I874532

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 **(11)證書號數：TW I874532 B**

(45)公告日： 中華民國 114 (2025) 年 03 月 01 日

(21)申請案號：109144709 (22)申請日： 中華民國 109 (2020) 年 12 月 17 日

(51)Int. Cl.： ***C07K16/24 (2006.01)*** ***A61K39/395 (2006.01)***
A61P35/00 (2006.01) ***A61P29/00 (2006.01)***
A61P37/00 (2006.01)

(30)優先權：2019/12/18 歐洲專利局 19217665.9

(71)申請人：瑞士商赫孚孟拉羅股份公司 (瑞士) F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (CH)
瑞士

(72)發明人：費雪 詹斯 FISCHER, JENS (DE)；喬治絲 蓋 GEORGES, GUY (BE)；喬屈納 安東 JOCHNER, ANTON (DE)；喬登 葛雷勾爾 JORDAN, GREGOR (DE)；凱騰伯格 胡伯特 KETTENBERGER, HUBERT (DE)；莫嫩肯 喬治 MOELLEKEN, JOERG (DE)；薛洛紹爾 提爾曼 SCHLOTHAUER, TILMAN (DE)；蒂芬泰勒 喬治 TIEFENTHALER, GEORG (DE)；倫扎 沃萊里亞 RUNZA, VALERIA (IT)；麥傑提 梅荷 MAJETY, MEHER (DE)；雪弗 馬汀 SCHAEFER, MARTIN (DE)；維爾特 瑪麗亞 VIERT, MARIA (DE)；馮舒 FENG, SHU (CN)；何 偉雄 HO, WEI SHIONG ADRIAN (SG)；顏 素婉 GAN, SIOK WAN (SG)；藍 潤儀 LAM, RUNYI ADELINE (SG)；葛茲 麥可 GERTZ, MICHAEL (DE)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

期刊 Marvin, Jonathan S., and Zhenping Zhu. "Recombinant approaches to IgG-like bispecific antibodies." Acta Pharmacologica Sinica 26.6 (2005): 649-658.

期刊 Obmolova, Galina, et al. "Structural basis for high selectivity of anti-CCL2 neutralizing antibody CNTO 888." Molecular immunology 51.2 (2012): 227-233.

審查人員：王顗棣

申請專利範圍項數：19 項 圖式數：16 共 509 頁

(54)名稱

雙特異性抗ＣＣＬ２抗體

(57)摘要

本發明涉及與人類 CCL2 上兩個不同表位結合的雙特異性抗 CCL2 抗體，其醫藥組成物，它們的製備，及用作治療癌症、炎性疾病、自體免疫疾病及眼科疾病的藥物之用途。

The present invention relates to bispecific anti-CCL2 antibodies binding to two different epitopes on human CCL2, pharmaceutical compositions thereof, their manufacture, and use as medicaments for the treatment of cancers, inflammatory, autoimmune and ophthalmologic diseases.

指定代表圖：

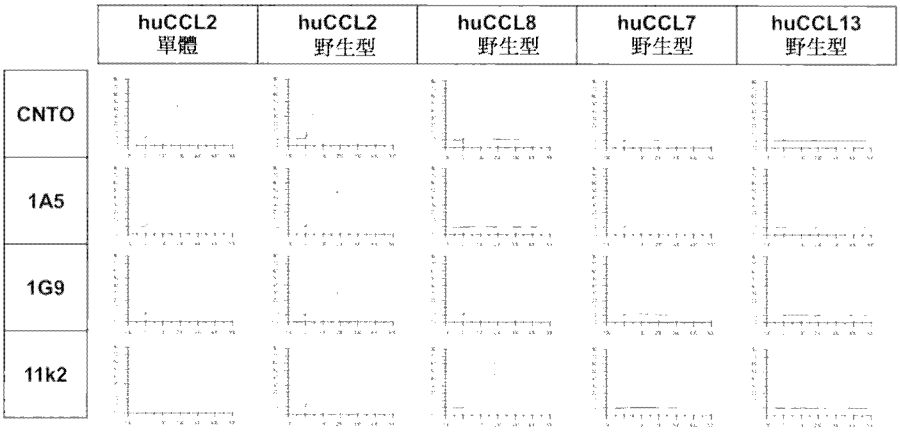

huCCL2
單體
huCCL2
野生型
huCCL8
野生型
huCCL7
野生型
huCCL13
野生型
CNTO
1A5
1G9
11k2

圖 1

公告本

I874532

【發明摘要】

【中文發明名稱】 雙特異性抗 CCL2 抗體

【英文發明名稱】 Bispecific anti-CCL2 antibodies

【中文】本發明涉及與人類 CCL2 上兩個不同表位結合的雙特異性抗 CCL2 抗體，其醫藥組成物，它們的製備，及用作治療癌症、炎性疾病、自體免疫疾病及眼科疾病的藥物之用途。

【英文】The present invention relates to bispecific anti-CCL2 antibodies binding to two different epitopes on human CCL2, pharmaceutical compositions thereof, their manufacture, and use as medicaments for the treatment of cancers, inflammatory, autoimmune and ophthalmologic diseases.

【指定代表圖】

圖 1

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】　雙特異性抗 CCL2 抗體

【英文發明名稱】　Bispecific anti-CCL2 antibodies

【技術領域】

【0001】 本發明涉及與人類 CCL2 上兩個不同表位結合的雙特異性抗 CCL2 抗體，其醫藥組成物，它們的製備，及用作治療癌症、炎性疾病、自體免疫疾病及眼科疾病的藥物之用途。

【先前技術】

【0002】 CCL2/CCR2 軸是募集未成熟骨髓細胞進入腫瘤的主要介質。CCL2 被惡性細胞過度表現，並與細胞外基質 (ECM) 結合，建立了化學吸引因數梯度。一旦它們到達腫瘤，髓源性抑制細胞 (myeloid-derived suppressive cell，MDSC) 藉由分泌/上調抗炎性細胞因子/受體而反過來抑制抗腫瘤 T 細胞反應的啟動，從而促成原致腫瘤環境。以此方式，MDSC 可降低或甚至削弱任何 T 細胞活化療法的功效 (Meyer 等人，2014)。因此，對這些未成熟骨髓細胞募集的特異性抑制將提高檢查點抑製劑、T 細胞雙特異性抗體 (TCB) 或其他癌症免疫療法 (CIT) 的功效。此外，CCL2 也與促進血管生成、轉移和腫瘤生長有關，有建議指出中和 CCL2 可能有助於多種抗腫瘤干預措施。

【0003】 與其受體相反，靶向 CCL2 將特異性抑制非所欲之 CCL2 介導的作用，從而避免那些可能通過相同受體 (CCR2) 但不同配體 (例如 CCL7、

CCL8、CCL13) 發出的信號，這些信號參與其他免疫細胞群，例如 Th1 和 NK 細胞的募集。

【0004】 在臨床上，在一些針對中和由不同炎性疾病 (例如類風濕性關節炎 (Haringman 等人，Arthritis Rheum. 2006 Aug; 54(8):2387-92)、特發性肺纖維化 (Raghu 等人，Eur Respir J. 2015 Dec; 46 (6)：1740-50)、糖尿病性腎病 (Menne 等人，Nephrol Dial Transplant (2017) 32：307-315) 和癌症 (Sandhu 等人，Cancer Chemother Pharmacol.2013 Apr； 71 (4)：1041-50)) 引起的升高的水平的研究中，CCL2 是較佳的抗體目標。然而，其高合成速率與觀察到的高體內抗體-抗原解離常數 (KD) 已被證明是阻礙習知抗體以臨床可行劑量抑制游離 CCL2 的主要障礙 (Fetterly 等人，J Clin Pharmacol. 2013 Oct;53(10):1020-7)。

【0005】 CCL2 中和似乎與血清 CCL2 水平升高的病患更明顯相關，這已在多種類型的癌症中觀察到，例如乳癌 (BC)、卵巢癌 (OvCa)、大腸直腸癌 (CRC)、胰腺癌和前列腺癌。然而，即使在這些適應症範圍內的病患未表現出這种血清學但其腫瘤被髓系免疫細胞高度浸潤，由於如上所述 CCL2 在腫瘤環境中扮演的許多角色，病患可能從此新穎的治療方法中獲益。

【0006】 Igawa 等人，Immunological Reviews 270 (2016) 132-151 描述掃除 (Sweeping) 技術，其中，生成的抗體攜帶 pH 依賴性 CDR (用於酸性胞內體中的抗體-抗原解離，導致抗原降解) 及具有優化等電點 (pI) 的工程化 Fc 部分，並增強與 Fcγ RIIb 的結合 (有利於免疫複合物的細胞攝取)，並與新生兒 Fc 受體具有中等親和力，以維持可接受的藥物動力學曲線。

【發明內容】

【0007】本發明涉及與人類 CCL2 上兩個不同表位結合的雙特異性抗 CCL2 抗體，其醫藥組成物，它們的製備，及用作治療癌症、炎性疾病、自體免疫疾病及眼科疾病的藥物之用途。

【0008】本發明的一個實施例為一種雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二不同抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含人類 IgG 同型之 Fc 域。

【0009】本發明的一個實施例為一種雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二不同抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列。

【0010】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG 同型的 Fc 域。

【0011】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0012】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG 同型的恆定重鏈域。

【0013】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。

【0014】 在一個實施例中，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠時，與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G (Kabat EU 編號) 的人類 IgG1 同型的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域 (或其 Fc 域) 的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml/天/kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型的恆定重鏈域 (或其 Fc 域) 的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml/天/kg) 高至少

兩倍 (在一個實施例中高至少 5 倍，在一個實施例中高至少 10 倍，在一個實施例中高至少 20 倍)。

【0015】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。

【0016】 在一個實施例中，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠時，與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G (Kabat EU 編號) 的人類 IgG1 同型的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域 (或其 Fc 域) 的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml/天/kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型的恆定重鏈域 (或其 Fc 域) 的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml/天/kg) 高至少 15 倍，特別地高至少 20 倍。

【0017】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；

並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

【0018】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ IDNO: 58

之胺基酸序列 $GX^1IX^2FX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；(d) FR-H1，其包含 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF；(e) FR-H2，其包含 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列 WVRQAPGQGLEWMG；(f) FR-H3，其包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列 RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR；及 (g) FR-H4，其包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列 WGQGTLVTVSS；

及

VL 域，其包含：(h) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(i) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (j) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；(k) FR-L1，其包含 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC；(l) FR-L2，其包含 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列 WYQQKPGQAPRLLIY；(m) FR-L3，其包含 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列 GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC；及 (n) FR-L4，其包含 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列 GQGTKVEIK；

並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；(d) FR-H1，其包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGLTIS；(e) FR-H2，其包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列 WVRQAPGQGLEWMG；(f) FR-H3，其包含 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列 RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR；及 (g) FR-H4，其包含 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列 WGQGTTVTVSS；

及

VL 域，其包含：(h) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(i) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；(j) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；(k) FR-L1，其包含 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC；(l) FR-L2，其包含 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列 WYQQKPGKAPKLLIH；(m) FR-L3，其包含 SEQ ID NO: 88 之胺基酸序列 GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC；及 (n) FR-L4，其包含 SEQ ID NO: 89 之胺基酸序列 FGGGTKVEIK。

【0019】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

J) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

K) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

L) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

M) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

N) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

O) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

P) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列。

【0020】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57

之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

J) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

K) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

L) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

M) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

N) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

O) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

P) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

【0021】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體

i) 在活體外阻斷 CCL2 與其受體 CCR2 的結合 (報導基因測定，IC_{50} = 0.5 nM)；及/或

ii) 在活體外抑制骨髓細胞的 CCL2 介導趨化性 (IC_{50} = 1.5 nM)；及/或

iii) 與食蟹獼猴 CCL2 及人類 CCL2 有交叉反應。

【0022】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體與其他 CCL 同源物沒有交叉反應，特別是與結合至 CCL2 相比，其顯示出與其他 CCL 同源物 (例如 CCL8) 的結合減少了 100 倍。

【0023】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體以離子依賴性方式與人類 CCL2 上的第一和第二表位結合。

【0024】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體以 pH 依賴性方式與人類 CCL2 結合，且其中，第一抗原結合位點和第二抗原結合位點二者在中性 pH 比在酸性 pH 下以更高的親和力與 CCL2 結合。

【0025】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體在 pH 7.4 比在 pH 5.8 下以高 10 倍的親和力與人類 CCL2 結合。

【0026】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L234Y、L235W、G236N、P238D、T250V、V264I、H268D、Q295L、T307P、K326T 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0027】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0028】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有下列突變 (Kabat EU 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 及/ S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0029】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有下列突變 (Kabat EU 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iii) Q438R 及/或 S440E (適用於抑制類風濕因子結合)。

【0030】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有下列突變 (Kabat EU 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)。

【0031】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0032】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) M428L、N434A 和 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0033】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A 和 (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0034】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含兩個含有 (獨立地或除上述突變之外) 下列突變 (Eu 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) 在重鏈恆定域之一中的 S354C 和 T366W

ii) 在其他重鏈恆定域中的 Y349C、T366S、L368A、Y407V

【0035】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) (單特異性) 抗體，其與人類 CCL2 (特異性地) 結合，

其中，該抗體包含

A) VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P

或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；

或者

B) VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

【0036】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) (單特異性) 抗體，其與人類 CCL2 (特異性地) 結合，

其中，該抗體包含

A) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

B) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

C) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

D) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

E) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

F) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

G) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

H) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

【0037】 本發明的一個實施例為一種編碼根據前述實施例中任一項之 (單特異性或雙特異性) 抗體的單離核酸。

【0038】 本發明的一個實施例為一種包含此類核酸的宿主細胞。

【0039】本發明的一個實施例為一種產生抗體的方法，其包含培養該宿主細胞以產生該抗體。

【0040】在本發明的一個實施例中，此類方法進一步包含從該宿主細胞回收抗體的步驟。

【0041】本發明的一個實施例為一種醫藥調配物，其包含如本文所述之雙特異性抗體及醫藥上可接受之載體。

【0042】本發明的一個實施例為如本文所述之雙特異性抗體，其用作藥物。

【0043】本發明的一個實施例為如本文所述之雙特異性抗體在製造藥物中之用途。

【0044】在一個實施例中，此類藥物用於治療癌症。

【0045】在一個實施例中，此類藥物用於治療炎性疾病或自體免疫疾病。

【0046】本發明的一個實施例為用於治療癌症的本文所述之雙特異性抗體。

【0047】本發明的一個實施例為用於治療炎性疾病或自體免疫疾病的如本文所述之雙特異性抗體。

【0048】本發明的一個實施例為一種治療罹患癌症之個體的方法，其包含向該個體投予有效量的本文所述之抗體。

【0049】本發明的一個實施例為一種治療患罹患炎性疾病或自體免疫疾病之個體的方法，其包含向該個體投予有效量的本文所述之抗體。

【圖式簡要說明】

【0050】

圖 1：表面電漿共振 (Biacore®) 傳感圖顯示單特異性抗 CCL2 抗體 (CNTO888 (= CNTO)、1A5、1G9 及人源化 11K2 (= 11k2) 與重組 CCL2 和 CCL2 同源物結合。

圖 2a：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888-SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 2b：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 11K2-SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 11K2-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 2c：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 ABN912-SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 ABN912-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 2d：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 1A4-SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 1A4-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 2e：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 1A5-

SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 1A5-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 2f：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 1G9 -SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 1G9 -SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 2g：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 2F6-SG1 (野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 2F6-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 3：顯示在 i.v. 注射下列之後，血清總小鼠 CCL2 濃度 (圖 3a) 和抗體-時間曲線 (圖 3b) 的時間過程，a) 實線：20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 11K2-SG1 (野生型 IgG1)，及 b) 虛線：20 mg/kg 單特異性抗 CCL2 抗體 11K2-SG105 (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4a：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 11K2//1G9-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 11K2//1G9-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4b：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888//11K2-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888//11K2-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4c：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888//1G9-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 11K2//1G9-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4d：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888//1A5-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 CNTO888//1A5-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4e：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 1A5//1G9-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 1A5//1G9-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4f：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 11K2//2F6-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 11K2//2F6-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4g：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 ABN912//11K2-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1

mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 ABN912//11K2-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4h：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 1A4//2F6-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 1A4//2F6-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 4i：i.v. 注射預形成免疫複合物後一段時間內 hCCL2 的血清濃度，包括 a) 實線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20 mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 1A5//2F6-WT IgG1 (與完整 Fc 受體結合的野生型 IgG1)，或 b) 虛線：0.1 mg/kg 人類 CCL2 (hCCL2) 和 20mg/kg 雙特異性抗 CCL2 抗體 1A5//2F6-PGLALA (Fc 受體結合靜默 IgG1)。

圖 5a：Biacore® 感測器圖顯示四種經修飾的 11K2 和四種 CNTO888 變異體 在 pH7.4 (黑線) 及 pH5.8 (灰線) 時與單體 CCL2 的結合曲線，及 16 種雙特異性抗 CCL2 抗體 CKLO01 至 CKLO16 產生四種經修飾的 11K2 和四種 CNTO888 變異體各自結合抗原結合部分的結果。

圖 5b：Biacore® 傳感圖顯示四種經修飾的 11K2 和四種 CNTO888 變異體的單體 CCL2 的結合曲線，及 16 種雙特異性抗 CCL2 抗體 CKLO01 至 CKLO16 產生四種經修飾的 11K2 和四種 CNTO888 變異體各自結合抗原結合部分的結果。在 pH 7.4 的解離階段後，立即將 pH5.8 的另一個解離階段整合到 BIACORE® 分析中。

圖 6：Biacore® 傳感圖顯示雙特異性抗 CCL2 抗體 CKLO01、CKLO02、CKLO03 和 CKLO04 與單體 CCL8 在 pH7.4 (黑線) 和 pH5.8 (灰線) 的結合曲線。

圖 7a：將由 hCCL2 和雙特異性抗 CCL2 抗體 (親本 CNTO//11K2 和 pH 依賴性變異體 CKLO01、CKLO02、CKLO03 和 CKLO04) 所組成的預形成免疫複合物注射至 SCID 小鼠後一段時間的 hCCL2 血清濃度。

圖 7b：將由 hCCL2 和 CKLO03 (帶有 IgG1 野生型 Fc) 或 CKLO03-SG1099 (帶有增強的 I Fc 的 CKLO03) 所組成的預形成免疫複合物注射至 SCID 小鼠後一段期間的 hCCL2 血清濃度。

圖 8：趨化性測定：具有相同 CDR 和可變區 VH/VL 的雙特異性抗 CCL2 抗體，即 CKLO2-IgG1 野生型和 CKLO2-SG1095，但具有不同的 Fc 部分，可以相同效價 (IC_{50} = 0.2 μg/ml；圖 8，左圖) 抑制 THP-1 細胞遷移。

同樣地，CCL2-0048 (CKLO2 的母體未修飾雙特異性抗體 CNTO888/11k2k2 IgG1) 為非 pH 依賴性，其亦顯示 IC_{50} 為 0.2 μg/ml，因為 pH 依賴性對抗原清除至關重要，這種現象在該測定中不會發生。

對應的單特異性抗體 CNTO888 IgG1 和人源化 11k2 IgG1 顯示 IC_{50} 值分別為 0.3 和 0.7 μg/ml，而 huIgG1 同型對照則顯示無抑制作用 (圖 8，右圖)。

圖 9：基改小鼠模型中的活體內抗腫瘤活性。以 Mab CKLO2-IgG1 (Fc 野生型 IgG1) 和 CKLO2-SG1099 ((= CKLO2 pI 增強) 處理小鼠腫瘤模型。在研究結束時，腫瘤體積 (左)、腫瘤重量 (中) 和 M-MDSC 浸潤 (右)。(黑色柱的媒劑、灰色柱的 CKLO2 野生型 IgG1 和白色柱/虛線的 CKLO2pI-增強 Fc (CKLO2-SG1099))

圖 10：在活體內抗腫瘤活性研究期間，(參見圖 9 中的功效) 在以雙特異性抗 CCL2 抗體 (黑色柱的媒劑，灰色柱的 CKLO2 野生型 IgG1 及白色柱/虛線的 pI-增強的 Fc (CKLO2-SG1099)) 治療下，血清總 (左) 和游離的 (右) CCL2 水平。

圖 11：食蟹獼猴中 CCL2 掃除效率的概念研究的證明。食蟹獼猴血清中總抗體濃度-時間曲線；左圖：呈現了 7 天中四種抗體的平均濃度-時間曲線；第 1

組：單特異性 CNTO888–SG1 (= IgG1 野生型) 抗 CCL2 抗體 (n=3 隻動物) 作為最大總 CCL2 累積的對照；第 2 組：具有 pH 依賴性目標結合但無 Fc 修飾的雙互補位 (biparatopic) 抗 CCL2 抗體 CKLO2-SG1 (IgG1 野生型) (n＝3)；第 3 組：具有 pH 依賴性目標結合和 Fc-pI 並進一步修飾的雙互補位抗 CCL2 抗體 CKLO2-SG1100 (n=4)；及第 4 組：具有 pH 依賴性目標結合、Fc-pI 及 FcγRIIb 親和力增強並進一步修飾的雙互補位抗 CCL2 抗體 CKLO2-SG1095 (n＝4)；右圖：呈現了在 PK 研究期間 (70 天) 個體 4 (第 2 組) 的個體濃度-時間曲線。

圖 12：食蟹獼猴中 CCL2 掃除效率的概念研究的證明。食蟹獼猴血清中總 CCL2 濃度-時間曲線；左圖：呈現了 7 天中四種抗體的平均總 CCL2 濃度-時間曲線；右圖：呈現了在 PK 研究期間 (70 天) 個體 4 (第 2 組) 的個體總 CCL2 濃度-時間曲線。

圖 13：食蟹獼猴血清中游離 CCL2 濃度-時間曲線；左圖：呈現了 7 天中四種抗體的平均游離 CCL2 濃度-時間曲線；右圖：呈現了在 PK 研究期間 (70 天) 個體 4 (第 2 組) 的個體游離 CCL2 濃度-時間曲線；對於低於檢測限制的樣品，使用 0.01 ng/mL (定量下限) 的值計算平均曲線。

圖 14：食蟹獼猴中 CCL2 掃除效率的 PK/PD 研究。食蟹獼猴血清中總 CKL02-SG1095 濃度-時間曲線 (不同濃度的 CKL02-SG1095 處理 (第 1-3 組))；左圖：呈現了 7 天中三種劑量水平的平均濃度-時間曲線 (n=4)；右圖：呈現了在研究期間 (98 天) 兩隻 ADA 陰性個體動物 (25 mg/kg 劑量組) 的個體濃度-時間曲線。

圖 15：食蟹獼猴中 CCL2 掃除效率的 PK/PD 研究。在不同濃度的 CKL02-SG1095 處理下 (第 1-3 組) 並且與以 CNTO888-SG1 處理 (第 4 組) 相比，食蟹獼猴血清中總 CCL2 濃度-時間曲線；左圖：呈現了 7 天中四個研究組的平均總 CCL2 濃度-時間曲線 (誤差線表示 Sd)；右圖：呈現了在 PK 研究期間 (98 天)第

3 組 (n=2，誤差線表示範圍) 和第 4 組 (n=3，誤差線表示 SD) 的 ADA 陰性動物的個別總 CCL2 濃度-時間曲線。

圖 16：食蟹獼猴中 CCL2 掃除效率的 PK/PD 研究。食蟹獼猴血清中游離 CCL2 濃度-時間曲線；左圖：呈現了 7 天中四個研究組的平均游離 CCL2 濃度-時間曲線 (誤差線表示 SD) (以不同濃度的 CKL02-SG1095 處理 (第 1-3 組) 以及與 CNTO888-SG1 處理 (第 4 組) 比較)；右圖：呈現了在 PK 研究期間 (70 天) 來自第 3 組 (n=2，誤差線表示範圍) 和第 4 組 (n=3，誤差線表示 SD) 的 ADA 陰性動物的平均游離 CCL2 濃度-時間曲線；對於低於檢測限制的樣品，使用 0.01 ng/mL (定量下限) 的值計算平均曲線。

【實施方式】

【0051】 本發明涉及與人類 CCL2 上兩個不同表位結合的雙特異性抗 CCL2 抗體，其醫藥組成物，它們的製備，及用作治療癌症、炎性疾病、自體免疫疾病及眼科疾病的藥物之用途。因此，抗體包含與人類 CC2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與不同的第二表位 (特異性地) 結合的第二不同抗原結合位點。

【0052】 本發明包括雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。

【0053】 在一個實施例中，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠時，與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G (Kabat EU 編號) 的人類 IgG1 同型 (或其 Fc 域) 的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml/天/kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型 (或其 Fc

域) 的恆定重鏈域的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml/天/kg) 高至少 15 倍，特別地高至少 20 倍。

【0054】術語「表位」包括能夠特異性結合抗體的任何多肽決定簇。在某些實施例中，表位決定簇包括分子的化學活性表面基團，例如胺基酸、糖側鏈、磷醯基或磺醯基，且在某些實施例中，可具有特定的三維結構特徵及/或特定的電荷特徵。表位是被抗體結合的抗原區域。本發明涉及與人類 CCL2 上的兩個不同表位結合的雙特異性抗 CCL2 抗體。術語第一和第二表位涉及人類 CCL2 上的兩個不同表位。因此，第二表位不同於第一表位，藉由使用本領域已知的常規方法，可容易地確定抗體是否與參考抗 CCL2 抗原結合位點結合相同的表位，或與之競爭結合。舉例而言如，為了確定測試抗體是否結合在作為本發明參考抗 CCL2 抗原結合位點的相同表位，允許參考抗體在飽和條件下結合至 CCL2 域。其次，評估測試抗體結合人類 CCL2 的能力。若在與參考抗 CCL2 抗原結合位點飽和結合後，測試抗體能夠與人類 CCL2 結合，則可以得出結論為測試抗體結合至與參考抗 CCL2 抗原結合位點不同的表位。另一方面，若在與參考抗 CCL2 抗原結合位點飽和結合後，測試抗體不能與人類 CCL2 結合，則該測試抗體可結合至與本發明參考抗 CCL2 抗體所結合的表位相同的表位。然後可進行額外的常規實驗 (例如，肽突變和結合分析) 以確認所觀察到的測試抗體結合的欠缺實際上是由於與參考抗體結合相同表位或是空間阻滯 (或其他現象) 是造成觀察不到的結合的原因。可使用 ELISA、RIA、表面電漿共振 (surface plasmon resonance) (例如 Biacore)、流式細胞儀或本領域可用的任何其他定量或定性抗體結合測定法進行此分類。根據本發明的某些實施例，藉由競爭性結合檢定測量，若一個抗體以 1 倍、5 倍、10 倍、20 倍或 100 倍的過量來抑制另一抗體的結合至少 50%、至少 75%、至少 90% 或甚至

99%，則認為兩個抗體結合至相同 (或重疊) 表位 (參見例如 Junghans 等人，Cancer Res. 1990:50:1495-1502)。

【0055】 或者，若實質上抗原中所有減少或消除一種抗體結合的胺基酸突變減少或消除了另一種抗體的結合，則認為兩個抗體與相同表位結合。若僅減少或消除一個抗體結合的胺基酸突變子集合而減少或消除另一抗體的結合，則認為兩種抗體具有「重疊表位 (overlapping epitope)」。

【0056】 為了確定抗體是否與參考抗 CCL2 抗體競爭結合，上述結合方法以兩個方向進行：在第一方向上，使參考抗體在飽和條件下結合 CCL2，然後評估測試抗體與人類 CCL2 的結合。在第二方向上，使測試抗體在飽和條件下結合 CCL2 分子，然後評估參考抗體與人類 CCL2 的結合。若在這方向中，只有第一種 (飽和) 抗體能夠與 CCL2 分子結合，則可斷定該測試抗體和參考抗體競爭結合 CCL2。如本領域中具有通常技術者將理解的，與參考抗體競爭結合的抗體可能未必結合至與參考抗體相同的表位，而是可能藉由結合重疊或相鄰的表位而在空間上阻斷參考抗體的結合。

【0057】 當在本文中使用時，術語「CCL2」、「人類 CCL2」(也稱為「MCP-1」) 意指 NCBI 記錄登錄號 NP_002973 中引用的 76 個胺基酸序列，並分別稱為 CCL2，MCP-1 (單核細胞趨化性蛋白 1)、SMC-CF (平滑肌細胞趨化因子)、LDCF (淋巴細胞衍生的趨化因子)、GDCF (神經膠質瘤衍生的單核細胞趨化因子)、TDCF (腫瘤衍生的趨化因子)、HCl1 (人類細胞因子 11)、MCAF (單核細胞趨化因子和活化因子)。基因符號為 SCYA2，人類 17 號染色體上的 JE 基因，新的名稱為 CCL2 (Zlotnik，Yoshie 2000.Immunity 12: 121-127)。JE 是人類 MCP-1/CCL2 的小鼠同源物。

【0058】 亨德爾 (Handel) 等人 (Biochemistry.1996; 35:6569–6584) 確定 CCL2 二聚體的溶液結構。這些研究指出 CCL2 的二級結構由四個 β-折疊組

成。此外，Zhang 和 Rollins (Mol Cell Biol. 1995; 15:4851–4855) 描述負責 CCL2 二聚化界面的殘基。蛋白質複合物似乎很細長，並且兩個單體的取向使得它們形成一個大袋。亦確定了兩種晶體形式的單體和二聚體 CCL2 的結構，即所謂的 *I* 及 *P* 形式 (Lubkowski 等人，Nat Struct Biol. 1997; 4:64–69)。(Paolini 等人 J Immunol. 1994 Sep 15;153(6):2704-17) 敘述以在生理相關濃度，MCP1/CCL2 以單體存在：通過分析紀錄 CCL2 蛋白 (購自 Peprotech) 藉由粒徑篩析 HPLC、沉降平衡超速離心和化學交聯的功能，它們可能顯示 MCP-1 單體和二聚體形式的重量分數取決於活體外濃度。最後，Seo 與其同事 (J Am Chem Soc. 2013 Mar 20;135(11):4325-32) 可能顯示離子遷移質譜法，在生理條件下以單體和二聚體形式存在注射的 CCL2。

【0059】 因此，「野生型 CCL-2」 (wt CCL2) 可作為單體存在，但實際上亦可在生理濃度下形成二聚體。此單體-二聚體的平衡當然是不同的，在所有可能使用不同濃度的*活體外*實驗中，都必須謹慎考慮。為了避免任何不確定性，我們生成了點突變 CCL2 變異體：CCL2 的「P8A」變異體在二聚化界面中攜帶突變，造成無法形成導致定義的純 CCL2 單體的二聚體。相反地，CCL2 的「T10C」變異體導致 CCL2 的固定二聚體 (J Am Chem Soc. 2013 Mar 20; 135 (11)：4325-32)。

【0060】 CCL2/CCR2 軸是募集未成熟骨髓細胞進入腫瘤的主要介質。CCL2 被惡性細胞過度表現，並與細胞外基質 (ECM) 結合，建立了趨化因子梯度。一旦它們到達腫瘤，髓源性抑制細胞 (myeloid-derived suppressive cell，MDSC) 藉由分泌/上調抗炎性細胞因子/受體而反過來抑制抗腫瘤 T 細胞反應的啟動，從而促成原致腫瘤環境。以此方式，MDSC 可降低或甚至削弱任何 T 細胞活化療法的功效 (Meyer 等人，2014)。因此，這些未成熟骨髓細胞募集的特異性抑制將提高檢查點抑製劑、T 細胞雙特異性和癌症免疫療法的功效。此

外，CCL2 也與促進血管生成、轉移和腫瘤生長有關，有建議指出中和 CCL2 可能有助於多種抗腫瘤干預措施。

【0061】 與其受體相反，靶向 CCL2 將特異性抑制非所欲之 CCL2 介導的作用，從而避免那些可能通過相同受體 (CCR2) 但不同配體 (例如 CCL7、CCL8、CCL13) 發出的信號，這些信號參與其他免疫細胞群，例如 Th1 和 NK 細胞的募集。

【0062】 在臨床上，在一些針對中和由不同炎性疾病 (例如類風濕性關節炎 (Haringman 等人，2006)、特發性肺纖維化 (Raghu 等人，2015)、糖尿病性腎病 (Menne 等人，2016) 和癌症 (Sandhu 等人，2013)) 引起的升高的水平的研究中，CCL2 是較佳的抗體目標。然而，其高合成速率與觀察到的高體內抗體-抗原解離常數 (KD) 已被證明是阻礙習知抗體以臨床可行劑量抑制游離 CCL2 的主要障礙 (Fetterly 等人，2013)。

【0063】 CCL2 中和似乎與血清 CCL2 水平升高的病患更明顯相關，這已在多種類型的癌症中觀察到，例如乳癌 (BC)、卵巢癌 (OvCa)、大腸直腸癌 (CRC)、胰腺癌和前列腺癌。然而，即使在這些適應症範圍內的病患未表現出這种血清學但其腫瘤被髓系免疫細胞高度浸潤，由於如上所述 CCL2 在腫瘤環境中扮演的許多角色，病患可能從此新穎的治療方法中獲益。

【0064】 如本文所使用，抗體「與人類 CCL2 結合」、「與人類 CCL2 特異性地結合」、「與人類 CCL2 結合」或「抗 CCL2 抗體」涉及以 K_D 值為 5.0 x 10^{-8} mol/l 或更低的結合親和力與人類 CCL2 抗原特異性地結合的抗體，在一個實施例中，K_D 值為 1.0 x 10^{-9} mol/l 或更低，在一個實施例中，K_D 值為 5.0 x 10^{-8} mol/l 至 1.0 x 10^{-13} mol/l。

【0065】 結合親和力以標準結合測定法確定，例如表面電漿共振技術 (BIAcore®, GE-Healthcare Uppsala, Sweden)，例如使用包含 CCL2 細胞外域的

構建體 (例如其天然存在的 3 維結構)。在一個實施例中，使用例示性可溶性 CCL2，以標準結合測定法確定結合親和力。

【0066】 抗體特異性涉及針對抗原的特定表位的抗體選擇性識別。例如，天然抗體是單特異性的。

【0067】 如本文所使用，術語「單特異性」抗體表示具有一個或多個結合位點的抗體，每個結合位點結合相同抗原的相同表位。

【0068】 如本文所使用，術語「與 (人類) CCL2 結合的雙互補位抗體」、「與 (人類) CCL2 結合的雙特異性抗體」、「雙互補位抗 CCL2 抗體」、「雙特異性抗 CCL2 抗體」意指該抗體能夠與 (人類) CCL2 上的至少兩個不同表位特異性地結合。一般而言，此類雙特異性抗體包含兩個不同的抗原結合位點 (兩個不同的互補位 (paratope))，每個都對 (人類) CCL2 的不同表位具有特異性。在某些實施例中，雙特異性抗體能夠結合 CCL2 上的兩個不同且不重疊的表位，這意指兩個不同的抗原結合位點不競爭結合 CCL2。

【0069】 「受體人類框架 (acceptor human framework)」為本文中之目的是如下述定義的衍生自人類免疫球蛋白框架或人類共有框架、包含輕鏈可變域 (VL) 框架或重鏈可變域 (VH) 框架的胺基酸序列之框架。「衍生自 (derived from)」人類免疫球蛋白框架或人類共有框架的受體人類框架可包含與此等為相同的胺基酸序列，或其可含有胺基酸序列的變更。在一些實施例中，胺基酸變更數目為 10 個或更少、9 個或更少、8 個或更少、7 個或更少、6 個或更少、5 個或更少、4 個或更少、3 個或更少、或 2 個或更少。在一些實施例中，VL 受體人類框架與 VL 人類免疫球蛋白框架序列或人類共有框架序列的序列相同。

【0070】 本文的術語「抗體」以最廣義使用且涵蓋各種抗體結構，包括但不限於單株抗體、多株抗體、多特異性抗體 (例如，雙特異性抗體) 及抗體片段，只要其等展示出預期抗原結合活性即可。

【0071】「抗體片段」係指除完整抗體以外的分子，其包含結合完整抗體所結合抗原之完整抗體的一部分。抗體片段之實例包括但不限於 Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、$F(ab')_2$；雙功能抗體；線性抗體；單鏈抗體分子 (例如，scFv)；及抗原片段形成的多特異性抗體。

【0072】如本文所使用，術語「價數 (valent)」表示抗體中存在指定數量之抗原結合位點。因此，術語「單價結合抗原 (monovalent binding to an antigen)」表示抗體中存在對抗原具有特異性之一個 (且不超過一個) 抗原結合位點。

【0073】術語「抗原結合位點」涉及提供與抗原相互作用的抗體的位點或區域，即一個或多個胺基酸殘基。例如，抗體之抗原結合位點包含來自互補決定區 (CDR) 之胺基酸殘基。在一個實施例中，抗體之抗原結合位點包含來自 VH 和 VL 的胺基酸殘基。未處理 (native) 之免疫球蛋白分子通常具有兩個抗原結合位點，Fab 分子通常具有單個抗原結合位點。「抗原結合部分」涉及包含與抗原決定簇特異性地結合的抗原結合位點的多肽分子。抗原結合部分包括如本文進一步定義的抗體及其片段。特定抗原結合部分包括抗體之抗原結合域，其包含抗體重鏈可變區及抗體輕鏈可變區。在某些實施例中，抗原結合部分可包括如本文進一步定義及本技術中已知之抗體恆定區。可用之重鏈恆定區包括五種同型 (isotype) 中之任一者：α、δ、ε、γ 或 μ。可用之輕鏈恆定區包括兩種同型中之任一者：κ 及 λ。

【0074】如本文所使用，術語「抗原決定簇」或「抗原」涉及多肽大分子上抗原結合部分/位點結合而形成抗原結合部分-抗原複合物的位點。例如，可用之抗原決定位可存在於腫瘤細胞之表面上、受病毒感染之細胞之表面上、其他患病細胞之表面上、免疫細胞的表面上，不存在於血清中，且/或存在於細胞外基質 (ECM) 中。

【0075】術語「嵌合」抗體涉及其中重鏈及/或輕鏈的一部分源自特定來源或物種，而重鏈及/或輕鏈的其餘部分源自不同來源或物種的抗體。

【0076】抗體之「類別 (class)」係指為其重鏈所具有的恆定域或恆定區之類型。有五大類抗體：IgA、IgD、IgE、IgG、及 IgM，且彼等中的幾種可進一步分為次類 (同型 (isotype))，例如 IgG_1、IgG_2、IgG_3、IgG_4、IgA_1、及 IgA_2。對應於不同類別之免疫球蛋白的重鏈恆定域分別稱為 α、δ、ε、γ 及 μ。較佳地，本發明的雙特異性抗體為人類 IgG 同型，更佳地是人類 IgG1 同型。如本文所使用的術語 IgG 同型和 IgG1 同型涉及人類 IgG 同型和人類 IgG1 同型。一般而言，基於 IgG 亞類之間的等位基因變異，不同的 IgG 同型以略為不同的異型形式存在 (參見 Vidarsson et al.; Front Immunol 5 (2014) Article 520, 1-17)。「有效量」的試劑，例如醫藥調配物，其涉及在所需劑量和時間段內有效達到所需治療或預防效果的量。

【0077】本文中的術語「Fc 域」或「Fc 區域」，用於定義包含至少一部分恆定區的免疫球蛋白重鏈的 C 端區域。該術語包括天然序列 Fc 區域和變異體 Fc 區。儘管 IgG 重鏈之 Fc 區域之邊界可能略有變化，但通常將人類 IgG 重鏈之 Fc 區域定義爲從 Cys226 或 Pro230 延伸至該重鏈之羧基端。但是，由宿主細胞產生的抗體可能經歷重鏈 C 端的一種或多種、特別是一種或兩種胺基酸之翻譯後切割。因此，由宿主細胞藉由表現編碼全長重鏈的特定核酸分子而產生的抗體可包括全長重鏈，或者可包括全長重鏈的切割變異體 (在本文中也稱為「切割變異體重鏈」)。重鏈的最後兩個 C 端胺基酸為甘胺酸 (G446) 及離胺酸 (K447，根據 Kabat EU 指數編號)。因此，可以存在或可以不存在 Fc 區域之 C 端離胺酸 (Lys447) 或 C 端甘胺酸 (Gly446) 及離胺酸 (K447)。除非另有說明，否則包括 Fc 域 (或本文定義的 Fc 域的次單元) 之重鏈之胺基酸序列在本文中表示不含 C 端甘胺酸-離胺酸二肽。在本發明之一個實施例中，根據本發明

之抗體或雙特異性抗體所含之重鏈 (包含本文所指定之 Fc 域之次單元) 包含額外之 C 端甘胺酸-離胺酸二肽 (G446 及 K447，根據 Kabat EU 指數編號)。在本發明之一個實施例中，根據本發明之抗體或雙特異性抗體所含之重鏈 (包含本文所指定之 Fc 域之次單元) 包含額外之 C 端甘胺酸殘基 (G446，根據 Kabat EU 指數編號)。本發明之組成物，例如本文所述之醫藥組成物，其包含本發明之抗體或雙特異性抗體之群體。該抗體或雙特異性抗體之群體可包含具有全長重鏈之分子及具有切割變異體重鏈之分子。該抗體或雙特異性抗體之群體可由具有全長重鏈之分子及具有切割變異體重鏈之分子之混合物組成，其中，抗體或雙特異性抗原結合分子之至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80% 或至少 90% 具有切割變異體重鏈。在本發明之一個實施例中，包含本發明之抗體或雙特異性抗體之群體的組成物包含含有重鏈之抗體或雙特異性抗體，該重鏈包括本文指定之 Fc 域之次單元及額外之 C 端甘胺酸-離胺酸二肽 (G446 及 K447，根據 Kabat EU 指數編號)。在本發明之一個實施例中，包含本發明之抗體或雙特異性抗體之群體的組成物包含含有重鏈的抗體或雙特異性抗體之群體，該重鏈包括本文指定之 Fc 域之次單元及額外之 C 端甘胺酸殘基 (G446，根據 Kabat EU 指數編號)。在本發明之一個實施例中，此等組成物包含抗體或雙特異性抗體之群體，該抗體或雙特異性抗體之群體由以下分子組成：包含包括本文所指定之 Fc 域之次單元的重鏈之分子；包含包括本文所指定之 Fc 域之次單元及額外的 C 端甘胺酸殘基 (G446，根據 Kabat EU 指數編號)的重鏈之分子；以及包含包括本文所指定之 Fc 域之次單元及額外之 C 端甘胺酸-離胺酸二肽 (G446 和 K447，根據 Kabat EU 指數編號)的重鏈之分子。除非本文另有說明，否則 Fc 區域或恆定區中胺基酸殘基之編號「根據 EU 編號系統」進行，亦稱為「根據 Kabat 之 EU 指數編號」或「Kabat EU 編號」，如 Kabat 等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，Public Health Service, National

Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991 中所述 (另見上文)。如本文中所使用的 Fc 域之「次單元」，是指形成二聚體 Fc 域之兩個多肽之一，即包含能夠穩定自締合之免疫球蛋白重鏈之 C 端恆定區之多肽。例如，IgG Fc 域之次單元包含 IgG CH2 及 IgG CH3 恆定域。

【0078】「框架 (framework)」或「FR」係指除高度可變區 (hypervariable region) (HVR) 殘基之外的可變域殘基。可變域之 FR 通常由四個 FR 域組成：FR1、FR2、FR3 及 FR4。因此，HVR 及 FR 序列通常以如下順序出現在 VH (或 VL) 中：FR-H1(L1)-CDR-H1(L1)-FR-H2(L2)-CDR-H2(L2)-FR-H3(L3)-CDR-H3(L3)-FR-H4(L4)。

【0079】術語「全長抗體」、「完整抗體」及「全抗體」在本文中可互換使用，係指具有與天然抗體結構實質上類似的結構或具有包含本文所定義之 Fc 區域的重鏈之抗體。

【0080】「人類抗體 (human antibody)」為具有胺基酸序列之抗體，該胺基酸序列對應於由人類或人類細胞產生或自利用人類抗體譜系 (antibody repertoire) 或其他人類抗體編碼序列之非人類來源衍生之抗體之胺基酸序列。人類抗體的該定義特定地排除包含非人類抗原結合殘基之人源化抗體。

【0081】「人類共有框架」是代表一系列人類免疫球蛋白 VL 或 VH 框架序列中最常見的胺基酸殘基的框架。通常，系列人類免疫球蛋白 VL 或 VH 序列來源於可變域序列的亞組。一般而言，序列的亞群是如 Kabat，E.A.等人，Sequences of Proteins of Immunological Interest，第 5 版，Bethesda MD (1991), NIH Publication 91-3242, Vols. 1-3.中的亞群。在一個實施例中，對於 VL，亞群是如 Kabat 等人*在上述文獻中*所述之亞群 κ I。在一個實施例中，對於 VH，亞群是如 Kabat 等人在上述文獻中所述之亞群 III。

