctgcagcctgaggacgtggccacctacttttccagcagaactacgacttccctctgac
 cttcggctgcggcaccgaagctggaaatcaagcggacctgatagctcgaggctatca

(i) 496.g3 HC-2109dsVHVL (SEQ ID NO:127) (突變^{scFvs})連接子1 =SGGGGTGGGGS

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFDYNMAWVRQAPGKGLEWVATITYEGRNTYYRD
 SVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCASPPQYYEGSIYRLWFAHWGQGLVTVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG
 LYSLSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCSGGGGTGGGGSEVQLVESGG
 GLVKPGGSLRLSCAASGYTFTDNYIHWRQAPGKCLEWIGYINPSSAYAHYNEKFKTRFTIS
 VDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRYYSAMPFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGG
 SGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASEDIYSGLAWYQOKPGKVPKLLIYDSSTLHT
 GVPSRFSGTSGTDYTLTISSLQPEDVATYFCQQNYDFPLTFGCGTKLEIKRT

(j) 編碼496.g3 HC-2109dsVHVL (SEQ ID NO:128) (突變^{scFvs})連接子的DNA

1=SGGGGTGGGGS

gaagtgcagctggtggaatccggcgaggactggtgcagcccgggtggatcattgagactttcgtgtgcagcatcaggcttactttctc
 ggactacaatatggcatgggtgcgccaagcgcctgtaaaggactggaatgggtcgcgactatcacttatgagggcggaataactta
 ctataggatagcgtcaaaggacgctttaccatctcacgggacaacgctaagaactccctgtacctccaaatgaactcactcagggca
 gaagatacggcgtgtactactgtgctcgcctccgcagtactacgaagggtccatctaccgccttgggttcgccattggggacagg
 gaacgctggtgactgtgctcggcttcgaccaaggggcccctcggtgttcctctggcgccctagctccaagagcacttcaggcggaac
 ggctgccctcggtgctggtgaaggactacttcccagagcccggtgaccgtgtcatggaacagcggagctctgactagcggagtgc
 cactttccggcggtgctgcaaagctcaggcctgtactcgtctcctcagtggtcactgtcccgtcctcctcgtggggactcaaacgta
 catctgcaacgtcaatcacaaccgtcaaatcaaaagtcgacaagaaggtcgagcctaagtcgtgcagtgagggtgggggcaccg
 gaggtggcggttcagaagtgcagttggtggagtcggggggagggttggtgaagccaggagatcattgcggttgcagtgcggtt
 cgggctacactttcactgacaattacattcactgggtgcgacaagcaccagggaagtgcctcgaatggattggctacatcaaccgtca
 agcgcatacggccattacaacgaaaagtcaagaccgggtcaccatctccgtggataaggcgaaaaacagcgcgtaccttcagatg
 aactccctgcgggcccaggataaccggtttactactgcactagacggtactacagcgccatgccgttcggtactggggacaaggc
 actctggtcaccgtgtcgtcgggaggaggaggctcgggtggaggcggatcgggtggcgaggaggcggcgaggcggttcggat
 atccagatgaccagtcggcgtccagcctctccgctcctggtggagacagagtgacgacatcactgcagagcatcagaggacatctac
 tctggccttctgtgtatcagcagaagccgggaaaggtgccaaactgctcatctatgactcctcaccctccacacgggagtgccatc
 gcgcttcagcgggaccggatctgggaccgactacaccctgaccatttcacgctccagccggaggatgttgcacttactctgccaac
 agaattacgacttccacttacttttgatgtggcactaagctcgaaatcaagcgacc

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

^f 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

【圖4】

(a) 496.g3 LC-645VHVL (SEQ ID NO:129) (未突變scFvs*)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRADESVRTL¹LMHWYQQKPGKAPKLLIYLVSNSEIGVPDRF
 SGSGSGTDFRLT²ISSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY
 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSGGGGSEVQLLES³GGGLVQPGGSLRLSCA
 VSGIDL⁴SNYAINWVRQAPGKLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDN⁵SKNTVY⁶LQMNSL
 RAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT⁷LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ
 SPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFSGSGS
 GTDFTLT⁸ISSLQPEDFATYYCGGGYSSISD⁹TTFGQGTKVEIKRT