【0082】「人源化 (humanized)」抗體係指包含來自非人類 HVR 之胺基酸殘基及來自人類 FR 之胺基酸殘基之嵌合抗體。在某些實施例中，人源化抗體將包含實質上所有至少一個，且通常是兩個可變域，其中，所有或實質上所有的 CDR 對應於非人類抗體的那些，且所有或實質上所有的 FR 對應對於人類類抗體的那些。人源化抗體可選地可包含衍生自人類抗體之抗體恆定區之至少一部分。抗體 (例如非人類抗體) 之「人源化形式 (humanized form)」係指已經歷人源化之抗體。

【0083】如本文所使用，術語「互補性決定區」或「CDR」涉及抗體可變域的每個區域，該區域在序列中是個可高度變異的及/或形成結構上定義的環 (「高度可變環」) 及/或包含抗原接觸殘基 (「抗原接觸處」)。一般而言，抗體包含六個 HVR；三個在 VH 中 (CDR-H1、CDR-H2、CDR-H3)，及三個在 VL 中 (CDR-L1、CDR-L2、CDR-L3)。在本文中，例示性 CDR 包括：

(a) 高度可變環存在於胺基酸殘基 26-32 (CDR-L1)、50-52 (CDR-L2)、91-96 (CDR-L3)、26-32 (CDR-H1)、53-55 (CDR-H2) 及 96-101 (CDR-H3) 處 (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987))；

(b) CDR 存在於胺基酸殘基 24-34 (CDR-L1)、50-56 (CDR-L2)、89-97 (CDR-L3)、31-35b (CDR-H1)、50-65 (CDR-H2) 及 95-102 (CDR-H3)處 (Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))；

(c) 抗原接觸存在於胺基酸殘基 27c-36 (CDR-L1)、46-55 (CDR-L2)、89-96 (CDR-L3)、30-35b (CDR-H1)、47-58 (CDR-H2) 及 93-101 (CDR-H3) 處 (MacCallum et al. *J. Mol. Biol.* 262: 732-745 (1996))；及

(d) (a)、(b) 及/或 (c) 之組合，包括 CDR 胺基酸殘基 24-34 (CDR-L1)、50-56 (CDR-L2)、89-97 (vL3)、31-35 (CDR-H1)、50-63 (CDR-H2) 及 95-102 (CDR-H3)。

【0084】 除非另有說明，否則可變域中的 CDR 殘基和其他殘基 (例如 FR 殘基) 根據 Kabat 等人，Kabat 等人，*Sequences of Proteins of Immunological Interest*，第 5 版，Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991) 進行編號。

【0085】 「個體」或「受試者」為哺乳動物。哺乳動物包括但不限於馴養的動物 (例如牛、綿羊、貓、狗和馬)、靈長類動物 (例如人類及非人類靈長類動物諸如猴)、兔以及嚙齒動物 (例如小鼠及大鼠)。在某些實施例，個體或受試者為人類。

【0086】 「經單離之」抗體是從其自然環境的組分中分離出來之抗體。在一些實施例中，將抗體純化至大於 95% 或 99% 純度，藉由 (例如) 電泳 (例如 SDS-PAGE、等電位聚焦 (IEF)、毛細管電泳) 或層析 (例如，離子交換或反相 HPLC) 來測定。關於評估抗體純度之方法的檢閱，參見例如 Flatman, S. 等人，J. Chromatogr. B 848 (2007) 79-87。

【0087】 「單離」核酸係指已經與其天然環境的組分分離的核酸分子。分離的核酸包括通常包含核酸分子之細胞中所含之核酸分子，但是核酸分子存在於染色體外或與自然染色體位置不同之染色體位置。

【0088】 「編碼一種或多種雙特異性抗 CCL2 抗體的單離核酸」涉及編碼抗體重鏈和輕鏈 (或其片段) 的一種或多種核酸分子，包括在單個載體或分離載體中之此類核酸分子，且此類核酸分子存在於宿主細胞中的一個或多個位置。

【0089】如本文所使用，術語「單株抗體」係指獲自實質上同源抗體群體之抗體，即群體中包含的受試者抗體係相同的且/或結合相同表位，但不包括，例如，含有天然生成之突變或產生於單株抗體製劑生產過程中的可能的變異體抗體，此等變異體通常係以少量存在。與通常包括針對不同決定位 (抗原決定基) 之不同抗體之多株抗體製劑相反，單株抗體製劑之每個單株抗體係針對於抗原上的單一決定位。因此，修飾詞「單株」表示抗體之特徵係獲自實質上同質之抗體群體，且不應解釋為需要藉由任何特定方法產生抗體。例如，意欲根據本發明使用的單株抗體可藉由多種技術來製造，包括但不限於融合瘤方法、重組 DNA 方法、噬菌體展示方法、及利用包含全部或部分人類免疫球蛋白基因座之轉殖基因動物之方法，本文描述此等方法及用於製備單株抗體之其他例示性方法。

【0090】「天然抗體」涉及具有不同結構的天然生成之免疫球蛋白分子。例如，Ig 天然 IgG 抗體為約 150,000 道耳頓、由二條相同的輕鏈及二條相同的重鏈經二硫鍵鍵合所構成之異四聚體糖蛋白。從 N 端至 C 端，每條重鏈具有可變區 (VH)，亦稱為可變重鏈域或重鏈可變域，接著係三個恆定域（CH1、CH2 及 CH3）。類似地，從 N 端至 C 端，每條輕鏈具有可變區 (VL)，亦稱為可變輕鏈域或輕鏈可變域，接著係輕鏈恆定 (CL) 域。基於其恆定域之胺基酸序列，抗體之輕鏈可被歸類為兩種類型中的一種，稱為卡帕 (κ) 及蘭姆達 (λ)。

【0091】術語「藥品說明書」用於指涉通常包含在治療性產品的商業包裝中的說明，該說明包含有關使用此等治療性產品的適應症、用法、劑量、給藥途徑、聯合治療、禁忌症和/或警告等資訊。

【0092】相對於參比多肽序列所述之「百分比 (%) 胺基酸殘基同一性」，是指候選序列中胺基酸殘基與參比多肽序列中之胺基酸殘基相同之百分比，在比對序列並引入差異後 (如有必要)，可實現最大的序列同一性百分比，

並且不考慮將任何保守取代作為序列同一性之一部分。為確定胺基酸百分比序列同一性之目的而進行的比對可藉由本領域中技術範圍內之各種方式實現，例如，使用公眾可取得的電腦軟體諸如 BLAST、BLAST-2、ALIGN 或 Megalign (DNASTAR) 軟件。本領域之技術人員可確定用於比對序列之合適參數，包括在所比較之序列全長上實現最大比對所需之任何算法。然而，出於本文的目的，使用序列比較電腦程式 ALIGN-2 產生 % 胺基酸序列同一性值。ALIGN-2 序列比較電腦程式由 Genentech，Inc. 編寫，原始程式碼已與用戶文檔一起存檔於美國版權局，華盛頓特區，20559，並以美國版權註冊號 TXU510087 進行註冊。ALIGN-2 程式可從加利福尼亞南三藩市的 Genentech，Inc. 公眾可取得，亦可以從原始程式碼進行編譯。ALIGN-2 程式應編譯為在 UNIX 作業系統（包括數位 UNIX V4.0D）上使用。所有序列比較參數均由 ALIGN-2 程式設置，並且沒有變化。

【0093】 在使用 ALIGN-2 進行胺基酸序列比較的情況下，既定胺基酸序列 A 對、與、或相對於既定胺基酸序列 B 的 % 胺基酸序列同一性（其可選地表述為既定胺基酸序列 A，其對、與、或相對於既定胺基酸序列 B 具有或包含一定 % 的胺基酸序列同一性）計算如下：

100 乘以分數 X/Y

其中， X 為序列比對程式 ALIGN-2 在 A 與 B 程式比對中評分為同一匹配的胺基酸殘基數，Y 是 B 中胺基酸殘基的總數。應當理解的是，在胺基酸序列 A 的長度不等於胺基酸序列 B 的長度的情況下，A 與 B 的 % 胺基酸序列同一性將不等於 B 與 A 的 % 胺基酸序列同一性。除非另有特別說明，否則如前一段所述，使用 ALIGN-2 電腦程式獲得本文使用的所有 % 胺基酸序列同一性值。

【0094】術語「醫藥調配物」係指一種製劑，其形式為允許其中所含之活性成分的生物活性有效，並且不包含對調配物將投予之受試者具有不可接受之毒性的其他組分。

【0095】「醫藥上可接受之載體」係指醫藥調配物中除對受試者無毒之活性成分以外的成分。醫藥上可接受之載體包括但不限於緩沖劑、賦形劑、穩定劑或防腐劑。

【0096】如本文中所使用的「治療 (treatment)」（及其語法變體，諸如「治療 (treat)」或「治療 (treating)」），係指試圖改變受治療受試者之疾病自然病程的臨床干預，並且可進行預防或在臨床病理過程中執行。期望之治療效果包括但不限於預防疾病之發生或複發、減輕症狀、減輕疾病之任何直接或間接病理後果、預防轉移、降低疾病進展之速度、改善或減輕疾病狀態、緩解或改善預後。在一些實施例中，本發明之抗體用於延遲疾病之發展或減慢疾病之進展。

【0097】術語「可變區 (variable region)」或「可變域 (variable domain)」係指參與抗體與抗原結合的抗體重鏈或輕鏈之域。天然抗體之重鏈及輕鏈 (分別為 VH 及 VL) 之可變域通常具有類似的結構，且每個域均包含四個保守性框架區 (FR) 及三個高度可變區 (HVR)。(參見例如 Kindt, T.J. et al. Kuby Immunology，第 6 版，W.H. Freeman and Co., N.Y.(2007), page 91)。單個 VH 或 VL 域可足以賦予抗原結合特異性。此外，可以使用 VH 或 VL 域從結合抗原的抗體中分離結合特定抗原的抗體，以分別篩選互補 VL 或 VH 域的文庫。參見例如 Portolano, S. 等人，J. Immunol. 150 (1993) 880-887; Clackson, T. et al.,Nature 352 (1991) 624-628)。

【0098】如本文所使用，術語「載體」係指能夠繁殖與其連接的另一核酸的核酸分子。該術語包括作為自我複制核酸結構之載體以及摻入已引入該宿

主細胞的基因組中的載體。某些載體能夠指導與其可操作地連接的核酸的表現。此類載體在本文中稱為「表現載體」。

【0099】 **I. 組成物及方法**

【0100】 一方面，本發明部分基於以下發現：本文所述之雙特異性抗體使用不同抗 CCL2 抗原結合位點作為第一和第二抗原結合位點/部分。這些抗 CCL2 抗體以高特異性結合 CCL2 的某些表位，並具有特異性抑制 CCL2 與其受體 CCR2 結合的能力。與單特異性抗體相比，它們顯示出改善的免疫複合物形成，並在活體內具有改善的 CCL2 消除。

【0101】 **雙特異性抗 CCL2 抗體**

【0102】 雙特異性抗體

【0103】 本文所述雙特異性抗體是對 CCL2 上至少兩個不同表位具有結合特異性的單株抗體。

【0104】 用於製備多特異性及雙特異性抗體之技術包括，但不限於，重組共表現兩個具有不同特異性之免疫球蛋白重鏈-輕鏈對 (參見 Milstein and Cuello, *Nature* 305: 537 (1983)) and 「knob-in-hole」 engineering (參見例如美國專利號 5,731,168, and Atwell 等人，J. Mol. Biol. 270:26 (1997))。多特異性抗體亦可藉由以下方法進行製備：用於製備抗體 Fc-異二聚體分子的工程化靜電轉向效應 (參見例如 WO 2009/089004)；交聯兩個或更多個抗體或片段 (參見例如美國專利號 4,676,980；及 Brennan 等人，Science, 229: 81 (1985)); using leucine zippers to produce bi-specific antibodies (see, e.g., Kostelny 等人，*J. Immunol.*, 148(5):1547-1553 (1992) 及 WO 2011/034605)；使用常用輕鏈技術規避輕鏈錯配問題 (參見例如 WO 98/50431)；使用「雙抗體」技術製備雙特異性抗體片段 (參見例如，Hollinger 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90:6444-6448 (1993)); 及使用單鏈 Fv (sFv) 二聚體 (參見例如，Gruber 等人，*J. Immunol.*, 152:5368

(1994))；及製備三特異性抗體，例 Tutt et al. *J. Immunol.* 147: 60 (1991) 中所述之方法。

【0105】 本文還包括具有三個或更多個抗原結合位點之工程化抗體，包括例如「章魚抗體」(Octopus antibodies) 或 DVD-Ig (參見例如 WO 2001/77342 及 WO 2008/024715)。具有三個或更多個抗原結合位點之多特異性抗體的其他實例可參見 WO 2010/115589、WO 2010/112193、WO 2010/136172、WO 2010/145792 及 WO 2013/026831 中。雙特異性抗體或其抗原結合片段還包括「雙重作用 FAb」或「DAF」，其包含與 CCL2 以及另一種不同抗原或 CCL2 的兩個不同抗原決定基結合之抗原結合位點 (參見例如 US 2008/0069820 及 WO 2015/095539)。

【0106】 多特異性抗體亦可提供為不對稱形式，其包含在一個或多個具有相同抗原特異性之結合臂中交叉的域，即藉由交換 VH/VL 域 (參見例如 WO 2009/080252 及 WO 2015/150447)、CH1/CL 域 (參見例如 WO 2009/080253) 或完整的 Fab 臂 (參見例如 WO 2009/080251、WO 2016/016299，另見 Schaefer 等人，PNAS，108 (2011) 1187-1191，及 Klein 等人，MAbs 8 (2016) 1010-20)，亦稱為 CrossMabs。亦可藉由將帶電荷或不帶電荷之胺基酸突變引入域界面引導正確 Fab 配對，從而工程化不對稱之 Fab 臂。參見例如 WO 2016/172485。

【0107】 用於多特異性抗體之各種其他分子形式為本技術領域中已知的並且包括在本文中 (參見例如 Spiess 等人，Mol Immunol 67 (2015) 95-106)。

【0108】 較佳之雙特異性抗體形式。

【0109】 根據本發明特定實施例，本文所述之雙特異性抗體包含在一個或多個具有相同抗原特異性之結合臂中交叉的域，即藉由交換 VH/VL 域 (參見例如 WO 2009/080252 及 WO 2015/150447)、CH1/CL 域 (參見例如 WO 2009/080253) 或完整的 Fab 臂 (參見例如 WO 2009/080251、WO 2016/016299，

另見 Schaefer 等人，PNAS, 108 (2011) 1187-1191, 及 Klein at al., MAbs 8 (2016) 1010-20)。

【0110】 此類雙特異性抗體中的電荷修飾，尤其是那些具有 VH/VL 域交換的雙特異性抗體 (參見 WO 2015/150447)：本發明之雙特異性抗體可在其中，所包含之 Fab 分子中包含胺基酸取代，其特別有效地減少輕鏈與不匹配重鏈的錯配 (Bence-Jones 型副產物)，該錯配可能發生在基於 Fab 之雙/多特異性抗原結合分子的製備中，其中，在其結合臂之一個 (或多個，如果分子包含兩個以上之抗原結合 Fab 分子) 中發生 VH/VL 交換 (另見 PCT 公開號 WO 2015/150447，特別是其中，的實施例，其藉由引用將其全部內容併入本文)。所需的雙特異性抗體與不希望的副產物的比率，特別是在其結合臂之一中具有 VH/VL 域交換之雙特異性抗體中發生的 Bence Jones 型副產物，可藉由在 CH1 和 CL 域中之特定胺基酸位置引入帶有相反電荷之帶電荷胺基酸來改善 (有時在本文中稱為「電荷修飾」)。

【0111】 因此，在一些實施例中，其中，雙特異性抗體之第一及第二抗原結合部分均為 Fab 分子，且在抗原結合部分之一 (特別是第二抗原結合部分) 中，Fab 輕鏈及 Fab 重鏈之可變域 VL 和 VH 彼此相互取代，

i) 在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被帶正電荷之胺基酸 (根據 Kabat 編號) 取代，且其中，在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被帶負電荷之胺基酸 (根據 Kabat EU 指數編號) 取代；或

ii) 在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被帶正電荷之胺基酸 (根據 Kabat 編號) 取代，且其中，在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被帶負電荷之胺基酸 (根據 Kabat EU 指數編號) 取代。

【0112】 雙特異性抗體不包含在 i) 及 ii) 情況下所述之修飾。具有 VH/VL 交換之抗原結合部分之恆定域 CL 和 CH1 未彼此取代 (即保留未交換狀態)。

【0113】 在一個更具體之實施例中，

i) 在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代；或

ii) 在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0114】 在一個此等實施例中，在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0115】 在另一個實施例中，在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0116】 在一個特定實施例中，在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，且位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基

酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0117】 在一個更特定之實施例中，在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，並且在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代。

【0118】 在一個甚至更特定的實施例中，在第一抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 的胺基酸被精胺酸 (R) (根據 Kabat 編號) 取代，並且在第一抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代。

【0119】 在特定實施例中，如果根據上述實施例之胺基酸取代發生在第一抗原結合部分之恆定域 CL 及恆定域 CH1 中，則第一抗原結合部分之恆定域 CL 為 κ 同種型。

【0120】 可替代地，根據上述實施例之胺基酸取代可發生在第二抗原結合部分之恆定域 CL 及恆定域 CH1 中，而不是第一抗原結合部分之恆定域 CL 及恆定域 CH1 中。特別是，此等實施例，第二抗原結合部分之恆定域 CL 為 κ 同型。

【0121】 因此，在一個實施例中，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸或位置

213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0122】 在另一個實施例中，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或 組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0123】 在另一個實施例中，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，且位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K)、精胺酸 (R) 或組胺酸 (H) (根據 Kabat 編號) 獨立取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D) (根據 Kabat EU 指數編號) 獨立取代。

【0124】 在一個實施例中，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代。

【0125】 在另一個實施例中，在第二抗原結合部分之恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) (根據 Kabat 編號) 取代，且位置 123 的胺基酸被精胺酸 (R) (根據 Kabat 編號) 取代，並且在第二抗原結合部分之恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代，且位置 213 的胺基酸被麩胺酸 (E) (根據 Kabat EU 指數編號) 取代。

【0126】 為了改善這些不對稱 (異二聚體) 蛋白質的 Fc 域的異源二聚化作用，在根據本發明這些方面的一實施例中，在 Fc 域之第一次單元中，位置 366 的蘇胺酸殘基被色胺酸殘基取代 (T366W)，並且在 Fc 域之第二次單元中，位置 407 的酪胺酸殘基被纈胺酸殘基取代 (Y407V)，並且可選地，位置 366 的蘇胺酸殘基被絲胺酸殘基取代 (T366S)，並且位置 368 的白胺酸殘基被丙胺酸殘基取代 (L368A) (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0127】 在根據本發明這些方面的另一實施例中，在 Fc 域的第一次單元中，位置 354 的絲胺酸殘基又被胱胺酸殘基取代 (S354C) 或位置 356 的麩胺酸殘基被胱胺酸殘基取代 (E356C) (特別是位置 354 的絲胺酸殘基被胱胺酸殘基取代)，並且在 Fc 域之第二次單元中，位置 349 的酪胺酸殘基又被胱胺酸殘基取代 (Y349C) (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0128】 可替代的異源二聚化技術在以下的「Fc 域」之情況下描述，且亦被認為是本發明的其他實施例。

【0129】 在根據本發明這些方面的另一實施例中，Fc 域為人類 IgG_1 Fc 域。

【0130】 **Fc 域及修飾**

【0131】 在特定實施例中，本發明之雙特異性抗體包含由第一次單元及第二次單元所構成之 Fc 域。應當理解，本文所述相對於雙特異性抗體之 Fc 域的特徵可等同應用於本發明之抗體中所構成之 Fc 域。

【0132】 雙特異性抗體之 Fc 域由包含免疫球蛋白分子之重鏈域的一對多肽鏈組成。例如，免疫球蛋白 G (IgG) 分子之 Fc 域為二聚體，其每個次單元包含 CH2 及 CH3 IgG 重鏈恆定域。Fc 域之兩個次單元能夠彼此穩定締合。在一個實施例中，本發明之雙特異性抗體包含不超過一個 Fc 域。

【0133】在一個實施例中，雙特異性抗體之 Fc 域為 IgG Fc 域。在一個特定實施例中，Fc 域為 IgG_1 Fc 域。在另一個實施例中，Fc 域為 IgG_4 Fc 域。在更具體之實施例中，Fc 域為 IgG_4 Fc 域，其包含在位置 S228 (根據 Kabat EU 索引編號) 的胺基酸取代，特別是胺基酸取代 S228P。該胺基酸取代減少體內 IgG_4 抗體之 Fab 臂交換 (參見 Stubenrauch 等人，Drug Metabolism and Disposition 38，84-91 (2010))。在另一個特定實施例中，Fc 域為人類 Fc 域。在一個甚至更特定的實施例中，Fc 域為人類 IgG_1 Fc 域。

【0134】IgG 同型的 Fc 域之特徵在於具有各種特性，例如基於它們與 Fc γ 受體或新生兒 Fc 受體 (FcRn) 的相互作用 (參見，例如見於 Vidarsson et al.; Front Immunol 5 (2014) Article 520, 1-17)。

【0135】**促進異源二聚化的 Fc 域修飾**

【0136】根據本發明之雙特異性抗體包含不同的抗原結合部分，其可與 Fc 域之兩個次單元中的一個或另一個融合，因此 Fc 域之兩個次單元通常包含在兩個不同的多肽鏈中。這些多肽的重組共表達及隨後的二聚化導致兩種多肽具有若干可能的組合。為改善重組生產中雙特異性抗體之產率和純度，在雙特異性抗體之 Fc 域中引入促進所需之多肽締合的修飾將為有利的。

【0137】因此，在特定實施例中，根據本發明之雙特異性抗體的 Fc 域包含促進 Fc 域之第一及第二次單元之締合的修飾。人類 IgG Fc 域之兩個次單元之間最廣泛的蛋白質-蛋白質相互作用位點在 Fc 域之 CH3 域中。因此，在一個實施例中，所述修飾在 Fc 域之 CH3 域中。

【0138】存在多種對 Fc 域之 CH3 域進行修飾以便增強異源二聚化之方法，這些方法很好地描述於例如 WO 96/27011、WO 98/050431、EP 1870459、WO 2007/110205、WO 2007/147901、WO 2009/089004、WO 2010/129304、WO 2011/90754、WO 2011/143545、WO 2012058768、WO 2013157954、WO

2013096291 中。通常，在所有此等方法中，Fc 域之第一個單元的 CH3 域及 Fc 域之第二次單元的 CH3 域均以互補的方式進行工程化，以使每個 CH3 域 (或包含 CH3 域的重鏈) 不再能夠與自身發生同源二聚化，而是被迫與互補工程化之其他 CH3 域進行異源二聚化 (使得第一 CH3 域及第二 CH3 域異源二聚化，並且在兩個第一 CH3 域或兩個第二 CH3 域之間不形成同源二聚體)。這些用於改善重鏈異源二聚化的不同方法被視為與雙特異性抗體中重鏈-輕鏈修飾結合的不同選擇 (例如，一個結合臂中之 VH 和 VL 交換/置換，以及在 CH1/CL 界面中引入帶有相反電荷的胺基酸的取代)，其減少了重鏈/輕鏈錯配及 Bence Jones 型副產物。

【0139】 在一個具體實施例中，所述促進 Fc 域之第一次單元及第二次單元的締合的修飾為所謂的「杵臼」修飾，其包括在 Fc 域之兩個次單元中的一個的「杵」修飾及 Fc 域之兩個次單元中的另一個的「臼」修飾。

【0140】 「杵臼」技術描述於例如：US 5,731,168；US 7,695,936；Ridgway 等人，Prot Eng 9，617-621 (1996)；及 Carter，J Immunol Meth 248，7-15 (2001)。通常，該方法包括在第一多肽之界面處引入一個突起 (「杵」)，並且在第二多肽之界面中引入一個對應的空腔 (「臼」)，以使該突起可定位於空腔中，從而促進異源二聚體形成並阻礙同源二聚體形成。藉由用較大側鏈 (例如酪胺酸或色胺酸) 替換第一多肽界面上之較小的胺基酸側鏈來構建突起。藉由將較大胺基酸側鏈替換為較小的胺基酸側鏈 (例如丙胺酸或絲胺酸)，在第二多肽之界面中形成與突起具有相同或相近大小的互補空腔。

【0141】 因此，在特定實施例中，在雙特異性抗體之 Fc 域的第一次單元的 CH3 域中，胺基酸殘基被具有較大側鏈體積的胺基酸殘基取代，從而在第一次單元之 CH3 域內產生突起，該突起可定位在第二次單元之 CH3 域內的空腔中，並且在 Fc 域的第二次單元的 CH3 域中，胺基酸殘基被具有較小側鏈體積

的胺基酸殘基取代，從而在第二次單元之 CH3 域內產生空腔，第二次單元之 CH3 域內的突起為可定位在該空腔內。

【0142】 較佳地，所述具有較大側鏈體積的胺基酸殘基選自由以下各項所組成之群組：精胺酸 (R)、苯丙胺酸 (F)、酪胺酸 (Y) 和色胺酸 (W)。

【0143】 較佳地，所述具有較小側鏈體積的胺基酸殘基選自由以下各項所組成之群組：丙胺酸 (A)、絲胺酸 (S)、蘇胺酸 (T) 和纈胺酸 (V)。

【0144】 可藉由改變編碼多肽的核酸 (例如藉由針對特定位點之誘變或藉由肽合成) 來製備突起和空腔。

【0145】 在一個具體實施例中，在 Fc 域之第一次單元 (「杵」次單元) (的 CH3 域) 中，位置 366 的蘇胺酸殘基被色胺酸殘基取代 (T366W)，並且在 Fc 域之第二次單元 (「臼」次單元) (的 CH3 域) 中，位置 407 的酪胺酸殘基被纈胺酸殘基取代 (Y407V)。在一個實施例中，在 Fc 域之第二次單元中，位置 366 的蘇胺酸殘基又被絲胺酸殘基取代 (T366S)，並且位置 368 的白胺酸殘基被丙胺酸殘基取代 (L368A) (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0146】 在又一個實施例中，在 Fc 域之第一次單元中，位置 354 的絲胺酸殘基又被胱胺酸殘基取代 (S354C) 或位置 356 的麩胺酸殘基被胱胺酸殘基取代 (E356C) (特別是位置 354 的絲胺酸殘基被胱胺酸殘基取代)，並且在 Fc 域之第二次單元中，位置 349 的酪胺酸殘基又被胱胺酸殘基取代 (Y349C) (根據 Kabat EU 指數編號)。引入這兩個胱胺酸殘基導致在 Fc 域之兩個次單元之間形成二硫鍵，從而進一步穩定二聚體 (Carter，J Immunol Methods 248，7-15 (2001))。

【0147】 在一個特定實施例中，Fc 域之第一次單元包含胺基酸取代 S354C 和 T366W，並且 Fc 域之第二次單元包含胺基酸取代 Y349C、T366S、L368A 和 Y407V (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0148】在特定實施例中，與第二抗原結合之抗原結合部分與 Fc 域之第一次單元 (包含「杵狀物 (knob)」修飾) 融合 (可選地，藉由與 CCL2 及/或肽連接子結合者)。不希望被理論束縛，與第二抗原 (諸如活化 T 細胞抗原) 結合之抗原結合部分與 Fc 域之含杵狀物次單元的融合將 (進一步) 最最小化包含兩個與活化 T 細胞抗原結合之抗原結合部分的生成 (兩個含杵狀物之多肽的空間碰撞)。

【0149】可以設想將用於強制異源二聚化的 CH3 修飾的其他技術作為本發明之替代方案，並且這些技術描述於例如 WO 96/27011、WO 98/050431、EP 1870459、WO 2007/110205、WO 2007/147901、WO 2009/089004、WO 2010/129304、WO 2011/90754、WO 2011/143545、WO 2012/058768、WO 2013/157954、WO 2013/096291 中。

【0150】在一個實施例中，可替換使用 EP 1870459 中所述之異源二聚化方法。該方法基於在 Fc 域之兩個次單元之間的 CH3/CH3 域界面的特定胺基酸位置引入帶有相反電荷的胺基酸。本發明之雙特異性抗體的一個較佳實施例為 (Fc 域的) 兩個 CH3 域之一個中的胺基酸突變 R409D 和 K370E；及 Fc 域的兩個 CH3 域之另一個中的胺基酸突變 D399K 和 E357K (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0151】在另一個實施例中，本發明之雙特異性抗體包含 Fc 域之第一次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 T366W 和 Fc 域之第二次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 T366S、L368A、Y407V，以及 Fc 域之第一次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 R409D、K370E 和 Fc 域之第二次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 D399K、E357K (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0152】在另一個實施例中，本發明之雙特異性抗體包含 Fc 域之第一次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 S354C、T366W 和 Fc 域之第二次單元的 CH3

域中的胺基酸突變 Y349C、T366S、L368A、Y407V，或者所述雙特異性抗體包含 Fc 域之第一次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 Y349C、T366W 和 Fc 域之第二次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 S354C、T366S、L368A、Y407V，以及 Fc 域之第一次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 R409D、K370E 和 Fc 域之第二次單元的 CH3 域中的胺基酸突變 D399K、E357K (全部根據 Kabat EU 指數編號)。

【0153】 在一個實施例中，可替換使用 WO 2013/157953 中所述之異源二聚化方法。在一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 T366K，並且第二 CH3 域包含胺基酸突變 L351D (根據 Kabat EU 指數編號)。在另一個實施例中，第一 CH3 域進一步包含胺基酸突變 L351K。在另一個實施例中，第二 CH3 域進一步包含選自 Y349E、Y349D 和 L368E (較佳的是 L368E) (根據 Kabat EU 指數編號) 的胺基酸突變。

【0154】 在一個實施例中，可替換使用 WO 2012/058768 中所述之異源二聚化方法。在一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 L351Y、Y407A，並且第二 CH3 域包含胺基酸突變 T366A、K409F。在另一個實施例中，第二 CH3 域進一步包含位置 T411、D399、S400、F405、N390 或 K392 的胺基酸突變，所述位置選自例如：a) T411N、T411R、T411Q、T411K、T411D、T411E 或 T411W；b) D399R、D399W、D399Y 或 D399K；c) S400E、S400D、S400R 或 S400K；d) F405I、F405M、F405T、F405S、F405V 或 F405W；e) N390R、N390K 或 N390D；f) K392V、K392M、K392R、K392L、K392F 或 K392E (根據 Kabat EU 指數編號)。在另一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 L351Y、Y407A，並且第二 CH3 域包含胺基酸突變 T366V、K409F。在另一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 Y407A，並且第二 CH3 域包含胺基酸

突變 T366A、K409F。在另一個實施例中，第二 CH3 域進一步包含胺基酸突變 K392E、T411E、D399R 和 S400R (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0155】 在一個實施例中，可替換使用 WO 2011/143545 中所述之異源二聚化方法，例如，在選自由 368 和 409 (根據 Kabat EU 指數編號) 所組成之群組的位置處進行胺基酸修飾。

【0156】 在一個實施例中，可替換使用 WO 2011/090762 中所述之異源二聚化方法，該方法同樣使用上述之「杵臼」技術。在一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 T366W，並且第二 CH3 域包含胺基酸突變 Y407A。在一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 T366Y，並且第二 CH3 域包含胺基酸突變 Y407T (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0157】 在一個實施例中，雙特異性抗體或其 Fc 域屬於 IgG_2 亞類，並且可替代地使用 WO 2010/129304 中所述之異源二聚化方法。

【0158】 在一個替代實施例中，促進 Fc 域之第一次單元及第二次單元的締合的修飾包括介導靜電轉向作用的修飾，例如 PCT 公開 WO 2009/089004 中所述。通常，此方法涉及用帶電荷的胺基酸殘基取代兩個 Fc 域次單元界面上的一個或多個胺基酸殘基，從而使同源二聚體形成在靜電上不利，但異源二聚化在靜電上有利。在一個此等實施例中，第一 CH3 域包含帶負電荷之胺基酸 (例如麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)，較佳的是 K392D 或 N392D) 對 K392 和 N392 之胺基酸取代，並且第二 CH3 域包含帶正電荷之胺基酸 (例如離胺酸 (K) 或精胺酸 (R)，較佳的是 D399K、E356K、D356K 或 E357K 且更佳的是 D399K 和 E356K) 對 D399、E356、D356 或 E357 之胺基酸取代。在另一個實施例中，第一 CH3 域進一步包含帶負電荷之胺基酸 (例如麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)，更佳的是 K409D 或 R409D) 對 K409 或 R409 之胺基酸取代。在另一個實施例中，

第一 CH3 域進一步或可替代地包含帶負電荷之胺基酸 (例如麩胺酸 (E) 或天冬胺酸 (D)) 對 K439 和/或 K370 之胺基酸取代 (全部根據 Kabat EU 指數編號)。

【0159】 在又一個實施例中，可替代地使用 WO 2007/147901 中所述之異源二聚化方法。在一個實施例中，第一 CH3 域包含胺基酸突變 K253E、D282K 和 K322D，並且第二 CH3 域包含胺基酸突變 D239K、E240K 和 K292D (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0160】 在另一個實施例中，可替代地使用 WO 2007/110205 中所述之異源二聚化方法。

【0161】 在一個實施例中，Fc 域之第一次單元包含胺基酸取代 K392D 和 K409D，並且 Fc 域之第二次單元包含胺基酸取代 D356K 和 D399K (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0162】 如本文所使用，用於雙特異性抗 CCL2 抗體的術語「野生型 (WT) IgG 或 IgG1」涉及包含 IgG 或 IgG1 恆定重鏈的雙特異性抗體，其可包含上述促進異源二聚化的修飾/突變，但如下所述其不包含增加或減少 Fc 受體結合及/或效應子功能的進一步 Fc 域修飾/突變。

【0163】 **增加或減少 Fc 受體結合及/或效應子功能的 Fc 域修飾/突變**

【0164】 藉由掃除技術修飾雙特異性抗 CCL2 抗體

【0165】 使用掃除技術修飾雙特異性抗 CCL2 抗體，以使雙特異性抗 CCL2 抗體能夠在更長的時間內消除游離的 CCl2，從而在活體內能夠產生持續的生物效應，例如抗癌功效。

【0166】 掃除概念敘述於 Igawa 等人，Immunological Reviews 270 (2016) 132–151、WO2012/122011、WO2016/098357 及 WO2013/081143，其等藉由引用併入本文。

【0167】本發明提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法，其藉由將上述抗體在酸性 pH 範圍內的抗原結合活性 (結合能力) 降低至小於其在中性 pH 範圍內的抗原結合活性；此促進抗原攝取進入細胞。本發明亦提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法，其基於改變上述抗體的抗原結合域中的至少一個胺基酸，以促進抗原攝取進入細胞。本發明亦提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法，其基於以組胺酸取代至少一個胺基酸或將至少一個組胺酸插入上述抗體的抗原結合域中，以促進抗原攝取進入細胞。

【0168】此處，經抗體介導的「抗原攝取進入細胞」意指藉由胞吞作用將抗原攝入細胞中。同時，本文中，「促進攝取進入細胞」意指血漿中與抗原結合之抗體的細胞內攝取速率增加，及/或攝取的抗原向血漿的再循環量減少。這意味著，與在中性 pH 範圍內增加抗體之人類 FcRn 結合活性之前的抗體相比，或與在酸性 pH 範圍內增加人類 FcRn 結合活性並將抗體的抗原結合活性 (結合能力) 降低至小於其在中性 pH 範圍內的抗原結合活性之前的抗體相比，攝取進入細胞的速率被促進。與完整的人類 IgG 相比，且更佳地與完整的人類 IgG 相比，該速率較佳地提高。因此，在本發明中，可基於抗原攝取進入細胞的速率增加來評估抗體是否促進抗原攝取進入細胞。抗原攝取進入細胞的速率可例如藉由以下方式來計算：在將抗原和抗體添加至培養基後，隨時間監測含有人類 FcRn 表現細胞的培養基中抗原濃度的降低，或者隨時間監測攝入人類 FcRn 表現細胞中的抗原的含量。使用本發明的方法來促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的速率，例如，可藉由投予抗體來提高從血漿中消除抗原的速率。因此，還可例如藉由測試是否經由投予抗體來加速從血漿中去除抗原的速率或者是否降低血漿中的總抗原濃度來評估經抗體介導的抗原攝取進入細胞是否被促進。

【0169】本文中，「血漿中總抗原濃度」意指抗體結合抗原與抗體未結合抗原濃度之和，或「血漿中游離抗原濃度」，即抗體未結合抗原濃度。測量「血漿中總抗原濃度」或「血漿中游離抗原濃度」的各種方法是本領域眾所周知的，如下所述。

【0170】如本文所使用，「完整人類 IgG」(或「野生型 (WT) 人類 IgG」) 意指未經修飾的人類 IgG (關於上述異源二聚化的潛在修飾除外)，並且不限於特定種類的 IgG。此意味著人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 可用作「完整人類 IgG」，只要它可在酸性 pH 範圍內結合人類 FcRn 即可。較佳地，「完整人類 IgG」可為人類 IgG1。

【0171】本發明亦提供增加單一抗體可結合的抗原數量的方法。更具體地，本發明提供增加單一抗體可結合的抗原數量的方法，在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的該單一抗體可以結合該抗原，該方法藉由增加在中性 pH 範圍內的抗體的人類 FcRn 結合活性。本發明亦提供增加單一抗體可結合的抗原數量的方法，在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的該單一抗體可以結合該抗原，該方法藉由改變抗體的人類 FcRn 結合域中的至少一個胺基酸。

【0172】本發明提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法。更具體地，本發明提供藉由在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體來促進抗原攝取進入細胞的方法，其基於在中性 pH 範圍內增加抗體的人類 FcRn 結合活性。本發明亦提供藉由在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體來改善抗原攝取進入細胞的方法，其基於改變抗體的人類 FcRn 結合域中的至少一個胺基酸。

【0173】本發明亦提供藉由在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體來促進抗原攝取進入細胞的方法，其基於使用包含胺基酸序列的人類 FcRn 結合域，該胺基酸序列以不同胺基酸取代選自包含親本 IgG 的 Fc 域的人類

FcRn 結合域的親本 IgG Fc 域中的下列位置的至少一個胺基酸：位置 237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434 和 436 (EU 編號)。

【0174】 本發明亦提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法，其藉由將上述抗體在酸性 pH 範圍內的抗原結合活性 (結合能力) 降低至小於其在中性 pH 範圍內的抗原結合活性；此促進抗原攝取進入細胞。本發明亦提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法，其基於改變上述抗體的抗原結合域中的至少一個胺基酸，以促進抗原攝取進入細胞。本發明亦提供促進經抗體介導的抗原攝取進入細胞的方法，其基於以組胺酸取代至少一個胺基酸或將至少一個組胺酸插入上述抗體的抗原結合域中，以促進抗原攝取進入細胞。

【0175】 此處，經抗體介導的「抗原攝取進入細胞」意指藉由胞吞作用將抗原攝入細胞中。同時，本文中，「促進攝取進入細胞」意指血漿中與抗原結合之抗體的細胞內攝取速率增加，及/或攝取的抗原向血漿的再循環量減少。這意味著，與在中性 pH 範圍內增加抗體之人類 FcRn 結合活性之前的抗體相比，或與在酸性 pH 範圍內增加人類 FcRn 結合活性並將抗體的抗原結合活性 (結合能力) 降低至小於其在中性 pH 範圍內的抗原結合活性之前的抗體相比，攝取進入細胞的速率被促進。與完整的人類 IgG 相比，且更佳地與完整的人類 IgG 相比，該速率較佳地提高。因此，在本發明中，可基於抗原攝取進入細胞的速率增加來評估抗體是否促進抗原攝取進入細胞。抗原攝取進入細胞的速率可例如藉由以下方式來計算：在將抗原和抗體添加至培養基後，隨時間監測含有人類 FcRn 表現細胞的培養基中抗原濃度的降低，或者隨時間監測攝入人類 FcRn 表現細胞中的抗原的含量。使用本發明的方法來促進經抗體介導的抗原攝

取進入細胞的速率，例如，可藉由投予抗體來提高從血漿中消除抗原的速率。因此，還可例如藉由測試是否經由投予抗體來加速從血漿中去除抗原的速率或者是否降低血漿中的總抗原濃度來評估經抗體介導的抗原攝取進入細胞是否被促進。

【0176】本文中，「血漿中總抗原濃度」意指抗體結合抗原與抗體未結合抗原濃度之和，或「血漿中游離抗原濃度」，即抗體未結合抗原濃度。測量「血漿中總抗原濃度」或「血漿中游離抗原濃度」的各種方法是本領域眾所周知的，如下所述。

【0177】如本文所使用，「完整人類 IgG」(或「野生型 IgG」) 意指未經修飾的人類 IgG (關於上述異源二聚化的潛在修飾除外)，並且不限於特定種類的 IgG。此意味著人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 可用作「完整人類 IgG」，只要它可在酸性 pH 範圍內結合人類 FcRn 即可。較佳地，「完整人類 IgG」可為人類 IgG1。

【0178】如本文所使用，「親本 IgG」意指未經修飾的 IgG，其隨後被修飾以生成變異體，只要親本 IgG 的修飾變異體可在酸性 pH 範圍內與人類 FcRn 結合即可 (因此，親本 IgG 酸性條件下不需要與人類 FcRn 有結合活性)。親本 IgG 可為天然存在的 IgG，或天然存在的 IgG 之變異體或工程化形式。親本 IgG 可指多肽本身、構成該親本多肽的組成物或編碼該親本多肽的胺基酸序列。應注意的是，「親本 IgG」包括如下所述之已知商業、重組產生的 IgG。「親本 IgG」的來源不受限制，且可得自非人類動物或人類的任何生物。較佳地，該生物選自小鼠、大鼠、豚鼠、倉鼠、沙鼠、貓、兔、犬、山羊、綿羊、牛、馬、駱駝和非人類靈長類動物。在另一個實施例中，「親本 IgG」亦可獲自食蟹獼猴、絨猿、恒河猴、黑猩猩或人類。較佳地，「親本 IgG」獲自人類 IgG1，但不限於特定類別的 IgG。這意味著人類 IgG1、IgG2、IgG3 或 IgG4 可

適合用作「親本 IgG」。在類似的方式中，來自上文中任何生物的 IgG 的任何類別或亞類都可較佳地用作「親本 IgG」。天然存在的 IgG 的變異體或工程化形式的實例描述於 Curr Opin Biotechnol. 2009 Dec; 20(6): 685-91, Curr Opin Immunol. 2008 Aug; 20(4): 460-70, Protein Eng Des Sel.2010 Apr; 23(4): 195-202、WO 2009/086320、WO 2008/092117、WO 2007/041635 及 WO 2006/105338，但不限於此。

【0179】 本發明亦提供藉由投予抗體來增加消除血漿抗原的能力的方法。在本發明中，「增加消除血漿抗原的能力的方法」與「提高抗體自血漿中消除抗原的能力的方法」同義。更具體地，本發明提供藉由在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體來增加消除血漿抗原的能力的方法，其藉由在中性 pH 範圍內增加抗體的人類 FcRn 結合活性。本發明亦提供藉由在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體來增加消除血漿抗原的能力的方法，其基於改變抗體的人類 FcRn 結合域中的至少一個胺基酸。

【0180】 本發明亦提供藉由在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體來增加消除血漿抗原的能力的方法，其藉由使用包含至少一個胺基酸取代的胺基酸序列的人類 FcRn 結合域，該至少一個胺基酸選自包含具有不同胺基酸之親本 IgG 的 Fc 域的人類 FcRn 結合域的親本 IgG Fc 域中的下列位置：位置 237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434 和 436 (Eu 編號)。

【0181】 本發明亦提供藉由抗體增加消除血漿抗原的能力的方法，其藉由降低上述抗體在酸性 pH 範圍內的抗原結合活性，該抗體與在中性 pH 範圍內的抗原結合活性相比，具有改善的消除血漿抗原的能力。本發明亦提供藉由

抗體增加消除血漿抗原的能力的方法，其藉由改變上述具有改善的消除血漿抗原的能力的抗體的抗原結合域中的至少一個胺基酸。本發明亦提供藉由投予抗體來增加消除血漿抗原的能力的方法，其藉由組胺酸取代至少一個胺基酸或將至少一個組胺酸插入上述具有改善的消除血漿抗原的能力的抗體的抗原結合域中。

【0182】 在本文中，「消除血漿抗原的能力」意指當活體內投予或分泌抗體時，從血漿中消除抗原的能力。因此，「增加抗體消除血漿抗原的能力」在本文中意指與在中性 pH 範圍內增加抗體的人類 FcRn 結合活性之前，或在增加人類 FcRn 結合活性並同時將其抗原結合活性在酸性 pH 範圍內降低到小於中性 pH 範圍之前，投予抗體後加速從血漿中消除抗原的速度。可以例如藉由在活體內投予可溶性抗原和抗體，並在投予後測量血漿中可溶性抗原的濃度來評估抗體從血漿中消除抗原的活性的增加。當藉由在中性 pH 範圍內增加抗體的人類 FcRn 結合活性，或藉由增加其人類 FcRn 結合活性並同時降低其抗原濃度來降低投予可溶性抗原和抗體後血漿中的可溶性抗原濃度時，在酸性 pH 範圍內的結合活性低於中性 pH 範圍內的結合活性，可以判斷抗體消除血漿抗原的能力增強。可溶性抗原的形式可為抗體結合抗原或抗體未結合抗原，其濃度可分別確定為「血漿中抗體結合抗原濃度」和「血漿中抗體未結合抗原濃度」(後者與「血漿中游離抗原濃度」同義)。由於「血漿中總抗原濃度」意指抗體結合抗原與抗體未結合抗原濃度之和，或「血漿中游離抗原濃度」，即抗體未結合抗原濃度，因此可將可溶性抗原的濃度確定為「血漿中總抗原濃度」。如下所述，用於測量「血漿中總抗原濃度」或「血漿中游離抗原濃度」的各種方法是本領域眾所周知的。

【0183】 本發明亦提供改善抗體藥物動力學的方法。更具體地，本發明提供改善在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體的藥物動力學的方

法，其藉由在中性 pH 範圍內增加抗體的人類 FcRn 結合活性。此外，本發明提供藉由改變抗體的人類 FcRn 結合域中的至少一個胺基酸來改善在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體的藥物動力學的方法。

【0184】 本發明亦提供改善在酸性 pH 範圍內具有人類 FcRn 結合活性的抗體的藥物動力學的方法，其藉由使用包含胺基酸序列的人類 FcRn 結合域，該胺基酸序列以不同胺基酸取代選自包含 IgG 的 Fc 域的人類 FcRn 結合域的親本 IgG Fc 域中的下列位置的至少一個胺基酸：位置 237、238、239、248、250、252、254、255、256、257、258、265、270、286、289、297、298、303、305、307、308、309、311、312、314、315、317、325、332、334、360、376、380、382、384、385、386、387、389、424、428、433、434 和 436 (EU 編號)。

【0185】 未結合抗體的游離抗原的血漿濃度或游離抗原濃度與總濃度的比率可藉由本領域技術人員已知的方法來確定，例如，藉由 Pharm Res. 2006 Jan; 23 (1): 95-103 中所述之方法。或者，當抗原在活體內呈現特定功能時，可藉由測試抗原功能是否被中和來評估抗原是否與中和抗原功能 (拮抗分子) 的抗體結合。可藉由測定反映抗原功能的活體內標記來評估抗原功能是否被中和。可藉由測定反映抗原功能的活體內標記來評估抗原是否與活化抗原功能 (對抗分子) 的抗體結合。

【0186】 游離抗原的血漿濃度以及血漿中游離抗原的量與血漿中總抗原的量的比率的測定、活體內標記測定及此類測量並沒有特別限制；然而，測定較佳地在投予抗體後經過一定時間後進行。在本發明中，投予抗體後的一段時間並沒有特別限制，本領域技術人員可根據所投予之抗體的特性等來確定合適的時間。此類時間包括例如投予抗體後的一天、投予抗體後的三天、投予抗體後的七天、投予抗體後的 14 天和投予抗體後的 28 天。在本文中，「血漿抗原

濃度」意指抗體結合抗原與抗體未結合抗原濃度之和的「血漿中總抗原濃度」或「血漿中游離抗原濃度」，即抗體未結合抗原濃度。

【0187】在與投予包含完整的人類 IgG Fc 域作為人類 FcRn 結合域的參考抗體相比，或與不投予本發明的抗原結合域分子時相比，藉由投予 2 倍、5 倍、10 倍、20 倍、50 倍、100 倍、200 倍、500 倍、1000 倍、甚至更高倍數的本發明之抗體，可以降低血漿中的總抗原濃度。

【0188】在另一方面，本發明提供呈現 pH 依賴性結合特徵的雙特異性抗 CCL2 抗體。如本文所使用，表述「pH 依賴性結合」意指抗體呈現「與其在中性 pH 下的結合相比，在酸性 pH 下與 CCL2 的結合減少」(出於本揭示之目的，兩種表述可互換使用)。例如，「具有 pH 依賴性結合特徵」的抗體包括在中性 pH 下比在酸性 pH 下以更高親和力與 CCL2 結合的抗體。在某些實施例中，本發明的雙特異性抗體在中性 pH 下以比在酸性 pH 下高至少 2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、85 倍、90 倍、95 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍、10000 倍或更高倍數的親和力與 CCL2 結合。在一些實施例中，抗體在 pH 7.4 下以比在 pH 5.8 下更高的親和力與 CCL2 結合。在其他實施例中，該抗體在 pH7.4 下以比在 pH5.8 下高至少 2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、85 倍、90 倍、95 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍、10000 倍或更高倍數的親和力與 CCL2 結合。

【0189】當抗原為可溶性蛋白時，抗體與抗原的結合可導致抗原在血漿中的半衰期延長 (即，降低了抗原從血漿中的清除率)，因為抗體在血漿中的半衰期可能比抗原本身更長，並且可作為抗原的載體。這是由於藉由 FcRn 通過細胞胞內體途徑的抗原-抗體複合物的再循環 (Roopenian, Nat. Rev. Immunol.

7(9): 715-725 (2007))。然而，由於抗體在中性細胞外環境中與其抗原結合，同時在進入細胞後將其釋放到酸性內體區室，具有 pH 依賴性結合特徵的抗體相對於以 pH 非依賴性方式結合的其對應物，在抗原中和和清除方面具有優異的特徵 (Igawa 等人，Nature Biotechnol. 28(11):1203-1207 (2010); Devanaboyina 等人，mAbs 5(6):851-859 (2013); WO 2009/125825)。

【0190】 為了本揭示的目的，抗體對 CCL2 的「親和力」以抗體的 KD 表示。抗體的 KD 涉及抗體-抗原相互作用的平衡解離常數。抗體與其抗原結合的 KD 值越大，對特定抗原的結合親和力越弱。因此，如本文所使用，表述「在中性 pH 下比在酸性 pH 下更高的親和力」(或等效的表述「pH 依賴性結合」) 意指在酸性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 大於在中性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD。例如，在本發明的上下文中，若在酸性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 比在中性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 大至少 2 倍，則認為抗體在中性 pH 下比在酸性 pH 下對於結合 CCL2 具有更高的親和力。因此，本發明包括在酸性 pH 下與 CCL2 結合的抗體，其 KD 比在中性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 大至少 2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、85 倍、90 倍、95 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍、10000 倍或更多倍。在另一個實施例中，抗體在中性 pH 下的 KD 值可為 10-7 M、10-8 M、10-9 M、10-10 M、10-11 M、10-12 M 或更小。在另一個實施例中，抗體在酸性 pH 下的 KD 值可為 10-9M、10-8M、10-7M、10-6M 或更大。

【0191】 在其他實施例中，若在 pH5.8 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 比在 pH7.4 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 大至少 2 倍，則認為抗體在中性 pH 下比在酸性 pH 下具有更高的親和力。在一些實施例中，所提供的在 pH5.8 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 比在 pH7.4 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 大至少 3 倍、5

倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍，75 倍、80 倍、85 倍、90 倍、95 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍、10000 倍或更多倍。在另一個實施例中，抗體在 pH7.4 下的 KD 值可為 10-7 M、10-8 M、10-9 M、10-10 M、10-11 M、10-12 M 或更小。在另一個實施例中，抗體在 pH5.8 下的 KD 值可為 10-9M、10-8M、10-7M、10-6M 或更大。

【0192】抗體對特定抗原的結合特性亦可用抗體的 kd 表示。抗體的 kd 涉及抗體相對於特定抗原的解離速率常數，並以秒之倒數 (即 sec-1) 表示。kd 值增加表示抗體與其抗原的結合較弱。因此，本發明包括在酸性 pH 下以比在中性 pH 下更高的 kd 值與 CCL2 結合的抗體。本發明包括在酸性 pH 下與 CCL2 結合的抗體，其 kd 比在中性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 kd 大至少 2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍、75 倍、80 倍、85 倍、90 倍、95 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍、10000 倍或更多倍。在另一個實施例中，抗體在中性 pH 下的 kd 值可為 10-2×1/s、10-3×1/s、10-4×1/s、10-5×1/s、10-6×1/s 或更小。在另一個實施例中，抗體在酸性 pH 下的 kd 值可為 10-3 1/s、10-2 1/s、10-1 1/s 或更大。本發明亦包括在 pH5.8 下比在 pH7.4 下具有更高 kd 值的與 CCL2 結合的抗體。本發明包括在 pH5.8 下與 CCL2 結合的抗體，其 kd 比在 pH7.4 下與 CCL2 結合的抗體的 kd 大至少 3 倍、5 倍、10 倍、15 倍、20 倍、25 倍、30 倍、35 倍、40 倍、45 倍、50 倍、55 倍、60 倍、65 倍、70 倍，75 倍、80 倍、85 倍、90 倍、95 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍、10000 倍或更多倍。在另一個實施例中，抗體的 kd 值在 pH7.4 下可為 10-2 1/s、10-3 1/s、10-4 1/s、10-5 1/s、10-6 1/s 或更小。在另一個實施例中，抗體的 kd 值在 pH5.8 下可為 10-3 1/s、10-2 1/s、10-1 1/s 或更大。

【0193】在某些情況下，「與中性 pH 下的結合相比，在酸性 pH 下與 CCL2 的結合減少」表示為在酸性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 值與在中性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 KD 值之比 (反之亦然)。例如，出於本發明的目的，若抗體呈現 2 或更大的酸性/中性 KD 比，則該抗體可被認為「與其在中性 pH 下的結合相比，在酸性 pH 下與 CCL2 的結合減少」。在某些實施例中，本發明之抗 CCL2 抗體的 pH5.8/pH7.4 KD 比為 2 或更大。在某些例示性實施例中，本發明之抗體的酸性/中性 KD 比可為 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更大。在另一個實施例中，抗體在中性 pH 下的 KD 值可為 10-7 M、10-8 M、10-9 M、10-10 M、10-11 M、10-12 M 或更小。在另一個實施例中，抗體在酸性 pH 下的 KD 值可為 10-9M、10-8M、10-7M、10-6M 或更大。在另外的情況下，若抗體呈現 2 或更大的 pH5.8/pH7.4 KD 比，則該抗體可被認為「與其在中性 pH 下的結合相比，在酸性 pH 下與 CCL2 的結合減少」。在某些例示性實施例中，抗體的 pH5.8/pH7.4 KD 比可為 3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更大。在另一個實施例中，抗體在 pH7.4 下的 KD 值可為 10-7 M、10-8 M、10-9 M、10-10 M、10-11 M、10-12 M 或更小。在另一個實施例中，抗體在 pH5.8 下的 KD 值可為 10-9M、10-8M、10-7M、10-6M 或更大。

【0194】在某些情況下，「與中性 pH 下的結合相比，在酸性 pH 下與 CCL2 的結合減少」表示為在酸性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 kd 值與在中性 pH 下與 CCL2 結合的抗體的 kd 值之比 (反之亦然)。例如，出於本發明的目的，若抗體呈現 2 或更大的酸性/中性 kd 比，則該抗體可被認為「與其在中性 pH 下的結合相比，在酸性 pH 下與 CCL2 的結合減少」。在某些例示性實施例

中，本發明之抗體的 pH5.8/pH7.4 kd 比為 2 或更大。在某些例示性實施例中，本發明之抗體的酸性/中性 kd 比可為 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更大。在另一個實施例中，抗體在中性 pH 下的 kd 值可為 10-2×1/s、10-3×1/s、10-4×1/s、10-5×1/s、10-6×1/s 或更小。在另一個實施例中，抗體在酸性 pH 下的 kd 值可為 10-3 1/s、10-2 1/s、10-1 1/s 或更大。在某些例示性實施例中，本發明之抗體的 pH5.8/pH7.4 kd 比可為 2、3、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、200、400、1000、10000 或更大。在另一個實施例中，抗體的 kd 值在 pH7.4 下可為 10-2 1/s、10-3 1/s、10-4 1/s、10-5 1/s、10-6 1/s 或更小。在另一個實施例中，抗體的 kd 值在 pH5.8 下可為 10-3 1/s、10-2 1/s、10-1 1/s 或更大。

【0195】 如本文所使用，表述「酸性 pH」意指 4.0 至 6.5 的 pH。表述「酸性 pH」包括 4.0、4.1、4.2、4.3、4.4、4.5、4.6、4.7、4.8、4.9、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4 及 6.5 中任一 pH 值。在特定方面，「酸性 pH」為 5.8。

【0196】 如本文所使用，表述「中性 pH」意指 6.7 至約 10.0 的 pH。表述「中性 pH」包括 6.7、6.8、6.9、7.0、7.1、7.2、7.3、7.4、7.5、7.6、7.7、7.8、7.9、8.0、8.1、8.2、8.3、8.4、8.5、8.6、8.7、8.8、8.9、9.0、9.1、9.2、9.3、9.4、9.5、9.6、9.7、9.8、9.9 及 10.0 中的任一 pH 值。在特定方面，「中性 pH」為 7.4。

【0197】 如本文所表述的，KD 值和 kd 值可使用基於表面電漿共振生物感測器來確定以表徵抗體-抗原相互作用。KD 值和 kd 值可在 25 攝氏度或 37 攝氏度下確定。

【0198】 在另一方面，本發明提供雙特異性抗 CCL2 抗體，其與 CCL2 形成免疫複合物 (即抗原-抗體複合物)。在某些實施例中，兩個或更多個雙特異性抗 CCL2 抗體結合兩個或更多個 CCL2 分子以形成免疫複合物。這是可能的，因為 CCL2 以含有兩個 CCL2 分子的同源二聚體而存在，而抗體具有兩個抗原結合位點。

【0199】 一般而言，當兩種或更多種抗體與兩種或更多種抗原形成免疫複合物時，由於通過複合物中抗體的 Fc 區的親和力作用，所得的免疫複合物可與存在於細胞表面的 Fc 受體強結合，然後可高效地被攝入細胞中。因此，上述能夠形成包含兩種或更多種抗 CCL2 抗體和兩種或更多種 CCL2 分子之免疫複合物的抗 CCL2 抗體可由於親和力作用而與 Fc 受體強結合，從而導致 CCL2 從活體內血漿中快速清除。

【0200】 此外，相對於以 pH 非依賴性方式結合的對應物，具有 pH 依賴性結合特徵的抗體被認為在抗原中和及清除方面具有優異的特徵 (Igawa 等人，Nature Biotech. 28(11):1203-1207 (2010)；Devanaboyina et al. mAbs 5(6):851-859 (2013)；WO 2009/125825)。因此，具有上述兩種特徵的抗體，即具有 pH 依賴性結合特徵並形成包含兩種或更多種具有兩種或更多種抗原的抗體的免疫複合物的抗體，預期具有更優異的特徵以從血漿中高速消除抗原 (WO 2013/081143)。

【0201】 一方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區的多肽，其包含至少兩個胺基酸改變，包含：(a) 位置 236 處的一個胺基酸改變，和 (b) 在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的至少一個胺基酸改變：231、232、233、234、235、237、238、239、264、266、267、268、271、295、298、325、326、327、328、330、331、332、334 及 396，根據 EU 編號。

【0202】一方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區的多肽，其包含在根據 EU 編號的位置 236 處的胺基酸改變。

【0203】一方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區的多肽，其包含至少兩個胺基酸改變，包含：(a) 位置 236 處的一個胺基酸改變，和 (b) 在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的至少一個胺基酸改變：231、232、235、239、268、295、298、326、330 及 396，根據 EU 編號。在另一個實施例中，變異體 Fc 區包含在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的胺基酸改變：231、232、235、239、268、295、298、326、330 及 396，根據 EU 編號。在另一個實施例中，變異體 Fc 區包含在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的胺基酸改變：268、295、326 及 330，根據 EU 編號。

【0204】在另一方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區的多肽，其包含下列 (1)-(37) 中任一個胺基酸改變：(1) 位置 231、236、239、268 及 330；(2) 位置 231、236、239、268、295 及 330；(3) 位置 231、236、268 及 330；(4) 位置 231、236、268、295 及 330；(5) 位置 232、236、239、268、295 及 330；(6) 位置 232、236、268、295 及 330；(7) 位置 232、236、268 及 330；(8) 位置 235、236、268、295、326 及 330；(9) 位置 235、236、268、295 及 330；(10) 位置 235、236、268 及 330；(11) 位置 235、236、268、330 及 396；(12) 位置 235、236、268 及 396；(13) 位置 236、239、268、295、298 及 330；(14) 位置 236、239、268、295、326 及 330；(15) 位置 236、239、268、295 及 330；(16) 位置 236、239、268、298 及 330；(17) 位置 236、239、268、326 及 330；(18) 位置 236、239、268 及 330；(19) 位置 236、239、268、330 及 396；(20) 位置 236、239、268 及 396；(21) 位置 236 及 268；(22) 位置 236、268 及 295；(23) 位置 236、268、295、298 及 330；(24)

位置 236、268、295、326 及 330；(25) 位置 236、268、295、326、330 及 396；(26) 位置 236、268、295 及 330；(27) 位置 236、268、295、330 及 396；(28) 位置 236、268、298 及 330；(29) 位置 236、268、298 及 396；(30) 位置 236、268、326 及 330；(31) 位置 236、268、326、330 及 396；(32) 位置 236、268 及 330；(33) 位置 236、268、330 及 396；(34) 位置 236、268 及 396；(35) 位置 236 及 295；(36) 位置 236、330 及 396；及 (37) 位置 236 及 396，根據 EU 編號。

【0205】 在另一個實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含選自由以下各項所組成之群組的至少一個胺基酸：(a) 在位置 231 處的 Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp、Tyr；(b) 在位置 232 處的 Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp、Tyr；(c) 在位置 233 處的 Asp；(d) 在位置 234 處的 Trp、Tyr；(e) 在位置 235 處的 Trp；(f) 在位置 236 處的 Ala、Asp、Glu、His、Ile、Leu、Met、Asn、Gln、Ser、Thr、Val；(g) 在位置 237 處的 Asp、Tyr；(h) 在位置 238 處的 Glu、Ile、Met、Gln、Tyr；(i) 在位置 239 處的 Ile、Leu、Asn、Pro、Val；(j) 在位置 264 處的 Ile；(k) 在位置 266 處的 Phe；(l) 在位置 267 處的 Ala、His、Leu；(m) 在位置 268 處的 Asp、Glu；(n) 在位置 271 處的 Asp、Glu、Gly；(o) 在位置 295 處的 Leu；(p) 在位置 298 處的 Leu；(q) 在位置 325 處的 Glu、Phe、Ile、Leu；(r) 在位置 326 處的 Thr；(s) 在位置 327 處的 Ile、Asn；(t) 在位置 328 處的 Thr；(u) 在位置 330 處的 Lys、Arg；(v) 在位置 331 處的 Glu；(w) 在位置 332 處的 Asp；(x) 在位置 334 處的 Asp、Ile、Met、Val、Tyr；及 (y) 在位置 396 處的 Ala、Asp、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp、Tyr；根據 EU 編號。

【0206】在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含選自由以下各項所組成之群組的至少一個胺基酸改變 (例如，取代)：(a) 在位置 231 處的 Gly、Thr；(b) 在位置 232 處的 ASP；(c) 在位置 235 處的 Trp；(d) 在位置 236 處的 Asn、Thr；(e) 在位置 239 處的 Val；(f) 在位置 268 處的 Asp、Glu；(g) 在位置 295 處的 Leu；(h) 在位置 298 處的 Leu；(i) 在位置 326 處的 Thr；(j) 在位置 330 處的 Lys，Arg；(k) 在位置 396 處的 Lys、Met；根據 EU 編號。在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含下列胺基酸改變 (例如，取代)：在位置 236 處的 Asn、在位置 268 處的 Glu、在位置 330 處的 Lys、在位置 396 處的 Met；根據 EU 編號。在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含下列胺基酸改變 (例如，取代)：在位置 236 處的 Asn、在位置 268 處的 Asp、在位置 330 處的 Lys；根據 EU 編號。在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含下列胺基酸改變 (例如，取代)：在位置 236 處的 Asn、在位置 268 處的 Asp、在位置 295 處的 Leu、在位置 330 處的 Lys；根據 EU 編號。在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含下列胺基酸改變 (例如，取代)：在位置 236 處的 Thr、在位置 268 處的 Asp、在位置 330 處的 Lys；根據 EU 編號。在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含下列胺基酸改變 (例如，取代)：在位置 236 處的 Asn、在位置 268 處的 Asp、在位置 295 處的 Leu、在位置 326 處的 Thr、在位置 330 處的 Lys；根據 EU 編號。在另一實施例中，具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性的變異體 Fc 區包含下列胺基酸改變 (例如，取代)：在位置 235 處的 Trp、在位置 236 處的 Asn、在位置 268 處的 Asp、在位置 295 處的 Leu、在位置 326 處的 Thr、在位置 330 處的 Lys；根據 EU 編號。

【0207】在另一方面，本發明提供包含具有增加的等電點 (pI) 的變異體 Fc 區之單離多肽。在某些實施例中，本文所述之變異體 Fc 區包含在親本 Fc 區中至少兩個胺基酸改變。在某些實施例中，與親本 Fc 區的等電點相比，每個胺基酸改變均增加變異體 Fc 區的等電點 (pI)。其等基於以下發現：例如，當投予抗體至活體內時，藉由修飾至少兩個胺基酸殘基而增加 pI 的抗體可促進血漿中抗原的清除。

【0208】在本發明中，pI 可以是理論上或實驗上確定的 pI。pI 的值可例如藉由本領域技術人員已知的等電聚焦來確定。可使用例如基因和胺基酸序列分析軟體 (Genetyx 等) 來計算理論的 pI 值。

【0209】在一個實施例中，pI 值與修飾之前相比可例如增加至少 0.01、0.03、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 或更多，至少 0.6、0.7、0.8、0.9 或更多，至少 1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5 或更多，或至少 1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、3.0 或更多。

【0210】在某些實施例中，用於增加的 pI 的胺基酸可暴露於變異體 Fc 區的表面上。在本發明中，可在表面上暴露的胺基酸通常涉及位於構成變異體 Fc 區之多肽的表面上的胺基酸殘基。位於多肽表面上的胺基酸殘基涉及其側鏈可與溶劑分子 (通常主要是水分子) 接觸的胺基酸殘基。然而，側鏈不一定必須與溶劑分子完全接觸，且即使側鏈的一部分與溶劑分子接觸，該胺基酸也被定義為「位於表面的胺基酸殘基」。位於多肽表面上的胺基酸殘基亦包括位於接近表面的胺基酸殘基，因此可受到另一個胺基酸殘基的電荷影響，該胺基酸殘基的側鏈甚至部分地與溶劑分子接觸。本領域技術人員可例如使用市售軟體來製備多肽的同源性模型。或者，可使用本領域技術人員已知的方法，例如 X 射線晶體學。例如，使用諸如 InsightII 程式 (Accelrys) 之類的計算機程序，使用來自三維模型的坐標確定可暴露在表面上的胺基酸殘基。可使用技術領域中已知

的演算法來確定表面可暴露的位點 (例如，Lee and Richards (J. Mol. Biol. 55:379-400 (1971)); Connolly (J. Appl. Cryst.16: 548-558 (1983))。可使用適於蛋白質模型化和三維結構訊息的軟體來確定可暴露於表面的位點。可用於此目的的軟體包括，例如，SYBYL Biopolymer Module 軟體 (Tripos Associates)。當演算法需要使用者輸入大小參數時，可將計算中使用的探針的「大小」設置為半徑約 1.4 埃或更小。此外，Pacios 已經描述了使用個人電腦軟體確定表面可暴露區域的方法 (Comput.Chem. 18(4):377-386 (1994); J. Mol. Model.1:46-53 (1995))。基於如上所述之訊息，可選擇位於構成變異體 Fc 區的多肽表面上的合適的胺基酸殘基。

【0211】 在某些實施例中，多肽包含變異體 Fc 區及抗原結合域二者。在另外的實施例中，抗原是可溶性抗原。在一個實施例中，抗原存在於受試者的生物體液 (例如血漿、間質液、淋巴液、腹水和胸水) 中。抗原亦可為膜抗原。

【0212】 在另外的實施例中，抗原結合域的抗原結合活性根據離子濃度條件而變化。在一個實施例中，離子濃度並無特別限制，且涉及氫離子濃度 (pH) 或金屬離子濃度。在本文中，金屬離子涉及除氫以外的 I 族元素的離子，例如鹼金屬和銅族元素，例如鹼土金屬和鋅族元素的 II 族元素，除硼外的 III 族元素，除碳和矽外的 IV 族元素，VIII 族元素，例如鐵族元素和鉑族元素，屬於 V、VI 和 VII 族的 A 亞族元素，及例如銻、鉍和釙的金屬元素。在本發明中，金屬離子包括例如鈣離子，如 WO 2012/073992 和 WO 2013/125667 中所述。在一個實施例中，「離子濃度條件」可為聚焦於低離子濃度和高離子濃度之間抗原結合域生物學行為的差異的條件。此外，「根據離子濃度條件而變化的抗原結合域之抗原結合活性」意指抗原結合域的抗原結合活性在低離子濃度和高離子濃度之間變化 (這樣的抗原結合域在本文中稱為「離子濃度依賴性抗原結合域」)。高離子濃度條件下的抗原結合域的抗原結合活性可能比低離子濃

度條件下的抗原結合活性更高 (更強) 或更低 (更弱)。在一個實施例中，離子濃度依賴性抗原結合域 (例如 pH 依賴性抗原結合域或鈣離子濃度依賴性抗原結合域) 可藉由已知方法獲得，例如，WO 2009/125825、WO 2012/073992 和 WO 2013/046722 中所述。

【0213】 在本發明中，在高鈣離子濃度條件下的抗原結合域的抗原結合活性可比在低鈣離子濃度條件下的更高。高鈣離子濃度並不特別限於但可選自下列濃度：100 μM 至 10 mM 之間、200 μM 至 5 mM 之間、400 μM 至 3 mM 之間，200 μM 至 2 mM 之間、400 μM 至 1 mM 之間，或 500 μM 至 2.5 mM 之間，較佳為接近活體內血漿 (血液) 鈣離子的濃度。同時，低鈣離子濃度並不特別限於但可選自下列濃度：0.1 μM 至 30 μM 之間，0.2 μM 至 20 μM 之間，0.5 μM 至 10 μM 之間，1 μM 至 5 μM 之間 或 2 μM 至 4 μM 之間，較佳接近於活體內早期胞內體中鈣離子的濃度。

【0214】 在一個實施例中，低鈣離子濃度條件下的抗原結合活性與高鈣離子濃度條件下的抗原結合活性之比不受限制，但低鈣離子濃度條件下的解離常數 (KD) 與高鈣離子濃度條件下的 KD 之比，即 KD (低鈣離子濃度條件)/KD (高鈣離子濃度條件) 為 2 或更多、10 或更多或 40 或更多。該比率的上限可為 400、1000 或 10000，只要可藉由本領域技術人員已知的技術產生此類的抗原結合域即可。或者，例如，可使用解離速率常數 (kd) 代替 KD。在此情況下，低鈣離子濃度條件下的 kd 與高鈣離子濃度條件下的 kd 之比，即 kd (低鈣離子濃度條件)/kd (高鈣離子濃度條件) 為 2 或更多、5 或更多、10 或更多或 30 或更多。該比率的上限可為 50、100 或 200，只要可基於本領域技術人員的一般技術知識產生抗原結合域即可。

【0215】 在本發明中，在低氫離子濃度 (中性 pH) 下的抗原結合域的抗原結合活性可高於在高氫離子濃度 (酸性 pH) 下的抗原結合域的抗原結合活性。

酸性 pH 可例如選自 pH4.0 至 pH6.5，選自 pH4.5 至 pH6.5，選自 pH5.0 至 pH6.5 或選自 pH5.5 至 pH6.5，較佳為接近早期胞內體中的活體內 pH。酸性 pH 亦可例如為 pH5.8 或 pH6.0。在特定的實施例中，酸性 pH 為 pH5.8。同時，中性 pH 可例如選自 pH6.7 至 pH10.0，選自 pH6.7 至 pH9.5，選自 pH7.0 至 pH9.0 或選自 pH7.0 至 pH8.0，較佳為接近血漿 (血液) 中的活體內 pH。中性 pH 亦可例如為 pH7.4 或 pH7.0。在特定的實施例中，中性 pH 為 pH7.4。

【0216】 在一個實施例中，在酸性 pH 條件下和中性 pH 條件下的抗原結合活性之比率不受限制，但在酸性 pH 條件下的解離常數 (KD) 與在中性 pH 條件下的 KD 之比率，即 KD (酸性 pH 條件)/KD (中性 pH 條件) 為 2 或更多、10 或更多或 40 或更多。該比率的上限可為 400、1000 或 10000，只要可藉由本領域技術人員已知的技術產生此類的抗原結合域即可。或者，例如，可使用解離速率常數 (kd) 代替 KD。在此情況下，酸性 pH 條件下的 kd 與中性 pH 條件下的 kd 之比率，即 kd (酸性 pH 條件)/kd (中性 pH 條件) 為 2 或更多、5 或更多、10 或更多或 30 或更多。該比率的上限可為 50、100 或 200，只要可基於本領域技術人員的一般技術知識產生抗原結合域即可。

【0217】 在一個實施例中，例如，至少一個胺基酸殘基被側鏈 pKa 為 4.0-8.0 的胺基酸殘基取代，及/或至少一個側鏈 pKa 為 4.0-8.0 的胺基酸殘基被插入抗原結合域中，如 WO 2009/125825 中所述。只要在酸性 pH 條件下抗原結合域的抗原結合活性比在中性 pH 條件下弱於取代或插入之前，胺基酸可在任何位點被取代及/或插入。當抗原結合域具有可變區或 CDR 時，該位點可在可變區或 CDR 內。取代或插入的胺基酸數量可由本領域技術人員適當地確定；例如，該數目可以是一個或多個。側鏈 pKa 為 4.0-8.0 的胺基酸可根據氫離子濃度條件用於改變抗原結合域的抗原結合活性。此類胺基酸包括例如天然胺基酸，例如 His (H) 和 Glu (E)，以及非天然胺基酸，例如組胺酸類似物

(US2009/0035836)、m-NO2-Tyr (pKa 7.45)、3,5-Br2-Tyr (pKa 7.21) 及 3,5-I2-Tyr (pKa 7.38) (Heyl 等人，Bioorg. Med. Chem. 11(17):3761-3768 (2003))。亦可使用側鏈 pKa 為 6.0-7.0 的胺基酸，包括例如 His (H)。

【0218】 在另一個實施例中，描述具有增加的 pI 的變異體 Fc 區的較佳抗原結合域，且可藉由 WO2016/125495 和 WO2017/046994 中所描述的方法獲得。

【0219】 在某些實施例中，具有增加的 pI 的變異體 Fc 區包含在選自由以下各項所組成之群組的至少兩個位置處的至少兩個胺基酸改變：285、311、312、315、318、333、335、337、341、342、343、384、385、388、390、399、400、401、402、413、420、422 和 431，根據 EU 編號。

【0220】 在另外的實施例中，具有增加的 pI 的變異體 Fc 區包含在選自由以下各項所組成之群組的至少兩個位置處的至少兩個胺基酸改變：311、341、343、384、399、400、401、402 和 413，根據 EU 編號。

【0221】 在另一方面，本發明提供包含具有增加的 pI 的變異體 Fc 區的多肽，其包含下列 (1)-(10) 中任一個胺基酸改變：(1) 位置 311 和 341；(2) 位置 311 和 343；(3) 位置 311、343 和 413；(4) 位置 311、384 和 413；(5) 位置 311 和 399；(6) 位置 311 和 401；(7) 位置 311 和 413；(8) 位置 400 和 413；(9) 位置 401 和 413；(10) 位置 402 和 413；根據 EU 編號。

【0222】 一方面，本發明提供包含具有增強的 F cγ RIIb 結合活性及增加的 pI 的變異體 Fc 區的多肽，其包含至少三個胺基酸改變，包含：(a) 在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的至少一個胺基酸改變：231、232、233、234、235、236、237、238、239、264、266、267、268、271、295、298、325、326、327、328、330、331、332、334 和 396，根據 EU 編號，及 (b) 在選自由以下各項所組成之群組的至少兩個位置處的至少兩個胺基酸改變：

285、311、312、315、318、333、335、337、341、342、343、384、385、388、390、399、400、401、402、413、420、422 和 431，根據 EU 編號。

【0223】一方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性及增加的 pI 的變異體 Fc 區的多肽，且其包含至少三個胺基酸改變，包含：(a) 在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的至少一個胺基酸改變：231、232、235、236、239、268、295、298、326、330 和 396，根據 EU 編號，及 (b) 在選自由以下各項所組成之群組的至少兩個位置處的至少兩個胺基酸改變：311、341、343、384、399、400、401、402 和 413，根據 EU 編號。

【0224】在另一個方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性及增加的 pI 的變異體 Fc 區的多肽，其包含下列 (1)-(9) 中任一個胺基酸改變：(1) 位置 235、236、268、295、311、326、330 和 343；(2) 位置 236、268、295、311、326、330 和 343；(3) 位置 236、268、295、311、330 和 413；(4) 位置 236、268、311、330、396 和 399；(5) 位置 236、268、311、330 和 343；(6) 位置 236、268、311、330、343 和 413；(7) 位置 236、268、311、330、384 和 413；(8) 位置 236、268、311、330 和 413；(9) 位置 236、268、330、396、400 和 413；根據 EU 編號。

【0225】一方面，本發明提供包含具有增強的 F cγ RIIb 結合活性及增加的 pI 的變異體 Fc 區的多肽，其包含至少三個胺基酸改變，包含：(a) 在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的至少一個胺基酸改變：234、238、250、264、267、307 和 330，及 (b) 在選自由以下各項所組成之群組的至少兩個位置處的至少兩個胺基酸改變：285、311、312、315、318、333、335、337、341、342、343、384、385、388、390、399、400、401、402、413、420、422 和 431，根據 EU 編號。在其他實施例中，多肽包含在選自由以下各

項所組成之群組的至少兩個位置處的至少兩個胺基酸改變：311、341、343、384、399、400、401、402 和 413，根據 EU 編號。

【0226】 在另一個方面，本發明提供包含具有增強的 Fc γ RIIb 結合活性及增加的 pI 的變異體 Fc 區的多肽，其包含下列 (1)-(16) 中任一個胺基酸改變：(1) 位置 234、238、250、264、307、311、330 和 343；(2) 位置 234、238、250、264、307、311、330 和 413；(3) 位置 234、238、250、264、267、307、311、330 和 343；(4) 位置 234、238、250、264、267、307、311、330 和 413；(5) 位置 234、238、250、267、307、311、330 和 343；(6) 位置 234、238、250、267、307、311、330 和 413；(7) 位置 234、238、250、307、311、330 和 343；(8) 位置 234、238、250、307、311、330 和 413；(9) 位置 238、250、264、267、307、311、330 和 343；(10) 位置 238、250、264、267、307、311、330 和 413；(11) 位置 238、250、264、307、311、330 和 343；(12) 位置 238、250、264、307、311、330 和 413；(13) 位置 238、250、267、307、311、330 和 343；(14) 位置 238、250、267、307、311、330 和 413；(15) 位置 238、250、307、311、330 和 343；(16) 位置 238、250、307、311、330 和 413；根據 EU 編號。

【0227】 另外，出於其他目所進行的胺基酸改變可結合在本文所述之變異體 Fc 區中。例如，改善 FcRn 結合活性的胺基酸取代 (Hinton 等人，J. Immunol. 176(1):346-356 (2006)；Dall'Acqua 等人，J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524 (2006)；Petkova 等人，Intl. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)；Zalevsky 等人，Nat. Biotechnol. 28(2):157-159 (2010)；WO 2006/019447；WO 2006/053301；及 WO 2009/086320)，並可添加用於改善抗體異質性或穩定性的胺基酸取代 (WO 2009/041613)。或者，描述於 WO 2011/122011、WO 2012/132067、WO 2013/046704 或 WO 2013/180201 中的具有促進抗原清除特性

的多肽、描述於 WO 2013/180200 中的具有與目標組織特異性結合特性的多肽、描述於 WO 2009/125825、WO 2012/073992 或 WO 2013/047752 中的具有重複結合多個抗原分子性質的多肽可與本文所述之變異體 Fc 區組合。或者，為了賦予與其他抗原的結合能力，可將 EP1752471 和 EP1772465 中所揭示的胺基酸改變組合在本文所述之變異體 Fc 區的 CH3 中。或者，為了增加血漿保留，可將降低恆定區 pI 的胺基酸改變 (WO 2012/016227) 組合在本文所述之變異體 Fc 區中。或者，為了促進攝取進入細胞，可將增加恆定區 pI 的胺基酸改變 (WO 2014/145159) 組合在本文所述之變異體 Fc 區中。或者，為了促進從血漿中消除目標分子，可將增加恆定區 pI 的胺基酸改變 (WO2016/125495) 組合在本文所述之變異體 Fc 區中。在一個實施例中，此類改變可包括例如在選自由以下各項所組成之群組的至少一個位置處的取代：311、343、384、399、400 和 413，根據 EU 編號。在另外的實施例中，此類取代可為在各位置處以 Lys 或 Arg 取代胺基酸。

【0228】 在酸性 pH 下增強人類 FcRn 結合活性的胺基酸改變亦可結合在本文所述之變異體 Fc 區中。具體而言，這種改變可包括例如在位置 428 處 以 Leu 取代 Met、在位置 434 處以 Ser 取代 Asn (根據 EU 編號) (Zalevsky 等人，Nat. Biotechnol. 28:157-159 (2010))；在 位置 434 處以 Ala 取代 Asn (Deng 等人，Metab. Dispos.38 (4)：600-605 (2010))；在位置 252 處以 Tyr 取代 Met、在位置 254 處以 Thr 取代 Ser、在位置 256 處以 Glu 取代 Thr (Dall'Acqua 等人，J. Biol. Chem. 281:23514-23524 (2006))；在位置 250 處 以 Gln 取代 Thr、在位置 428 處 以 Leu 取代 Met (Hinton 等人，J. Immunol.176(1):346-356 (2006))；在位置 434 處 以 Asn 取代 His (Zheng 等人，Clin. Pharmacol. Ther. 89(2):283-290 (2011)，以及 WO 2010/106180，WO 2010/045193、WO 2009/058492、WO 2008/022152、WO 2006/050166、WO 2006/053301、WO 2006/031370、WO

2005/123780、WO 2005/047327、WO 2005/037867、WO 2004/035752 或 WO 2002/060919 中所述之改變。此類改變可包括，例如，選自由以下各項所組成之群組的至少一種改變：在位置 428 處以 Leu 取代 Met、在位置 434 處以 Ala 取代 Asn 及在位置 436 處以 Thr 取代 Tyr。這些改變可進一步包括在位置 438 處以 Arg 取代 Gln 及/或 在位置 440 處以 Glu 取代 Ser (WO2016/125495)。

【0229】 **例示性雙特異性抗 CCL2 抗體**

【0230】 本發明的一個實施例為一種雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二不同抗原結合位點。

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列。

【0231】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0232】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。

【0233】 在一個實施例中，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠時，與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G 的人類 IgG1 同型的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域 (或其 Fc 域) 的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml/天/kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型的恆定重鏈域 (或其 Fc 域) 的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml/天/kg) 高至少兩倍 (在一個實施例中高至少 5 倍，在一個實施例中高至少 10 倍，在一個實施例中高至少 20 倍)。

【0234】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。

【0235】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0236】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。

【0237】 在一個實施例中，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠時，與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G 的人類 IgG1 同型 (或

其 Fc 域) 的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml/天/kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型 (或其 Fc 域) 的恆定重鏈域的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml/天/kg) 高至少 15 倍，特別地高至少 20 倍。

【0238】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；

並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列

RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

【0239】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ IDNO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}FX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；(d) FR-H1，其包含 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF；(e) FR-H2，其包含 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列 WVRQAPGQGLEWMG；(f) FR-H3，其包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列 RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR；及 (g) FR-H4，其包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列 WGQGTLVTVSS；

及

VL 域，其包含：(h) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(i) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (j) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；(k) FR-L1，其包含 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC；(l) FR-L2，其包含 SEQ ID NO: 68 之胺基酸序列 WYQQKPGQAPRLLIY；(m) FR-L3，其包含 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列 GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC；及 (n) FR-L4，其包含 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列 GQGTKVEIK；

並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；(d) FR-H1，其包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGLTIS；(e) FR-H2，其包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列 WVRQAPGQGLEWMG；(f) FR-H3，其包含 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列 RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR；及 (g) FR-H4，其包含 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列 WGQGTTVTVSS；

及

VL 域，其包含：(h) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^{1} 為 F 或 T 且 X^{2} 為 R 或 L；(i) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；(j) CDR-L3，其

包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；(k) FR-L1，其包含 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC；(l) FR-L2，其包含 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列 WYQQKPGKAPKLLIH；(m) FR-L3，其包含 SEQ ID NO: 88 之胺基酸序列 GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC；及 (n) FR-L4，其包含 SEQ ID NO: 89 之胺基酸序列 FGGGTKVEIK。

【0240】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

J) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

K) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

L) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

M) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

N) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

O) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

P) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列。

【0241】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0242】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。

【0243】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

【0244】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列。

【0245】本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列。

【0246】本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列。

【0247】在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0248】在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2

上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

J) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

K) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

L) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

M) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

N) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

O) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

P) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

【0249】 在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0250】在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。

【0251】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體

i) 在活體外阻斷 CCL2 與其受體 CCR2 的結合 (報導基因測定，IC_{50} = 0.5 nM)；及/或

ii) 在活體外抑制骨髓細胞的 CCL2 介導趨化性 (IC_{50} = 1.5 nM)；及/或

iii) 與食蟹獼猴 CCL2 及人類 CCL2 有交叉反應。

【0252】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體與其他人類 CCL 同源物無交叉反應，特別是相較於與 CCL2 結合，它顯示出與其他 CCL 同源物 (選自 CCL8、CCL7 和 CCL13 的組別) 的結合少 100 倍。

【0253】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體以離子依賴性方式與人類 CCL2 上的第一和第二表位結合。

【0254】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體以 pH 依賴性方式與人類 CCL2 結合，且其中，第一抗原結合位點和第二抗原結合位點二者在中性 pH 比在酸性 pH 下以更高的親和力與 CCL2 結合。

【0255】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體在 pH 7.4 下以比在 pH 5.8 下高 10 倍的親和力與人類 CCL2 結合。

【0256】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含兩個含有 (獨立地或除上述突變之外) 下列突變 (Eu 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) 在重鏈恆定域之一中的 S354C 和 T366W

ii) 在其他重鏈恆定域中的 Y349C、T366S、L368A、Y407V

【0257】在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【0258】在一個實施例中，雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域。在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L234Y、L235W、G236N、P238D、T250V、V264I、H268D、Q295L、T307P、K326T 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0259】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0260】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)，該人類 IgG1 重鏈恆定域包含以下突變 (Kabat EU 編號)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0261】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)，該人類 IgG1 重鏈恆定域包含以下突變 (Kabat EU 編號)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iii) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0262】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)，該人類 IgG1 重鏈恆定域包含以下突變 (Kabat EU 編號)

Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)。

【0263】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0264】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) M428L、N434A 和 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0265】在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A 和 (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0266】本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

其中，所述雙特異性抗體為人類 IgG 同型 (較佳為人類 IgG1 同型) 的全長抗體，具有

a) 在對應的 i) 下包含所述第一抗原結合位點的第一抗體的第一輕鏈和第一重鏈；及

b) 在對應的 ii) 下包含所述第二抗原結合位點的第二抗體的第二輕鏈和第二重鏈，並且其中，第二抗體的第二輕鏈和第二重鏈中的可變域 VL 和 VH 被相互置換；並且

其中，在 a) 下的第一輕鏈的恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) 取代 (根據 Kabat 編號)，而位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K) 取代 (根據 Kabat 編號)，

並且其中，在 a) 下的第一重鏈的恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 取代 (根據 Kabat EU 指數編號)，而位置 213 的胺基酸被麩胺酸取代 (E) (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0267】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

其中，所述雙特異性抗體為 (全長) 抗體，其具有

a) 在 i) 下包含所述第一抗原結合位點的 IgG1 同型的第一 κ 或 λ 輕鏈和第一重鏈；及

b) 在 ii) 下包含所述第二抗原結合位點的第二 κ 或 λ 輕鏈和第二 IgG1 重鏈 IgG1 同型，且其中，第二抗體的第二輕鏈和第二重鏈中的可變域 VL 和 VH 被相互置換；及