(b) 編碼496.g3 LC-645VHVL (SEQ ID NO:130) (未突變scFvs*)的DNA

gcgatccagctgacgcaatcgccgtcctcgtgtcagcgagcgtgggcgatagggtcacgatcacctgtcgggccgatgaatcggtc
 cgcactctgatgcattggtatcagcaaaagccgggaaaggccccgaagctgctcatctacctggtgagcaatccgagatcggagtc
 cggaccgcttcagcggttcgggcagcggaaccgacttcgcctgactatttcctcgtgcaaccgaggacttcgctactactactgc
 cagcagacctgggtcagatccgtggacttcgggcagggaaacaaagtggaaatcaagcggactgtcggccaccttcgggttcattc
 ttccaccgtcagacgaacaacttaaaagcggaaactgcgtcgggtgtgcctccttaacaactttaccctagagaagccaaggtccag
 tggaaggtggacaatgcccttcaaagcggaaacagccaggagtcctgaccgagcaggactcaaaagattcgacttatagcttgcg
 tccacgctcaccctgagcaaaagcagactacgaaaagcacaaggtgtacgcttgcgaagtgaccaccaaggcttgcgagccccgt
 gaccaaatcctcaaccggggagaatgcagcgggtggcggaggctccggaggaggaggtatcagaggtcagctgctggagtctgga
 ggcgggcttgcagcctggaggagcctgcgtctcttctgtgcagtaagcggcatcgacctgtccaactacgcgattaactgggtac
 gtcaggcaccgggtaaggtctggaatggatcgccatcatctggcctctggtacgaccttctacgctacttggccaaaggtcgttct
 accatctcccgtagaactctaaaacaccgtgtacctgcagatgaactctctgcgtgcggaagacactgcggttactattgcgcgcgt
 accgttccgggctattctactgcaccgtacttcgacctgtgggggtcagggtactctggttaccgtctcagtgagggtggcgggtctggc
 ggtggcgggtccgggtggcgggtgatcgggaggtggcgggtctgatatccagatgaccagagtcgaagcagtggttccgccagcgta
 ggcgatcgtgtgacttaactgtcagtcctctccgagcgttgggtccaacttctgagctggtaccagcagaaccgggtaagcccc
 gaaactgtgatctacgagcgctctaaactgacctctgggtgaccgtcccgttctctggtctctggtacggacttactctgacc
 atctctctctgcagccggaagactttgcaacgtactactgcggtgggtggtactcttccatctctgacaccacgtcgggtggaggcacc
 aaagttgaaatcaaactgtag

(c) 496.g3 LC-645dsVHVL (SEQ ID NO:131) (突變scFvs)

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRADESVRTL¹LMHWYQQKPGKAPKLLIYLVSNSEIGVPDRF
 SGSGSGTDFRLT²ISSLQPEDFATYYCQQTWSDPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ
 LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADY
 EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSGGGGSEVQLLES³GGGLVQPGGSLRLSCA
 VSGIDL⁴SNYAINWVRQAPGKCLEWIGIIWASGTTFYATWAKGRFTISRDN⁵SKNTVY⁶LQMNSL
 RAEDTAVYYCARTVPGYSTAPYFDLWGQGT⁷LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQ
 SPSSVSASVGDRVITITCQSSPSVWSNFLSWYQQKPGKAPKLLIYEASKLTSGVPSRFSGSGS
 GTDFTLT⁸ISSLQPEDFATYYCGGGYSSISD⁹TTFGCGTKVEIKRT

【圖5】

(d) 編碼496.g3 LC-645dsVHVL (SEQ ID NO:132) (突變scFvs)的DNA

gcatccagctgacgcaatcgccgtcctcgctgtcagcagcgtgggcgatagggtcacgat
cacctgtcgggcccgatgaatcggtccgcactctgatgcattggtatcagcaaaagccgggaa
agggccgaagctgctcatctacctgggtgagcaattccgagatcggagtcgggaccgcttc
agcgggttcgggcagcgggaaccgacttcgcctgactatttcctcgtcgaacccgaggactt
cgctacttactactgccagcagacctgggtcagatccgtggactttcgggcagggaaccaaaag
tggaaatcaagcggactgtcgccgcaccttcgggtgttcatctttccaccgtcagacgaacaa
cttaaaagcggaaactgcgtcggtgggtgtgcctccttaacaactttttaccctagagaagccaa
gggtccagtgggaaggtggacaatgcccttcaaagcggaaacagccaggagtccgtgaccgagc
aggactcaaaagattcgacttatagcttgtcgtccacgctcaccctgagcaaaagcagactac
gaaaagcacaaggtgtacgcttgcgaagtgaaccaccaaggcttgtcagccccgtgaccaa
atccttcaaccggggagaaatgcagcgggtggcggagggtccggaggaggaggatcagaagtgc
agctcttggaatcgggtggaggactgggtgcagccgggagggtccctgagggtgagctgtgct
gtgtccggcatcgacctttcaaactacgccatcaattgggtgaggcaggcggcaggaaaatg
tctcgaatggatcgggtatcatctgggttagcggaaactaccttctatgcgacgtgggccaagg
gacgggttcactatctcgcgcgataacagcaagaacaccgtgtacctccagatgaacagcctc
cgggctgaggacactgcagctctattactgcgcgagaacgggtgcggggctactccactgcacc
gtacttcgacttgtggggacagggaaactcttgtgaccgtcagctcgggaggaggagggttcgg
gaggagggtgggtcgggaggagggtggaagcggaggaggcggatcggacatccagatgacgcag
tcaccatcgtccgtgtcagcatccgtgggagacagagtgaaccattacttgtcagtcctcgcc
ctcagctcgtcgaaatcttctgtcgtgggtatcaacaaaagccagggaagcccaagctgc
tgatctacgaggccagcaaaactcacttcgggagtccttagcagattctccgggtcgggatcg
ggcaccgatttcacctcaccattagctcactccaaccagaggattttgccacctactactg
cggcggtggctacagctcaatctcagataccactttcggatgcgggtactaagggtcgagatta
agcgact

(e) 編碼496.g3 LC-645dsVHVL (SEQ ID NO:145)(突變scFvs)的DNA

gcaatccaactgaccagagccccctcctcctcctccgctcgtgggagacagagtaccatcacttgcggggccgatgagtcggtgagaactct
catgcactgggtatcagcaaaagccagggaagctccgaagctgctgatctacctgggtgcaaatccgagattggctgctgaccggttcagc
ggagcggatcaggcaccgacttcagactcagatctcatccctgcaaccggaagattttgccagctactactccaacagacctggtccgacccc
tggacattcgggtcagggcaccaaggctgaaatcaagaggactgtggccgctccttcggtgtttatcttccctccgacgaacagctgaaatcc
ggaaccgccagcgtcgtgtgctgtgaacaatttctaccgcgcgaagccaagggtccagtgggaaggtcgacaacgccctccagtcggaaact
cccaggagtcgggtgaccgaacaggattcgaaggactgcacctactcctgtcctcgactttgaccttgcgaaggccgattacgagaagcataag
gtctacgctgcgaagtgaacctcaggggctgtatccccgtgaccaagagcttcaaccgaggagtgctcgggaggaggagggtcagga
ggaggggggttcgaagtgcagctgctggaatccggaggagggtctggtgcagccaggggggttctcgcgcttctcgcgtgtcagcgggatcg
accttccaactacgccatcaattgggtgcgaagctccgggaaagtgcctggagtggattggaatcatttgggacagcggcactaccttctac
gcgacttggcgaagggtgccttcacctctccgggacaattcgaagaacaccgtgtacttcagatgaacagcctgagagccgaggatacg
gccgtgtactactgtgcaggactgtgcctggctactcgaccgccccctacttcgatctttggggacagggcacactggtcaccgtgtcatccggt
ggaggaggatcggggggaggagggttcggaggcgggtgtagcggaggcggagggtccgacatccaaatgaccagtcgccgtcgagcgtgtc
cgcctcagtcggggacagagtgaacctcacatccagtcctcgccctgggtctggtccaacttctgtcctgggtatcagcagaacccggaaagg
ccccaagctgctcatctacgaagcctccaagctgaccagcggggtgccttcgaggttctcgggtcgggatcaggcaccgactttacctcacg
atttcgagcctgcaaccggaggatttcgaacttactactcggcggtgttacagctccattagcgacaccaccttcgggtcgggaccaagggt
cgagatcaagcgact