其中，在 a) 下的第一輕鏈的恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) 取代 (根據 Kabat 編號)，而位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K) 取代 (根據 Kabat 編號)，

並且其中，在 a) 下的第一重鏈的恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 取代 (根據 Kabat EU 指數編號)，而位置 213 的胺基酸被麩胺酸取代 (E) (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0268】在一個實施例中，此類雙特異性抗體包含下列突變 (Kabat EU 編號)

i) 在重鏈恆定域之一中的 S354C 和 T366W

ii) 在其他重鏈恆定域中的 Y349C、T366S、L368A、Y407V

【0269】在一個實施例中，此類雙特異性抗體另包含以下突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0270】在一個替代實施例中，此類雙特異性抗體另包含下列突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iii) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0271】在一個替代實施例中，此類雙特異性抗體另包含下列突變 (Kabat EU 編號)：

Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)。

【0272】在一個替代實施例中，此類雙特異性抗體另包含下列突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) M428L、N434A 和 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合。

【0273】 在一個替代實施例中，此類雙特異性抗體另包含下列突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A 和 (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0274】 本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：112 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：113 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：114 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：115 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0275】 本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：112 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：113 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：114 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：115 之胺基酸序列的多肽。

【0276】本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：116 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：117 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：118 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：119 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0277】本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：116 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：117 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：118 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：119 之胺基酸序列的多肽。

【0278】本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：120 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：121 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：122 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：123 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0279】本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：120 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：121

之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：122 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：123 之胺基酸序列的多肽。

【0280】 本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：120 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：121 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：122 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：123 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0281】 本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：120 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：121 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：122 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：123 之胺基酸序列的多肽。

【0282】 本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：155 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：156 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：157 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：158 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0283】 本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類

CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：155 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：156 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：157 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：158 之胺基酸序列的多肽。

【0284】 本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：159 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：160 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：161 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：162 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0285】 本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：159 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：160 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：161 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：162 之胺基酸序列的多肽。

【0286】 本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：163 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：164 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：165 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：166 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0287】本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：163 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：164 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：165 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：166 之胺基酸序列的多肽。

【0288】本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：167 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：168 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：169 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：170 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0289】本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：167 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：168 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：169 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：170 之胺基酸序列的多肽。

【0290】本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：171 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：172 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多

肽、與 SEQ ID NO：173 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：174 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0291】 本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：171 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：172 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：173 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：174 之胺基酸序列的多肽。

【0292】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

其中，所述雙特異性抗體為人類 IgG1 同型的 (全長) 抗體，其具有

a) 在 i) 下包含所述第一抗原結合位點的 IgG1 同型的第一 κ 或 λ 輕鏈和第一重鏈；及

b) 在 ii) 下包含所述第二抗原結合位點的第二 κ 或 λ 輕鏈和第二 IgG1 重鏈 IgG1 同型，且其中，第二抗體的第二輕鏈和第二重鏈中的可變域 VL 和 VH 被相互置換；及

其中，在 a) 下的第一輕鏈的恆定域 CL 中，位置 124 的胺基酸被離胺酸 (K) 取代 (根據 Kabat 編號)，而位置 123 的胺基酸被離胺酸 (K) 取代 (根據 Kabat 編號)，

並且其中，在 a) 下的第一重鏈的恆定域 CH1 中，位置 147 的胺基酸被麩胺酸 (E) 取代 (根據 Kabat EU 指數編號)，而位置 213 的胺基酸被麩胺酸取代 (E) (根據 Kabat EU 指數編號)。

【0293】 在一個實施例中，此類雙特異性抗體包含下列突變 (Kabat EU 編號)

i) 在重鏈恆定域之一中的 S354C 和 T366W

ii) 在其他重鏈恆定域中的 Y349C、T366S、L368A、Y407V

在一個實施例中，此類雙特異性抗體另包含以下突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0294】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有下列突變 (Kabat EU 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iii) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0295】 在一個實施例中，本文所述之雙特異性抗體包含含有下列突變 (Kabat EU 編號) 的 IgG1 重鏈恆定域 (或其 Fc 域)

Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)。

【0296】 在一個替代實施例中，此類雙特異性抗體另包含下列突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) M428L、N434A 和 Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0297】 在一個替代實施例中，此類雙特異性抗體另包含下列突變 (Kabat EU 編號)：

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307P 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A 和 (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

【0298】 本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：124 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：125 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：126 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：127 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0299】本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：124 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：125 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：126 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：127 之胺基酸序列的多肽。

【0300】本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：128 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：129 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：130 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：131 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0301】本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：128 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：129 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：130 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：131 之胺基酸序列的多肽。

【0302】本發明的具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與結合人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有與 SEQ ID NO：132 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽、與 SEQ ID NO：133 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多

肽、與 SEQ ID NO：134 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽，及與 SEQ ID NO：135 之序列至少 98% 或 99% 相同的胺基酸序列的多肽。

【0303】 本發明的一個具體實施例為一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點和與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含含有 SEQ ID NO：132 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：133 之胺基酸序列的多肽、含有 SEQ ID NO：134 之胺基酸序列的多肽和含有 SEQ ID NO：135 之胺基酸序列的多肽。

【0304】 **重組方法和組成物**

【0305】 可以使用重組方法和組成物來製造抗體，例如，如美國專利號 4,816,567 中所述。在一個實施例中，提供編碼本文所述之抗 CCL2 抗體 (雙特異性或單特異性) 的單離的核酸。此類核酸可編碼包含一個或全部 VL 的胺基酸序列及/或包含單特異性或雙特異性抗體的一個或全部 VH 的胺基酸序列 (例如，抗體的輕鏈及/或重鏈)。在另一實施例中，提供了包含此類核酸的一種或多種載體 (例如，表現載體)。在另一實施例中，提供了包含此類核酸的宿主細胞。在一個此類實施例中，宿主細胞包含 (例如已經被下列轉型)：(1) 載體，其包含核酸，其編碼包含抗體的 VL 的胺基酸序列和包含抗體 VH 的胺基酸序列，或(2) 第一載體，其包含核酸，其編碼包含抗體的 VL 的胺基酸序列，以及第二載體，其包含核酸，其編碼包含抗體的 VH 的胺基酸序列。在一個實施例中，宿主細胞是真核的，例如中華倉鼠卵巢 (CHO) 細胞、HEK293 細胞或淋巴細胞 (例如 Y0、NS0、Sp20 細胞)。在一個實施例中，提供一種製備抗 CCL2 抗體的方法，其中，該方法包括在適於抗體表現的條件下培養包含如上所述之編碼該抗體的核酸的宿主細胞，並可選擇地自宿主細胞 (或宿主細胞培養基) 回收該抗體。

【0306】 為了重組生產抗 CCL2 細胞，此類核酸可使用常規方法 (例如，使用能夠與編碼抗體重鏈和輕鏈的基因特異性結合的寡核苷酸探針) 輕易地分離並定序。

【0307】 適用於克隆或表達編碼抗體之載體的宿主細胞包括本文所述之原核或真核細胞。例如，抗體可能在細菌中產生，特別是在無需糖基化和 Fc 效應子功能的情況下。關於抗體片段和多肽在細菌中的表現，參見例如 US 5,648,237、US 5,789,199 及 US 5,840,523。(亦參見 Charlton, K.A., In: Methods in Molecular Biology, Vol. 248, Lo, B.K.C. (ed.), Humana Press, Totowa, NJ (2003), pp. 245-254，描述了抗體片段在大腸桿菌 (*E. coli*) 中的表現。)在表現後，抗體可與細菌細胞糊中的可溶性部分分離，並可經過進一步純化。

【0308】 除原核生物以外，真核微生物 (如絲狀真菌或酵母菌) 也為合適的多肽編碼載體的選殖或表現宿主，包括其糖基化途徑已被「人源化」的真菌和酵母菌株，從而導致具有部分或完全人糖基化模式的多肽的產生。參見 Gerngross, T.U.，Nat. Biotech. 22 (2004) 1409-1414；及 Li, H. 等人，Nat. Biotech. 24 (2006) 210-215。

【0309】 用於表現糖基化多肽的合適的宿主細胞也來源於多細胞生物 (無脊椎動物和脊椎動物)。無脊椎動物細胞之實例包括植物和昆蟲細胞。已鑑定出許多桿狀病毒株，它們可以與昆蟲細胞結合使用，特別是用於轉染草地貪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 細胞。

【0310】 植物細胞培養物也可以用作宿主。*參見*例如美國專利號 5,959,177、6,040,498、6,420,548、7,125,978 及 6,417,429 (描述了在基因轉殖植物中生產抗體的 PLANTIBODIES™ 技術)。

【0311】 脊椎動物細胞也可用作宿主。例如，可使用適於在懸浮液中生長的哺乳動物細胞係。可用的哺乳動物宿主細胞株的其他實例為：由 SV40

(COS-7) 轉化的猴腎 CV1 細胞株；人類胚胎腎細胞株 (如 Graham, F.L. 等人，J. Gen Virol. 36 (1977) 59-74 中所述之 293 或 293T 細胞)；幼地鼠腎細胞 (BHK)；小鼠睾丸支持細胞 (如 Mather, J.P.，Biol. Reprod. 23 (1980) 243-252 中所述之 TM4 細胞)；猴腎細胞 (CV1)；非洲綠猴腎細胞 (VERO-76)；人類宮頸癌細胞 (HELA)；犬腎細胞 (MDCK)；Buffalo 大鼠肝細胞 (BRL 3A)；人類肺細胞 (W138)；人類肝細胞 (Hep G2)；小鼠乳腺腫瘤細胞 (MMT 060562)；TRI 細胞 (如 Mather, J.P. 等人，Annals N.Y.Acad. Sci. 383 (1982) 44-68 所述)；MRC 5 細胞；及 FS4 細胞。其他可用的哺乳動物宿主細胞株包括中華倉鼠卵巢 (CHO) 細胞，包括 DHFR- CHO 細胞 (Urlaub, G. 等人，Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77 (1980) 4216-4220)；及骨髓瘤細胞株，例如 Y0、NS0 和 Sp2/0。有關某些適用於抗體生產的哺乳動物宿主細胞系的綜述，參見例如：Yazaki, P. 和 Wu, A.M.，Methods in Molecular Biology，第 248 卷，Lo, B.K.C. 主編，Humana Press，Totowa，NJ (2004)，第 255-268 頁)。

【0312】 在另一方面，本發明部分基於以下發現：本文所述之經修飾的單特異性抗體顯示出改善的 pH 依賴性結合特性，因此對於本發明的雙特異性抗體的產生特別有用。

【0313】 **具有 pH 依賴性結合特性的單特異性抗 CCL2 抗體**

【0314】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) (單特異性) 抗體，其與人類 CCL2 (特異性地) 結合，

其中，該抗體包含

A) VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P

或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；

或者

B) VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

【0315】 本發明的一個實施例為一種 (單離的) (單特異性) 抗體，其與人類 CCL2 (特異性地) 結合，

其中，該抗體包含

A) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

B) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

C) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

D) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

E) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

F) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

G) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

H) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

【0316】 用於診斷和檢測之方法及組成物

【0317】 在某些實施例中，本文提供的任何單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體有用於檢測生物樣品中 CCL2 的存在。如本文所用的術語「檢測」，涵蓋

定量或定性檢測。在某些實施例中，生物樣品包含細胞或組織，例如免疫細胞或 T 細胞浸潤物及/或腫瘤細胞。

【0318】 在一個實施例中，提供了用於診斷或檢測方法的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。在另一方面，提供了一種檢測生物樣品中是否存在 CCL2 的方法。在某些實施例中，該方法包含在允許單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體與 CCL2 結合的條件下，使生物樣品與本文所述之單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體接觸，並檢測單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體與 CCL2 之間是否形成複合物。此等方法可為*體外*或*體內*方法。在一個實施例中，使用單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體來選擇適合用單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體治療的受試者，例如其中，CCL2 是用於選擇病患的生物標誌。

【0319】 在某些實施例中，提供經標記的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。標記包括但不限於直接檢測的標記或部分 (例如螢光、髮色、電子緻密、化學發光和放射性標記)，以及間接檢測 (例如，藉由酶促反應或分子相互作用) 的部分，例如酶或配體。例示性標記包括但不限於：放射性同位素 ^{32}P、^{14}C、^{125}I、^{3}H 及 ^{131}I；螢光團，例如稀土螯合物或螢光素及其衍生物；玫瑰紅及其衍生物；丹磺醯基；繖形酮；螢光素酶，例如螢火蟲螢光素酶和細菌螢光素酶 (美國專利號 4,737,456)；螢光素；2,3-二氫鄰苯二甲二酮；辣根過氧化物酶 (HRP)；鹼性磷酸酶；β-半乳糖苷酶；葡糖澱粉酶；溶菌酶；醣類氧化酶，例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶和葡萄糖 6-磷酸脫氫酶；雜環氧化酶，例如尿酸酶和黃嘌呤氧化酶，與採用過氧化氫氧化染料前體 (例如 HRP、乳過氧化酶或微過氧化酶) 的酶結合使用；生物素/抗生物素蛋白；旋轉標記；噬菌體標記；穩定自由基等。

【0320】 **E. 醫藥調配物**

【0321】藉由將具有所需純度的抗體與一種或多種可選的醫藥上可接受之載體混合來製備凍乾調配物或水溶液形式的本文所述之單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體的醫藥調配物 (Remington's Pharmaceutical Sciences,，第 16 版，Osol, A. (ed.) (1980))。醫藥上可接受之載體在採用的劑量和濃度下通常對受體無毒，其包括但不限於：緩衝劑，例如磷酸鹽、檸檬酸鹽及其他有機酸；抗氧化劑，包括抗壞血酸和蛋胺酸；防腐劑 (例如十八烷基二甲基苄基氯化銨；六甲基氯化銨；苯扎氯銨；苄索銨氯化物；苯酚、丁醇或苄醇；對羥基苯甲酸烷基酯，如對羥基苯甲酸甲酯或對羥基苯甲酸丙酯；鄰苯二酚；間苯二酚；環己醇；3-戊醇和間甲酚)；低分子量 (小於約 10 個殘基) 多肽；蛋白質，例如血清白蛋白、明膠或免疫球蛋白；親水性聚合物，例如聚乙烯吡咯啶酮；胺基酸，例如甘胺酸、麩醯胺酸、天冬醯胺酸、組胺酸、精胺酸或離胺酸；單醣、二糖及其他碳水化合物，包括葡萄糖、甘露糖或糊精；螯合劑 (例如 EDTA)；糖，例如蔗糖、甘露醇、海藻糖或山梨糖醇；成鹽相對離子，例如鈉；金屬錯合物 (例如鋅蛋白錯合物)；及/或非離子界面活性劑，例如聚乙二醇 (PEG)。本申請中的例示性醫藥上可接受之載體還進一步包括間質藥物分散劑，諸如可溶性中性活性透明質酸酶糖蛋白 (sHASEGP)，例如人類可溶性 PH-20 透明質酸酶糖蛋白，諸如 rhuPH20 (HYLENEX®, Baxter International, Inc.)。某些例示性 sHASEGP 及用法 (包括 rhuPH20) 描述於美國專利公開號 2005/0260186 和 2006/0104968 中。在一個方面，sHASEGP 與一種或多種附加的糖胺聚醣酶諸如軟骨素酶結合在一起。

【0322】例示性凍乾抗體製劑如美國第 6,267,958 號專利所述。水溶性抗體調配物包括在美國專利號 6,171,586 和 WO 2006/044908 中所述者，後者所述之調配物包括組胺酸-乙酸鹽緩衝液。

【0323】本文所述之調配物還可包含適合於所治療的特定適應症的多於一種活性成分，較佳地，為那些相互無不利影響的具有互補活性成分。例如，可能需要進一步提供。此等活性成分適宜地以對預期目的有效的量組合存在。

【0324】活性成分可裹入例如藉由凝聚技術或藉由介面聚合所製備的微膠囊 (例如，分別為羥甲基纖維素微膠囊或明膠微膠囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微膠囊) 中、膠體藥物遞送系統 (例如脂質體、白蛋白微球、微乳液、奈米顆粒和奈米膠囊 (nanocapsule)) 中或粗滴乳液中。此等技術揭示於 Remington's Pharmaceutical Sciences，第 16 版，Osol, A. (ed.) (1980)。

【0325】可以製備緩釋製劑。緩釋製劑的適當實例包括含有抗體的固體疏水聚合物的半透性基質，該基質是成形物品的形式，*例如*膜或微膠囊。

【0326】用於體內給藥的製劑通常是無菌的。無菌性可易於例如藉由無菌濾膜過濾來實現。

【0327】**F. 治療方法和組成物**

【0328】本文所提供的任何單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體都可用於治療方法。

【0329】在一個方面，提供一種用作藥物的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。在其他方面，提供一種用於治療癌症的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。在某些實施例中，提供一種用於治療方法的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。在某些實施例中，本發明提供單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體用於治療罹患癌症之個體的方法，其包含投予該個體治效量的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。

【0330】在進一步的實施例中，本發明提供單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體，其抑制腫瘤中的免疫抑制，並因此使腫瘤對例如抗 PD1、抗 PDL-1 拮抗劑等免疫刺激劑敏感。

【0331】因此，其一個方面是本文所述之單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體與例如抗 PD1，抗 PDL-1 拮抗劑等癌症免疫療法的組合。

【0332】如本文所使用，術語「癌症」可以是例如肺癌、非小細胞肺癌 (NSCL)、細支氣管肺泡細胞肺癌、骨癌、胰腺癌、皮膚癌、頭頸癌、皮膚或眼內癌、黑色素瘤、子宮癌、卵巢癌、直腸癌、肛門區域癌、胃癌、結腸癌、乳癌、子宮癌、輸卵管癌、子宮內膜癌、子宮頸癌、陰道癌、外陰癌，霍奇金病 (Hodgkin's Disease)、食道癌、小腸癌、內分泌系統癌、甲狀腺癌，副甲狀腺癌、腎上腺癌、軟組織肉瘤、尿道癌、陰莖癌、前列腺癌、膀胱癌、腎癌或輸尿管癌、腎細胞癌、腎盂癌、間皮瘤、肝細胞癌、膽管癌、中央神經系統 (CNS) 瘤、脊柱腫瘤、腦幹神經膠質瘤、多形膠質母細胞瘤、星狀細胞瘤、許旺氏細胞瘤 (schwannoma)、室管膜瘤、髓母細胞瘤、腦膜瘤、鱗狀細胞癌、垂體腺瘤、淋巴瘤、淋巴細胞性白血病、包括上述任何癌症的難治形式，或上述一種或多種癌症的組合。

【0333】根據上述任一實施例的「個體」較佳地為人。在另一方面，本發明提供單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體在藥物製造或製備中的用途。在一個實施例中，該藥物用於治療癌症。在另一個實施例中，藥物用於治療癌症的方法中，該方法包含向患有癌症的個體投予治療有效量之藥物。在另一個實施例中，該藥物用於誘導癌細胞的細胞介導的裂解。在另一個實施例中，該藥物用於在罹患癌症的個體中誘導癌細胞的細胞介導的裂解的方法，該方法包含對該個體投予有效量的藥物以在癌細胞中誘導細胞凋亡/或抑制癌細胞增殖。根據上述任一實施例的「個體」可為人。

【0334】在另一方面，本發明提供一種治療癌症的方法。在一個實施例中，該方法包含向罹患癌症的個體投予有效量之單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。根據上述任一實施例的「個體」可為人。

【0335】在另一方面，本發明提供一種在罹患癌症的個體中誘導癌細胞的細胞介導的裂解的方法。在一個實施例中，該方法包含向個體投予有效量的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體，以在罹患癌症的個體中誘導癌細胞的細胞介導的裂解。在一個實施例中，「個體」為人。

【0336】在本發明的另一方面，提供用於治療炎性疾病或自體免疫疾病的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。在某些實施例中，本發明提供單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體用於治療罹患炎性疾病或自體免疫疾病之個體的方法，其包含投予該個體治效量的單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體。

【0337】在另一方面，本發明提供包含本文所提供之任何單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體的醫藥調配物，例如用於以上任何治療方法。在一個實施例中，醫藥調配物包含本文所提供之任何單特異性或雙特異性抗 CCL2 抗體及醫藥上可接受之載體。

【0338】在一些實施例中，炎性疾病或自體免疫疾病為自體免疫疾病、炎性疾病、纖維化疾病、顆粒細胞性 (嗜中性或嗜酸性) 疾病、單核細胞性疾病或淋巴細胞性疾病、或與正常或異常 組織駐留細胞 (例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴細胞) 或基質細胞 (例如纖維母細胞，肌纖維母細胞，平滑肌細胞，上皮細胞或內皮細胞) 的數目或分佈增加有關的病症。在一些實施例中，該病症為肺部病症。在一些實施例中，肺部病症是與顆粒細胞性 (嗜酸性及/或嗜中性) 肺部炎症、感染誘導的肺部症狀 (包括與病毒 (例如流感、副流感、鼻病毒、人類間質性肺炎病毒和呼吸道融合細胞病毒)、細菌或真菌 (例如曲霉菌) 觸發物相關者。在一些實施例中，病症是過敏原誘導的肺部症狀、毒性環境污染物誘導的肺部症狀 (例如，石棉沉滯、矽肺病或鈹病)、胃抽吸引起的肺部症狀或與免疫失調或炎性症狀相關或具有遺傳易感性，例如囊腫纖維化。在一些實施例中，所述疾病是物理創傷誘發的肺部症狀 (例如，呼吸機損傷)、肺氣腫、香煙

誘發的肺氣腫、支氣管炎，類肉瘤病、組織細胞增多症、淋巴管肌瘤病、急性肺損傷、急性呼吸窘迫症候群、慢性肺病，支氣管肺發育不全、肺炎 (例如，社區獲得性肺炎、醫院內肺炎、呼吸機相關性肺炎、病毒性肺炎、細菌性肺炎和重症肺炎)、呼吸道惡化和急性呼吸窘迫症候群 (ARDS)。在一些實施例中，炎性肺疾病是 COPD。

【0339】在一些實施例中，炎性肺疾病是氣喘。在一些實施例中，氣喘是具有可能危及生命的惡化症狀 (加重或發作) 急性發作的持續性慢性重症氣喘。在一些實施例中，氣喘是異位性 (亦稱為過敏性) 氣喘、非過敏性氣喘 (例如，經常由呼吸道病毒 (例如，流感、副流感、鼻病毒、人類間質性肺炎病毒和呼吸道融合細胞病毒) 感染引起或吸入刺激物 (室內或室外甚至冷乾空氣中的空氣污染物、煙霧、柴油顆粒、揮發性化學物質和氣體)。

【0340】在一些實施例中，氣喘是間歇性或運動誘發的氣喘，由於急性或慢性原發或暴露於二手「煙」(通常是香煙、雪茄、煙斗)，吸入或「吸氣」(煙草、大麻或其他物質) 引起的氣喘，或因近期攝入阿司匹林或相關 NSAIDS 引發的氣喘。在一些實施例中，氣喘是輕度氣喘或皮質類固醇初治氣喘、新診斷和未治療的氣喘，或以前不需要長期使用吸入的局部或全身性類固醇來控制症狀 (咳嗽、哮喘、呼吸急促/呼吸困難或胸痛)。在一些實施例中，氣喘是慢性、皮質類固醇抗性氣喘、皮質類固醇難治性氣喘、不受皮質類固醇或其他慢性氣喘控製藥物控制的氣喘。在一些實施例中，自體免疫疾病、炎性疾病、纖維化疾病、嗜中性細胞疾病或嗜酸性細胞疾病為肺纖維化。在一些實施例中，肺纖維化是特發性肺纖維化 (idiopathic pulmonary fibrosis，IPF)。在一些實施例中，自體免疫病症、炎性病症、纖維化病症、顆粒細胞性 (嗜中性或嗜酸性) 病症，單核細胞性病症或淋巴細胞性病症是食道炎、過敏性鼻炎、非過敏性鼻

炎、鼻竇炎伴隨鼻瘜肉、鼻瘜肉、支氣管炎、慢性肺炎、過敏性支氣管肺麴菌病、呼吸道炎症、過敏性鼻炎、支氣管擴張及/或慢性支氣管炎。

【0341】在一些實施例中，自體免疫疾病、炎性疾病、纖維化疾病、顆粒細胞性 (嗜中性或嗜酸性) 疾病、單核細胞性疾病或淋巴細胞性疾病為關節炎。在一些實施例中，關節炎是類風濕性關節炎。在一些實施例中，關節炎是骨關節炎、類風濕性關節炎、少年性關節炎、少年類風濕性關節炎、早期關節炎、多關節類風濕性關節炎、全身發作性類風濕性關節炎、腸病性關節炎、反應性關節炎、牛皮癬性關節炎及/或受傷引起的關節炎。

【0342】在一些實施例中自體免疫疾病、炎性疾病、纖維化疾病、顆粒細胞性 (嗜中性或嗜酸性) 疾病、單核細胞性疾病或淋巴細胞性疾病為胃腸道炎症。在一些實施例中，胃腸道炎症為 IBD (炎性腸病)、潰瘍性結腸炎 (UC)、克羅恩氏病 (Crohn's disease，CD)、結腸炎 (例如，由環境侵害引起的結腸炎 (例如，由治療方案引起或相關，例如化學療法、放射療法等)、傳染性結腸炎、缺血性結腸炎、膠原性或淋巴細胞性結腸炎、壞死性小腸結腸炎、例如在慢性肉芽腫性疾病或乳糜瀉病、食物過敏、胃炎、胃腸炎、傳染性胃炎或小腸結腸炎(例如幽門螺桿菌感染的慢性活動性胃炎)以及其他由傳染病引起的胃腸道炎症所引起的結腸炎，或不確定性結腸炎。

【0343】在一些實施例中，自體免疫疾病、炎性疾病、纖維化疾病、顆粒細胞性 (嗜中性或嗜酸性) 疾病、單核細胞性疾病或淋巴細胞性疾病、或與正常或異常組織駐留細胞 (例如肥大細胞、巨噬細胞或淋巴細胞) 或基質細胞 (例如纖維母細胞、肌纖維母細胞、平滑肌細胞、上皮細胞或內皮細胞) 為狼瘡或全身性紅斑狼瘡 (Systemic Lupus Erythematosus，SLE)，或一種或多種狼瘡的器官特異性表現 (例如，影響腎臟的狼瘡腎炎 (lupus nephritis，LN)、或影響血液及/或淋巴器官 (淋巴結、脾、胸腺和相關的淋巴管) 及/或關節及/或其他器官，

但不一定腎的腎外狼瘡 (extra-renal lupus，ERL))。在一些實施例中，自體免疫疾病、炎性疾病或纖維化性疾病是關於敗血症及/或創傷、HIV 感染或特發性(病因學未知) 例如 ANCA 相關的血管炎 (AAV)、肉芽腫合併多血管炎 (以前稱為韋格納 (Wegener's) 肉芽腫)、貝塞特氏病 (Behcet's disease)、心血管疾病、嗜酸性細胞支氣管炎、賴特氏症候群 (Reiter's Syndrome)、SEA 症候群 (血清陰性、腸病、關節炎症候群)、強直性脊柱炎、皮肌炎、硬皮病，例如全身性硬皮病 (亦稱為全身性硬化症)、血管炎 (例如巨大細胞動脈炎 (Giant Cell Arteritis，GCA)，也稱為顳動脈炎、顱動脈炎或霍頓病 (Horton))、肌炎、多發性肌炎、皮肌炎、結節性多發性動脈炎、動脈炎、風濕性肌痛、結節病、原發性膽管硬化症、硬化性膽管炎、乾燥症候群 (Sjogren's syndrome)、牛皮癬、斑塊狀牛皮癬、滴狀牛皮癬、逆牛皮癬、膿皰型牛皮癬、紅皮病性牛皮癬、皮炎、特應性皮炎、天皰瘡 (例如尋常性天皰瘡)、動脈粥樣硬化、狼瘡、Still 氏病、重症肌無力、乳糜瀉、復發-緩解型 (RRMS) 或原發進行性 (PPMS) 或繼發進行性 (SPMS) 亞型的多發性硬化症 (Ms)、格林-巴利 (Guillain-Barre) 病、第 I 型糖尿病 (T1DM) 或胰島素依賴型 (IDDM) 或青少年 DM 型、甲狀腺炎 (例如 Graves 病)、腹腔疾病、Churg-Strauss 症候群、肌痛症候群、嗜酸性細胞增多症候群、水腫反應包括發作性血管性水腫、蠕蟲感染、盤尾性皮炎、嗜酸性細胞食管炎、嗜酸性細胞腸炎、嗜酸性細胞結腸炎、阻塞性睡眠呼吸暫停、心內膜纖維化、艾迪生氏 (Addison) 病、雷諾氏 (Raynaud) 病或現象、自體免疫性肝炎、移植物抗宿主病 (GVHD) 或器官移植排斥反應。

【0344】 本發明之免疫複合體 (及任何其他治療劑) 可藉由任何合適的方式投予，包括腸胃外、肺內和鼻內投予，並且如果需要局部治療，則可以採用病灶內投予。腸胃道外輸注包括肌肉內、靜脈內、動脈內、腹膜內或皮下投予。給藥可藉由任何合適的途徑進行，例如藉由注射，例如靜脈內或皮下注

射，部分取決於短暫給藥還是長期投予。本文中考慮各種給藥方案，其包括但不限於在多種時間點單次或多次投予、快速注射投予和脈衝輸注。

【0345】 本發明之抗體將按照與良好醫學實踐一致的方式進行配製、給藥和投予。此背景中考慮的因素包括待治療的具體障礙、待治療的具體哺乳動物、個體患者的臨床病症、障礙的原因、遞送藥物的部位、投予方法、投予日程及醫療從業者已知的其他因素。該抗體並非必須、但可以任選與一種或多種目前用於預防或治療所述疾病之藥劑一起配製。此等其他治療劑的有效量取決於存在於調製劑中存在的抗體量、病症或治療的類型以及上文討論的其他因素。這些藥物通常以與本文中所述相同的劑量和投予途徑，或本文中所述劑量的約 1% 至 99%，或以經驗上/臨床上確定為適當的任意劑量和藉由任意途徑使用。

【0346】 對於疾病的預防或治療，本發明之抗體的適當劑量 (單獨使用或與一種或多種其他治療劑組合使用) 將取決於待治療的疾病的類型、抗體的類型、疾病的嚴重度和病程、為了預防或是治療的目的投予該抗體、之前的治療、患者的臨床病史和對該抗體的反應及主治醫師的判斷。在一次或一系列的治療中適宜地對患者投予抗體。根據疾病的類型和嚴重程度不同，約 1 μg/kg 至 15 mg/kg (例如 0.5mg/kg - 10 mg/kg) 的抗體可為用於向病患投予的初始候選劑量，無論是例如藉由一次或多次單獨投予，還是通過連續輸注。根據上述因素，一種典型的日劑量可在約 1 μg/kg 至 100 mg/kg 或更多的範圍內。對於在幾天或更長時間內重複投予，視病症而定，治療通常將持續直至出現所需的疾病症狀抑制。抗體的一種例示性劑量將在從 0.05 mg/kg 至約 10 mg/kg 的範圍內。因此，可以對患者投予約 0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg 或 10 mg/kg 中的一種或多種劑量 (或其任意組合)。此等劑量可間歇投予，例如每週或每三週投予 (*例如*使病患接受約 2 至約 20 或.*例如*約 6 個劑量的抗體)。可以投予初始較高的

負荷劑量，然後投予一種或多種較低的劑量。例示性的給藥方案包括投予約 4 mg/kg 的初始負荷劑量，然後每週約 2 mg/kg 的抗體維持劑量。但是，可以使用其他劑量方案。藉由習用技術和測定很容易監測此治療的進展。

【0347】 **II. 製成品**

【0348】 本發明的另一方面提供包含用於治療、預防和/或診斷上述疾病的製成品。製成品包括容器及容器上或與容器相關的標籤或包裝說明書。合適的容器包括例如 瓶、小瓶、注射器、IV 溶液袋等。容器可由多種材料例如玻璃或塑膠形成。該容器可容納組成物，該組成物本身或與有效治療、預防和/或診斷疾病的另一組成物結合使用，並可能具有無菌入口 (例如，容器可為具有可藉由皮下注射針頭穿孔的塞子的靜脈內溶液袋或小管)。組成物中的至少一種活性劑為本發明之抗體。標籤或包裝說明書指示該組成物用於治療所選擇的疾病。此外，該製品可以包括 (a) 其中包含有組成物的第一容器，其中，該組成物包含本發明之抗體；及 (b) 其中包含有組成物的第二容器，其中，組成物包含其他細胞毒性或其他治療劑。本發明之此實施例中的製成品可以進一步包含指示組成物可以用於治療具體疾病的包裝說明書。可替代地或另外地，製成品可以進一步包含第二 (或第三) 容器，該容器包含醫藥上可接受之緩衝劑，例如抑菌注射用水 (BWFI)、磷酸鹽緩衝鹽水、Ringer 溶液和葡萄糖溶液。從商業和使用者的角度來看，它可以進一步包含其他材料，其中包括其他緩衝劑、稀釋劑、過濾器、針頭和注射器。

【0349】 <u>在以下本發明特定實施例中列出：</u>

1. 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二不同抗原結合位點，其中，該雙特異性抗體包含人類 IgG 同型，較佳為 IgG1 同型的 Fc 域。

2. 根據實施例 1 的雙特異性抗體，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列。

3. 根據實施例 2 的雙特異性抗體，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 55 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 49 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 50 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 51 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 56 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 52 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 53 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 54 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 23 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 17 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 18 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 19 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 24 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 20 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 21 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 22 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 15 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 9 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 10 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 11 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 16 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 12 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 13 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 14 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 7 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 1 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 2 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 3 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 8 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 4 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 5 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 6 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 31 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 25 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 26 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 27 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 32 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 28 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 29 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 30 之胺基酸序列。

4. 如請求項 1 至 3 中任一項之雙特異性抗體，其中，該包含人類 IgG 同型的 Fc 域之雙特異性抗體為包含人類 IgG1 同型的恆定重鏈域之雙特異性抗體。

5. 根據實施例 4 的雙特異性抗體，其中，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠時，與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G (Kabat EU 編號) 的人類 IgG1 同型的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml/天/kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型的恆定重鏈域的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml/天/kg) 高至少兩倍 (在一個實施例中高至少 5 倍，在一個實施例中高至少 10 倍，在一個實施例中高至少 20 倍)。

6. 一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二不同表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，雙特異性抗體包含人類 IgG 同型的 Fc 域，其中，

i) 所述第一抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 39 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 33 之胺基酸序列；(b)

CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 34 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 35 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 40 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 36 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 37 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 38 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點與抗體一樣結合 CCL2 上的相同表位，該抗體包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 47 之胺基酸序列，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 41 之胺基酸序列；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 42 之胺基酸序列；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 43 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 48 之胺基酸序列，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 44 之胺基酸序列；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 45 之胺基酸序列；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 46 之胺基酸序列。

7. 根據實施例 6 的雙特異性抗體，其中，在與投予包含含有突變 L234A、L235A、P329G (Kabat EU 編號) 的人類 IgG1 同型的 Fc γ 受體靜默恆定重鏈域的雙特異性抗體後的人類 CCL2 體內清除率 (ml /天/ kg) 相比，投予包含人類野生型 IgG1 同型的恆定重鏈域的雙特異性抗體後，人類 CCL2 的體內清除率 (ml /天/ kg) 高至少 15 倍 (特別是高至少 20 倍)，當由 20 mg/kg 的各雙特異性抗體及 0.1 mg/kg 人類 CCL2 所組成的預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 FcRn 轉基因小鼠。

8. 一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；

並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-

L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

9. 一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ IDNO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2FX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；(d) FR-H1，其包含 SEQ ID NO: 63 之胺基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTF；(e) FR-H2，其包含 SEQ ID NO: 64 之胺基酸序列 WVRQAPGQGLEWMG；(f) FR-H3，其包含 SEQ ID NO: 65 之胺基酸序列 RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR；及 (g) FR-H4，其包含 SEQ ID NO: 66 之胺基酸序列 WGQGTLVTVSS；

及

VL 域，其包含：(h) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(i) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (j) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；(k) FR-L1，其包含 SEQ ID NO: 67 之胺基酸序列 EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC；(l) FR-L2，其包含 SEQ ID NO: 68 之

胺基酸序列 WYQQKPGQAPRLLIY；(m) FR-L3，其包含 SEQ ID NO: 69 之胺基酸序列 GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC；及 (n) FR-L4，其包含 SEQ ID NO: 70 之胺基酸序列 GQGTKVEIK；

並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；(d) FR-H1，其包含 SEQ ID NO: 82 之胺基酸序列 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGLTIS；(e) FR-H2，其包含 SEQ ID NO: 83 之胺基酸序列 WVRQAPGQGLEWMG；(f) FR-H3，其包含 SEQ ID NO: 84 之胺基酸序列 RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR；及 (g) FR-H4，其包含 SEQ ID NO: 85 之胺基酸序列 WGQGTTVTVSS；

及

VL 域，其包含：(h) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^{1} 為 F 或 T 且 X^{2} 為 R 或 L；(i) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；(j) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；(k) FR-L1，其包含 SEQ ID NO: 86 之胺基酸序列 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC；(l) FR-L2，其包含 SEQ ID NO: 87 之胺基酸序列 WYQQKPGKAPKLLIH；(m) FR-L3，其包含 SEQ ID

NO: 88 之胺基酸序列 GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC；

及 (n) FR-L4，其包含 SEQ ID NO: 89 之胺基酸序列 FGGGTKVEIK。

10. 一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

J) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

K) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

L) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

M) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

或者

N) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

O) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

P) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列。

11. 一種 (單離的) 雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位 (特異性地) 結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位 (特異性地) 結合的第二抗原結合位點，

其中，

A) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W；

或者

B) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸

序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W；

或者

C) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^{1} 為 F 或 T 且 X^{2} 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

D) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^{1} 為 V、I 或 H，X^{2} 為 P 或 H，且 X^{3} 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

E) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79

之胺基酸序列 KAX[1]EDIYNRX[2]A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

F) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX[1]IX[2]IFX[3]TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸

序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

G) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

H) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

I) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

J) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

K) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

L) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

M) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序

列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

N) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76

之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

O) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61

之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R；

或者

P) i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 GX^{1}IX^{2}IFX^{3}TANYAQKFQG，其中，X^1

為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VH 域包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列具有至少 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 的序列同一性，其中，該 VL 域包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

12. 根據實施例 8 至 11 中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體為人類 IgG 同型，較佳為人類 IgG1 同型的 Fc 域。

13. 根據實施例 8 至 11 中任一者的雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含人類 IgG 同型，較佳為人類 IgG1 同型的恆定域。

14. 根據前述實施例中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體

i) 在活體外阻斷 CCL2 與其受體 CCR2 的結合 (報導基因測定，IC_{50} = 0.5 nM)；及/或

ii) 在活體外抑制骨髓細胞的 CCL2 介導趨化性 (IC_{50} = 1.5 nM)；及/或

iii) 與食蟹獼猴及人類 CCL2 有交叉反應。

15. 根據任一實施例中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體與其他 CCL 同源物無交叉反應 (顯示與結合 CCL2 相比，與其他 CCL 同源物 (選自 CCL8、CCL7 和 CCL13 的組) 的結合降低 100 倍。

16. 根據前述實施例中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體以離子依賴性方式與人類 CCL2 上的第一和第二表位結合。

17. 根據前述實施例中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體以 pH 依賴性方式與人類 CCL2 結合，且其中，該第一抗原結合位點和該第二抗原結合位點均在中性 pH 下以比在酸性 pH 下更高的親和力與 CCL2 結合。

18. 根據前述實施例中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體在 pH 7.4 下以比在 pH 5.8 下高 10 倍的親和力與人類 CCL2 結合。

19. 根據前述請求項中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L234Y、L235W、G236N、P238D、T250V、V264I、T307PH268D、Q295L、K326T 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T (適於增加對 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

20. 根據前述實施例中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

21. 根據前述任一實施例的雙特異性抗體，其中，所述雙特異性抗體包含含有下列突變 (Kabat EU 編號)的人類 IgG1 重鏈恆定域

i) Q311R 及 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L235W、G236N、H268D、Q295L、K326T 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

22. 根據前述請求項中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域

i) Q311R 及/或 P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及/或

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307V 及/或 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T (適於增加對 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E (適於抑制類風濕因子結合)。

23. 根據前述請求項中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域

i) Q311R 及/ P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307V 及 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) M428L、N434A 及 Y436T (適於增加對 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子) 結合。

24. 根據前述請求項中任一項之雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含含有以下突變 (Kabat EU 編號) 中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域

i) Q311R 及/ P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；及

ii) L234Y、P238D、T250V、V264I、T307V 和 A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和降低與其他人類 FcgR 的親和力)；及

iii) N434A (適於增加對 FcRn 的親和力以延長血漿半衰期)；及

iv) Q438R 和 S440E (適於抑制類風濕因子) 結合。

25. 根據前述任一實施例的雙特異性其中，所述雙特異性抗體包含含有下列突變 (EU 編號)的二種人類 IgG1 重鏈恆定域

i) 在重鏈恆定域之一中的 S354C 和 T366W

ii) 在其他重鏈恆定域中的 Y349C、T366S、L368A、Y407V

26. 一種與人類 CCL2 (特異性地) 結合的 (單離的) 抗體，

其中，該抗體包含

A) VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I 或 T；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，且 X^3 為 H 或 G；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT；

或者

B) VH 域，其包含：(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D 或 E；及 (c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E；

及

VL 域，其包含：(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 $KAX^1EDIYNRX^2A$，其中，X^1 為 F 或 T 且 X^2 為 R 或 L；(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及 (f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R。

27. 一種與人類 CCL2 (特異性地) 結合的 (單離的) 抗體，

其中，該抗體包含

A) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

B) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 72 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

C) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 73 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

D) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 74 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列；

或者

E) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

F) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

G) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 92 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列；

或者

H) VH 域，其包含 SEQ ID NO: 90 之胺基酸序列；

及 VL 域，其包含 SEQ ID NO: 94 之胺基酸序列；

28. 編碼根據前述任一實施例的抗體的單離的核酸。

29. 一種宿主細胞，其包含如實施例 28 的核酸。

30. 一種產生抗體的方法，其包含培養實施例 29 的宿主細胞，從而產生抗體。

31. 如實施例第 30 項之方法，其進一步包含自該宿主細胞回收該抗體。

32. 一種醫藥調配物，其包含根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體及醫藥上可接受之載體。

33. 根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體，其用作藥物。

34. 根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體，其用於治療癌症。

35. 根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體，其用於治療炎性疾病或自體免疫疾病。

36. 根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體在製造藥物中之用途。

37. 如實施例 36 之用途，其中，該藥物用於治療癌症。

38. 如實施例 36 之用途，其中，該藥物用於治療炎性疾病或自體免疫疾病。

39. 一種治療罹患癌症之個體的方法，其包含對該個體投予有效量的根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體。

40. 一種治療罹患炎性疾病或自體免疫疾病之個體的方法，其包含向該個體投予有效量的根據實施例 1 至 25 中任一項之雙特異性抗體。

【0350】 提供以下實施例和圖式以幫助理解本發明，其真實範圍在後附之申請專利範圍中闡明。應理解的是，在不背離本發明精神的前提下，可對所提出的方法進行修改。

【0351】 <u>胺基酸序列說明</u>

【0352】與不同表位結合的抗 CCL2 抗原結合部分 (可變區和高度可變區 (CDR))：

SEQ ID NO:	1	重鏈 CDR-H1	1A4	WIC
SEQ ID NO:	2	重鏈 CDR-H2	1A4	CIGAGSSGSTYYASWAKG
SEQ ID NO:	3	重鏈 CDR-H3	1A4	TGTEFTYYSL
SEQ ID NO:	4	輕鏈 CDR-L1	1A4	QASQSVYNNNMA
SEQ ID NO:	5	輕鏈 CDR-L2	1A4	TASSLAS
SEQ ID NO:	6	輕鏈 CDR-L3	1A4	AGYKSYSNDEYG
SEQ ID NO:	7	重鏈可變域 VH	1A4	QSLEESGGDLVKPGASLTLTCTASELD FYWICWVRQAPGKGLEWIACIGAGSS GSTYYASWAKGRFTVSKTSSTTVTLQ MTSLTAADTATYFCARTGTEFTYYSL WGPGTLVTVSS
SEQ ID NO:	8	輕鏈可變域 VL	1A4	ALVMTQTPSSVSAAVGGTVTINCQAS QSVYNNNMAWYQQKPGQPPKLLIYT ASSLASGVPSHFRGSGSGTQFTLTISD LESDDAATYYCAGYKSYSNDEYGFG GGTEVVVK
SEQ ID NO:	9	重鏈 CDR-H1	1A5	TSYWMC
SEQ ID NO:	10	重鏈 CDR-H2	1A5	CISSSIGVTYYASWAEG
SEQ ID NO:	11	重鏈 CDR-H3	1A5	TTDDNWNVGFNL

SEQ ID NO:	12	輕鏈 CDR-L1	1A5	QASQSIGNRYLS
SEQ ID NO:	13	輕鏈 CDR-L2	1A5	GTSTLAS
SEQ ID NO:	14	輕鏈 CDR-L3	1A5	QQGATISYLDNA
SEQ ID NO:	15	重鏈可變域 VH	1A5	QEQLVESGGDLVKPEGSLTLTCTASG FSFSTSYWMCWVRQAPGKGLELIACI SSSIGVTYYASWAEGRFTISKTSSTTV TLQMTSLTVADTATYFCARTTDDNW NVGFNLWGPGTLVTVSS
SEQ ID NO:	16	輕鏈可變域 VL	1A5	AYDMTQTPASVEVGVGGTVTIKCQA SQSIGNRYLSWYQQKPGQPPKLLIYG TSTLASGVSSRFKGSGSGTQFTLTISG VESADSATYYCQQGATISYLDNAFGG GTEVVVK
SEQ ID NO:	17	重鏈 CDR-H1	1G9	LYSYMC
SEQ ID NO:	18	重鏈 CDR-H2	1G9	CVDAGASGSTYYASWAKG
SEQ ID NO:	19	重鏈 CDR-H3	1G9	GILYYTWPYPAGAIDAFDS
SEQ ID NO:	20	輕鏈 CDR-L1	1G9	QASESISNYLS
SEQ ID NO:	21	輕鏈 CDR-L2	1G9	KASTLAS
SEQ ID NO:	22	輕鏈 CDR-L3	1G9	QQSYSSSNVFNT
SEQ ID NO:	23	重鏈可變域 VH	1G9	QSLEESGGDLVKPGASLTLTCKASGID FSLYSYMCWVRQAPGKGLEWIACVD AGASGSTYYASWAKGRFTISKTSSTT

				VTLQMTSLTAADTATYFCARGILYYT WPYPAGAIDAFDSWGPGTLVTVSS
SEQ ID NO:	24	輕鏈可變域 VL	1G9	AYDMTQTPASVSEPVGGTVTIKCQAS ESISNYLSWYQQKPGQPPKLLIYKAST LASGVPSRFKGSGSGTEYTVTISGVQS DDAATYYCQQSYSSSNVFNTFGGGTE VVVK
SEQ ID NO:	25	重鏈 CDR-H1	2F6	NNYYMC
SEQ ID NO:	26	重鏈 CDR-H2	2F6	CISTDDSNTHYASWAQG
SEQ ID NO:	27	重鏈 CDR-H3	2F6	DAHFTSYGYGFDL
SEQ ID NO:	28	輕鏈 CDR-L1	2F6	RASEDIENLVA
SEQ ID NO:	29	輕鏈 CDR-L2	2F6	QASKLAS
SEQ ID NO:	30	輕鏈 CDR-L3	2F6	QGDYGSGWIMYS
SEQ ID NO:	31	重鏈可變域 VH	2F6	QSLEESGGGLVQPEGSLTLTCTASGFS FNNNYYMCWVRQAPGKGLEWIGCIS TDDSNTHYASWAQGRFTISKASSTAL TLQVAGLTVADMATYFCARDAHFTS YGYGFDLWGPGTLVTVSS
SEQ ID NO:	32	輕鏈可變域 VL	2F6	DIVMTQTPASVSAAVGGTVSINCRAS EDIENLVAWYQQKPGQPPKLLIYQAS KLASGVPSRFKGSGSGAEFTLTIGDLE SADAATYYCQGDYGSGWIMYSFGGG TDLVVK
SEQ ID NO:	33	重鏈 CDR-H1	CNTO888	SYGIS

SEQ ID NO:	34	重鏈 CDR-H2	CNTO888	GIIPIFGTANYAQKFQG
SEQ ID NO:	35	重鏈 CDR-H3	CNTO888	YDGIYGELDF
SEQ ID NO:	36	輕鏈 CDR-L1	CNTO888	RASQSVSDAYLA
SEQ ID NO:	37	輕鏈 CDR-L2	CNTO888	DASSRAT
SEQ ID NO:	38	輕鏈 CDR-L3	CNTO888	HQYIQLHSFT
SEQ ID NO:	39	重鏈可變域 VH	CNTO888	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GGTFSSYGISWVRQAPGQGLEWMGGI IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTST AYMELSSLRSEDTAVYYCARYDGIYG ELDFWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:	40	輕鏈可變域 VL	CNTO888	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQS VSDAYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASS RATGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCHQYIQLHSFTFGQGTKVEI K
SEQ ID NO:	41	重鏈 CDR-H1	人源化 11K2 (= 11K2)	DTYMH
SEQ ID NO:	42	重鏈 CDR-H2	人源化 11K2 (= 11K2)	RIDPANGNTKFDPKFQG
SEQ ID NO:	43	重鏈 CDR-H3	人源化 11K2 (= 11K2)	GVFGFFDY
SEQ ID NO:	44	輕鏈 CDR-L1	人源化 11K2 (= 11K2)	KATEDIYNRLA
SEQ ID NO:	45	輕鏈 CDR-L2	人源化 11K2 (= 11K2)	GATSLET
SEQ ID NO:	46	輕鏈 CDR-L3	人源化 11K2 (= 11K2)	QQFWSAPYT

SEQ ID NO:	47	重鏈可變域 VH	人源化 11K2 (= 11K2)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GLTISDTYMHWVRQAPGQGLEWMG RIDPANGNTKFDPKFQGRVTITADTST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVFG FFDYWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:	48	輕鏈可變域 VL	人源化 11K2 (= 11K2)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKATE DIYNRLAWYQQKPGKAPKLLISGATS LETGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPE DFATYYCQQFWSAPYTFGGGTKVEIK
SEQ ID NO:	49	重鏈 CDR-H1	ABN912	HYWMS
SEQ ID NO:	50	重鏈 CDR-H2	ABN912	NIEQDGSEKYYVDSVKG
SEQ ID NO:	51	重鏈 CDR-H3	ABN912	DLEGLHGDGYFDL
SEQ ID NO:	52	輕鏈 CDR-L1	ABN912	RASQGVSSALA
SEQ ID NO:	53	輕鏈 CDR-L2	ABN912	DASSLES
SEQ ID NO:	54	輕鏈 CDR-L3	ABN912	QQFNSYPLT
SEQ ID NO:	55	重鏈可變域 VH	ABN912	EVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCAASG FTFSHYWMSWVRQAPGKGLEWLANI EQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKN SLYLQMNSLRAEDTAVYFCARDLEGL HGDGYFDLWGRGTLVTVSS
SEQ ID NO:	56	輕鏈可變域 VL	ABN912	AIQLTQSPSSLSASVGDRVILTCRASQ GVSSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFSGSGSGPDFTLTISSLQPE DFATYFCQQFNSYPLTFGGGTKVEIK

【0353】 CDR 修飾抗 CCL2 抗原結合部分 (可變區和高度可變區 (CDR))：

【0354】 修飾的 CNTO888

SEQ ID NO:	57	重鏈 CDR-H1	突變的變異體 CNTO888	SHYGXS，其中， X 為 I 或 T
SEQ ID NO:	58	重鏈 CDR-H2	突變的變異體 CNTO888	$GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V、I 或 H，X^2 為 P 或 H，X^3 為 H 或 G
SEQ ID NO:	59	重鏈 CDR-H3	突變的變異體 CNTO888	YDAHYGELDF
SEQ ID NO:	60	輕鏈 CDR-L1	突變的變異體 CNTO888	RASQHVSDAYLA
SEQ ID NO:	61	輕鏈 CDR-L2	突變的變異體 CNTO888	DASDRAE
SEQ ID NO:	62	輕鏈 CDR-L3	突變的變異體 CNTO888	HQYIHLHSFT
SEQ ID NO:	63	重鏈 FR-H1	突變的變異體 CNTO888	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TF
SEQ ID NO:	64	重鏈 FR-H2	突變的變異體 CNTO888	WVRQAPGQGLEWMG
SEQ ID NO:	65	重鏈 FR-H3	突變的變異體 CNTO888	RVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVY YCAR
SEQ ID NO:	66	重鏈 FR-H4	突變的變異體 CNTO888	WGQGTLVTVSS
SEQ ID NO:	67	輕鏈 FR-L1	突變的變異體 CNTO888	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC
SEQ ID NO:	68	輕鏈 FR-L2	突變的變異體 CNTO888	WYQQKPGQAPRLLIY
SEQ ID NO:	69	輕鏈 FR-L3	突變的變異體 CNTO888	GVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAV YYC
SEQ ID NO:	70	輕鏈 FR-L4	突變的變異體 CNTO888	GQGTKVEIK

SEQ ID NO:	71	重鏈可變域 VH	突變變異體 CNTO888 H0695	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSHYGISWVRQAPGQGLEWMGGVIPIF HTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARYDAHYGELDFWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO:	72	重鏈可變域 VH	突變變異體 CNTO888 H0625	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSHYGISWVRQAPGQGLEWMGGIIHIF HTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARYDAHYGELDFWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO:	73	重鏈可變域 VH	突變變異體 CNTO888 H0634	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSHYGTSWVRQAPGQGLEWMGGIIHIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARYDAHYGELDFWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO:	74	重鏈可變域 VH	突變變異體 CNTO888 H0635	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGG TFSHYGISWVRQAPGQGLEWMGGHIHIF GTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMEL SSLRSEDTAVYYCARYDAHYGELDFWG QGTLVTVSS
SEQ ID NO:	75	輕鏈可變域 VL	突變變異體 CNTO888 L0616	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQHV SDAYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASDRA EGVPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFA VYYCHQYIHLHSFTFGQGTKVEIK

【0355】修飾的人源化 11K2

SEQ ID NO:	76	重鏈 CDR-H1	突變變異體人源化 11K2	HTYMH
SEQ ID NO:	77	重鏈 CDR-H2	突變變異體人源化 11K2	RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中， X 為 D 或 E
SEQ ID NO:	78	重鏈 CDR-H3	突變變異體人源化 11K2	GVFGFFXH，其中，X 為 D 或 E

SEQ ID NO:	79	輕鏈 CDR-L1	突變變異體人源化 11K2	KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中， X^1 為 F 或 T，X^2 為 R 或 L
SEQ ID NO:	80	輕鏈 CDR-L2	突變變異體人源化 11K2	GATSLEH
SEQ ID NO:	81	輕鏈 CDR-L3	突變變異體人源化 11K2	QQFXSAPYT，其中，X 為 W 或 R
SEQ ID NO:	82	重鏈 FR-H1	突變變異體人源化 11K2	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGLTIS
SEQ ID NO:	83	重鏈 FR-H2	突變變異體人源化 11K2	WVRQAPGQGLEWMG
SEQ ID NO:	84	重鏈 FR-H3	突變變異體人源化 11K2	RVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
SEQ ID NO:	85	重鏈 FR-H4	突變變異體人源化 11K2	WGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:	86	輕鏈 FR-L1	突變的變異體 11K2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC
SEQ ID NO:	87	輕鏈 FR-L2	突變變異體人源化 11K2	WYQQKPGKAPKLLIH
SEQ ID NO:	88	輕鏈 FR-L3	突變變異體人源化 11K2	GVPSRFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYC
SEQ ID NO:	89	輕鏈 FR-L4	突變變異體人源化 11K2	FGGGTKVEIK
SEQ ID NO:	90	重鏈可變域 VH	突變變異體人源化 11K2 H1503	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGLTISHTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPDNHNTKFDPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVFGFFDHWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:	91	重鏈可變域 VH	突變變異體人源化 11K2 H1510	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGLTISHTYMHWVRQAPGQGLEWMGRIDPDNHNTKFDPKFQGRVTITADTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGVFGFFEHWGQGTTVTVSS

SEQ ID NO:	92	重鏈可變域 VH	突變變異體人源化 11K2 H1514	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GLTISHTYMHWVRQAPGQGLEWMG RIDPENHNTKFDPKFQGRVTITADTS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGV FGFFEHWGQGTTVTVSS
SEQ ID NO:	93	輕鏈可變域 VL	突變變異體人源化 11K2 L1338	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAF EDIYNRRAWYQQKPGKAPKLLIHGA TSLEHGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQFWSAPYTFGGGTK VEIK
SEQ ID NO:	94	輕鏈可變域 VL	突變變異體人源化 11K2 L1201	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKAT EDIYNRLAWYQQKPGKAPKLLIHGA TSLEHGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQFRSAPYTFGGGTK VEIK

【0356】例示性恆定輕鏈區：

SEQ ID NO: 95　例示性人類 κ 輕鏈恆定區

SEQ ID NO: 96　例示性人類 λ 輕鏈恆定區

【0357】例示性恆定重鏈區：

SEQ ID NO: 97　源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區

SEQ ID NO: 98　源自 IgG1 具有突變 L234A、L235A 和 P329G 的例示性人類重鏈恆定區 (Fcγ 受體靜默)

SEQ ID NO: 99　源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區 (SG1-IgG1 異型)

SEQ ID NO：100 源自具有突變的 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區 (SG105-IgG1 異型-Fcγ 受體靜默)

SEQ ID NO: 101　SG1095-源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L235W/G236N/H268D/Q295L/A330K/K326T (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合

SEQ ID NO: 102 SG1099-源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

Q311R/P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)

SEQ ID NO: 103 SG1100-源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-Q311R/P343R (適於於增加 pI 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

CNTO888//11K2-WT IgG1 (例示性雙特異性 CNTO888//11K2-WT IgG1 Crossmab)

SEQ ID NO: 104 重鏈 1- CNTO888//11K2-WT IgG1

SEQ ID NO: 105 重鏈 2- CNTO888//11K2-WT IgG1

SEQ ID NO: 106 輕鏈 1- CNTO888//11K2-WT IgG1

SEQ ID NO: 107 輕鏈 2- CNTO888//11K2-WT IgG1

CKLO2 – IgG1 (例示性雙特異性 CKLO2 IgG1 Crossmab)

SEQ ID NO: 108　重鏈 1- CKLO2 IgG1

SEQ ID NO: 109　重鏈 2- CKLO2 IgG1

SEQ ID NO: 110　輕鏈 1- CKLO2 IgG1

SEQ ID NO: 111　輕鏈 2- CKLO2 IgG1

CKLO2 – SG1095 (例示性雙特異性 CLOK2 Crossmab，包括 SG1095 Fc 突變)

SEQ ID NO: 112　重鏈 1- CKLO2 – SG1095

SEQ ID NO: 113　重鏈 2- CKLO2 – SG1095

SEQ ID NO: 114　輕鏈 1- CKLO2 – SG1095

SEQ ID NO: 115　輕鏈 2- CKLO2 – SG1095

CKLO2 – SG1099 (例示性雙特異性 CKLO2 Crossmab，包括 SG1099 Fc 突變)

SEQ ID NO: 116　重鏈 1- CKLO2 – SG1099

SEQ ID NO: 117　重鏈 2- CKLO2 – SG1099

SEQ ID NO: 118　輕鏈 1- CKLO2 – SG1099

SEQ ID NO: 119　輕鏈 2- CKLO2 – SG1099

CKLO2 – SG1100 (例示性雙特異性 CKLO2 Crossmab，包括 SG1100 Fc 突變)

SEQ ID NO: 120　重鏈 1- CKLO2 – SG1100

SEQ ID NO: 121　重鏈 2- CKLO2 – SG1100

SEQ ID NO: 122　輕鏈 1- CKLO2 – SG1100

SEQ ID NO: 123　輕鏈 2- CKLO2 – SG1100

CKLO3 – SG1095 (例示性雙特異性 CLOK3 Crossmab，包括 SG1095 Fc 突變)

SEQ ID NO: 124　重鏈 1- CKLO3 – SG1095

SEQ ID NO: 125　重鏈 2- CKLO3 – SG1095

SEQ ID NO: 126　輕鏈 1- CKLO3 – SG1095

SEQ ID NO: 127　輕鏈 2- CKLO3 – SG1095

CKLO3 – SG1099 (例示性雙特異性 CKLO3 Crossmab，包括 SG1099 Fc 突變)

SEQ ID NO: 128　重鏈 1- CKLO3 – SG1099

SEQ ID NO: 129　重鏈 2- CKLO3 – SG1099

SEQ ID NO: 130　輕鏈 1- CKLO3 – SG1099

SEQ ID NO: 131　輕鏈 2- CKLO3 – SG1099

CKLO3 – SG1100 (例示性雙特異性 CKLO3 Crossmab，包括 SG1100 Fc 突變)

SEQ ID NO: 132　重鏈 1- CKLO3 – SG1100

SEQ ID NO: 133　重鏈 2- CKLO3 – SG1100

SEQ ID NO: 134　輕鏈 1- CKLO3 – SG1100

SEQ ID NO: 135　輕鏈 2- CKLO3 – SG1100

【0358】其他抗 CCL2 抗原結合部分：

SEQ ID NO: 136　重鏈可變域 VH　2F2

SEQ ID NO: 137　輕鏈可變域 VL　2F2

SEQ ID NO: 138　重鏈可變域 VH　鼠類 11K2 (= 11K2m)

SEQ ID NO: 139　輕鏈可變域 VL　鼠類 11K2 (= 11K2m)

SEQ ID NO: 140　重鏈可變域 VH　1H11

SEQ ID NO: 141　輕鏈可變域 VL　1H11

【0359】例示性 CCL2 和同源物 (無信號肽)：

SEQ ID NO: 142　例示性人類 CCL2 (MCP1) - 野生型 (wt)

SEQ ID NO: 143　例示性的人類 CCL2 (MCP1) – P8A 變異體

SEQ ID NO: 144　例示性的人類 CCL2 (MCP1) – T10C 變異體

SEQ ID NO: 145　例示性人類 CCL8 (MCP2) -野生型 (wt)

SEQ ID NO: 146　例示性的人類 CCL8 (MCP2) – P8A 變異體

SEQ ID NO: 147　例示性人類 CCL7 (MCP3) - 野生型 (wt)

SEQ ID NO: 148　例示性人類 CCL13 (MCP4) - 野生型 (wt)

SEQ ID NO: 149　例示性食蟹獼猴 CCL2 - 野生型 (wt)

SEQ ID NO: 150　例示性小鼠 CCL2 - 野生型 (wt)

【0360】其他例示性恆定重鏈區：

SEQ ID NO: 151　GG01 - 源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

SEQ ID NO: 152　GG02 - 源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-M428L/N434A/Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

SEQ ID NO: 153 GG03 - 源自 IgG1 (包含 IgG1 異型序列) 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

SEQ ID NO: 154 GG04 - 源自 IgG1 (包含 IgG1 異型序列) 的人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-M428L/N434A/Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

CKLO2 – GG01 (例示性雙特異性 CLOK2 Crossmab，包括 GG01 Fc 突變)

SEQ ID NO: 155　重鏈 1- CKLO2 – GG01

SEQ ID NO: 156　重鏈 2- CKLO2 – GG01

SEQ ID NO: 157　輕鏈 1- CKLO2 – GG01

SEQ ID NO: 158　輕鏈 2- CKLO2 – GG01

CKLO2 – GG02 (例示性雙特異性 CLOK2 Crossmab，包括 GG02 Fc 突變)

SEQ ID NO: 159　重鏈 1- CKLO2 GG02

SEQ ID NO: 160　重鏈 2- CKLO2 GG02

SEQ ID NO: 161　輕鏈 1- CKLO2 GG02

SEQ ID NO: 162　輕鏈 2- CKLO2 GG02

CKLO2 – GG03 (例示性雙特異性 CLOK2 Crossmab，包括 GG03 Fc 突變)

SEQ ID NO: 163　重鏈 1- CKLO2 – GG03

SEQ ID NO: 164　重鏈 2- CKLO2 – GG03

SEQ ID NO: 165　輕鏈 1- CKLO2 – GG03

SEQ ID NO: 166　輕鏈 2- CKLO2 – GG03

CKLO2 – GG04 (例示性雙特異性 CKLO2 Crossmab，包括 GG04 Fc 突變)

SEQ ID NO: 167　重鏈 1- CKLO2 – GG04

SEQ ID NO: 168　重鏈 2- CKLO2 – GG04

SEQ ID NO: 169　輕鏈 1- CKLO2 – GG04

SEQ ID NO: 170　輕鏈 2- CKLO2 – GG04

CKLO2 – GG03/GG04 (例示性雙特異性 CKLO2 Crossmab，包括在杵狀物 (Knob) 鏈中的 GG03 Fc 突變和在臼狀物 (Hole) 鏈中的 GG04 Fc 突變)

SEQ ID NO: 171　重鏈 1- CKLO2 – GG03/GG04

SEQ ID NO: 172　重鏈 2- CKLO2 – GG03/GG04

SEQ ID NO: 173　輕鏈 1- CKLO2 – GG03/GG04

SEQ ID NO: 174　輕鏈 2- CKLO2 – GG03/GG04

【0361】用於本文所述之抗 CCL2 雙特異性抗體的指定單特異性未修飾的抗 CCL2 抗體/抗原結合部分

抗體/抗原結合位點	別名	VH/VL
1A4	CCL2-0008	SEQ ID NO:8/ SEQ ID NO:9
1A5	CCL2-0009	SEQ ID NO:15/ SEQ ID NO:16
1G9	CCL2-0010	SEQ ID NO:23/ SEQ ID NO:24
2F6	CCL2-0014	SEQ ID NO:31/ SEQ ID NO:32
CNTO888	CCL2-0004	SEQ ID NO:39/ SEQ ID NO:40
人源化 11K2 (= 11K2)	CCL2-0002	SEQ ID NO:47/ SEQ ID NO:48
ABN912	CCL2-0003	SEQ ID NO:55/ SEQ ID NO:56

【0362】指定具有*未修飾的 VH/VL* 的雙特異性抗 CCL2 為具有包括突變 L234A、L235A 和 P329G (PGLALA) 的 IgG1 或 IgG1 的 Crossmabs (參見 WO 2016/016299)

雙特異性抗 CCL2 抗體	別名
11K2//1G9-WT IgG1	CCL2-0049
11K2//1G9-PGLALA	CCL2-0043
CNTO888//11K2-WT IgG1	CCL2-0048
CNTO888//11K2-PGLALA	CCL2-0042
CNTO888//1G9-WT IgG1	CCL2-0051
CNTO888//1G9-PGLALA	CCL2-0045
CNTO888//1A5-WT IgG1	CCL2-0050
CNTO888//1A5-PGLALA	CCL2-0044
1A5//1G9-WT IgG1	CCL2-0052
1A5//1G9-PGLALA	CCL2-0046
11K2//2F6-WT IgG1	CCL2-0056
11K2//2F6-PGLALA	CCL2-0053
ABN912//11K2-WT IgG1	CCL2-0047
ABN912//11K2-PGLALA	CCL2-0041
1A4//2F6-WT IgG1	CCL2-0057
1A4//2F6-PGLALA	CCL2-0054
1A5//2F6-WT IgG1	CCL2-0058
1A5//2F6-PGLALA	CCL2-0055

【0363】指定具有修飾的 VH/VL 的雙特異性抗體為 Crossmab (參見 WO 2016/016299)。根據所使用的重鏈恆定域 (例如 IgG1 野生型，PGLALA，SG1095，SG1099、1100)，添加後綴 IgG1 野生型，PGLALA，SG1095，SG1099、1100

雙特異性 CCL2 抗體(和親本單特異性)	可變區名稱 (VH/VL)	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)
人源化 11K2 親本	11K2 VH/11K2 VL	47	48	-	-
CNTO888 親本	CNTO888 VH /CNTO888VL			39	40
CKLO01	11K2H1503/11K2L1338// CNTO888H0695/CNTO888L0616	90	93	71	75
CKLO02	11K2H1510/11K2L1338// CNTO888H0695/CNTO888L0616	91	93	71	75
CKLO03	11K2H1503/11K2L1201// CNTO888H0695/CNTO888L0616	90	94	71	75
CKLO04	11K2H1503/11K2L1201// CNTO888H0625/CNTO888L0616	90	94	72	75
CKLO05	11K2H1503/11K2L1338// CNTO888H0634/CNTO888L0616	90	93	73	75
CKLO06	11K2H1503/11K2L1201// CNTO888H0634/CNTO888L0616	90	94	73	75
CKLO07	11K2H1514/11K2L1338// CNTO888H0634/CNTO888L0616	92	93	73	75
CKLO08	11K2H1510/11K2L1338// CNTO888H0634/CNTO888L0616	91	93	73	75
CKLO09	11K2H1503/11K2L1338// CNTO888H0625/CNTO888L0616	90	93	72	75
CKLO10	11K2H1514/11K2L1338// CNTO888H0625/CNTO888L0616	92	93	72	75
CKLO11	11K2H1510/11K2L1338// CNTO888H0625/CNTO888L0616	91	93	72	75
CKLO12	11K2H1503/11K2L1338// CNTO888H0635/CNTO888L0616	90	93	74	75

雙特異性 CCL2 抗體(和親本單特異性)	可變區名稱 (VH/VL)	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)	VH (SEQ ID NO)	VL (SEQ ID NO)
CKLO13	11K2H1503/11K2L1201// CNTO888H0635/CNTO888L 0616	90	94	74	75
CKLO14	11K2H1514/11K2L1338// CNTO888H0635/CNTO888L 0616	92	93	74	75
CKLO15	11K2H1510/11K2L1338// CNTO888H0635/CNTO888L 0616	91	93	74	75
CKLO16	11K2H1514/11K2L1338// CNTO888H0695/CNTO888L 0616	92	93	71	75

【0364】**實例：**

【0365】**實施例 A-1 單特異性抗 CCL2 抗體**

【0366】單特異性抗 CCL2 抗體和 CCL2 抗原的生成

【0367】重組 DNA 技術

【0368】使用標準方法操作 DNA，如敘述於 Sambrook, J. 等人，Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989。根據製造商的說明書使用分子生物學試劑。

【0369】基因和寡核苷酸合成

【0370】在 Geneart GmbH (Regensburg, Germany)，藉由化學合成製備所需的基因片段。將合成的基因片段選殖至大腸桿菌質體中以進行增殖/擴增。藉由 DNA 定序驗證次選殖基因片段的 DNA 序列。或者，藉由降溫貼合 (annealing) 化學合成的寡核苷酸或經由 PCR 來組裝短的合成 DNA 片段。藉由 metabion GmbH (Planegg-Martinsried, Germany) 製備對應的寡核苷酸由。metabion GmbH (德國 Planegg-Martinsried) 製備。

【0371】基本/標準哺乳動物表現質體的描述

【0372】為了表現所需的基因/蛋白質 (例如全長抗體重鏈、全長抗體輕鏈或 CCL-2 分子)，使用包含下列功能元件的轉錄單元：

- 來自包括內含子 A 的人類細胞巨大病毒 (P-CMV) 的立即早期增強子和啟動子，
- 人類重鏈免疫球蛋白 5’ 非轉譯區 (5'UTR)，
- 鼠類免疫球蛋白重鏈信號序列，
- 欲表現之基因/蛋白質 (例如全長抗體重鏈或抗體輕鏈或 CCL-2 分子)，和
- 牛生長激素多腺核苷酸化序列 (BGH pA)。

【0373】除了包括所欲表達之基因的表現單元/盒外，基本/標準的哺乳動物表現質體含有

來自載體 pUC18 的複製起始點，其允許此質體在大腸桿菌中複製，及

β-內醯胺酶基因，其在大腸桿菌中賦予氨苄西林 (ampicillin) 抗性。

【0374】**用於重組單株抗體和 CCL-2 分子的表現質體的生成**

【0375】用於瞬時表現單株抗體和 CCL-2 抗原的表現質體除各自的表現盒外，亦包含來自載體 pUC18 的複製起始點 (其可允許該質體在大腸桿菌中複製)，及賦予大腸桿菌氨苄西林抗性的 β-內醯胺酶基因。

【0376】對應的免疫球蛋白 HC 或 LC 或 CCL-2 分子的轉錄單元包含以下功能元件：

- 來自包括內含子 A 的人類細胞巨大病毒 (P-CMV) 的立即早期增強子和啟動子，
- 人類重鏈免疫球蛋白 5’ 非轉譯區 (5'UTR)，
- 鼠類免疫球蛋白重鏈信號序列，及
- 牛生長激素多腺核苷酸化序列 (BGH pA)。

【0377】 **各別的抗體 1A4、1A5、1G9、2F6、CNTO888、鼠類及人源化 11K2、ABN912 基於它們的 VH 和 VL 被生成作為 IgG1 野生型 及作為 IgG1 PGLALA/具有 κ 輕鏈的效應子靜默 Fc**

【0378】 **瞬時表現與純化**

【0379】 藉由瞬時轉染在 F17 培養基 (Invitrogen Corp.) 中培養的 HEK293 細胞 (人類胚胎腎細胞株 293 來源) 執行重組生產。為了產生單株抗體，將細胞與含有各別免疫球蛋白重鏈及輕鏈的質體共轉染。對於轉染，使用「293-Fectin」轉染試劑 (Invitrogen)。按照製造商的說明執行轉染。轉染後三至七 (3-7) 天收穫細胞培養上清液。將上清液在降低的溫度 (例如 -80°C) 下保存。

【0380】 關於人類免疫球蛋白在例如 HEK293 細胞中的重組表現的一般訊息，提供於：Meissner, P. 等人，Biotechnol. Bioeng. 75 (2001) 197-203。

【0381】 使用 MabSelectSure-SepharoseTM (GE Healthcare，Sweden) 和 Superdex 200 粒徑篩析 (GE Healthcare，Sweden) 層析，藉由親和性層析從細胞培養上清液中純化抗體。簡而言之，在以 PBS 緩衝液 (10 mM Na2HPO4、1 mM KH2PO4、137 mM NaCl 及 2.7 mM KCl，pH 7.4) 平衡的 MabSelect SuRe 樹脂上捕獲無菌過濾的細胞培養上清液，以平衡緩衝液洗滌並以 25 mM 檸檬酸鈉在 pH 3.0 下溶析。合併溶析的蛋白質餾分，以 pH 9.0 的 2M Tris 中和，並使用以 20mM 組胺酸，140mM NaCl，pH 6.0 平衡的 Superdex 200 26/60 GL (GE Healthcare, Sweden) 管柱，藉由粒徑篩析層析法進一步純化。藉由 CE-SDS (Caliper Life Science，USA) 分析粒徑篩析層析餾分，並將包含抗體的餾分合併並儲存在 -80°C。

【0382】 **重組 CCL2 的生成**

【0383】 野生型 CCL2 可以作為單體存在，但實際上也可在生理濃度下形成二聚體。此單體-二聚體的平衡可能是不同的，在所有可能使用不同濃度的

*活體外*實驗中，都必須謹慎考慮。為了避免任何不確定性，我們生成了點突變 CCL2 變異體：CCL2 的 P8A 變異體在二聚化界面中攜帶突變，造成無法形成導致定義的純 CCL2 單體的二聚體。相反地，CCL2 的 T10C 變異體導致 CCL2 的固定二聚體 (J Am Chem Soc. 2013 Mar 20; 135 (11)：4325-32)。

【0384】 使用 SP-Sepharose HP (GE Healthcare, Sweden) 和 Superdex 200 粒徑篩析 (GE Healthcare, Sweden) 層析，藉由陽離子交換層析從細胞培養上清液中純化各別的可溶性 CCL2 蛋白質 (野生型，P8A 或 T10C 變異體)。簡而言之，將無菌過濾的細胞培養物上清液以 10 mM KH2PO4，pH 5.0 稀釋，以調節電導率 < 4 mS/cm。將稀釋的上清液裝載至以 10 mM KH2PO4，pH 5.0 平衡的 SP-Sepharose 樹脂上，以平衡緩衝液洗滌，並使用梯度至 10 mM KH2PO4、1 M NaCl，pH 5.0 的溶液溶析。合併溶析的蛋白質餾分，並使用以 20mM 組胺酸，140 mM NaCl，pH 6.0 平衡的 Superdex 200 16/60 GL (GE Healthcare, Sweden) 管柱，藉由粒徑篩析層析法進一步純化。藉由 SDS-PAGE 和分析型高性能粒徑篩析層析來分析粒徑篩析層析餾分。合併含有 CCL2 的餾分，並儲存在 -80°C。

【0385】 <u>功能特徵化 (結合)</u>

【0386】 T200 儀器安裝有 Biacore Series S Sensor Chip CM5。系統緩衝液為 HBS-ET (10 mM HEPES (pH 7.4)，150 mM NaCl，1 mM EDTA，0.05% (w/v) P20)。系統設定為 37°C，對於每次測量，樣品緩衝液均為系統緩衝液，另外還補充有 1 mg/ml CMD (羧甲基葡聚醣，Fluka)。

【0387】 建立抗體捕獲系統。如製造商所述，藉由 EDC/NHS 耦合將 14000 GARFcγ (山羊抗兔 Fcγ) 111-005-046，Jackson ImmunoResearch) 在 25°C 以 25 μg/ml 固定於 pH 5.0 之 10 mM 乙酸鈉緩衝液中。藉由以 HBS 緩衝液 (100 mM HEPES pH 7.4，1.5 M NaCl，0.05% (w/v) Tween 20) 注入 15 秒鐘，以 20

μl/min 的速度將捕獲系統再生，以 10 mM 甘胺酸緩衝液 pH 2.0 注入 1 分鐘，然後以 10 mM 甘胺酸緩衝液 pH 2.25 兩次注入 1 分鐘。在另一個實施例中，藉由將 12700 RU 多株兔抗小鼠 (RAMIgG，GE Healthcare) 抗體固定在如上所述之 Biacore Series CM5 感測器上，將鼠類單株抗體捕獲在生物感測器上。藉由 3 分鐘 注入 pH 1.7 的 10 mM 甘胺酸緩衝液來再生感測器。

【0388】 將抗體殖株上清液在系統緩衝液中以 1:2 稀釋，並以 5 μl/min 捕獲 1 分鐘。捕獲抗體後，將系統以 2.5 倍濃縮系統緩衝液以 80 μl/min 的速度洗滌 30 秒鐘，然後進行 2 分鐘的基線穩定。以 30 μl/min 進行分析物動力學。作為溶液中的分析物，使用 wt 人類 CCL2 或單體 CCL2 P8A 變異體 CCL2。以 90 nM 最高濃度注入分析物。分析物接觸時間為 3 分鐘，解離時間為 10 分鐘，根據製造商 GEHC 的說明使用 Biaevaluation 軟體 V.3.0。應用具有 RMAX 局部性的 1:1 結合模型來明顯估計動力學速率。

【0389】 **抗體與野生型 (wt) 人類 CCL2 及人類 CCL2 P8A 變異體 (單體) 的結合**

抗體	別名	KD [nM] wt 人類 CCL2	T1/2 [min]	KD [nM]單體人類 CCL2	T1/2 [min]
1A4	CCL2-0008	0.073	100	0.059	174
1A5	CCL2-0009	0.024	160	0.046	137
1G9	CCL2-0010	0.062	177	0.051	218
2F6	CCL2-0014	0,059	52	0.091	47
鼠類 11K2	X-0048	0.35	19	0.011	518
人源化 11K2 (= 11K2)	CCL2-0002	0.028	118	0.035	116
AB912	CCL2-0003	0.036	33	0.046	25
CNTO888	CCL2-0004	0.026	94	0.054	44

【0390】 **從 SPR 分析 I 所獲得之總結 pH 依賴性 CCL2 結合動力學**

【0391】 T200 儀器安裝有 Biacore Series S Sensor Chip CM5。系統緩衝液為 HBS-ET (10 mM HEPES (pH 7.4)，150 mM NaCl，1 mM EDTA，0.05%

(w/v) P20)。在其他實施例中，將系統緩衝液的 pH 設置為 pH 8.3、pH 7.9、pH 7.4、pH 7.1、pH 6.7、pH 6.3、pH 5.9、pH 5.5。系統設定為 25 °C，對於每次測量，樣品緩衝液均為系統緩衝液，另外還補充有 1 mg/ml CMD (羧甲基葡聚醣，Fluka)。

【0392】 建立抗體捕獲系統。如製造商所述，藉由 EDC/NHS 耦合，將 13000 MAb<h-Fc-pan>M-R10Z8E9-IgG (Roche) 在 25°C 下以 18 g/ml 固定在 pH 5.0 的 10 mM 乙酸鈉緩衝液中。藉由以 20 µl/min 注入 HBS 緩衝液 (100 mM HEPES pH 7.4，1.5 M NaCl，0.05% (w/v) Tween 20) 將捕獲系統再生，然後以 10 mM NaOH 進行 1 分鐘 15 秒的注入及兩次 10 mM 甘胺酸緩衝液 pH 2.5 注入 1 分鐘，各自的系統緩衝液中，以 80 nM 濃度稀釋的捕獲抗體以 10 µl/min 注入 30 秒鐘。捕獲抗體後，將系統以 2.5 倍濃縮系統緩衝液以 50 µl/min 的速度洗滌 30 秒鐘，然後進行 2 分鐘的基線穩定。濃度依賴性分析物系列以 1:3 稀釋步驟注入，從 0 nM (緩衝液對照)、0.4 nM、1.1 nM 開始，於 3.3 nM、30 nM 兩次注入。分析物接觸時間為 3 分鐘且解離時間為 10 分鐘，以 50 µl/min 執行分析物動力學。

【0393】 人類抗體被捕獲為感測器表面上的配體：

人類正常 IgG 作為陽性對照 (H-N-IgG，Id.：11717570, Roche),

抗人類 CCL2 mAb (人源化 11k2：CCL2-0002)，

抗人類 CCL2 mAb (AB912，CCL2-0003)，及

抗人類 CCL2 mAb (CNTO888，CCL2-0004)；

系統緩衝液作為陰性對照。

【0394】 根據製造商 GEHC 的說明使用 Biaevaluation 軟體 V.3.0。應用具有 R_{MAX} 局部性的 1:1 結合模型來確定動力學速率。

	人源化 11K2 CCL2-0002		ABN912 CCL2-0003		CNTO888 CCL2-0004	
pH	**KD [nM]**	**t ½-diss.[min]**	**KD [nM]**	**t ½-diss.[min]**	**KD [nM]**	**t ½-diss.[min]**
8.3	0.003	1155	**0.004**	**35**	0.01	135
7.9	0.02	165	**0.004**	**25**	0.01	138
7.4	0.02	163	**0.01**	**33**	0.02	130
7.1	0.01	215	**0.02**	**20**	0.02	124
6.7	0.01	292	**0.2**	**8**	0.03	103
6.3	0.003	1155	**1**	**3**	0.02	128
5.9	0.01	287	**13**	**1**	0.04	61
5.5	0.01	118	**2000**	**0.03**	0.06	31

【0395】 **交叉反應性 CCL 同源物**

【0396】 由於 CCL2 (MCP-1) 與 CCL7 (MCP-3)、CCL8 (MCP-2)、CCL13 (MCP-4) 具有高度同源性，且這些 CCL 趨化因子能夠與 CCR2 結合，評估抗 CCL2 抗體與這些同系物的結合。結果顯示於圖 1。除了被描述為對 CCL2 具有選擇性的 CNTO888 (Mol Immunol.2012 Jun; 51 (2)：227-33) 以外，其他測試抗體均與 CCL7 或 CCL8 結合 (顯示出與 CCL7 或 CCL8 的交叉反應性)。

【0397】 Biacore 測定法：使用 Biacore T200 儀器 (GE Healthcare)，在 25°C 下評估抗 CCL2 抗體與例如 CCL2 (MCP-1)、CCL8 (MCP-2)、CCL7 (MCP-3) 和 CCL13 (MCP-4) 的 CCL 同源物的結合。根據製造商推薦的設置，使用胺耦合套組 (GE Healthcare)，將小鼠抗人類 IgG (Fc) (GE Healthcare) 固定在 CM4 感測器晶片的每個流通池上。將抗體和分析物稀釋到 ACES pH 7.4 緩衝液 (20 mM ACES, 150 mM NaCl, 1 mg/ml BSA, 0.05% Tween 20, 0.005% NaN3) 中。將抗體捕獲到抗 Fc 感測器表面上，然後將重組人類 CCL 同源蛋白質以 5 nM 和 20 nM 注入流通池上。野生型 CCL2 (MCP-1)、CCL8 (MCP-2)、CCL7 (MCP-3) 和 CCL13 (MCP-4) 可從 R＆D Systems 購得，而單體 CCL2 (P8A

變異體) 是廠內生成的抗原。每個週期用 3M MgCl2 將感測器表面再生。使用 Biacore T200 評估軟體 2.0 版 (GE Healthcare) 處理結合感測圖。

【0398】 **功能特徵化 (生物學的)**

【0399】 **CCR2 信號傳導 I – 鈣通量測定**

【0400】 在 RPMI 1640、10% FBS、1 mM 丙酮酸鈉、10 mM HEPES、50 μM ß-巰基乙醇 (供應商 Thermo Fisher Scientific) 中培養 THP-1 (人類急性單核細胞白血病細胞株；ATCC TIB-202) 細胞。在測定當天，在 25.8 ml 測定培養基 (RPMI 1640 w/o FBS) 中，將細胞密度調節至 8.33×10^5 個細胞/ml。FLIPR® 鈣測定套組 (FLIPR Calcium 4 Assay Kit, Cat# R8142, Molecular Devices) 用於以均相測定形式檢測細胞內鈣的變化。

【0401】 根據製造商 Molecular Devices 的說明，藉由將兩個小瓶的組分 A 與 20 ml 的組分 B 混合 (HBSS 緩衝液加 20 mM HEPES，pH 7.4) 來製備染料裝載溶液。加入 516 μl 1 M Hepes (最終測定濃度：10 mM)，然後添加 516 μl 250 mM 丙磺舒 (probenecid) (最終測定濃度：2.5 mM)。對於儲備溶液，將 65.4 mg 丙磺舒 (Sigma P8761) 溶於 465 μl 1 N NaOH 中，並添加 465 μl 1x HBSS (Thermo Fisher Scientific)。將 25.8 ml 裝載緩衝液與 25.8 ml 的測定培養基混合，該培養基具有足以用於例如四個微量滴定盤 (需要 52.6 ml 體積；10^6 THP-1/ml) 的細胞。將裝載緩衝液中的 120 μl 細胞懸浮液轉移至黑色 F 型底部 96 孔細胞培養盤的每個孔中。混合物於室溫孵育 3 - 4 小時。

【0402】 同時，製備抗體和配體溶液。已測試從 30 μg/ml 至 0.025 μg/ml (無連續稀釋，孔中最終濃度) 的每種抗體的八種濃度。在兩個盤上測試每種濃度。所有稀釋液均在測定培養基中製成 10 倍濃縮溶液。作為參考抗體，使用人類 CCL2/JE/MCP-1 抗體 (R&D Systems Cat# MAB279)。藉由將 50 μg CCL2 凍乾物溶解在 500 μl RPMI 1640 (100 μg/ml) 中，並將 400 μl 轉移到 10 ml 測定

培養基 (4 μg/ml 儲備溶液) 中來製備配體 CCL2 (R&D Systems Cat#279-MC-10)。作為刺激對照，使用離子黴素 (ionomycin) (Sigma Cat＃I-0634) (將 1 mg 離子黴素溶於 1340 μl DMSO (Sigma Cat＃D-8779)，1 mM)。10 μl 1 mM 儲備溶液在 1990 μl 測定培養基 (5 μM，最終測定濃度 500 nM) 中稀釋。將 100 μl 移液到聚丙烯 MTP 的對應對照孔中。

【0403】 將抗體稀釋液和 CCL2 在兩個 V 形聚丙烯 96 孔盤中預孵育。將 50 μl 的 4 μg/ml 儲備溶液 CCL2 (最終 400 ng/ml CCL2) 和 50 μl 的 10 倍濃縮抗體稀釋液移液至孔中。將盤在室溫孵育 30 - 60 分鐘。

【0404】 孵育後，將細胞盤和化合物盤直接轉移至 FlexStation® 3 (Molecular Devices) 的讀取位置，並如系統手冊中的描述職行鈣測定 (激發 485 nm，發射 525 nm)。讀取間隔為幾秒鐘。

【0405】 結果

【0406】 表 1：將 40 ng/ml PMA 和 4 μM 離子黴素用作陽性對照。該表包括 n = 2 的 EC_{50} 平均值。

抗 CCL2 抗體		抑制 CCR2 信號傳導	
抗體	別名	EC50 [μg/ml]	EC50 [nM]
1A4	CCL2-0008	4.2	28.0
1A5	CCL2-0009	2.2	14.6
1G9	CCL2-0010	2.4	16
2F6	CCL2-0014	8.7	3.9
Mab279 (R&D)	商業參考	2.6	17.4
鼠類 11K2 (11K2m)	X-0048	4.5	30.0
人源化 11K2 (11K2)	CCL2-0002	2.1	14.0
AB912	CCL2-0003	1.9	12.7
CNTO888	CCL2-0004	2.7	18