【圖5】

(f) 編碼496.g3 LC-645dsVHVL (SEQ ID NO:146) (突變^{scFvs})的DNA

gccatccagctgaccagagcccttcagcctgtctgcctctgtggcgacagagtgaccatcacctgtcgggccgatgagtcctgctggaccct
gatgcactgggtatcagcagaagcccggaaggccccaagctgctgatctacctgggtgtccaactccgagatcggcgtgcccacagattctcc
ggctctggctctggcaccgacttccggctgacctctctagcctgcagcccaggacttcgccactactactgccagcagacttggagcgaccc
ctggaccttggccagggcaccaaggtggaatcaagcggaccgtggccgctccctcgtgttcattctccaccttccgacgagcagctgaagt
ccggcacccgttctgtcgtgtgcctgtgaacaacttctacccccgcaggccaaggtgcagtgggaaggtggacaacccctgcagtccggcaa
ctcccaggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcctccaccctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcac
aaggtgtacgctgcgaagtgaccaccaggcgctgtctagccccgtgaccaagctttcaaccggggcgagtggttctggcggcgaggatctg
ggggaggcggtatcgaagtgcagctgctggaatctggcggaggcctggtgcagcctggcggtatctctgagactgtcctgtccgtgtccggcatc
gacctgtccaactacccatcaactgggtgcgacaggccctggcaagtgcctggaatggatcggtatcatctggcctccggcaccaccttcta
cgccacctgggctaaggccggttcacatctccgggacaactccaagaacaccgtgtacctgcagatgaactccctgcgggcccaggacacc
gccgtgtactactgtgctagaaccgtgcccggctactccaccgccccttactttgatctgtggggccagggaacccctcgtgacctgtctagcgga
ggcggaggtagtgccggtggtggaagtggcggagggggtagtggtggcggggatctgatattcagatgaccagtgccccctcctcgtgtccg
cttccgtgggagatcgctgacaatcacatgccagtcctccccctctgtgtgtccaacttctgtcttggtatcagcagaaacctgggaaggctc
ctaaactgctgatctatgaggcctccaagctgacctccggcgtgccctctagattctctggcagcggcagcgggaaccgactttaacctgacctca
gctcctgcagcctgaagatttctacattactgcggtggcggtacagctccatctccgataccaccttcggctgcggaacaaaagtggaaa
tcaaacgcacctgatagaagcttg

* 即不具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

^f 即具有經改造成雙硫鍵的半胱胺酸

【圖5】

重鏈

1 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 abc 85 90 95 100 105 110
(SEQ ID NO:133)
CA2109 EVQLHSGAALVKGPGASVKLSCKTSQYTFIDNYIHVVKQSPGKSLEWIGYINP SSAYAHYNEKFKTKATLVDKSTNTAYMELSRITSEDSATYFCRRYYSAMPFAYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO:134)
1-3 3-21 EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGFTSSYSMMVVRQAPGKGLEWVSSISS STSIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR YFDYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO:135)
CA2109gH1 EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCATSGYTFIDNYIHVVRQAPGKGLEWIGYINP SSAYAHYNEKFKTKRFTTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCRRYYSAMPFAYWGQGTLVTVSS
(SEQ ID NO:92)
CA2109gH2 EVQLVESGGGLVKGPGSLRLSCAASGYTFIDNYIHVVRQAPGKGLEWIGYINP SSAYAHYNEKFKTKRFTTISVDKAKNSAYLQMNSLRAEDTAVYYCRRYYSAMPFAYWGQGTLVTVSS

圖例

CA2109 = 大鼠可變重鏈序列
1-3 3-21 = 具有JH4之人類生殖系受體框架VH3序列1-3 3-21
CA2109可變重鏈的使用1-3 3-21人類生殖系作為受體框架之人類化移植物。