【0407】 抗 CCL2 抗體抑制表現於單核細胞之 CCR2 受體的 CCL2 誘導內化作用的能力

【0408】 為了防止配體誘導的 CCR2 在骨髓細胞上的內化，我們建立了一種活體外測定法，並表徵抗 CCL2 抗體。使用商業套組 (Stemcell，型錄號碼 #15068)，藉由磁性分離從健康供體的周邊血液中分離單核細胞。為了阻斷 Fc Rs，將單核細胞與最終濃度為 500 μg/ml 的正常人類 IgG (*Privigen*，CSL Behring) 在 FACS 緩衝液 (PBS + 0.2%BSA) 中於冰上孵育 50 分鐘。然後將細胞離心 10 分鐘 (300*xg*，4°C)，以 FACS 緩衝液再洗滌一次並保存在冰上。在 96 個 U 形底的孔 (BD) 中製備抗 CCL2 抗體稀釋液 (各 50 μl) (在 4°C 和 37°C 下同時進行)。拆分單核細胞，再懸浮於培養基 (RPMI 1640；10%FCS；2mM L-麩醯胺酸) 中，分別在 4°C 和 37°C 下孵育，直至進一步使用。將重組 CCL2 (50μl；最終濃度為 100ng/ml) 在 4°C 和 37°C 下添加至製備的抗體稀釋液中 (濃度可變)，將 100 μl 單核細胞懸浮液 ($2x10^5$ 個細胞/孔) 添加至總體積為 200 μl 的 CCL2/抗 CCL2 混合物中，並將細胞在 4°C 和 37°C 下孵育 1 小時 30 分鐘，然後在 300*xg*，4°C 下離心。從現在開始，所有步驟均使用預冷的緩衝液進行：用 250 μl FACS 緩衝液洗滌細胞，此外，對細胞進行 CCR2 受體染色 (根據標準 FACS 協議，使用市售 CCR2-APC 共軛物或適當的同型 ctrl-APC：等分試樣以下述染色：5μl/10^6 細胞具有 CD192 (CCR2) APC (BioLegend，＃357208，殖株 K036C2/ mIgG2a)，以及適當的同型 ctrl 抗體：20μl/10^6 細胞 mIgG2a k APC BD Biosciences，＃400222，殖株 MOPC-173)。

【0409】 然後在 FACS Canto II 上分析受體表達，並如下計算 CCR2 內化：

無內化：在沒有配體的情況下分析細胞 (rec.CCL2) 孵育。

100% 內化：最大程度地降低先前用 rec 孵育的細胞上的 CCR2 表現水平。CCL2

抗 CCL2 抗體		抑制 CCR2 內化	
抗體	別名	EC50 [μg/ml]	EC50 [nM]
1A4	CCL2-0008	2.52	16.81
1A5	CCL2-0009	2.37	15.77
1G9	CCL2-0010	2.16	14.42
2F6	CCL2-0014	2.41	1.09
11K2 (鼠類)	X-0048	1.98	13.19
AB912	CCL2-0003	1.99	13.25
CNTO888	CCL2-0004	2.00	13.36
Mab279 (R&D)	商業參考	1.98	13.22

【0410】 **在人類 THP-1 細胞上抑制 CCL2 介導的趨化性**

【0411】 $CCR2^+$ THP1 細胞向 CCL2 梯度的遷移如下測試。將單核細胞 THP1 細胞 (ATCC© TIB-202™) 培養在 RPM1 1640 培養基 (PAN，型錄號碼 # P04-17500)，其補充 FCS 和 L-麩醯胺酸。通常將細胞繼代 2 至 3 次，然後再用於遷移測定，然後在 FSC 含量降低 (以 1.5% 代替 10% FCS) 的培養基中飢餓隔夜。計數細胞並與 10 μg/ml 正常人類 IgG (Invitrogen，型錄號碼 #12000；阻斷 FcgR) 在室溫下孵育 15 分鐘。

【0412】 同時，將抗 CCL2 抗體 (及/或對照) 添加至 HTS Transwell 96 孔盤系統的下部腔室中 (Corning，型錄號碼＃3386；孔徑 3 μm)，含有無血清培養基及 25 ng/ml rhCCL-2 (R＆D Systems，型錄號碼#279-MC)。然後將插入物盤粘貼到下部腔室盤中，並對各插入物添加含有或不含 5 μg/ml 抗體/同型的 75μl ($1.5x10^5$ 細胞) 的上述細胞懸浮液 (包括 IgG-阻斷物)。將盤覆蓋並在 37°C 下於 CO2 培養箱 (5% CO2) 中孵育隔夜。

【0413】 移除插入物盤並將 Cell-titer-glo 基質 (Promega，型錄號碼＃G758) 添加至下部腔室盤的每個孔中，以測量遷移細胞的生存力。在 300 rpm 的振盪器上孵育 1 小時 (密封蓋板) 後，將各孔 200 μl 轉移至 Microfluor 黑色 96 孔盤 (VWR，型錄號碼 #735-0527)，並測量發光度 (發光讀取器，例如 Bio-

Tek，Tecan)。將倍數變化計算為遷移細胞 (Cell Titer Glo，RLU) 帶有 IgG 對照抗體與抗 CCL2 抗體的數量比。下表 2 中顯示每個條件 5-10 次重複的結果：

【0414】表 2

抗體	別名	THP1 趨化性 [相較於 IgG 對照的倍數變化]
1A4	CCL2-0008	**4.5**
1A5	CCL2-0009	3.6
1G9	CCL2-0010	0.9
2F6	CCL2-0014	**6.7**
Mab279 (R&D)	-	3.7
鼠類 11K2 (11K2m)	X-0048	6.9
人源化 11K2 (11K2)	CCL2-0002	7.2
ABN912	CCL2-0003	6.5
CNTO888	CCL2-0004	4.9

【0415】**用小鼠中單特異性 (單互補位) 抗 CCL2 抗體掃除人類 CCL2 免疫複合物的評估**

【0416】為了評估單互補位抗體與野生型人類 CCL2 形成免疫複合物的能力，將由抗 CCL2 單互補位抗體 (20 mg/kg) 和野生型人類 CCL2 (0.1 mg/kg) 所組成之預形成的免疫複合物以 10 ml/kg 的單一劑量經尾靜脈投予人類 FcRn 轉基因小鼠 (B6.Cg-*Fcgrt*^{tm1Dcr}Tg(FCGRT)32Dcr/DcrJ, Jackson Laboratory)。投予後在 5 分鐘、7 小時、1 天、2 天、3 天和 7 天收集血液。立即在 4°C 下以 14,000 rpm 離心血液 10 分鐘來製備血清，將血清儲存在 -80°C 下或低於-80°C 下直至測量。下表 3 列出測試的單互補位抗體。具有 SG1 Fc 的抗體具有與野生型相似的 Fcγ 受體結合，而具有 SG105 Fc 的抗體為 Fcγ 受體結合靜默。

【0417】藉由將具有 Fcγ 受體結合的抗 CCL2 抗體 (SG1，= 具有完整 Fcγ 受體結合的 IgG1 野生型；實線) 與具有 Fcγ 受體結合靜默的抗 CCL2 抗體 (SG105，= 無 Fcγ 受體結合的 IgG1；虛線) 比較來評估各抗 CCL2 單互補位抗體的免疫複合物掃除對*活體內* hCCL2 清除的影響，如圖 2 所示。各別圖 2a 至 2g 顯示在注射預形成的由 hCCL2 和各別抗 CCL2 抗體所組成之免疫複合物至

FcRn 轉基因小鼠後，隨時間變化的 hCCL2 血清濃度，(具有兩個不同的 Fc 部分：SG1 = 具有完整 Fcγ 受體結合的 IgG1 野生型，及 SG105 = 無 Fcγ 受體結合的 IgG1)。使用 Phoenix 64 (Pharsight/ Certara)，藉由非隔室分析來分析抗體曲線。藉由線性對數梯形法則外推至無窮大來估計 AUCinf。清除率值定義為劑量/AUCinf。此清除率的差異亦表示為倍數變化，其藉由將具有 Fcγ 受體結合的抗體 (SG1) 的 hCCL2 清除率除以具有 Fcγ 受體結合靜默的抗體 (SG105) 的 hCCL2 清除率來計算 (下表 3)。下表 3 中的數據表明，對於所有測試的單互補位抗體，藉由 Fcγ 受體結合抗體 (SG1 = 具有完整 Fcγ 受體結合的 IgG1 野生型) 對人類 CCL2 的清除率與藉由 Fcγ 受體結合靜默抗體 (SG105，無 Fcγ 受體結合) 對人類 CCL2 的清除率相似。這表明藉由測試的單互補位抗體進行的免疫複合物介導的 CCL2 掃除是無效的。

【0418】表 3：在投予抗 CCL2 單特異性抗體 (20 mg/kg) 及野生型人類 CCL2 (0.1 mg/kg) 的預形成免疫複合物後 ，野生型 CCL2 的清除率值 (IgG1 野生型 (SG1) 或 IgG1 Fc 受體靜默 (SG105)

	清除率 (ml/天/kg)	倍數變化 (野生型 IgG1 (SG1) 與 Fc 受體靜默 IgG1 (SG105))
CNTO888-SG1	14.05	1.60
CNTO888-SG105	8.80	
11K2-SG1	80.60	1.69
11K2-SG105	47.83	
ABN912-SG1	67.06	0.99
ABN912-SG105	67.84	
1A4-SG1	38.93	1.66
1A4-SG105	23.39	
1A5-SG1	20.08	0.95
1A5-SG105	21.14	
1G9-SG1	14.02	0.87
1G9-SG105	16.07	
2F6-SG1	21.49	1.03
2F6-SG105	20.94	

【0419】**藉由電化學發光 (ECL) 測量血清中總人類 CCL2 濃度**

【0420】藉由 ECL 測量小鼠血清中總人類 CCL2 濃度。將 3 ug/mL 的抗 CCL2 抗體 (F7 (Biolegend) 或殖株 MAB679 (R&D Systems)) 固定在 MULTI-ARRAY 96 孔盤 (Meso Scale Discovery) 上隔夜，然後在阻斷緩衝液中於 30ºC 孵育 2 小時。抗 CCL2 MAB679 用作捕獲抗體，用於包含人源化 11K2、1A4 或 1A5 抗體的樣品。抗 CCL2 殖株 5D3-F7 用於包含 ABN912、CNTO888、1G9、2F6H 抗體的樣品。人類 CCL2 校準曲線樣品、品質控製樣品和小鼠血清樣品是藉由在稀釋緩衝液中稀釋並與過量的藥物在 37ºC 下孵育 30 分鐘而製備。之後，將樣品加入固定有 CCL2 的盤上，並在 30°C 下結合 1 小時，然後洗滌。之後，將 SULFO TAG NHS 酯 (Meso Scale Discovery) 標記的抗人類 Fc (殖株：JDC-10, SouthernBiotech) 加入並將盤在 30ºC 下孵育 1 小時，然後洗滌。立即將 Read Buffer T (x4) (Meso Scale Discovery) 添加至盤中，並以 SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery) 檢測信號。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)，基於校準曲線的反應來計算人類 CCL2 濃度。

【0421】藉由酶聯免疫吸附測定法 (ELISA) 測量血清中抗 CCL2 抗體的濃度

【0422】藉由 ELISA 測量小鼠血清中抗 CCL2 抗體的濃度。將抗人類 IgG κ 鏈 (Antibody Solutions) 分配到 Nunc MaxiSorp 盤 (Thermofisher) 上，並使其在 4°C 下靜置隔夜以製備經抗人類 IgG 固定的盤。以 1% 合併的小鼠血清製備校準曲線和樣品。然後，將樣品分配到經抗人類 IgG 固定的盤上，並在 30°C 下靜置 1 小時。隨後，添加具有 HRP 共軛物 (Southern Biotech) 的山羊抗人類 IgG (γ-鏈特異性) 在 30°C 下反應 1 小時。使用 TMB 基質底 (Life Technologies) 作為基質進行顯色反應。用 1 N 硫酸 (Wako) 終止反應後，藉由微量盤讀取機

測量在 450 nm 處的吸光度。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices) 從校準曲線的吸光度計算小鼠血漿中的濃度。

【0423】 **以單互補位抗體在小鼠中掃除內源性小鼠 CCL2 免疫複合物的評估**

【0424】 除了上面的結果 (這表明藉由測試的單互補位抗體進行的免疫複合物介導的 CCL2 掃除是無效的) 之外，還進行進一步的評估。

【0425】 為了評估單互補位抗體與內源性小鼠 CCL2 形成和清除免疫複合物的能力，將小鼠交叉反應性 11K2 抗 CCL2 單互補位抗體投予小鼠。將人源化 11K2H2-SG1 (IgG1 野生型 = Fcγ 受體結合) 或人源化 11K2-SG105 (Fcγ 受體結合靜默) 抗體以 20 mg/kg 的單一劑量靜脈投予，以 10 ml/kg 的單一劑量經尾靜脈投予 Balb/c 小鼠。投予前、投予後 5 分鐘，7 小時，1 天，2 天，3 天和 7 天收集血液。立即在 4°C 下以 14,000 rpm 離心血液 10 分鐘來製備血清，將血清儲存在 -80°C 下或低於-80°C 下直至測量。

【0426】 圖 3 顯示小鼠中人源化 11K2-SG1 和 11K2-SG105 的血清總小鼠 CCL2 濃度的時間過程以及抗體-時間曲線。

【0427】 如圖 3 所示，在 11K2-SG105 (Fcγ 受體結合靜默 Fc) 和 11K2-SG1 (IgG1 野生型= Fcγ 受體結合 Fc) 之間，小鼠 CCL2 的累積水平並無差異。這表明注射的抗體沒有或很少有 Fcγ 受體介導的內源性小鼠 CCL2 清除率。經過 Fcγ 受體的多聚體接合，免疫複合物中的抗原比未複合抗原清除得更快，這表明 11K2 抗體無法與內源性小鼠 CCL2 形成免疫複合物。

【0428】 酶聯免疫吸附測定法 (ELISA) 測量小鼠血清中的小鼠 CCL2 濃度

【0429】 藉由適應來自市售小鼠 CCL2 ELISA 套組 (R&D Systems) 的試劑，測量小鼠血清中小鼠 CCL2 的濃度。除了準備校準曲線樣品外，還遵循製

造商的規程。以純化的重組小鼠 CCL2 被替代作為標準品以取代製造商的蛋白質。對於注射抗體後所採集的樣品，以濃度為 40 微克/毫升的 2.5% 小鼠血清注射抗體製備校準曲線樣品及樣品，並在 37°C 下孵育 30 分鐘。隨後，將樣品分配到抗人類 CCL2 固定盤，並在 30°C 下孵育 2 小時。藉由添加小鼠 MCP-1 共軛物並在 30°C 下孵育 2 小時，然後添加基質並終止溶液。

【0430】 對於在注射抗體之前採集的樣品，根據製造商的說明使用 Mouse MCP-1 Ultra-Sensitive Kit (Meso Scale Discovery)。沒有抗體在添加到盤中之前被摻入樣品中。

【0431】 藉由酶聯免疫吸附測定法 (ELISA) 測量血清中抗 CCL2 抗體的濃度

【0432】 藉由 ELISA 測量小鼠血清中抗 CCL2 抗體的濃度。將抗人類 IgG κ 鏈 (Antibody Solutions) 分配到 Nunc MaxiSorp 盤 (Thermofisher) 上，並使其在 4°C 下靜置隔夜以製備經抗人類 IgG 固定的盤。以 1% 合併的小鼠血清製備校準曲線和樣品。然後，將樣品分配到經抗人類 IgG 固定的盤上，並在室溫下靜置 1 小時。隨後，添加小鼠抗人類 IgG HRP (殖株 JDC-10，Southern Biotech) 在室溫下反應 30 分鐘。使用 ABTS 基質 (KPL) 作為基質進行顯色反應，並藉由微量盤讀取機測量 405 nm 處的吸光度。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices) 由校準曲線的吸光度計算小鼠血漿中的濃度

【0433】 用單特異性 (單互補位) 抗 CCL2 抗體進行的不同小鼠 PK 研究的結論

【0434】 總結小鼠 PK 研究的結果，確實沒有測試的單互補位抗體顯示出有效從循環中清除 CCL2。這些數據表明，單互補位抗體不能與 CCL2 形成免疫複合物，無法有效地將其從循環中清除。

【0435】 相比之下，如下所述，具有兩個不同抗原結合部分/位點的雙特異性抗 CCL2 抗體 (雙互補位抗 CCL2 抗體) 能有效與 CCL2 形成免疫複合物並將其從循環中清除。

【0436】 **實例 B-1**

【0437】 **雙特異性 (雙特異性) 抗 CCL2 抗體**

【0438】 **生成數種具有與人類 CCL2 上兩個不同特異性表位結合的兩個不同抗原結合部分 (互補位) 的雙特異性抗 CCL2 抗體**

【0439】 **簡介**

【0440】 為了測試抗原的單一結合或交聯是否對*活體內* CCL2 清除有顯著影響，我們使用雙特異性 CrossMab Technology (參見例如，WO 2009/080252、WO 2015/150447)、WO 2009/080253、WO 2009/080251、WO 2016/016299、Schaefer 等人，PNAS, 108 (2011) 1187-1191 和 Klein at al., MAbs 8 (2016) 1010-20)，生成具有與 CCL2 的 2 個不同表位結合的 2 個不同抗原結合部分/位點的雙特異性抗 CCL2 抗體 (雙特異性 (= 雙互補位) CrossMabs)。先將這些分子在*活體外*就其生物化學和功能特性進行了表徵，但在小鼠共注射研究中，它們也用作*活體內* CCL2 清除率評估的工具。為了評估基於 Fcγ 受體 (FcgR) 結合介導掃除的清除潛能 (例如，在 Igawa 等人，Immunological Reviews 270 (2016) 132–151、WO2012/122011 和 WO2016/098357 和 WO2013/081143 中)，我們生成所有 Crossmab，其等是與 FcgR 結合並具有修飾的人類 IgG1 恆定鏈的野生型 huIgG1，其已減少/消除對於 FcgR 效應子靜默分子的結合 (例如，具有突變 L234A、L235A、P329G 的 IgG1 (Kabat EU 編號)。

【0441】 **鑑定適當抗 CCL2 抗體對**

-藉由三明治 ELISA 選擇雙互補位抗體臂。

【0442】執行三明治 ELISA，以鑑定不競爭結合人類 CCL2 的抗體對。將 384 孔 MAXISORP (NUNC) 盤以 1μg/mL 的 7 種所示捕獲抗體 (Arm 1) 塗覆，並用 2% BSA 阻斷。將生物素化 (NHS-PEO_4-Biotin，Pierce) 的 WT 人類 CCL2 (20ng/mL) 與過量的相同 7 種抗體 (Arm 2) (1μg/ mL) 或阻斷緩衝液在 37°C 孵育 1 小時。孵育後，將混合物添加至阻斷的 ELISA 盤中，並在室溫孵育 1 小時。使用卵白素 (streptavidin) HRP，之後使用 TMB One Component 基質 (Lifetech)，執行盤結合的 CCL2 檢測。藉由 1N HCl 酸 (Wako) 終止信號的產生。對於每種捕獲抗體，將沒有競爭性抗體的孔的 O.D. 設置為 100% 信號。未添加 CCL2 的空白孔的 O.D. 設置為 0% 信號。選擇在兩個方向上均未顯示出對 CCL2 結合的強烈競爭性的九對抗體作為生成雙特異性 Crossmab 抗體的候選者。

		抗體臂 2						
		ABN912	CNTO888	11K2	1A4	1A5	1G9	2F6
抗體臂 1	ABN912			被選擇		被選擇		
	CNTO888			被選擇			被選擇	
	11K2						被選擇	被選擇
	1A4							被選擇
	1A5						被選擇	被選擇
	1G9							
	2F6							

【0443】**雙互補位抗 CCL2 抗體和免疫複合物的生成和表徵**

【0444】**雙特異性 CrossMab 形式重組 DNA 技術中生成雙互補位抗 CCL2 抗體**

【0445】使用標準方法操作 DNA，如敘述於 Sambrook, J. 等人，Molecular cloning: A laboratory manual; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989。根據製造商的說明書使用分子生物學試劑。

【0446】 **基因和寡核苷酸合成**

【0447】 在 Geneart GmbH (Regensburg, Germany)，藉由化學合成製備所需的基因片段。將合成的基因片段選殖至大腸桿菌質體中以進行增殖/擴增。藉由 DNA 定序驗證次選殖基因片段的 DNA 序列。或者，藉由降溫貼合 (annealing) 化學合成的寡核苷酸或經由 PCR 來組裝短的合成 DNA 片段。藉由 metabion GmbH (Planegg-Martinsried, Germany) 製備對應的寡核苷酸由。metabion GmbH (德國 Planegg-Martinsried) 製備。

【0448】 **基本/標準哺乳動物表現質體的描述**

【0449】 為了表現所需的基因/蛋白質 (例如抗體重鏈或抗體輕鏈)，使用包含下列功能元件的轉錄單元：

來自包括內含子 A 的人類細胞巨大病毒 (P-CMV) 的立即早期增強子和啟動子，

人類重鏈免疫球蛋白 5’ 非轉譯區 (5'UTR)，

鼠類免疫球蛋白重鏈信號序列，

欲表現的基因/蛋白質 (例如全長抗體重鏈或 MHC 第 I 類分子)，及

牛生長激素多腺核苷酸化序列 (BGH pA)。

除了包括所欲表達之基因的表現單元/盒外，基本/標準的哺乳動物表現質體含有

來自載體 pUC18 的複製起始點，其允許此質體在大腸桿菌中複製，及

β-內醯胺酶基因，其在大腸桿菌中賦予氨苄西林 (ampicillin) 抗性。

【0450】 **生成用於重組單株抗體的表現質體**

【0451】 重組單株抗體基因編碼各自的免疫球蛋白重鏈和輕鏈。

【0452】 除了免疫球蛋白重鏈或輕鏈表現盒外，用於瞬時表現單株抗體分子的表現質體還包含允許此質體在大腸桿菌中複製的來自載體 pUC18 的複製起始點，及在大腸桿菌中賦予氨苄西林抗性的 β-內醯胺酶基因。

【0453】 各別的抗體重鏈或輕鏈的轉錄單元包含以下功能元件：

來自包括內含子 A 的人類細胞巨大病毒 (P-CMV) 的立即早期增強子和啟動子，

人類重鏈免疫球蛋白 5’ 非轉譯區 (5'UTR)，

鼠類免疫球蛋白重鏈信號序列，

各別的抗體重鏈或輕鏈 cDNA 序列和

牛生長激素多腺核苷酸化序列 (BGH pA)。

【0454】 **瞬時表現和分析特徵**

【0455】 藉由瞬時轉染在 F17 培養基 (Invitrogen Corp.) 中培養的 HEK293 細胞 (人類胚胎腎細胞株 293 來源) 執行重組生產。為了產生單株抗體，將細胞與含有各別免疫球蛋白重鏈和輕鏈的質體共轉染。對於轉染，使用「293-Fectin」轉染試劑 (Invitrogen)。按照製造商的說明執行轉染。轉染後三至七 (3-7) 天收穫細胞培養上清液。將上清液在降低的溫度 (例如 -80°C) 下保存。

【0456】 關於人類免疫球蛋白在例如 HEK293 細胞中的重組表現的一般訊息，提供於：Meissner, P. 等人，Biotechnol. Bioeng. 75 (2001) 197-203。為了產生下列雙特異性抗體，使用 WO 2016/016299 中所述之 CrossMab 技術，其中，VH/VL 已在一個抗體臂中交換，而另一個抗體臂的 CH1/CL 接口已藉由電荷修飾進行修飾，結合 CH3/CH3 界面中的杵臼 (knobs-into-holes) 技術以促進異源二聚化。對於 CNTO888//11K2-WT IgG1，提供應用此技術的所有四個抗體鏈的例示性序列 (參見 SEQ ID NO：104 至 SEQ ID NO：107)

【0457】 產生的具有野生型 IgG1 (WT IgG1) 的雙特異性 (雙互補位) 抗 CCL2 Crossmab 抗體的列表 (野生型 IgG1 表示沒有會影響 Fc 受體結合的修飾/突變，然而包括異源二聚化技術，如杵狀物 (knob) 進入臼狀物 (hole) 中)

雙特異性抗體 IgG1	別名 1	別名 2	第一抗原結合位點 VH/VL 交叉	第二抗原結合位點 VH/VL 正常結構 (無交叉)
ABN912//11K2-WT IgG1	CCL2-0047	P1AA3447	人源化 11K2	ABN912
CNTO888//11K2-WT IgG1	CCL2-0048	P1AA3429	人源化 11K2	CNTO888
11K2//1G9-WT IgG1	CCL2-0049	P1AA3461	人源化 11K2	1G9
11K2//2F6-WT IgG1	CCL2-0056	P1AA3392	人源化 11K2	2F6
CNTO888//1A5-WT IgG1	CCL2-0050	P1AA3419	CNTO888	1A5
CNTO888//1G9-WT IgG1	CCL2-0051	P1AA3439	CNTO888	1G9
1A4//2F6-WT IgG1	CCL2-0057	P1AA3400	1A4	2F6
1A5//2F6-WT IgG1	CCL2-0058	P1AA3427	1A5	2F6
1A5//1G9-WT IgG1	CCL2-0052	P1AA3446	1A5	1G9

【0458】 具有包括 Fcγ 受體靜默突變 L234A、L235A、P329G (Kabat EU 編號) 之 IgG1 的雙特異性 (雙互補位) 抗 CCL2 Crossmab 抗體之列表 (IgG1-PGLALA)

雙特異性抗體 IgG1 PGLALA	別名 1	別名 2	第一抗原結合位點 VH/VL 交叉	第二抗原結合位點 VH/VL 正常結構 (無交叉)
ABN912//11K2-PGLALA	CCL2-0041	P1AA3411	人源化 11K2	ABN912
CNTO888//11K2-PGLALA	CCL2-0042	P1AA3452	人源化 11K2	CNTO888
11K2//1G9-PGLALA	CCL2-0043	P1AA3463	人源化 11K2	1G9
11K2//2F6-PGLALA	CCL2-0053	P1AA3450	人源化 11K2	2F6
CNTO888//1A5-PGLALA	CCL2-0044	P1AA3448	CNTO888	1A5
CNTO888//1G9-PGLALA	CCL2-0045	P1AA3455	CNTO888	1G9
1A4//2F6-PGLALA	CCL2-0054	P1AA3459	1A4	2F6
1A5//2F6-PGLALA	CCL2-0055	P1AA3402	1A5	2F6
1A5//1G9-PGLALA	CCL2-0046	P1AA3444	1A5	1G9

【0459】 雙互補位抗 CCL2 抗體的純化

【0460】 藉由多達三個層析步驟進行過濾和純化含有細胞培養上清液的雙互補位抗 CCL2 抗體。根據捕獲步驟溶析液的純度，在捕獲和完善化拋光步驟之間可選地實施離子交換層析步驟。

【0461】 使用 MabSelectSure-SepharoseTM (GE Healthcare，Sweden)、POROS 50 HS (Thermofisher Scientific) 及 Superdex 200 粒徑篩析 (GE Healthcare，Sweden) 層析，藉由親和性層析從細胞培養上清液中純化雙互補位抗 CCL2 抗體。簡而言之，在以 PBS 緩衝液 (10 mM Na2HPO4、1 mM KH2PO4、137 mM NaCl 及 2.7 mM KCl，pH 7.4) 平衡的 MabSelect SuRe 樹脂上捕獲無菌過濾的細胞培養上清液，以平衡緩衝液洗滌並以 25 mM 檸檬酸鈉在 pH 3.0 下溶析。合併溶析的蛋白質餾分並以 2M Tris，pH 9.0 中和。

【0462】 離子交換層析法是可選的第二步純化步驟，使用以 POROS 50 HS (Thermofisher Scientific) 進行，平衡並以 20 mM 組胺酸 pH 5.6 洗滌，並加載稀釋的捕獲步驟溶析液，用 20 mM 組胺酸，0.5M NaCl 在 pH 5.6 下進行梯度層析，離子交換層析餾份以 CE-SDS LabChip GX II (PerkinElmer) 分析，並合併含有 Crossmab 的餾份。

【0463】 Superdex 200 (GE Healthcare) 上的粒徑篩析層析法用作第二或第三純化步驟。粒徑篩析層析法是在 20 mM 組胺酸緩衝液，0.14 M NaCl，pH 6.0 中進行。藉由 CE-SDS LabChip GX II (PerkinElmer) 分析粒徑篩析層析餾分，並合併含 Crossmab 的餾分並儲存在 -80°C。

【0464】 在將 Superdex 200 (GE Healthcare) 上的 POROS 50 HS (ThermoFisher Scientific) 粒徑篩析層析法替換為在 HiPrep 26/10 Desalting (GE Healthcare) 上的脫鹽層析法 (在 20 mM 組胺酸緩衝液，0.14 M NaCl，pH 6.0 中) 後的情況，可獲得滿意的產品品質。

【0465】使用基於胺基酸序列計算的莫耳消光係數，藉由測量 280 nm 處的光密度 (OD) 來確定抗體製劑的蛋白質濃度。

【0466】使用帶有 Protein Express Chip 和 HT Protein Express Kit 的 LabChip GX II (PerkinElmer)，藉由 CE-SDS 分析抗體的純度和完整性。使用 Biosuite High Resolution SEC，250 Å，5 µm 分析粒徑篩析管柱 (Waters GmbH)，使用 200 mM K2HPO4/KH2PO4，250 mM KCl，pH 7.0 作為運行緩衝液，藉由高性能 SEC 測定抗體製劑的總含量。當以 CE-SDS 分析，平均純度在 94-100% 之間，且單體含量 > 95% (SEC)。

【0467】**雙特異性 (雙互補位) 抗 CCL2 抗體的功能特徵**

【0468】**親和力測量 (結合)**

【0469】捕獲系統的大約 1200 共振單位 (RU) (20 µg/ml 山羊抗人類 IgG Fc；訂購號：109-005-098；Jackson Immuno Research) 藉由使用 GE Healthcare 所提供的胺耦合套組，在 pH 5.0 耦合至 C1 晶片 (GE Healthcare BR-1005-35) 上。樣品和系統緩衝液是 PBS-T (包括 0.05% Tween20 的 10 mM 磷酸鹽緩衝鹽水)，pH 7.4。流通池設置為 25°C，及樣品塊設置為 12°C，並以運行緩衝液灌注兩次。藉由 以 10 µl/min 的流速注入 2 µg/ml 溶液 60 秒鐘來捕獲雙特異性抗體。藉由以 30 µl/min 的流速從 30 nM 的 1:10 稀釋開始，以不同濃度的溶液注入人類 CCL2 (wt) 150 秒來測量締合。監測解離階段達 1200 秒，並藉由從樣品溶液轉換到運行緩衝液來觸發。藉由以 0.85% H_3PO_4 溶液，以 10 µl/min 的流速洗滌 60 秒將表面再生。藉由減去從山羊抗人類 IgG Fc 表面獲得的反應來校正整體折射率差 (Bulk refractive index difference)。空白注入亦被減去 (=雙重參考)。為了計算動力學參數，使用 Langmuir 1:1 模型。

單和雙特異性抗 CCL2 抗體	別名	t 1/2* (min)	配體水平 (RU)	Rmax (RU)
人源化 11K2 (= 11K2)	CCL2-0002	無解離	293.5	39.3
ABN912	CCL2-0003	27	307.0	33.6
CNTO888	CCL2-0004	無解離	272.8	31.9
ABN912//11K2-PGLALA	CCL2-0041	無解離	212.2	21.1
CNTO888//11K2-PGLALA	CCL2-0042	無解離	211.8	22.0
11K2//1G9-PGLALA	CCL2-0043	無解離	204.9	21.2
CNTO888//1A5-PGLALA	CCL2-0044	無解離	207.3	20.0
CNTO888//1G9-PGLALA	CCL2-0045	無解離	213.0	19.0
1A5//1G9-PGLALA	CCL2-0046	無解離	203.1	20.0
ABN912//11K2-WT IgG1	CCL2-0047	無解離	209.3	20.2
CNTO888//11K2-WT IgG1	CCL2-0048	無解離	226.1	22.9
11K2//1G9-WT IgG1	CCL2-0049	無解離	206.1	21.1
CNTO888//1A5-WT IgG1	CCL2-0050	無解離	214.4	20.3
CNTO888//1G9-WT IgG1	CCL2-0051	無解離	215.8	20.7
1A5//1G9-WT IgG1	CCL2-0052	無解離	211.7	21.0
11K2//2F6-PGLALA	CCL2-0053	無解離	201.9	19.8
1A4//2F6-PGLALA	CCL2-0054	無解離	194.7	18.8
1A5//2F6-PGLALA	CCL2-0055	無解離	203.5	20.1
11K2//2F6-WT IgG1	CCL2-0056	無解離	205.3	20.2
1A4//2F6-WT IgG1	CCL2-0057	無解離	199.0	19.5
1A5//2F6-WT IgG1	CCL2-0058	無解離	202.8	19.8

【0470】在野生型抗原存在下天然免疫複合物的形成。

【0471】使用透析或離心超濾裝置，將所有蛋白質樣品 (雙特異性抗 CCL2 CrossMab 抗體及抗原) 在 1x PBS，pH 7.4 中重新緩衝。

【0472】製備從 2.0 到 0.1 mg/mL 的 CrossMab 樣品稀釋系列。同樣地，PBS 中抗原溶液的濃度範圍為 0.012 至 0.23 mg/mL。選擇濃度以允許混合等體積來實現恆定的莫耳比 1:1 (抗體：CCL2 複合物)。在此研究中使用以下抗原：野生型 CCL2。

【0473】將等體積的預稀釋 CrossMab 和 CCL2 製劑混合並在 37°C 下孵育 1 小時，然後將樣品施加到 Superose6 (GE Healthcare＃2039) 管柱上，以 PBS 預平衡，並以 0.5 mL/min 的流速溶析。總共施加 100 μg 或最大可能體積 250 μL，並將抗體和抗原單獨用作對照。

【0474】使用 OptiLab rEX 折射率檢測器和 miniDAWN Treos MALLS 檢測器 (均來自 Wyatt Inc.) 記錄 SEC-MALLS 數據。使用 Astra V5 軟體 (Wyatt) 處理 SEC-MALLS 信號。

雙特異性抗 CCL2 抗體	**別名**	**與之互動 CCL2wt (低濃度)**
ABN912//11K2-WT IgG1	CCL2-0047	+
CNTO888//11K2-WT IgG1	CCL2-0048	+++
11K2//1G9-WT IgG1	CCL2-0049	++
CNTO888//1A5-WT IgG1	CCL2-0050	+
CNTO888//1G9-WT IgG1	CCL2-0051	+
1A5//1G9-WT IgG1	CCL2-0052	++
11K2//2F6-WT IgG1	CCL2-0056	++
1A4//2F6-WT IgG1	CCL2-0057	+
1A5//2F6-WT IgG1	CCL2-0058	+

【0475】圖例

+++　大量的多聚物/寡聚物

++　中等數量的多聚物/寡聚物

+　少量的多聚物/寡聚物

0　只有二聚體或更少

【0476】**CCR2 報導基因測定研究抗 CCL2 抗體的中和特徵**

【0477】Tango™ CCR2-bla U2OS 細胞購自德國 Invitrogen，以研究 CCL2 中和抗體構建體的影響。這些報導細胞包含與 TEV 蛋白酶位點相連的人

類趨化因子 (C-C 模體 (Motif)) 受體 2 (CCR2) 及穩定整合到 Tango™ GPCR-bla U2OS 親本細胞株中的 Gal4-VP16 轉錄因子。該親本細胞株在 UAS 反應元件的控制下穩定表現 β-視紫紅質 (arrestin)/TEV 蛋白酶融合蛋白和 β-內醯胺酶 (*bla*) 報導基因。添加天然配體 MCP1 = CCL2 導致報導基因活性的指示，其可藉由切割具有 FRET 功能的基質來測量。

【0478】 原則上，測定和細胞處理程序是根據提供者手冊進行的。簡而言之，將 CCR2-U2OS 細胞以密度 2x104 個細胞/孔接種 (96er 黑色透明底盤，型錄號碼＃655090，Greiner Bio-one) 在 50µl 測定培養基 (Freestyle 293 Expression Medium，型錄號碼＃12338-018，Invitrogen)。同時地，以 c ＝ 4x 最終濃度製備不同測試抗體及 CCL2-抗原溶液的系列稀釋液。然後，製備 CCL2-抗原/抗體混合物，並在室温下預孵育 2 至 3 小時 (hrs)。將 50µl 所示的 CCL2/抗體溶液轉移到表現 CCR2 的 U2OS 細胞中，並在 37°C 和 5% CO2 的加濕培養箱中孵育 18 小時。僅使用測定培養基作為對照。

【0479】 第二天，CCF4 基質 (型錄號碼＃K1089，Invitrogen) 以 β-內醯胺酶裝載溶液製備 (型錄號碼#K1085，Invitrogen)，並將其以 20 µl/孔加入細胞中。將基質溶液在黑暗中於室温下孵育 2 小時。

【0480】 最後，使用 Spectra Max (M4) 讀取機 (Molecular devices) 在下列波長 (Ex/Em = 409nm/460nm = 藍色*；Ex/Em = 409nm/530nm = 綠色**) 下確定螢光波長，並根據下列公式：比率 = (樣品-藍色* - 對照-藍色*)/(樣品-綠色** - 對照-綠色**)，計算在減去測定培養基對照後的藍色/綠色螢光比。

【0481】 在進行 pH 工程化後，我們針對最終的 LO 候選物 (CKLO1-4) 特徵化其抑制 CCL2 誘導的 CCR2 信號傳導的能力。在此情況下，僅藉由 rec 的單體變異體評估中和特性。CCL2 蛋白，其最終濃度約為 15 ng/ml。

		IC50 [ng/ml]		
雙特異性抗體	別名	**實驗 1**	**實驗 2**	**Exp3**
ABN912//11K2-PGLALA	CCL2-0041		80.2	
CNTO888//11K2-PGLALA	CCL2-0042		84	
11K2//1G9-PGLALA	CCL2-0043		57	
CNTO888//1A5-PGLALA	CCL2-0044		77.7	88
CNTO888//1G9-PGLALA	CCL2-0045		86.4	81.3
1A5//1G9-PGLALA	CCL2-0046		75.8	
ABN912//11K2-WT IgG1	CCL2-0047	84.4		
CNTO888//11K2-WT IgG1	CCL2-0048	92.9		
11K2//1G9-WT IgG1	CCL2-0049	82.2		
CNTO888//1A5-WT IgG1	CCL2-0050	89.2		
CNTO888//1G9-WT IgG1	CCL2-0051		89.6	52.7 / 67.9
1A5//1G9-WT IgG1	CCL2-0052	86.2		
11K2//2F6-PGLALA	CCL2-0053		26.3	49.6 / 70
1A4//2F6-PGLALA	CCL2-0054		78.2	
1A5//2F6-PGLALA	CCL2-0055		48.7	
11K2//2F6-WT IgG1	CCL2-0056	93.9		
1A4//2F6-WT IgG1	CCL2-0057		58.2	
1A5//2F6-WT IgG1	CCL2-0058	93		
單特異性對照	CCL2-0002	76.1	79.1	56.9 / 58

【0482】<u>小鼠中以雙互補位抗體掃除人類 CCL2 免疫複合物的評估</u>

【0483】為了評估雙互補位抗體與野生型人類 CCL2 形成免疫複合物的能力，將單一劑量 10 ml/kg 的由抗 CCL2 雙互補位抗體 (20 mg/kg) 及野生型人類 CCL2 (0.1 mg/kg) 所組成的預形成免疫複合物尾靜脈投予 Balb/c 小鼠。給藥後 5 分鐘、7 小時、1 天、3 天和 7 天收集血液。立即在 4°C 下以 14,000 rpm 離心血液 10 分鐘來製備血清，將血清儲存在 -80°C 下或低於-80°C 下直至測量。測試的雙互補位列於下表 4 中。具有 WT IgG1 Fc 的抗體具有與野生型相

似的 Fcγ 受體結合，而具有 PGLALA Fc 的抗體為 Fcγ 受體結合靜默。結果顯示於圖 4a 至 4i。

【0484】 藉由比較具有 Fcγ 受體結合的抗 CCL2 抗體 (實線) 與具有 Fcγ 受體靜默的抗 CCL2 抗體 (PGLALA，虛線)，評估在*活體內*各種抗 CCL2 雙互補位抗體之免疫複合物掃除對 hCCL2 清除率的影響，如圖 4a-4i 所示。使用 Phoenix 64 (Pharsight/ Certara)，藉由非隔室分析來分析抗體曲線。藉由線性對數梯形法則外推至無窮大來估計 AUCinf。清除率值定義為劑量/AUCinf。清除率的此種差異也表示為倍數變化，其藉由將具有 Fcγ 受體結合的抗體 (SG1) 的 hCCL2 清除率除以具有 Fcγ 受體結合靜默的抗體 (PGLALA) 的 hCCL2 清除率來計算 (下表 4)。下表 4 中的數據表明，Fcγ 受體 (FcgR) 結合抗體 (WT IgG1) 對人類 CCL2 的清除率優於 Fcγ 受體結合靜默抗體 (PGLALA，具有含突變 L234A、L235A、P329G 突變的 IgG1 Fc 域 (Kabat EU 編號)) 的清除率。這表明藉由測試的雙互補位抗體實現的 CCL2 之免疫複合物介導的掃除更為有效。此外，數種雙互補位抗體顯示清除率值有較大倍數變化，例如 CNTO//人源化 11K2 (CNTO//11K2)。

【0485】 藉由將具有 WT FcγR (FcgR) 結合的抗體的 hCCL2 清除率除以具有 PGLALA 的抗體的 hCCL2 清除率來計算倍數變化。如圖 4a-4i 和下表 4 所示，CNTO//11k2 在具有 FcgR 結合的 IgG1 野生型 (WT) 的抗體與 FcgR 結合靜默的抗體 (PGLALA) 之間顯示最大 21.5 倍的變化。這表明在所有變異體中，藉由 CNTO//11k2-WT IgG1 的免疫複合物介導的掃除是最有效的。

【0486】 表 4：預形成抗 CCL2 雙互補位抗體 (20 mg/kg) 和野生型人類 CCL2 (0.1 mg/kg) 的免疫複合物後，野生型 CCL2 的清除率值

抗體:	別名	清除率 (mL/天/kg)	倍數變化
11K2//1G9-WT IgG1	CCL2-0049	101.761	6.1
11K2//1G9-PGLALA	CCL2-0043	16.713	
CNTO888//11K2-WT IgG1	CCL2-0048	244.705	21.5
CNTO888//11K2-PGLALA	CCL2-0042	11.374	
CNTO888//1G9-WT IgG1	CCL2-0051	31.085	7.8
CNTO888//1G9-PGLALA	CCL2-0045	3.999	
CNTO888//1A5-WT IgG1	CCL2-0050	7.098	3.8
CNTO888//1A5-PGLALA	CCL2-0044	1.892	
1A5//1G9-WT IgG1	CCL2-0052	194.481	11.4
1A5//1G9-PGLALA	CCL2-0046	17.073	
11K2//2F6-WT IgG1	CCL2-0056	14.442	4.9
11K2//2F6-PGLALA	CCL2-0053	2.964	
ABN912//11K2-WT IgG1	CCL2-0047	20.935	4.2
ABN912//11K2-PGLALA	CCL2-0041	4.988	
1A4//2F6-WT IgG1	CCL2-0057	19.606	3.3
1A4//2F6-PGLALA	CCL2-0054	5.933	
1A5//2F6-WT IgG1	CCL2-0058	10.254	2.7
1A5//2F6-PGLALA	CCL2-0055	3.825	

【0487】藉由電化學發光 (ECL) 測量血清中總人類 CCL2 濃度

【0488】藉由 ECL 測量小鼠血清中總人類 CCL2 濃度。將 3ug/mL 的抗 CCL2 抗體 2F2-SG1 固定於 MULTI-ARRAY 96 孔盤 (Meso Scale Discovery) 上隔夜，然後在阻斷緩衝液中於 30°C 孵育 2 小時。將人類 CCL2 校準曲線樣品、品質對照樣品及稀釋的小鼠血清樣品與 9% SDS 所組成的變性緩衝液在 37°C 下孵育 30 分鐘，或與 pH2.0-2.5 甘胺酸 Hcl 緩衝液所組成的變性緩衝液在 37°C 孵育 10 分鐘。變性緩衝液的目的是使人類 CCL2 與雙互補位抗體解離。之後，將樣品稀釋 10 倍，並添加至經抗 CCL2 固定的盤上，並在 30°C 下結合 1 小時，然後洗滌。然後，加入 SULFO TAG 標記 MCP-1 抗體，並將盤在

30°C 下孵育 1 小時，然後洗滌。立即將 Read Buffer T (x4) (Meso Scale Discovery) 添加至盤中，並以 SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery) 檢測信號。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)，基於校準曲線的反應來計算人類 CCL2 濃度。