CDR以粗體/下劃線顯示
CA2109gH2中的供體殘基以粗體/斜體顯示並突顯：I48、G49、V71、K73、A78、T93

【圖6】

輕鏈

1	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105
(SEQ ID NO:140)																					
CA2109 DIVMTQSPASLSASLGSETVTITCRASEDIYNGLA ~~WYQQKPKGSPHLLIYNSTLHTGVP~~ SRFSGTSGTQYSLKINSLQSE ~~DVATYFCQQNYDFF~~ <u>LT</u> FGSGTKLEIK																					
(SEQ ID NO:141)																					
2-1 (U) -A20 DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASQGISNTYLA ~~WYQQKPKGKVPKLLIYAASTLQSGVPS~~ RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATY ~~YCQKNSAP~~ <u>YT</u> FGQGTKLEIK																					
(SEQ ID NO:142)																					
CA2109gL1 DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASEDIYNGLA ~~WYQQKPKGKVPKLLIYNSTLHTGVP~~ SRFSGTSGTDTYTLTISSLQPEDVATY ~~FCQQNYDFF~~ <u>LT</u> FGQGTKLEIK																					
(SEQ ID NO:147)																					
CA2109gL18 DIQMTQSPSSLSASVGDRTVTITCRASEDIYSGLA ~~WYQQKPKGKVPKLLIYDSSTLHTGVP~~ SRFSGTSGTDTYTLTISSLQPEDVATY ~~FCQQNYDFF~~ <u>LT</u> FGQGTKLEIK																					

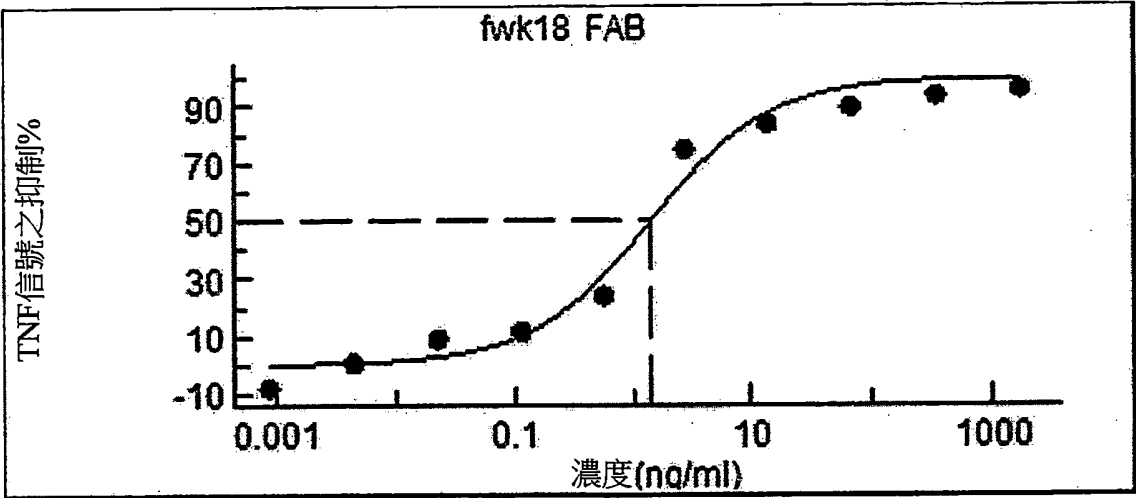
圖例

CA2109 = 大鼠可變輕鏈序列
2-1 (U)-A20 = 具有JK2之人類生殖系受體框架序列VK1 2-1(U) A20
CA2109gL1及CA2109gL18 = CA2109可變輕鏈的使用VK1 2-1(U) A20人類生殖系作為受體框架之人類化移植植物。

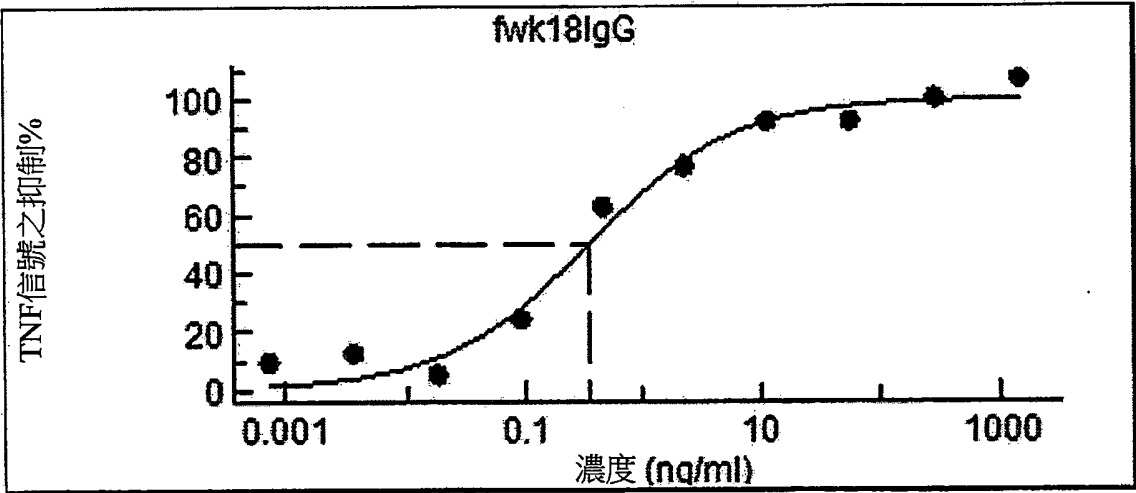
CDR以粗體/下劃線顯示
供體殘基以粗體/斜體顯示並突顯：T65、Y71、F87

CDRL1及CDRL2中的移除可能之天冬醯胺酸脫醯胺位點的突變係以粗體/下劃線顯示並突顯：S31、D50、S52

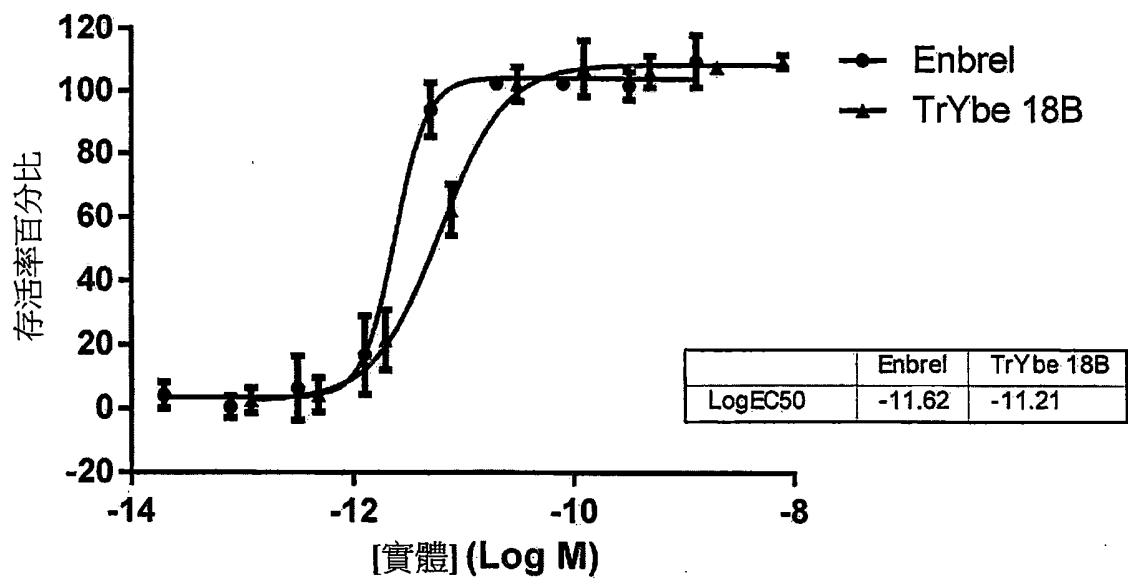
【圖7】