【0489】 藉由酶聯免疫吸附測定法 (ELISA) 測量血清中抗 CCL2 抗體的濃度

【0490】 藉由 ELISA 測量小鼠血清中抗 CCL2 抗體的濃度。將抗人類 IgG κ 鏈 (Antibody Solutions) 分配到 Nunc MaxiSorp 盤 (Thermofisher) 上，並使其在 4°C 下靜置隔夜以製備經抗人類 IgG 固定的盤。以 1% 合併的小鼠血清製備校準曲線和樣品。然後，將樣品分配至經抗人類 IgG 固定的盤上，並在 30°C 下靜置 1 小時。隨後，添加具有 HRP 共軛物的山羊抗人類 IgG (γ-鏈特異性) (Southern Biotech)，在 30°C 下反應 1 小時。使用 ABTS 基質 (KPL) 作為基質進行顯色反應，並藉由微量盤讀取機測量 450 nm 處的吸光度。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices) 從校準曲線的吸光度計算小鼠血漿中的濃度。

【0491】 研究總結

【0492】 總結小鼠 PK 研究數據，與相同劑量的單互補位抗體相比，被測試的雙互補位抗體對人類 CCL2 的掃除更為有效。對於單互補位抗體，具有 WT FcgR 結合與 FcgR 結合靜默的抗體之間的抗原清除率差異很小 (表 3)。相反地，在具有 WT FcgR 結合與 FcgR 結合靜默的雙互補位抗體之間，抗原清除率存在較大差異 (表 4)，此表明所測試的雙互補位抗體可有效掃除人類 CCL2。選擇 CNTO888//11K2 的組合用於進一步的抗體工程化，因為它在清除率上顯示出最大的機會。

【0493】 **實施例 B-2 具有修飾的可變域和 CDR (離子依賴性/pH 依賴性結合) 的抗 CCL2 抗體**

【0494】 **修飾導致離子依賴性/pH 依賴性結合**

【0495】 為了生成 pH 依賴性抗 CCL2 抗體，對 mAb CNTO888 和人源化 11K2 的所有 CDR 進行組胺酸掃描誘發突變。使用 In-Fusion HD Cloning Kit (Clontech Inc. 或 Takara Bio company)，根據製造商的說明，將 CDR 中的每個胺基酸個別突變為組胺酸。通過定序確認每個變異體正確突變後，藉由下列方法瞬時表現和純化變異體：根據製造商的說明，使用 Freestyle FS293-F 細胞和 293Fectin (Life technologies) 瞬時表現重組抗體。重組抗體以蛋白 A (GE Healthcare) 純化，並在 D-PBS 或 His 緩衝液 (20 mM 組胺酸，150 mM NaCl，pH6.0) 中溶析。如果需要，進一步進行粒徑篩析層析法以移除高分子量及/或低分子量組分。與上述方法相比，所有的組胺酸取代的變異體均藉由修正的 BIACORE® 測定進行評估。簡而言之，在 pH7.4 的解離階段後，立即將 pH5.8 的另一個解離階段整合到 BIACORE® 分析。這是為了評估抗體 (Ab) 與抗原 (Ag) 之間在 pH7.4 形成的複合物的 pH 依賴性解離，而不是在 pH5.8 進行對應的解離。藉由使用 Scrubber 2.0 (BioLogic Software) 曲線擬合軟體處理並擬合數據，確定在 pH5.8 緩衝液的解離速率。

【0496】 與 pH7.4 解離階段相比，選擇並組合導致 pH5.8 下結合反應降低的單個組胺酸取代。為了鑑定在 pH7.4 時改善親和力的突變，使用在組胺酸取代步驟中生成的至少一種變異體，分別生成針對重鏈和輕鏈的 500 多種變異體。這些變異體的 CDR 中的每個胺基酸都被 18 個其他胺基酸取代，原始胺基酸和半胱胺酸除外。使用 BIACORE® 4000 儀器 (GE Healthcare) 在 pH7.4 下於 37°C 評估變異體與人類 CCL2 的結合能力。如前所述，在 pH7.4 的解離階段後，立即將另一個 pH5.8 的解離階段整合到 BIACORE® 測定中。藉由使用

Scrubber 2.0 (BioLogic Software) 曲線擬合軟體處理並擬合數據，確定在 pH5.8 緩衝液的解離速率。

【0497】 選擇改善的 pH7.4 親和力和改善的 pH 依賴性的變異體，並將這些突變合併。在下表中，以四個 11K2 變異體和四個 CNTO888 變異體為例。

【0498】 表：設計用於 pH 依賴性結合的四個修飾的 11K2 和四個 CNTO888 變異體

修飾的 11K2 變異體 (VH/VL)	修飾的 CNTO888 變異體 (VH/VL)
11K2H1503/11K2L1338	CNTO888H0625/CNTO888L0616
11K2H1510/11K2L1338	CNTO888H0634/CNTO888L0616
11K2H1503/11K2L1201	CNTO888H0635/CNTO888L0616
11K2H1514/11K2L1338	CNTO888H0695/CNTO888L0616

【0499】 為了評估修飾的 11K2 和 CNTO888 變異體的組合效果，將各 11K2 變異體與四個修飾的 CNTO888 變異體組合，並以 CrossMab 型式表示為雙互補位 CCL2 抗體。在下表中例示說明，其中，4×4 組合導致產生 16 種雙互補位抗體，稱為 CKLO01 至 CKLO16。

【0500】 表：四個修飾的 11K2 和四個修飾的 CNTO888 變異體的組合，產生 16 個雙特異性 (雙互補位) 抗體。

例示性抗 CCL2 抗體	基於可變域
CKLO01	11K2H1503/11K2L1338//CNTO888H0695/CNTO888L0616
CKLO02	11K2H1510/11K2L1338//CNTO888H0695/CNTO888L0616
CKLO03	11K2H1503/11K2L1201//CNTO888H0695/CNTO888L0616
CKLO04	11K2H1503/11K2L1201//CNTO888H0625/CNTO888L0616
CKLO05	11K2H1503/11K2L1338//CNTO888H0634/CNTO888L0616
CKLO06	11K2H1503/11K2L1201//CNTO888H0634/CNTO888L0616
CKLO07	11K2H1514/11K2L1338//CNTO888H0634/CNTO888L0616
CKLO08	11K2H1510/11K2L1338//CNTO888H0634/CNTO888L0616
CKLO09	11K2H1503/11K2L1338//CNTO888H0625/CNTO888L0616
CKLO10	11K2H1514/11K2L1338//CNTO888H0625/CNTO888L0616

CKLO11	11K2H1510/11K2L1338//CNTO888H0625/CNTO888L0616
CKLO12	11K2H1503/11K2L1338//CNTO888H0635/CNTO888L0616
CKLO13	11K2H1503/11K2L1201//CNTO888H0635/CNTO888L0616
CKLO14	11K2H1514/11K2L1338//CNTO888H0635/CNTO888L0616
CKLO15	11K2H1510/11K2L1338//CNTO888H0635/CNTO888L0616
CKLO16	11K2H1514/11K2L1338//CNTO888H0695/CNTO888L0616

【0501】 為了產生雙特異性抗體，使用 WO 2016/016299 中所述之 CrossMab 技術，其中，VH/VL 已在一個抗體臂中交換，而另一抗體臂的 CH1/CL 接口已藉由電荷修飾進行修飾，結合 CH3/CH3 界面中的杵臼 (knobs-into-holes) 技術以促進異源二聚化。對於 CKLO2 IgG1，提供應用此技術的所有四個抗體鏈的例示性序列 (參見 SEQ ID NO：108 至 SEQ ID NO：111)。取決於使用的重鏈恆定域 (例如 IgG1 野生型 (無 Fc 受體結合靜默突變)、PGLALA、SG1095、SG1099、1100 – 對於 SG1095、SG1099、1100，參見下文說明或序列說明)，添加後綴 IgG1、PGLALA、SG1095、SG1099、1100

【0502】 **具有修飾的可變域和 CDR (離子依賴性/pH 依賴性結合) 的雙互補位抗 CCL2 抗體的功能特徵**

【0503】 **親和力測量 (參見上述方法)**

【0504】 對於所有 16 種生成的雙特異性抗 CCL2 抗體 (均為 IgG1 野生型)，皆確定它們的 pH 依賴性結合人類 CCL2。

【0505】 圖 5a 顯示 Biacore® 感測圖，顯示四個修飾的 11K2 和四個 CNTO888 變異體以及組合後的 16 個 Crossmab 在 pH7.4 (黑線) 和 pH5.8 (灰線) 下與單體 CCL2 的結合曲線。

【0506】 圖 5b 顯示 Biacore® 傳感圖，顯示四個修飾的 11K2 和四個 CNTO888 變異體以及與單體 CCL2 組合後的 16 個 Crossmab 的結合曲線，其

中，在 pH7.4 的解離階段後立即將 pH5.8 的另一個解離階段整合至 BIACORE® 測定中。

【0507】 **交叉反應性結合 CCL8**

【0508】 使用 Biacore T200 儀器 (GE Healthcare)，在 37°C 下評估與重組單體人類 CCL2 和重組單體人類 CCL8 結合的 pH 依賴性。根據製造商推薦的設置，使用胺耦合套組 (GE Healthcare) 將抗人類 Fc (GE Healthcare) 固定在 CM4 感測器晶片的每個流通池上。將抗體和分析物稀釋到 ACES pH 7.4 或 pH 5.8 緩衝液 (20 mM ACES，150 mM NaCl，1 mg/ml BSA，0.05％Tween 20、0.005％ NaN3) 中。將抗體捕獲於抗 Fc 感測器表面上，然後將重組單體人類 CCL2 以 8 nM 的濃度注射到流通池上。監測分析物與抗體的締合階段 120 秒，然後進行 180 秒的解離階段。每個週期用 3M $MgCl_2$ 將感測器表面再生。結合感測圖藉由對捕獲水平的結合反應的標準化以 TIBCO Spofire 處理。

【0509】 藉由改良的 Biacore 測定，檢查在 pH 7.4 形成的抗體/抗原複合物的 pH 依賴性解離評估。簡而言之，在 pH 7.4 的解離階段之後，立即將 pH 5.8 的另一個解離階段整合到 Biacore 測定中。結合感測圖藉由對捕獲水平的結合反應的標準化以 TIBCO Spofire 處理。

【0510】 重組人類 CCL8 P8A 單體的表現和純化：野生型人類 CCL8 的序列獲自 Genbank (NCBI：NP_005614.2)為了製備單體 CCL8，將成熟 CCL8 蛋白質的位置 8 的脯胺酸突變為丙胺酸。根據製造商的說明轉染 Expi 293 細胞 (Lifetech)。使用 SP-Sepharose HP (GE Healthcare) 和 Superose 200 粒徑篩析 (GE Healthcare) 層析，藉由陽離子交換層析法使用相同的方法從細胞培養上清液中純化 CCL8 野生型和 P8A 單體蛋白質。簡而言之，將細胞培養上清液用 MilliQ 水 (Millipore) 稀釋 2.5 倍，加載至以 PBS 平衡的 Hi-Trap SP-HP 管柱上，用平衡緩衝液洗滌，並使用 0-2M NaCl 梯度溶析。合併溶析的蛋白質餾分，並經粒

徑篩析層析法進一步純化，使用 HiLoad 16/600 Superose 200 (GE Healthcare) 管柱，以 20 mM 組胺酸，150 mM NaCl，pH 6.0 平衡。藉由粒徑篩析層析法和 SDS-PAGE 分析餾分。合併含有 CCL8 蛋白質的餾分，濃縮並儲存在 -80°C

【0511】 人類 CCL8 與 CCL2 具有高度同源性，並且也能與 CCR2 結合。由於 11K2 臂能夠結合 CCL8 (參見圖 1)，因此有必要鑑定突變以減少這種結合，避免中和 CCL8 的脫靶效應。此外，移除 11K2 臂上的 CCL8 結合對於有效形成與 CCL2 的免疫複合物很重要。由於 CNTO 臂不結合 CCL8，因此 CCL8 與 11K2 臂的結合將干擾與 CCL2 形成的免疫複合物，這可能會降低 CCL2 從血漿中的清除率。

【0512】 為了鑑定降低 11K2 與人類 CCL8 的結合及賦予對人類 CCL2 選擇性的突變，將一些 CDR 位置取代，例如 CKLO02 的 11K2 VH 中的 D101E 或 CKLO03 的 11K2 VL 中的 W92R，以移除與 huCCL8 的交叉反應性。如圖 6 所示，藉由工程化 11K2 可顯著降低雙互補位 Crossmab 中的 CCL8 結合。CKLO01 變異體未經過優化以減少 CCL8 的結合，而 CKLO04、CKLO03 和 CKLO02 包含突變以降低 CCL8 結合。所有四個 Crossmab 均與 CCL8 具有 pH 依賴性結合。

【0513】 在 pH 7.4 和 pH 5.8 下的抗 CCL2 抗體與重組 CCL2 和 CCL8 的結合親和力

【0514】 為了確定親本 CNTO888H/11K2H2 的親和力及 pH 依賴性結合，使用 Biacore T200 儀器 (GE Healthcare) 在 37°C 下評估 CKLO1、CKLO2 和 CKLO3 與人類 CCL2 和 CCL8 的結合。根據製造商推薦的設置，使用胺耦合套組 (GE Healthcare) 將抗人類 Fc (GE Healthcare) 固定在 CM4 感測器晶片的每個流通池上。將抗體和分析物稀釋到 ACES pH 7.4 或 pH 5.8 緩衝液 (20 mM ACES，150 mM NaCl，1 mg/ml BSA，0.05％Tween 20、0.005％ NaN3) 中。將

抗體捕獲到抗 Fc 感測器表面上，然後將重組人類 CCL2 P8A 變異體 (單體) 或 CCL8 P8A 變異體 (單體) 以兩倍連續稀釋製備的 1.25 nM 至 20 nM 注入流通池。每個週期用 3M MgCl2 將感測器表面再生。藉由使用 Biacore T200 評估軟體 2.0 版 (GE Healthcare) 處理數據並將其擬合為 1:1 結合模型來確定結合親和力。在 pH 7.4 和 pH 5.8 下抗 CCL2 抗體對重組 CCL2 和 CCL8 的結合親和力顯示於下表 5 中。

【0515】 表 5：在 pH 7.4 和 pH 5.8 下的抗 CCL2 抗體與重組 CCL2 和 CCL8 的結合親和力

雙特異性抗 CCL2 抗體	對人類 CCL2 之 KD		對人類 CCL8 之 KD	
	pH 7.4	pH 5.8	pH 7.4	pH 5.8
CNTO8888/11k2	1.28E -11	2.35E -13	1.47E -09	1.75E -09
CKLO1	7.39E -12	9.32E -09	2.33E -08	n.d.
CKLO2	4.32E -12	n.d.	n.d.	n.d.
CKLO3	6.85E -12	2.17E -08	n.d.	n.d.

注意：n.d.由於結合反應低，無法確定 KD。

【0516】 表 5 中的數據表明，對於 CKLO2 及 CKLO3，在 pH7.4 時與 CCL8 的結合被消除，同時在 pH7.4 時保持強大的親和力以及與 CCL2 的 pH 依賴性結合。結果表明，基於將 CNTO888 和 11K2 的親本雙特異性抗體的可變區和 CDR 中引入的不同修飾成功地生成親和力成熟的變異體 CKLO1、CKLO2、CKLO3，與親本 Ab 在 pH 7.4 相比，具有對 CCL2 增強的結合親和力。同時，CKLO1、CKLO2、CKLO3 顯示對於 CCL2 強的 pH 依賴性結合。與 pH 7.4 時的 KD 值相比，pH 5.8 時與 CCL2 的結合親和力的 KD 弱 1000 倍以上

【0517】 **野生型人類 CCL2 的清除率**

【0518】 為了評估 pH 依賴性雙特異性抗體增強野生型人類 CCL2 清除的能力，以 10 ml/kg 的單劑量投予由抗 CCL2 單互補位抗體 (20mg / kg) 和野生型人類 CCL2 (0.1mg/kg) 所組成之預形成的免疫複合物至 SCID 小鼠的尾靜脈中。投予後 5 分鐘、1 小時、4 小時、7 小時、1 天和 7 天收集血液。將血清儲存在 -80℃ 下或低於 -80℃ 下直至測量。測試的 Crossmab 抗體是親本 CNTO//11K2，以及四個 pH 工程化變異體 CKLO01、CKLO02、CKLO03 和 CKLO04。所有抗體均具有 IgG1 野生型 Fc 部分 (無突變靜默/消除 Fc (γ) 受體結合)。如上所述 (在「評估小鼠中以雙互補位抗體掃除的人類 CCL2 免疫複合物」，表 4 之後)，進行小鼠血清中總人類 CCL2 和 抗 CCL2 抗體濃度的測量。

【0519】 結果如圖 7a 所示：將由 hCCL2 和雙特異性抗 CCL2 抗體 (親本 CNTO//11K2 和 pH 依賴性變異體 CKLO01、CKLO02、CKLO03 和 CKLO04) 所組成的預形成免疫複合物注射至 SCID 小鼠後一段時間的 hCCL2 血清濃度。所有這四個 pH 工程化變異體均顯示人類 CCL2 的快速清除。對於 CKLO02、CKLO03，人類 CCL2 在第 1 天均低於檢測限度。對於親本 CNTO//11K2，最初觀察到人類 CCL2 的快速清除，直到第 1 天，但此後，人類 CCL2 的清除緩慢。

【0520】 實施例 B-3 具有修飾的可變域和 CDR 的抗 CCL2 抗體 (離子依賴性/pH 賴性結合) 及 Fc 介導的掃除

【0521】 **藉由掃除技術修飾雙特異性抗 CCL2 抗體**

【0522】 使用掃除技術修飾雙特異性抗 CCL2 抗體，以使該雙特異性抗 CCL2 抗體能夠在更長的時間內消除游離 CCl2，從而在活體內能夠持續生物學效應，例如抗癌功效或抗炎性功效。

【0523】 掃除概念敘述於 Igawa 等人，Immunological Reviews 270 (2016) 132–151、WO2012/122011、WO2016/098357 及 WO2013/081143 ，其等藉由引用併入本文。

【0524】 **pI Fc 介導的掃除**

【0525】 已證明 pH 工程化的雙互補位抗體可在*活體內*加速 CCL2 清除率，我們接下來評估具有 pI-增加取代的抗體以增強野生型人類 CCL2 清除率的能力。將由抗 CCL2 單互補位抗體(20mg/kg) 和野生型人類 CCL2 (0.1mg/kg) 所組成的預形成免疫複合物以 10 ml/kg 的單劑量投予 SCID 小鼠的尾靜脈。投予後 5 分鐘、30 分鐘、1 小時、2 小時、4 小時和 7 天收集血液。將血清儲存在 -80°C 下或低於 -80°C 下直至測量。測試的 Crossmab 抗體是帶有 IgG1 的親本 CKLO03 及帶有 pI 增強 Fc 的 CKLO03、CKLO03 - SG1099。如上所述 (在「評估小鼠中以雙互補位抗體掃除的人類 CCL2 免疫複合物」，表 4 之後)，進行小鼠血清中總人類 CCL2 和 抗 CCL2 抗體濃度的測量。

【0526】 結果顯示於圖 7b：將由 hCCL2 和 CKLO03 (帶有 IgG1 野生型 Fc) 或 CKLO03-SG1099 (帶有增強的 I Fc 的 CKLO03) 所組成的預形成免疫複合物注射至 SCID 小鼠後一段期間的 hCCL2 血清濃度。與具有 IgG1 的 CKLO03 相比，含有 Fc 取代 Q311R/P343R (EU Kabat 編號) 的 CKLO03-SG1099 顯示出對人類 CCL2 的更快的清除率/降低。這表明具有 pI-增加突變的 pH 依賴性雙互補位抗體可加速 CCL2 的清除率。

【0527】 **具有 FcγRIIb 增強的 Fc 變異體和其他 Fc 修飾的雙互補位抗 CCL2 抗體的生成**

【0528】 在此實例中，說明了增強 CCL2 清除率的 Fc 工程化。

【0529】 在 WO 2013/125667 中已證明，可藉由投予包含對 FcγRIIb 表現出增加親和力的 Fc 域的抗原結合分子 (例如抗體) 來增強可溶抗原的清除率。

此外，在 WO 2012/115241 和 WO 2014/030728 中已說明可顯示出人類 FcγRIIb 增強結合的 Fc 變異體。亦已經說明，這些 Fc 變異體可顯示出對於人類 FcγRIIb 的選擇性地增強結合和對於其他活性 Fcγ 受體 (Fc γ Rs) 的降低結合。此 FcgRmRIIb 結合的選擇性增強不僅有利於清除可溶性抗原，而且還有助於降低不期望的效應子功能和免疫反應的風險。

【0530】 為了開發抗體藥物，應在藥物具有醫藥活性下於非人類動物中評估功效、藥物動力學和安全性。如果僅在人類中有活性，則必須考慮其他方法，例如使用代用抗體 (Int. J. Tox.28: 230-253 (2009))。然而，使用替代抗體來精確預測人類的 Fc 區與 FcγR 之間的相互作用的影響並不容易，因為非人類動物中 FcγR 的表現模式及/或功能並不總是和人類中一樣。較佳的抗體藥物的 Fc 區應與非人類動物，特別是對食蟹獼猴具有交叉反應性，所述食蟹獼猴具有接近於人類的 Fc γ Rs 的表現模式和功能，從而在非人類動物中所獲得的結果可推斷至人類。

【0531】 生成雙特異性抗 CCL2 抗體的以下 IgG1 恆定域/Fc 變異體，在 Fc 部分的位置處具有突變 (EU Kabat 編號)

SG1095 - 源自 IgG1，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L235W/G236N/H268D/Q295L/A330K/K326T (適於增加對人類 FcgRIIb 的親和力並與減少對其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

源自 IgG1 的 SG1099 包括突變 (Kabat EU 編號)：

Q311R/P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)

SG1100 - 源自 IgG1，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-Q311R/P343R (適於增加 pI 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

源自 IgG1 的 GG01，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

源自 IgG1 的 GG02，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-M428L/N434A/Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

GG03 - 衍生自 IgG1 (SG1-IgG1 異型)，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-N434A (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

GG04 - 源自 IgG1 (SG1-IgG1 異型)，包括突變 (Kabat EU 編號)：

-L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K (適於增加與人類 FcgRIIb 的親和力和與其他人類 FcgR 的親和力)；

-Q311R/P343R (適於增加等電點 (pI) 以增強抗原的攝取)；

-M428L/N434A/Y436T (適於增加與 FcRn 的親和力以延長抗體的血漿半衰期)；及

-Q438R/S440E (適於抑制類風濕因子結合)

【0532】**具有修飾的可變域和 CDR (離子依賴性/pH 依賴性結合) 及具有或沒有 Fc 介導的掃除的雙特異性抗 CCL2 抗體的功能特徵**

【0533】**CKLO2 之 Fc 變異體 SG1095、GG01、GG02、GG03/04 的 SPR 結合**

【0534】在 Biacore 8K 儀器上進行的 SPR 測定中，研究單體人類 CCL2 及食蟹獼猴 CCL2 與 4 種不同抗體 P1AD8325、P1AF8137、P1AF8139 和 P1AF8140 在 pH 7.4 和 5.8 下的結合。

【0535】在此設置中，使用胺耦合方法將 CaptureSelect™ Human Fab-κ (ThermoFisher Scientific) 固定在 CM3 感測器晶片上，捕獲各種抗體作為配體，並以 0、10、100 和 1000 nM 單體人類 CCL2 或食蟹獼猴 CCL2 作為分析物，在兩個不同 pH 值下執行測量。

【0536】CKLO2-SG1095、CKLO2-GG01、CKLO2-GG02、CKLO2-GG03/04 顯示出與單體人類 CCL2 和食蟹獼猴 CCL2 幾乎相同的結合曲線，它

們在 10、100 和 1000 nM 結合且在 pH 7.4 下同樣快速解離，而在 pH 5.8 下觀察到沒有穩定的結合。結果顯示於下表中。

【0537】表：與 CKLO2-SG1095、CKLO2-GG01、CKLO2-GG02、CKLO2-GG03/04 的單體人類 CCL2 和食蟹獼猴 CCL2 的結合顯示與單體人類 CCL2 和食蟹獼猴 CCL2 幾乎相同的結合曲線

抗體	抗原	Rmax (RU) @ pH 7.4	t 1/2 (s) @ pH 7.4	Rmax (RU) @ pH 5.8	t 1/2 (s) @ pH 5.8
CKLO2-GG01	單體人類 CCL2	**15.9**	**6.18**	**29.8**	**3.29**
CKLO2-GG02	單體人類 CCL2	**16.8**	**4.04**	**28.8**	**3.29**
CKLO2-GG03/04	單體人類 CCL2	**17.6**	**5.90**	**29.6**	**3.24**
CKLO2-SG1095	單體人類 CCL2	**19.0**	**5.49**	**35.3**	**3.51**
CKLO2-GG01,	單體食蟹獼猴 CCL2	**16.5**	**7.10**	**30.7**	**3.22**
CKLO2-GG02,	單體食蟹獼猴 CCL2	**17.2**	**5.97**	**29.5**	**3.14**
CKLO2-GG03/04	單體食蟹獼猴 CCL2	**17.9**	**6.48**	**30.4**	**3.12**
CKLO2-SG1095	單體食蟹獼猴 CCL2	**19.5**	**6.07**	**36.0**	**3.41**

【0538】**趨化性測定**

【0539】*方法說明*

【0540】將 THP-1 細胞培養 3 天，直至 8x10E5 細胞/ml。將總細胞數 5000 細胞/孔接種在微量滴定盤的上部腔室中，並使其在 37°C 下沉降，在具有或沒有抗 CCL2 抗體的情況下，將重組 huCCL2 以 50 ng/ml 的最終濃度移量至底部腔室中 (當執行測定以測試代用抗體時，改用重組 muCCL2，濃度為 100 ng/ml)。將上部腔室和底部腔室合併在一起，避免形成氣泡，然後將盤在 37°C 下孵育 24 小時，根據製造商的建議，藉由 Cell Titer Glo 方法對遷移細胞進行定量，並使用 Tecan Infinite 200 Reader 測量發光。

【0541】結果示出於圖 8：趨化性測定：具有相同 CDR 和可變區 VH/VL 的雙特異性抗 CCL2 抗體，即 CKLO2-IgG1 野生型和 CKLO2-SG1095，但具有

不同的 Fc 部分，可以相同效價 (IC_{50} = 0.2 μg/ml；圖 8，左圖) 抑制 THP-1 細胞遷移。

【0542】 相似地，CCL2-0048 (CKLO2 的親本 VH/VL-未修飾的雙特異性抗體 CNTO888/11k2，其為非 pH 依賴性) 也顯示 IC_{50} 為 0.2 μg/ml，因為 pH 依賴性對於掃除抗原至關重要，這種測定法中不會發生的現象。

【0543】 對應的單互補位抗體 CNTO888 IgG1 和人源化 11k2 IgG1 顯示 IC_{50} 值分別為 0.3 和 0.7 μg/ml，而 huIgG1 同型對照則顯示無抑製作用 (圖 8，右圖)。

【0544】 在其他類似實驗中，確定了 CKLO2-GG01 (0.2 μg/ml)、CKLO2-GG02 (0.2 μg/ml) 及 GG03/GG04 (0.3 μg/ml) 的 IC_{50} 值。

【0545】 **在轉基因小鼠模型中的*活體內*生物活性**

【0546】 材料與方法

【0547】 B16-huCCL2/CCL2-假設模型

【0548】 生成本模型的目的是測試抗人類 CCL2 抗體，而不會干擾具有免疫能力的荷瘤小鼠的小鼠 CCL2。為此，選擇了小鼠腫瘤細胞株 B16-F10，因為它不分泌 mCCL2，並且已知在 C57/Bl6 系的小鼠活體內生長，這是 CCL2 剔除小鼠的遺傳背景。

【0549】 為了生成表現 huCCL2 的 B16F10 腫瘤細胞的穩定庫，將它們用編碼 huCCL2 的質體 DNA 和 潮黴素 B (Hygromycin B) 選擇盒進行轉染。因此，將細胞以 2.0E + 05 個細胞/孔的密度接種到 6 孔盤中的生長培養基 (DMEM + 10% FCS + 2mM L-麩醯胺酸) 中。24 小時後，將由每孔 1 μg DNA 和含 Lipofectamine 2000 之 Opti-MEM 培養基所組成的轉染混合物加入。隨後，將細胞用含有潮黴素-B (0.5 mg/ml) 的培養基進行選擇。培養 20 天後，基於 FSC/SSC-散射，使用 BD FACS Aria III 對活的單一細胞進行分選。12 天後，與

野生型 B16F10 細胞相比，使用來自 ebioscience 的 ELISA Ready-SET-Go (Cat # 88-7399-86) 篩選來自單一細胞選殖株的細胞培養物上清液中人類 CCL2 的表現 (數據未顯示)。

【0550】 將選擇的 B16-F10_HOMSA_CCL2 腫瘤細胞選殖株 1A5、2A3 和 2B2 在 37% 的水飽和氣壓中於 5% CO2 下，常規培養於含有 10% FCS 和 2 mM L-麩醯胺酸的 DMEM 中 (PAN Biotech GmbH，Germany)。以胰蛋白酶 /EDTA 1x (PAN Biotech GmbH，Germany) 每週分樣兩次執行培養繼代。

【0551】 在雌性 B6.129S4-Ccl2tm1Rol/J 小鼠 (Jackson Laboratories) 到達 7 至 10 週齡時，接種 B16-F10_HOMSA_CCL2 腫瘤細胞選殖株：在當天 (研究第 0 天)，從培養瓶中收穫腫瘤細胞，轉移到培養基中，洗滌一次並再懸浮於 PBS 中。使用細胞計數器和分析儀系統 (Vi-CELL，Beckman Coulter) 確定細胞數。用於 s.c. 注射的細胞力價調整為 1×10E7 細胞/ml，並以 100 µl 皮下注射至小鼠右側腹部，其使用冷卻的 1.0 ml 結核菌素注射器 (Dispomed, Germany) 和小針頭 (0.45 x 12mm)。在以小動物的吸入單位的異氟烷 (isoflurane) (CP Pharma，德國) 全身麻醉下進行細胞接種。

【0552】 每天監測腫瘤生長，並在研究第 15 天犧牲小鼠，此時 B16-F10_HOMSA_CCL2 腫瘤細胞選殖株 1A5 和 2A3 達到約 1000 mm3 (此時，由於生長速度較慢，因此 2B2 腫瘤約為 600 mm3)。在終點時，如上所述採集血液樣品用於 CCL2 測量，並將腫瘤移出並以流式細胞術分析。

【0553】 發現小鼠免疫細胞浸潤所有腫瘤，證實人類 CCL2 能夠吸引小鼠 CCR2+ 細胞的觀點。B16-F10_HOMSA_CCL2 腫瘤細胞殖株 1A5 表現出最高的 CD45+ 總浸潤率和最高的相對 mMDSC (源自單核細胞的抑制細胞) 組成 (圖 2)。即使 2A3 細胞導致血清總 CCL2 水平與 1A5 細胞相似，殖株 2A3 和

2B2 在腫瘤中的免疫細胞頻率也較低，而 2B2 殖株卻顯示出明顯較低的 CCL2 血清濃度 (數據未顯示)。

【0554】 如上所述，將雌性 B6.129S4-Ccl2tm1Rol/J 小鼠接種 B16-F10_HOMSA_CCL2 腫瘤細胞殖株 1A5。

【0555】 細胞接種 5 天後開始研究組的治療。第 1 組接受人類 IgG 媒劑對照治療，而第 2 和第 3 組分別以 Mab CKLO2-IgG1 (Fc 野生型 IgG1) 和 CKLO2-SG1099 ((基於 IgG1 的 CKLO2 pI-增強的 Fc，與具有突變 Q311R/P343R (Kabat EU 編號))，每天以 3,7 mg/kg 經 i.p. 治療 9 天。在研究的第 14 天，將小鼠犧牲並移植腫瘤。使用酶消化和細胞濾器從每個腫瘤塊生成單一細胞懸浮液，藉由流式細胞術進行非蓄集分析。為了檢測目標免疫細胞群，使用以下標記和螢光染料：CD45-BUV395、CD11b-BUV737、F4/80-BV421、CD11c-BV605、Ly6C-AF488、Ly6G-PerCP-Cy5.5、CD206-BV711、CD4-BV510、CD8a-APC-H7、NK1.1-PE-Cy7、CD279-APC 及 CD274-PE。使用 BD LSR-Fortessa 流式細胞儀採集樣品，並使用 BD Diva Software 分析。

【0556】 在研究的第 6、8、11 和 14 天抽取血清樣品以測量總 huCCL2 及游離 huCCL2。

【0557】 下文「食蟹獼猴中 CCL2 掃除效率的概念驗證研究」中詳細介紹檢測游離 CCL2 的方法。為了分析此研究中的游離人類 CCL2，將重組食蟹獼猴 CCL2 置換為重組人類 CCL2，以製備校準物和 QC。

【0558】 用未經驗證但合格的特異性三明治 ELISA 分析總 CCL2 血清樣品。簡而言之，將生物素化的抗 CCL2 捕獲抗體 (CNTO888 CCL2-0004)、阻斷緩衝液、預處理的測試樣品和檢測試劑 (地高辛化 (digoxigenylated) 的抗 CCL2 抗體 (M-1H11-IgG)) 逐步添加到 384 孔卵白素塗覆微量滴定盤中，在每個步驟中將盤置於非劇烈振盪器中孵育 1 小時。為了在預處理步驟中解離 CCL2-藥物

複合物，將校準物或 QC 在 pH 5.5 下於 37°C 酸化 10 分鐘。將酸化的樣品添加到 SA-MTP 中。為了檢測固定的免疫複合物，添加多株抗地高辛 (digoxigenin)-POD 共軛物，並將盤孵育 60 分鐘。在各步驟後，將盤洗滌三次以除去未結合的物質。

【0559】 將 ABTS 加入板中，並在室溫下振盪孵育。在 405/490 nm 波長處測量吸收。使用分析軟體 XLFit (IDBS)，基於校準曲線的反應計算人類 CCL2 濃度。

【0560】 依據統計分析的數據集，相應地應用了 t-測試或單向 ANOVA 與 Tukey 測試進行多次比較。

【0561】 結果

【0562】 在研究結束時，接受 CKLO2-SG1099 (CKLO2 pI-增強的 Fc) 的那些小鼠的腫瘤體積和腫瘤重量顯著降低 (圖 9)。仔細觀察腫瘤浸潤，發現單核細胞骨髓來源抑制細胞 (monocytic myeloid-derived suppressor cell，M-MDSC) 的腫瘤浸潤減少，如 CCL2 阻斷所預期的 (圖 9)。

【0563】 此外，血清分析證實該療法的有效性：與 IgG1 野生型 Fc CKLO2 分子相比，pI 優化確實導致總 CCL2 積累的減少，而游離 CCL2 (未與抗體結合) 在檢測極限下被完全抑制 (圖 10)。因此，本模型適合使用抗 huCCL2 雙互補位掃除抗體 CKLO2-SG1099 (CKLO2 pI-增強的 Fc) 研究在腫瘤中 CCL2 阻斷的作用。在隨後的研究中研究最佳劑量方案其為每週一次或兩次以較低劑量給予 CKLO2-SG1099 (CKLO2 pI-增強的 Fc)，並在數週內監測游離 CCL2 抑製作用的擴展。此外，在此模型中亦探索了與 T 細胞活化療法 (即 T 細胞雙特異性，PD-L1 阻斷) 的組合。

【0564】 在另外的類似實驗中，分析其他變異體，例如 CKLO2-SG1095、CKLO2-GG01、GG02 及 GG03/GG04。

【0565】 **食蟹獼猴 CCL2 掃除效率的概念驗證 (POC) 研究**

【0566】 **方法。**此研究的主要目的是評估食蟹獼猴中 CCL2 抑製作用的擴展和四種抗 CCL2 (MCP-1) 抗體的掃除效率。次要目的是評估這些抗體的藥物動力學 (PK) 特性。在 30 分鐘內，以 25 mg/kg 的單次 IV 輸注方式對所有 3 至 4 歲的雄性動物投予所有抗體，並在 70 天內測量血清中的總 CCL2 和抗體濃度。研究的抗 CCL2 抗體由對照抗體 (第 1 組和第 2 組) 以及經過特殊工程化以增強消除 CCL2-藥物複合物 (以下稱為抗原掃除或簡稱為掃除) 的抗體組成。第 1 組：CNTO888–SG1 (= IgG1 野生型) 抗 CCL2 抗體 (n = 3 隻動物) 作為最大 CCL2 總累積的對照；第 2 組：具有 pH 依賴性目標結合但無 Fc 修飾的雙互補位抗 CCL2 抗體 CKLO2-SG1 (IgG1 野生型) (n＝3)；第 3 組：具有 pH 依賴性目標結合和 Fc-pI 並進一步修飾的雙互補位抗 CCL2 抗體 CKLO2-SG1100 (n=4) 及第 4 組：具有 pH 依賴性目標標結合、Fc-pI FcγRII 和進一步修飾的雙互補位抗 CCL2 抗體 CKLO2-SG1095 (n＝4)。

【0567】 在此研究中，定量抗體的總血清濃度、總 (游離和抗體-結合的 CCL2) 及游離目標。此外，評估抗藥物抗體 (ADA) 的存在。使用 Phoenix 64 (Pharsight/ Certara)，藉由非隔室分析來分析抗體、總 CCL2 及游離 CCL2 曲線；數據使用 GraphPad Prism v.6.07 (GraphPad Software) 說明。

【0568】 對於抗體，使用通用的人類三明治 ELISA 方法分析血清樣品。通過 ELISA 測量猴血清中總抗體的濃度。將 2 μg/mL 抗人類 κ 鏈抗體固定在 maxisorp 96 孔盤上隔夜，然後在阻斷緩衝液中於 30°C 下孵育 2 小時。在洗滌之前，將抗體校準曲線樣品、品質控制樣品和猴血清樣品在盤上於 30°C 孵育 1 小時。接下來，添加抗人類 IgG -HRP，並在洗滌前於 30°C 孵育 1 小時。將 ABTS 基質孵育 10、20 和 30 分鐘，然後用微量盤讀取機在 405 nm 處檢測。使

用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)，基於校準曲線的反應來計算抗體濃度。

【0569】使用未經驗證但合格的特定三明治 ECL 方法測定來分析總 CCL2 血清樣品。將 3 μg/mL 的抗 CCL2 抗體 (r2F2-SG1) 固定在 MULTI-ARRAY 96 孔盤 (Meso Scale Discovery) 上隔夜，然後在阻斷緩衝液中於 30°C 孵育 2 小時。將食蟹獼猴 CCL2 校準曲線樣品、品質控製樣品及食蟹獼猴稀釋血清樣品與 pH5.5 酸性緩衝液在 37°C 下孵育 10 分鐘。之後，將樣品在 30°C 的抗 CCL2 固定盤上孵育 1 小時，然後洗滌。接下來，添加 SULFO TAG 標記 MCP-1 抗體，並在洗滌前於 30°C 孵育 1 小時。立即將 Read Buffer T (x4) (Meso Scale Discovery) 添加至盤中，並以 SECTOR Imager 2400 (Meso Scale Discovery) 檢測信號。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)，基於校正曲線的反應來計算食蟹獼猴 CCL2 的濃度。

【0570】以未經驗證但合格的 GyrolabTM 免疫測定法，在 Gyrolab Xplore 上運行分析游離的 CCL2 血清樣品。使用生物素化的抗 CCL2 抗體 (M-2F6-IgG) 作為捕獲試劑，並選擇 Alexa647 標記抗 CCL2 抗體 (M-1H11-IgG) 進行檢測。將兩種試劑以 PBS，0.1% Tween，1% BSA 稀釋至 1 μg/mL，然後轉移至 96 孔 PCR 盤 (Fisher Scientific)。食蟹獼猴 CCL2 校準曲線樣品、QC 和 未稀釋的血清樣品亦轉移至 96 孔 PCR 盤中。將兩個盤與 Gyrolab Bioaffy 200 nl 盤 (Gyros Protein Technologies AB) 一起裝入儀器。選擇三步測定規程 (200-3W-001)。簡而言之，該方案描述將捕獲試劑、樣品和檢測試劑依序添加到 Gyrolab Bio Affy 200 圓盤的指定卵白素管柱中，在圓盤上進行短暫的旋轉步驟後，每種試劑會同時到達管柱，每個步驟後，用 0.05%Tween PBS 洗滌管柱，最後在儀器內記錄雷射誘導的螢光值。使用 XL Fit 軟體 (IDBS)，基於校準曲線的反應計算游離食蟹獼猴 CCL2 濃度。

【0571】使用其他處所述之方法分析 ADA (Stubenrauch 等人，2010)。總之，將生物素化 mAb 抗人類 Fcγ-pan R10Z8E9 以 0.5 μg/mL 的濃度結合至經卵白素塗覆的高結合盤，並孵育 1 小時，將樣品和標準物以測定緩衝液稀釋至 5%食蟹獼猴血清，並在洗滌後添加至經塗覆的盤的各孔中，並振盪孵育 1 小時。洗滌後，加入 0.1 μg/ mL 的地高辛化抗食蟹獼猴 (cyno) IgG，並振盪孵育 1 小時。洗滌後，加入 25 mU/mL 的多株抗地高辛-HRP 共軛物，並振盪溫孵 1 小時。將 ABTS 加入盤中，並在室溫下振盪孵育 10 分鐘。以用微量盤讀取機在 405/490 nm 波長處測量吸收。使用分析軟體 SOFTmax PRO (Molecular Devices)，基於校準曲線的反應來計算 ADA 濃度。

【0572】**結果。**在無 ADA 的動物 (即第 14 天之前) 的時間內評估 PK 行為。在此時期，所有抗 CCL2 抗體的血清濃度-時間曲線是相似的 (參見圖 11 左圖)，且在第 1、2、3 和 4 組分別為 1490、1810、1210 及 1320 天 μg/ mL 的不同組之間，部分平均 AUC 值 ($AUC_{0\text{-}7d}$) 相當。相似地，平均 C_{max} 值分別與第 1、2、4 和 4 組的 620、764、616 和 664 μg/mL 相當。ADA 的發展程度在動物和各組別之間差異很大，並導致第 7 天後的高度可變的 PK 曲線 (數據未顯示)。在 70 天的整個觀察期內，第 2 組的一隻動物為 ADA 陰性 (見圖 11 右圖)。在此動物中，藉由非隔室分析，抗 CCL2 抗體的清除率、分佈體積和終末半衰期分別為 7.34 mL/(天.kg)、76.2 mL/kg 和 10.9 天。

【0573】在抗體治療開始之前，評估每隻動物血清中 CCL2 的基線水平。基礎 CCL2 水平範圍為 0.126 至 0.357 ng/mL (幾何平均數 (%CV)：0.199 ng/mL (32.2%，N = 14))。由於 CCL2 之游離形式具有比 CCL2 之抗體結合形式更高的消除率，預期抗體治療後總 CCL2 血清濃度會增加。在所有組別中均確實觀察到了這點 (圖 12 左圖)，表明所有抗體均與目標結合。在治療下，第 1、2、3 和 4 組的總 CCL2 的 C_{max} 值分別增至 824、575、106、32.7 ng/mL。第

1、2、3 和 4 組的 AUC_{0-7d} 值分別為 3060、2970、522 和 181 天.ng/mL。在動物為 ADA 陰性期間，莫耳藥物濃度仍然超過總 CCL2 濃度。與習知抗體 (第 1 組) 的相比，兩種掃除抗 CCL2 抗體 (第 3 組和第 4 組) 在總 CCL2 血清濃度上顯示基於血清 C_{max} 值分別為約 8 倍和 25 倍及基於總 CCL2 的 AUC_{0-7d} 值約 6 和 17 倍的可觀降低。第 2 組的 ADA 陰性動物表現出總 CCL2 濃度的持續目標接合 (高原區明顯) (圖 12 右圖)。

【0574】 用所有抗體進行的治療均導致血清中游離 CCL2 水平的顯著降低 (圖 13 左圖)，但這種降低部分僅在開始時。在第 1 組中，一天後所有個體的游離 CCL2 含量均再次達到可量化水平。在第 2 組中，兩天後所有個體的游離 CCL2 含量均再次達到可量化水平。在第 3 組和第 4 組中，每組有兩個個體顯示七天的游離 CCL2 抑制。在第 3 組中，兩隻具有中等 ADA 反應並保持足夠抗體濃度的動物在 21 天的檢測限度內表現出游離的 CCL2 抑制。在 ADA 陽性動物中，抗體消除顯著增加，且由於失去目標結合的結果，CCL2 水平迅速恢復到其原始基線 (此處未顯示)。