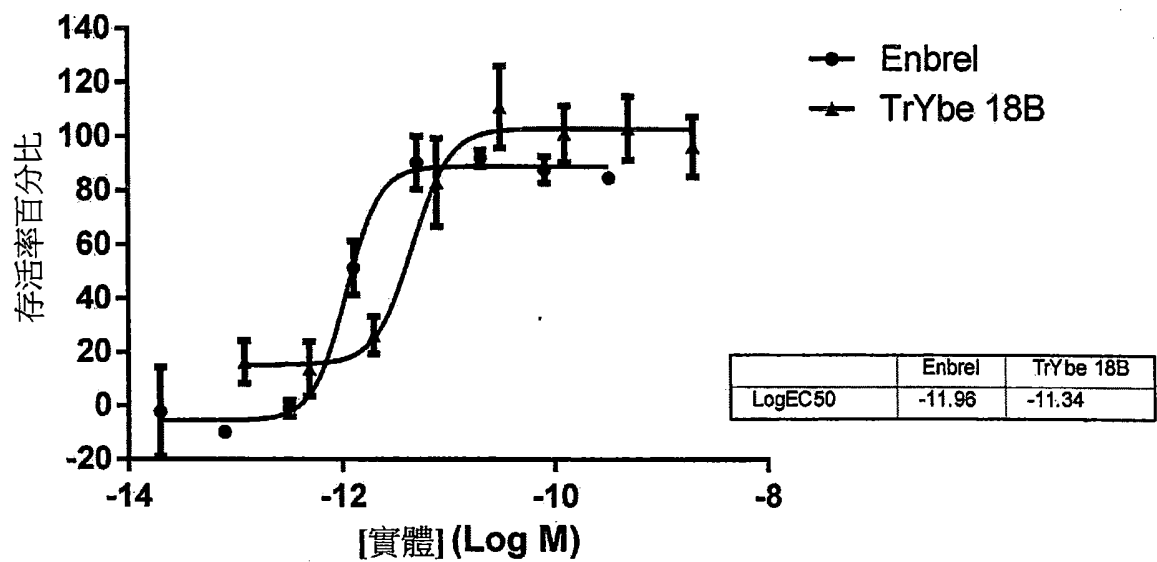
【圖9a】



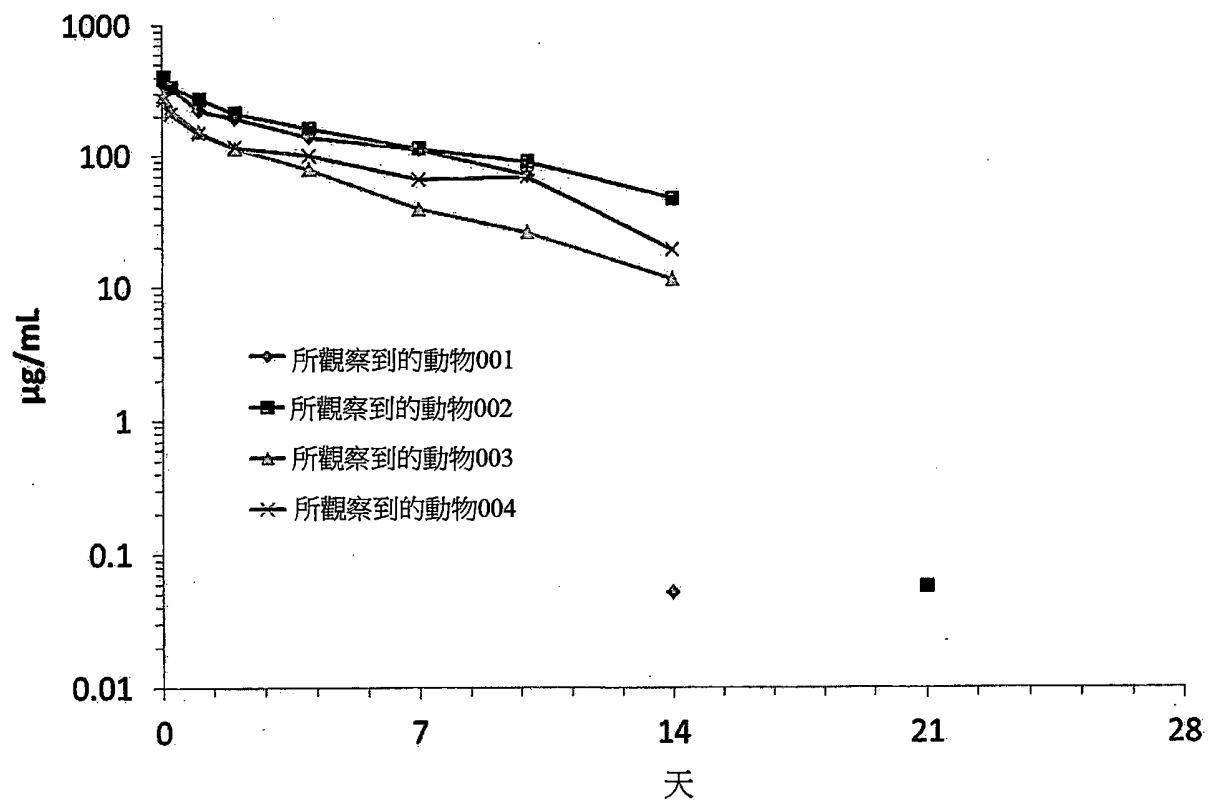
【圖9b】



【圖10a】



【圖10b】



【圖15】