【0575】 在另外的類似實驗中，分析其他變異體，例如 CKLO2-SG1099、CKLO2-GG01、GG02 及 GG03/GG04。

【0576】 **食蟹獼猴 CCL2 掃除效率的 PK/PD 研究**

【0577】 **研究大綱和目標。**PK/PD 研究是基於使用抗 CCL2 抗體 CKL02-SG1095 進行的 POC 研究結果而設計的。由於 POC 研究證明了高度的抗藥物抗體 (ADA) 形成，因此在 PK/PD 研究中加入 Gazyva® (obinituzumab) 治療，目的是減少 ADA 反應。為了此目的，在整個研究中藉由靜脈輸注投予 30 mg/kg 劑量的 Gazyva 四次：第 -14、-7、8 和 36 天。在第 1 天 (第 1-3 組)，在 30 分鐘內以 IV 輸注向每劑量組別四隻動物 (2/2 隻雄性和雌性) 以 2.5、10 和 25 mg/kg 的劑量投與 CKL02-SG1095。為了比較，在第 1 天的 30 分鐘內 IV 輸注 25

mg/kg 常規抗 CCL2 抗體 (CNTO888-IgG1) (第 4 組；與上述 POC 研究的第 1 組相同的對照)。將總 PK (CKL02-SG1095)、總 CCL2 和游離 CCL2 濃度評估直至第 99 天 (即給藥後 14 週)。

【0578】 PK/PD 研究的目的是證實與非人類靈長類動物中的常規抗 CCL2 抗體 (具有野生型 IgG1 Fc 部分的 CNTO888) 相比，CKL02-SG1095 的游離 CCL2 的延長抑制期間。

【0579】 **方法。**在此研究中，定量總 PK 及總 CCL2 和游離 CCL2。然而，由於血清樣品中存在 Gazyva，與本文所述之 POC 研究相比，對總 PK 測定、總 CCL2 測定和 ADA 測定進行一些修正。對於 CNTO888 IgG1，未開發 PK 分析。

【0580】 藉由 ELISA 測量猴血清中總抗體 CKL02-SG1095 的濃度。對於 ELISA 生物素化重組人類 CCL2 (抗原)，將預處理的測試樣品、陽性對照標準物 (校準品) 或 QC (品質對照) 和地高辛化抗人類 IgG (M-1.19.31-IgG) 依次添加至 384 孔卵白素塗覆的微量滴定盤 (SA-MTP) 中。為了解離 CCL2-藥物複合物，在 pH 5.5 下執行測試樣品的預處理 20 分鐘。在加入 SA-MTP 之前，將酸化的樣品中和。以多株抗地高辛-POD 共軛物檢測經固定的免疫複合物。在各步驟後，將盤洗滌三次以除去未結合的物質。將 ABTS 作為基質添加至盤中，並在室溫下孵育。在 405/490 nm 波長處測量吸收。使用分析軟體 XLFit (IDBS)，基於校準曲線的反應計算抗體濃度。

【0581】 用未經驗證但合格的特異性三明治 ELISA 分析總 CCL2 血清樣品。簡而言之，將生物素化抗 CCL2 捕獲抗體*、預處理的測試樣品和檢測試劑 (地高辛化抗 CCL2 抗體 (1H11-IgG1)) 逐步添加至 384 孔抗卵白素塗覆的微量滴定盤中，並在無劇烈振動的振盪器上孵育，分別進行 1 小時的捕獲和採樣步驟，以及 50 分鐘的檢測試劑。為了在預處理步驟中解離 CCL2-藥物複合

物，將校準物或 QC 在 pH 5.5 下酸化 20 分鐘。將酸化的樣品添加到 SA-MTP 中。為了檢測固定的免疫複合物，添加多株抗地高辛 (digoxigenin)-POD 共軛物，並將盤孵育 50 分鐘。在各步驟後，將盤洗滌三次以除去未結合的物質。

【0582】 將 ABTS 加入板中，並在室溫下振盪孵育。在 405/490 nm 波長處測量吸收。使用分析軟體 XLFit (IDBS)，基於校準曲線的反應計算食蟹獼猴 CCL2 濃度。*用於分析第 1 組至第 3 組的捕獲抗體：抗 CCL2 CNTO8888 IgG1，用於分析第 4 組的捕獲抗體：抗 CCL2 2F2 IgG1。

【0583】 用橋接三明治 ELISA 在 384 孔盤中篩選 ADA。將第 1 組、第 2 組和第 3 組動物的測試樣品、品質控製樣品和陽性對照與生物素化捕獲抗體 CKL02-SG1095 及地高辛化檢測抗體 CKL02-SG1095 以及兩種其他抗 CCL2 抗體 (2F6-IgG1 和 1H11-IgG1) 於室溫、在 MTP 振盪器上以 500 rpm 孵育隔夜；添加這些抗體以中和 CCL2。對於第 4 組的動物樣品，分別使用生物素標記 CNTO888-SG1 和地高辛化 CNTO888-SG1。將形成的免疫複合物轉移至卵白素 (SA) 塗覆的 MTP，藉由生物素標記 (Bi) 捕獲抗體固定免疫複合物。抽吸上清液後，藉由反覆洗滌除去未結合的物質。藉由添加抗地高辛 POD(p) 共軛抗體和 ABTS 基質溶液來完成檢測。光度確定反應的顏色強度 (在 405 nm - 490 nm 處參考波長處的吸收)。若發現信號高於盤的特定切割點，則將樣品定義為 ADA 陽性。該切割點是在分析鑑定期間定義的。

【0584】 **結果。**儘管進行 Gazyva® (obinituzumab) 預處理，但在以 CKL02-SG1095 治療的 12 隻動物中的 10 隻及四分之一經 CNTO888 治療的動物中發展出 ADA，對藥物和生物標誌物的濃度有影響。然而，CKL02-SG1095 的兩隻 ADA 陰性動物位於 25 mg/kg 劑量組，可直接與 CNTO888 組的 ADA 陰性動物進行比較。在無 ADA 的動物 (即第 10 天之前) 的時間內評估 PK 行為。CKL02-SG1095 的三個不同劑量組的 PK 曲線顯示在圖 14 左圖中。對於 2.5、

10 和 25 mg/kg 劑量水平的部分平均 AUC 值 (AUC_{0-7d}) 分別為 229/191 (雄性/雌性)、696/813 和 1492/1346 天.μg/ mL。對於 2.5、10 和 25 mg/kg 劑量水平的 C_{max} 值分別為 115/122 (雄性/雌性)、369/491 和 869/941 μg/mL。在最高劑量水平下，這些發現與 POC 研究一致。對於兩隻 ADA 陰性動物，藉由非隔室分析估計 CKL02-SG1095 的清除率、分佈體積和終末半衰期分別為 10.5-17.4 mL/(天.kg)、116-118 mL/kg 和 5.8-11.6 天 (參見圖 14 右圖)。

【0585】 至於上述的 POC 研究，在以抗 CCL2 抗體處理後觀察到總 CCL2 的累積 (參見圖 15 左圖)。在給藥前，在五個時機點評估 CCL2 的基線水平 (包括在 Gazyva® (obinituzumab) 治療前的一個時機點)；平均 CCL2 基線值為 0.742 ng/mL，且 Gazyva® (obinituzumab) 治療不影響基礎 CCL2 水平。總 CCL2 累積程度 (括號中的數值表示相對於各別基線的中位數倍數變化) 取決於劑量和構建體。對於 CKL02-SG1095，在 2.5、10 和 25 mg/kg 劑量水平下，總 CCL2 水平增加至 22.4 (22)、67.2 (105) 和 54.9 (76) ng/mL (四隻動物的中位數)。對於 CNTO888 IgG1，總 CCL2 水平增加至 1490 (3160) ng/mL (4 隻動物的中位數)。比較第 3 組和第 4 組的 ADA 陰性動物，與 CNTO888 相比，CKL02-SG1095 的累積水平要低相當多 (圖 15 右圖)。

【0586】 所有研究組別的治療均導致血清中游離 CCL2 水平的大量瞬時降低 (見圖 16 左圖；通常低於檢測限度 (0.01 ng/mL)。對於所有 ADA 陽性動物，ADA 形成後，游離 CCL2 水平迅速恢復至基線值 (與藥物暴露的減少和快速目標轉移一致)。對於 ADA 陰性動物 (第 3 組中的 2/4) 和 (第 4 組中的 3/4)，可在整個研究期間評估游離 CCL2 抑制期間。對於習知抗體 CNTO888 (第 4 組)，CCL2 抑制期間很短，推測是由於總目標的大量累積 (圖 15)。雖然未對藥物濃度進行定量 (對於 CNTO888 沒有可用的特異性測定方法)，但 POC 研究表明，CNTO888 與 CKL02-SG1095 之間具有相似的 PK 特性。另一方面，對於第

3 組的兩隻 ADA 陰性動物，觀察到持久的游離 CCL2 抑制。對於一隻動物，游離 CCL2 水平在 29 天之內仍低於檢測限度 (圖 16 右圖)。

【0587】 在另外的類似實驗中，分析其他變異體，例如 CKLO2-SG1099、CKLO2-GG01、GG02 及 GG03/GG04。

【0588】 **在不同腫瘤類型中 CCL2 的盛行率研究**

【0589】 CCL2 及其受體 CCR2 的下列 IHC 盛行率研究，包括使用 CD163/CD68 和 CD14 的巨噬細胞分析，其針對 121 例人類匹配腫瘤和 6 種不同適應症的血清樣本進行：

胰腺癌 (PaC)

大腸直腸癌 (CRC)

乳癌 (BC)

前列腺癌 (PrC)

卵巢癌 (OvC)

胃癌 (GC)

【0590】 解決以下問題：

這些腫瘤 (過度) 表現 CCL2 嗎？

這些腫瘤病患的血液中 CCL2 水平升高了嗎？

血液和腫瘤 CCL2 水平之間有相關性嗎？

腫瘤 CCL2 與浸潤性 $CCR2^+$ 免疫細胞之間是否有相關性？

腫瘤 CCL2 與浸潤的骨髓細胞之間有相關性嗎？

【0591】 **材料與方法**

【0592】 組織病理學評分是半定量的。此外，自動多重圖像分析用於 CD163/CD68 IHC，並測試 CD14 和 CCR2 的免疫細胞定量及 CCL2 定量。

【0593】 免疫組織學研究是在 121 例具有 6 種不同適應症的人類腫瘤的切除標本上進行：由 Indivumed (Hamburg) 及 Asterand (Royston/Herts, UK) 提供的 31 例胰腺癌 (PaC)、30 例大腸直腸癌 (CRC)、30 例乳癌 (BC)、29 例前列腺癌 (PrC)、20 例卵巢癌 (OvC) 和 10 例胃癌 (GC)。將腫瘤固定在 4% 的甲醛緩衝液中，石蠟包埋，切成 2.5 μm 的厚度，然後安裝在 Superfrost Plus 載玻片上。按照標準染色規程 (CC1 用於 32'，在 VBX 中濃度為 1 μg/mL，Optiview DAB 檢測系統)，在 Ventana BXT 上使用針對 CCL2 的小鼠單株抗體 (殖株 2D8，Novusbio NBP2-22115)。按照標準的染色規程 (CC1 用於 32'，DS2 中的濃度為 0.8 ug/ml，Omni-UltraMap HRP DAB 檢測系統)，在 Ventana Discovery XT 上使用針對 CCR2 的兔單株抗體 (E68，Abcam ab32144)。按照標準染色規程 (CC1 用於 64'，Omni-UltraMap HRP DAB 檢測系統檢測系統)，在 Ventana Discovery Ultra 上使用針對單核細胞標記物 CD14 的小鼠單株抗體 (Cell Marque EPR3653，RTU)。按照標準染色規程 (CC1 用於 32'，DS2 中 CD163 RTU//CD68 濃度為 0.6μg/ml，以 DAB 和 Red 檢測系統檢測)，在 Ventana BXT 上使用對巨噬細胞和 M2 樣 TAM (tumor-associated macrophage，腫瘤相關巨噬細胞) CD163/CD68 (DAB CD163 Mouse MRQ-26 Cell Marque RTU // red CD68 Mouse PG-M1 Dako) 的雙重染色。所有圖像均使用 Ventana iScanHT® 進行掃描。對組織切片進行半定量分析。

【0594】 1. 結果

【0595】 CCL2 和 CCR2 盛行率

【0596】 所有分析的腫瘤適應症均顯示一些腫瘤具有可變水平的 CCL2 上調和可變數量的 TAM 上 CCR2 的存在。(下表 6)。對於 CCL2 和 CCR2 二者，在卵巢癌中均觀察到最高表現，其次是 PDAC 和 GC

【0597】 腫瘤類型特有的特徵

【0598】具有高活性 CCL2-CCR2 的腫瘤與高 MDSC 吸引力及 M2 極化的腫瘤生長增強之免疫狀態有關，代表了 CCL2 阻斷治療的較佳腫瘤。CCR2 IHC 顯示出與 MDSC 和 M2 樣巨噬細胞的良好相關性，從而證實其生物學作用，並證實此途徑與 CCL2 IHC 測量相比在作為生物標誌物上具有更高的相關性。從本研究的結論可以總結出以下有關 CCL2 治療的建議：

由於最高的 CCL2 和 CCR2 盛行率及 M2 極化程度，因此建議將 OvC 用於 CCL2 標靶治療；

由於相較於其他分析的腫瘤類型，MDSC 的含量最高，且因為 CCR2 和 M2 以相當高的水平及含量存在，因此可將 PDAC 推薦用於 CCL2 標靶治療。CCL2 在 PDAC 中也很高，且相較於其他腫瘤類型，在免疫細胞中的存在要比在腫瘤細胞中高出非常多。PaC 顯示在 CCL2/CCR2 與 MDSC 吸引力/M2 極化之間良好的相關性。這些結果支持在分析的 PDAC 中，CCL2-CCR2 的角色是高度集中在免疫細胞的吸引。

對於 CCL2 標靶治療，建議使用 Bc，尤其是 TNBC：BC 顯示 CCL2、CCR2、MDSC 和 M2 具有相當高的水平和含量。尤其是 TNBC 病例，特徵在於 M2 和 MDSC 含量高於非 TNBC，儘管與其他腫瘤適應症相比，非 TNBC 在腫瘤細胞中顯示出最高的 CCL2 產生。

【0599】以下腫瘤適應症似乎對 CCL2-CCR2-軸的依賴性較小，因此可能不建議用於 CCL2 標靶治療：

CRC：與其他腫瘤類型相比，CCL2 較低，尤其是與 PaC 相比。同樣在此，與其他腫瘤類型相比，量測到 M2 樣巨噬細胞的量最低。CCR2 和 MDSC 的含量不定。有趣的是，僅在此適應症中，可檢測到 CCL2 和 CCR2 之間呈正相關的趨勢。然而，整體的發現支持在 CRC 中 CCL2-CCR2 的角色集中在腫瘤細胞的存活上而不是免疫細胞的吸引。

儘管 CCL2 較高，但觀察到 CCR2 的 GC 較低，並且 MDSC 的含量最低。M2 樣巨噬細胞以不定量存在。

【0600】表 6：在本研究中，分析的不同腫瘤類型的腫瘤細胞 (TC) 和免疫細胞 (IC) 中的 CCL2 和 CCR2 陽性表現。

腫瘤類型：	CCL2					CCR2		
	在腫瘤細胞 (TC) 中 (手動評分)			在免疫細胞 (IC) 中 (手動評分)		在免疫細胞中 (手動評分)		
	陽性病例 %	mod 到 hi pos 案例 %	平均得分	陽性病例 %	平均得分	陽性病例 %	mod 到 hi pos 案例 %	平均得分
OvC	**100%**	42%	1.3	**100%**	0.9	**100%**	63	1.7
PaC	**90%**	9%	0.8 (PDAC 0.8 和 PNET 0.9)	**97%**	2.0 (PDAC 2.2 和 PNET 0.6)	**90%**	55	1.5 (PDAC 1.7 和 PNET 0.3)
GC	**91%**	45%	1.3	**91%**	1.9	**91%**	18	0.8
BC	**78%**	46%	1.1 (TNBC 0.9, 非 TNBC 1.6)	**61%**	0.6 (TNBC 0.5, 非 TNBC 0.9)	**96%**	38	1.3 (TNBC 1.2, 非 TNBC 1.5)
CRC	**76%**	24%	0.8	**72%**	0.7	**96%**	39	1.2
PrC	**72%**	10%	0.7	**79%**	0.5	**72%**	10	0.6

在 PrC 中，CCR2 以不定水平存在。(未測量 M2 和 MDSC)

【0601】相關分析

【0602】研究結果可總結如下：

在腫瘤 CCL2 和 CCR2 (IHC) 之間，正相關僅存在 CRC 中。

血清 CCL2 (ELISA) 與腫瘤中的任何測量參數均不相關，包括 CCL2、CCR2、巨噬細胞和 MDSC。僅在 PrC 中發現與腫瘤 CCL2 正相關的趨勢，這兩種方法均顯示非常低的值。

CCR2 表現與 M2 樣巨噬細胞及 $CD14^+$ 細胞的存在呈正相關，與 M1/M2 的比率呈負相關，並證實 CCR2 的生物學作用。與 MDSC 吸引力相比，CCR2 的水平與 M2 極化的相關性更好。

CCL2 顯示與 MDSC 吸引力 和 M2 極化呈正相關趨勢。因此，單獨的 CCL2 水平似乎並不是 MDSC 和 M2 樣極化存在的主要因素。

【序列表】

<110> 瑞士商赫孚孟拉羅股份公司(F. Hoffmann-La Roche AG)

<120> 雙特異性抗 CCL2 抗體 (Bispecific anti-CCL2 antibodies)

<130> P35823-FT

<140> 109144709
<141> 2020-12-17

<150> EP19217665.9
<151> 2019-12-18

<160> 174

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 1A4

<400> 1

Trp Ile Cys
1

<210> 2
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 1A4

<400> 2

Cys Ile Gly Ala Gly Ser Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 1A4

<400> 3

Thr Gly Thr Glu Phe Thr Tyr Tyr Ser Leu
1 5 10

<210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 1A4

<400> 4

Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn Met Ala
1 5 10

<210> 5
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 1A4

<400> 5

Thr Ala Ser Ser Leu Ala Ser
1 5

<210> 6
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 1A4

<400> 6

Ala Gly Tyr Lys Ser Tyr Ser Asn Asp Glu Tyr Gly
1 5 10

<210> 7
<211> 116
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 1A4

<400> 7

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Ala Ser Glu Leu Asp Phe Tyr Trp Ile Cys
20 25 30

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

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

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

Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Thr
85 90 95

Gly Thr Glu Phe Thr Tyr Tyr Ser Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 8

<211> 111
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 1A4

<400> 8

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

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn
20 25 30

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

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

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

Ser Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Gly Tyr Lys Ser Tyr Ser
85 90 95

Asn Asp Glu Tyr Gly Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 9
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 1A5

<400> 9

Thr Ser Tyr Trp Met Cys
1 5

<210> 10
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 1A5

<400> 10

Cys Ile Ser Ser Ser Ile Gly Val Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Glu
1 5 10 15

Gly

<210> 11
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 1A5

<400> 11

Thr Thr Asp Asp Asn Trp Asn Val Gly Phe Asn Leu
1 5 10

<210> 12
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 1A5

<400> 12

Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Arg Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 13
<211> 7
<212> PRT

<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 1A5

<400> 13

Gly Thr Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 14
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 1A5

<400> 14

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

<210> 15
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 1A5

<400> 15

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

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

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

Ile Ala Cys Ile Ser Ser Ser Ile Gly Val Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp
50 55 60

Ala Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr
65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Thr Asp Asp Asn Trp Asn Val Gly Phe Asn Leu Trp Gly
100 105 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 16
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 1A5

<400> 16

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

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Arg
20 25 30

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

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

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu
65 70 75 80

Ser Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ala Thr Ile Ser
85 90 95

Tyr Leu Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 17
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 1G9

<400> 17

Leu Tyr Ser Tyr Met Cys
1 5

<210> 18
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 1G9

<400> 18

Cys Val Asp Ala Gly Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
1 5 10 15

Lys Gly

<210> 19
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 1G9

<400> 19

Gly Ile Leu Tyr Tyr Thr Trp Pro Tyr Pro Ala Gly Ala Ile Asp Ala
1 5 10 15

Phe Asp Ser

<210> 20
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 1G9

<400> 20

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Tyr Leu Ser
1 5 10

<210> 21
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 1G9

<400> 21

Lys Ala Ser Thr Leu Ala Ser
1 5

<210> 22
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 1G9

<400> 22

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Ser Asn Val Phe Asn Thr
1 5 10

<210> 23
<211> 128
<212> PRT

<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 1G9

<400> 23

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

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

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

Ala Cys Val Asp Ala Gly Ala Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp
50 55 60

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

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Ile Leu Tyr Tyr Thr Trp Pro Tyr Pro Ala Gly Ala Ile
100 105 110

Asp Ala Phe Asp Ser Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 24
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 1G9

<400> 24

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Ser Glu Pro Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Thr Val Thr Ile Ser Gly Val Gln Ser
65 70 75 80

Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Ser Asn
85 90 95

Val Phe Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 25
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 2F6

<400> 25

Asn Asn Tyr Tyr Met Cys
1 5

<210> 26
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 2F6

<400> 26

Cys Ile Ser Thr Asp Asp Ser Asn Thr His Tyr Ala Ser Trp Ala Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 27
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 2F6

<400> 27

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

<210> 28
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 2F6

<400> 28

Arg Ala Ser Glu Asp Ile Glu Asn Leu Val Ala
1 5 10

<210> 29
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 2F6

<400> 29

Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser
1 5

<210> 30
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 2F6

<400> 30

Gln Gly Asp Tyr Gly Ser Gly Trp Ile Met Tyr Ser
1 5 10

<210> 31
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 2F6

<400> 31

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

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

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

Gly Cys Ile Ser Thr Asp Asp Ser Asn Thr His Tyr Ala Ser Trp Ala
50 55 60

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Ala Ser Ser Thr Ala Leu Thr Leu
65 70 75 80

Gln Val Ala Gly Leu Thr Val Ala Asp Met Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Arg Asp Ala His Phe Thr Ser Tyr Gly Tyr Gly Phe Asp Leu Trp Gly

100 105 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 32
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 2F6

<400> 32

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

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

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

Tyr Gln Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

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

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Asp Tyr Gly Ser Gly Trp
85 90 95

Ile Met Tyr Ser Phe Gly Gly Gly Thr Asp Leu Val Val Lys
100 105 110

<210> 33
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 CNT0888

<400> 33

Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5

<210> 34
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 CNT0888

<400> 34

Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 35
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 CNT0888

<400> 35

Tyr Asp Gly Ile Tyr Gly Glu Leu Asp Phe
1 5 10

<210> 36
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 CNT0888

<400> 36

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Asp Ala Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 37
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 CNTO888

<400> 37

Asp Ala Ser Ser Arg Ala Thr
1 5

<210> 38
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 CNTO888

<400> 38

His Gln Tyr Ile Gln Leu His Ser Phe Thr
1 5 10

<210> 39
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH CNTO888

<400> 39

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

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 40
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL CNTO888

<400> 40

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile Gln Leu His
85 90 95

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

<210> 41
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 41

Asp Thr Tyr Met His
1 5

<210> 42
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 42

Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 43
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 43

Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp Tyr
1 5

<210> 44
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 44

Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg Leu Ala
1 5 10

<210> 45
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 45

Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr
1 5

<210> 46
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 46

Gln Gln Phe Trp Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 47
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 47

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 48
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 人源化 11K2 (= 11K2)

<400> 48

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 Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 49
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 ABN912

<400> 49

His Tyr Trp Met Ser
1 5

<210> 50
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 ABN912

<400> 50

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

Gly

<210> 51
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 ABN912

<400> 51

Asp Leu Glu Gly Leu His Gly Asp Gly Tyr Phe Asp Leu
1 5 10

<210> 52
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 ABN912

<400> 52

Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Ala Leu Ala
1 5 10

<210> 53
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 ABN912

<400> 53

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser
1 5

<210> 54
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 ABN912

<400> 54

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr
1 5

<210> 55
<211> 122
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH ABN912

<400> 55

Glu Val Gln Leu Val Gln 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 His Tyr
20 25 30

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

Ala Asn Ile Glu Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val 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 Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Leu Glu Gly Leu His Gly Asp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 56
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL ABN912

<400> 56

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

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

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

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

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

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

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

<210> 57

<211> 6
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 突變變異體 CNTO888

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (5)..(5)
<223> X 爲 I or T

<400> 57

Ser His Tyr Gly Xaa Ser
1 5

<210> 58
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 突變變異體 CNTO888

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (2)..(2)
<223> X 爲 V 或 I 或 H

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (4)..(4)
<223> X 爲 P 或 H

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (7)..(7)
<223> X 爲 H 或 G

<400> 58

Gly Xaa Ile Xaa Ile Phe Xaa Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 59
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 突變變異體 CNTO888

<400> 59

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

<210> 60
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 突變變異體 CNTO888

<400> 60

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

<210> 61
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 突變變異體 CNTO888

<400> 61

Asp Ala Ser Asp Arg Ala Glu
1 5

<210> 62
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 突變變異體 CNTO888

<400> 62

His Gln Tyr Ile His Leu His Ser Phe Thr
1 5 10

<210> 63
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H1 突變變異體 CNTO888

<400> 63

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

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

<210> 64
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H2 突變變異體 CNTO888

<400> 64

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

<210> 65
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H3 突變變異體 CNTO888

<400> 65

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

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

<210> 66
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H4 突變變異體 CNT0888

<400> 66

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 67
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L1 突變變異體 CNT0888

<400> 67

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys
20

<210> 68
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L2 突變變異體 CNT0888

<400> 68

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr
1 5 10 15

<210> 69
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L3 突變變異體 CNT0888

<400> 69

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

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 70
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L4 突變變異體 CNT0888

<400> 70

Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5

<210> 71
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體 CNT0888 H0695

<400> 71

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體 CNTO888 H0625

<400> 72

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

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

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

Gly Gly Ile Ile His Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 73
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體 CNTO888 H0634

<400> 73

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

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

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

Gly Gly Ile Ile His Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 74
<211> 119
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體 CNTO888 H0635

<400> 74

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

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

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

Gly Gly His Ile His Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 75
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 突變變異體 CNTO888 L0616

<400> 75

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

<210> 76
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H1 突變變異體人源化 11K2

<400> 76

His Thr Tyr Met His
1 5

<210> 77
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H2 突變變異體 人源化 11K2

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (5)..(5)
<223> X 爲 D 或 E

<400> 77

Arg Ile Asp Pro Xaa Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe Gln
1 5 10 15

Gly

<210> 78
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 CDR-H3 突變變異體人源化 11K2

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (7)..(7)
<223> X 爲 D 或 E

<400> 78

Gly Val Phe Gly Phe Phe Xaa His
1 5

<210> 79
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L1 突變變異體 人源化 11K2

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (3)..(3)
<223> X 爲 F 或 T

<220>
<221> 名稱/關鍵字
<222> (10)..(10)
<223> X 爲 R 或 L

<400> 79

Lys Ala Xaa Glu Asp Ile Tyr Asn Arg Xaa Ala
1 5 10

<210> 80
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L2 突變變異體人源化 11K2

<400> 80

Gly Ala Thr Ser Leu Glu His
1 5

<210> 81
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 CDR-L3 突變變異體人源化 11K2

<220>

<221> 名稱/關鍵字
<222> (4)..(4)
<223> X 爲 W 或 R

<400> 81

Gln Gln Phe Xaa Ser Ala Pro Tyr Thr
1 5

<210> 82
<211> 30
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H1 突變變異體人源化 11K2

<400> 82

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser
20 25 30

<210> 83
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H2 突變變異體人源化 11K2

<400> 83

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly
1 5 10

<210> 84
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H3 突變變異體人源化 11K2

<400> 84

Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu
1 5 10 15

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

<210> 85
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 FR-H4 突變變異體人源化 11K2

<400> 85

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 86
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L1 突變變異體 11K2

<400> 86

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
20

<210> 87
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L2 突變變異體人源化 11K2

<400> 87

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile His
1 5 10 15

<210> 88
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L3 突變變異體人源化 11K2

<400> 88

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr
1 5 10 15

Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 89
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 FR-L4 突變變異體人源化 11K2

<400> 89

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
1 5 10

<210> 90
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體人源化 11K2
H1503

<400> 90

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體人源化 11K2
H1510

<400> 91

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 117
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 突變變異體人源化 11K2
H1514

<400> 92

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 93
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 突變變異體人源化 11K2
L1338

<400> 93

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 94
<211> 107
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 突變變異體人源化 11K2 L1201

<400> 94

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 Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

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

<210> 95
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人

<400> 95

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

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

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

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

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

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

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

<210> 96
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人

<400> 96

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

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

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys

50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 97
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 98
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 源自 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區
具有突變 L234A、L235A 和 P329G (Fcγ 受體靜默)

<400> 98

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

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

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

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

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

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

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

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

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

130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 99
<211> 328
<212> PRT
<213> 智人

<400> 99

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 100
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 源自具有突變的 IgG1 的例示性人類重鏈恆定區 (SG105-IgG1 異型-Fcγ 受體靜默)

<400> 100

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

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

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

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

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

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

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

Pro Ala Pro Glu Leu Arg Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 101
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> SG1095-例示性人類重鏈恆定區，其衍生自 IgG1，包含突變 (Kabat EU 編號)
L235W/G236N/H268D/Q295L/A330K/K326T、Q311R/P343R、N434A、
Q438R/S440E

<400> 101

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 102
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> SG1099-例示性人類重鏈恆定區，其衍生自 IgG1，
包含突變 (Kabat EU 編號) Q311R/P343R

<400> 102

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

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

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 103
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> SG1100-例示性人類重鏈恆定區，其衍生自 IgG1，包含突變的 (Kabat EU 編號) Q311R/P343R、N434A、Q438R/S440E

<400> 103

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 104
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CNTO888//11K2-WT IgG1

<400> 104

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 Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 105
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 重鏈 2- CNTO888//11K2-WT IgG1

<400> 105

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

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

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

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 106
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CNTO888//11K2-WT IgG1

<400> 106

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

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

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 107
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CNTO888//11K2-WT IgG1

<400> 107

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile Gln Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 108
<211> 437

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 IgG1

<400> 108

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 109
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 IgG1

<400> 109

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 110
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 IgG1

<400> 110

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 111
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 IgG1

<400> 111

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 112
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - SG1095

<400> 112

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Trp Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser Asp Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Leu Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Thr Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 113
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - SG1095

<400> 113

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 114
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 - SG1095

<400> 114

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 115
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - SG1095

<400> 115

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 116
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - SG1099

<400> 116

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 117
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - SG1099

<400> 117

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 118
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>

<223> 輕鏈 1- CKLO2 - SG1099

<400> 118

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
            20                  25                  30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
        115                 120                 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
    130                 135                 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145                 150                 155                 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
                165                 170                 175

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
            180                 185                 190
```

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 119
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - SG1099

<400> 119

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 120
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - SG1100

<400> 120

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 121
<211> 447

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - SG1100

<400> 121

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 122
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 - SG1100

<400> 122

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 123
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - SG1100

<400> 123

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 124
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO3 - SG1095

<400> 124

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 Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Leu Trp Asn Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
245 250 255

Asp Val Ser Asp Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Leu Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Thr Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 125
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO3 - SG1095

<400> 125

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 126
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO3 - SG1095

<400> 126

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
            20                  25                  30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
    50                  55                  60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
        115                 120                 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
    130                 135                 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145                 150                 155                 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
                165                 170                 175
```

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 127
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO3 - SG1095

<400> 127

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 128
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO3 - SG1099

<400> 128

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 Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

```
His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
            100                 105                 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
    130                 135                 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145                 150                 155                 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
        195                 200                 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    210                 215                 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225                 230                 235                 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                245                 250                 255
```

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 129
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO3 - SG1099

<400> 129

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 130
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO3 - SG1099

<400> 130

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 131
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO3 - SG1099

<400> 131

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 132
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO3 - SG1100

<400> 132

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 Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

```
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145                 150                 155                 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
        195                 200                 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
    210                 215                 220

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225                 230                 235                 240

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
                245                 250                 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
            260                 265                 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
        275                 280                 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp
    290                 295                 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305                 310                 315                 320

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
                325                 330                 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
            340                 345                 350
```

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 133
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO3 - SG1100

<400> 133

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

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

<210> 134
<211> 224

<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO3- SG1100

<400> 134

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 135
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO3 - SG1100

<400> 135

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 136
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 2F2

<400> 136

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

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Lys Ala Ser Gly Phe Ser Phe Ile Asp His
20 25 30

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

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

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

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

Asn Leu Asp Val Ser Ala Ser Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 137
<211> 112
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 2F2

<400> 137

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

Thr Val Thr Ile Ser Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Asn Asn Asn
20 25 30

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

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

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

Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Glu Gly Ala Phe Leu Cys Thr
85 90 95

Thr Tyr Asp Cys Phe Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 138
<211> 117
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 138

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

Ser Val Lys Leu Ser Cys Pro Ala Ser Gly Leu Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Ala Asn Gly Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Lys Ala Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Leu Thr Val Ser Ser
115

<210> 139

<211> 107
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 139

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Thr Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

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

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

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

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

<210> 140
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈可變域 VH 1H11

<400> 140

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

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

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

Ile Ala Cys Ile Ser Ser Ser Ile Gly Val Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp
50 55 60

Ala Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr
65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Thr Asp Asp Asn Trp Asn Val Gly Phe Asn Leu Trp Gly
100 105 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 141
<211> 110
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈可變域 VL 1H11

<400> 141

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

Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Arg Tyr
20 25 30

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

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

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ser Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Ala Thr Ile Ser Tyr
85 90 95

Leu Asp Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 142
<211> 76
<212> PRT
<213> 智人

<400> 142

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Pro Val Thr Cys Cys Tyr Asn Phe Thr
1 5 10 15

Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr
20 25 30

Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala
35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln Lys Trp Val Gln Asp Ser Met
50 55 60

Asp His Leu Asp Lys Gln Thr Gln Thr Pro Lys Thr
65 70 75

<210> 143
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 例示性人類 CCL2 (MCP1) - P8A 變異體

<400> 143

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Ala Val Thr Cys Cys Tyr Asn Phe Thr
1 5 10 15

Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr
20 25 30

Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala
35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln Lys Trp Val Gln Asp Ser Met
50 55 60

Asp His Leu Asp Lys Gln Thr Gln Thr Pro Lys Thr
65 70 75

<210> 144
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 例示性人類 CCL2 (MCP1) - T10C 變異體

<400> 144

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Pro Val Cys Cys Cys Tyr Asn Phe Thr
1 5 10 15

Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr
20 25 30

Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala
35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln Lys Trp Val Gln Asp Ser Met
50 55 60

Asp His Leu Asp Lys Gln Thr Gln Thr Pro Lys Thr
65 70 75

<210> 145
<211> 76
<212> PRT
<213> 智人

<400> 145

Gln Pro Asp Ser Val Ser Ile Pro Ile Thr Cys Cys Phe Asn Val Ile
1 5 10 15

Asn Arg Lys Ile Pro Ile Gln Arg Leu Glu Ser Tyr Thr Arg Ile Thr
20 25 30

Asn Ile Gln Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Lys Arg Gly
35 40 45

Lys Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Glu Arg Trp Val Arg Asp Ser Met
50 55 60

Lys His Leu Asp Gln Ile Phe Gln Asn Leu Lys Pro
65 70 75

<210> 146
<211> 76
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> SEQ ID NO: 146 例示性人類 CCL8 (MCP2) - P8A 變異體

<400> 146

Gln Pro Asp Ser Val Ser Ile Ala Ile Thr Cys Cys Phe Asn Val Ile
1 5 10 15

Asn Arg Lys Ile Pro Ile Gln Arg Leu Glu Ser Tyr Thr Arg Ile Thr
20 25 30

Asn Ile Gln Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Lys Arg Gly
35 40 45

Lys Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Glu Arg Trp Val Arg Asp Ser Met
50 55 60

Lys His Leu Asp Gln Ile Phe Gln Asn Leu Lys Pro
65 70 75

<210> 147
<211> 76
<212> PRT
<213> 智人

<400> 147

Gln Pro Val Gly Ile Asn Thr Ser Thr Thr Cys Cys Tyr Arg Phe Ile
1 5 10 15

Asn Lys Lys Ile Pro Lys Gln Arg Leu Glu Ser Tyr Arg Arg Thr Thr
20 25 30

Ser Ser His Cys Pro Arg Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Lys Leu Asp
35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Thr Gln Lys Trp Val Gln Asp Phe Met
50 55 60

Lys His Leu Asp Lys Lys Thr Gln Thr Pro Lys Leu
65 70 75

<210> 148
<211> 82
<212> PRT
<213> 智人

<400> 148

Phe Asn Pro Gln Gly Leu Ala Gln Pro Asp Ala Leu Asn Val Pro Ser
1 5 10 15

Thr Cys Cys Phe Thr Phe Ser Ser Lys Lys Ile Ser Leu Gln Arg Leu
20 25 30

Lys Ser Tyr Val Ile Thr Thr Ser Arg Cys Pro Gln Lys Ala Val Ile
35 40 45

Phe Arg Thr Lys Leu Gly Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Glu Lys
50 55 60

Trp Val Gln Asn Tyr Met Lys His Leu Gly Arg Lys Ala His Thr Leu
65 70 75 80

Lys Thr

<210> 149
<211> 76
<212> PRT
<213> 食蟹獼猴

<400> 149

Gln Pro Asp Ala Ile Asn Ala Pro Val Thr Cys Cys Tyr Asn Phe Thr
1 5 10 15

Asn Arg Lys Ile Ser Val Gln Arg Leu Ala Ser Tyr Arg Arg Ile Thr
20 25 30

Ser Ser Lys Cys Pro Lys Glu Ala Val Ile Phe Lys Thr Ile Val Ala
35 40 45

Lys Glu Ile Cys Ala Asp Pro Lys Gln Lys Trp Val Gln Asp Ser Met
50 55 60

Asp His Leu Asp Lys Gln Ile Gln Thr Pro Lys Pro
65 70 75

<210> 150
<211> 125
<212> PRT
<213> 小鼠

<400> 150

Gln Pro Asp Ala Val Asn Ala Pro Leu Thr Cys Cys Tyr Ser Phe Thr
1 5 10 15

Ser Lys Met Ile Pro Met Ser Arg Leu Glu Ser Tyr Lys Arg Ile Thr
20 25 30

Ser Ser Arg Cys Pro Lys Glu Ala Val Val Phe Val Thr Lys Leu Lys
35 40 45

Arg Glu Val Cys Ala Asp Pro Lys Lys Glu Trp Val Gln Thr Tyr Ile
50 55 60

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

Lys Thr Ala Ser Ala Leu Arg Ser Ser Ala Pro Leu Asn Val Lys Leu
85 90 95

Thr Arg Lys Ser Glu Ala Asn Ala Ser Thr Thr Phe Ser Thr Thr Thr
100 105 110

Ser Ser Thr Ser Val Gly Val Thr Ser Val Thr Val Asn
115 120 125

<210> 151
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> GG01 - 例示性人類重鏈恆定區，其衍生自 IgG1，包含突變 (Kabat EU 編號) L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K, Q311R/P343R, N434A, Q438R/S440E

<400> 151

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 152
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> GG02 - GG01 - 例示性人類重鏈恆定區，其衍生自 IgG1，
包含突變 (Kabat EU 編號)
L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K, Q311R/P343R,
M428L/N434A/Y436T,Q438R/S440E

<400> 152

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

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

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

35 40 45

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 153
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> GG03 - 源自 IgG1 (包含 IgG1 異型序列) 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K、Q311R/P343R、N434A,Q438R/S440E

<400> 153

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

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

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

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 154
<211> 328
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> GG03 - 源自 IgG1 (包含 IgG1 異型序列) 的例示性人類重鏈恆定區，包括突變 (Kabat EU 編號)：L234Y/P238D/T250V/V264I/T307P/A330K、Q311R/P343R、M428L/N434A/Y436T、Q438R/S440E

<400> 154

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

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 155
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - GG01

<400> 155

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp

290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 156
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - GG01

<400> 156

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

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

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

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

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

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

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

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

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

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

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

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

<210> 157
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 GG01

<400> 157

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

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

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe

115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

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

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 158
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 GG01

<400> 158

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

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

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser

50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

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

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

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

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

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

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

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

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 159
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 GG02

<400> 159

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

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

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

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

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

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

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 160
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 GG02

<400> 160

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Asp Ala His Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 161
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 - GG02

<400> 161

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
180 185 190

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215 220

<210> 162
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - GG02

<400> 162

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln His Val Ser Asp Ala
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn

145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 163
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - GG03

<400> 163

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

Arg Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Trp Ser Ala Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
115 120 125

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
180 185 190

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 164
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - GG03

<400> 164

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Asp Ala His Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 165
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 - GG03

<400> 165

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
180 185 190

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 166
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - GG03

<400> 166

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln His Val Ser Asp Ala
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

```
Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
    50                  55                  60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65                  70                  75                  80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
                85                  90                  95

Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
            100                 105                 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
        115                 120                 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
    130                 135                 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145                 150                 155                 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
                165                 170                 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
            180                 185                 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
        195                 200                 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
    210                 215
```

<210> 167
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - GG04

<400> 167

```
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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
            20                  25                  30

Arg Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
        35                  40                  45

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
    50                  55                  60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65                  70                  75                  80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Trp Ser Ala Pro Tyr
                85                  90                  95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
            100                 105                 110

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
        115                 120                 125

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
    130                 135                 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145                 150                 155                 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
                165                 170                 175

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
```

180 185 190

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 168
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - GG04

<400> 168

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Asp Ala His Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 169
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 - GG04

<400> 169

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
180 185 190

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 170
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - GG04

<400> 170

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln His Val Ser Asp Ala
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 171
<211> 437
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 1- CKLO2 - GG03/GG04

<400> 171

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 Lys Ala Phe Glu Asp Ile Tyr Asn Arg
20 25 30

Arg Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

His Gly Ala Thr Ser Leu Glu His Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Trp Ser Ala Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Ser Ser Ala Ser Thr
100 105 110

Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser
115 120 125

Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
130 135 140

Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
145 150 155 160

Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys
180 185 190

Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu
195 200 205

Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
210 215 220

Glu Tyr Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
225 230 235 240

Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile
245 250 255

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
260 265 270

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

275 280 285

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp
290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
305 310 315 320

Pro Lys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg
325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys
340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
385 390 395 400

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
420 425 430

Leu Ser Leu Ser Pro
435

<210> 172
<211> 447
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 重鏈 2- CKLO2 - GG03/GG04

<400> 172

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser His Tyr
20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Val Ile Pro Ile Phe His Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Asp Ala His Tyr Gly Glu Leu Asp Phe Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Glu Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Glu Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Leu Gly Gly Asp
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Ile Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser
355 360 365

Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu
420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 173
<211> 224
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 1- CKLO2 - GG03/GG04

<400> 173

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Leu Thr Ile Ser His Thr
20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Asp Asn His Asn Thr Lys Phe Asp Pro Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Val Phe Gly Phe Phe Glu His Trp Gly Gln Gly Thr Thr

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
115 120 125

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
130 135 140

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
145 150 155 160

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
165 170 175

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
180 185 190

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
195 200 205

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 174
<211> 216
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 輕鏈 2- CKLO2 - GG03/GG04

<400> 174

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln His Val Ser Asp Ala
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asp Ala Ser Asp Arg Ala Glu Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Ile His Leu His
85 90 95

Ser Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val
100 105 110

Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Arg Lys Leu Lys
115 120 125

Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
130 135 140

Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
145 150 155 160

Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
165 170 175

Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
180 185 190

Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
195 200 205

Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種單離的雙特異性抗體，其包含與人類 CCL2 上的第一表位特異性地結合的第一抗原結合位點及與人類 CCL2 上的第二表位特異性地結合的第二抗原結合位點，

其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域，其包含：

(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 57 之胺基酸序列 SHYGXS，其中，X 為 I；

(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 58 之胺基酸序列 $GX^1IX^2IFX^3TANYAQKFQG$，其中，X^1 為 V，X^2 為 P，且 X^3 為 H；及

(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 59 之胺基酸序列 YDAHYGELDF；

及

VL 域，其包含：

(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 60 之胺基酸序列 RASQHVSDAYLA；

(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 61 之胺基酸序列 DASDRAE；及

(f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 62 之胺基酸序列 HQYIHLHSFT； 並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域，其包含：

(a) CDR-H1，其包含 SEQ ID NO: 76 之胺基酸序列 HTYMH；

(b) CDR-H2，其包含 SEQ ID NO: 77 之胺基酸序列 RIDPXNHNTKFDPKFQG，其中，X 為 D；及

(c) CDR-H3，其包含 SEQ ID NO: 78 之胺基酸序列 GVFGFFXH，其中，X 為E；

及

VL 域，其包含：

(d) CDR-L1，其包含 SEQ ID NO: 79 之胺基酸序列 KAX^{1}EDIYNRX^{2}A，其中，X^1 為 F 且 X^2 為 R；

(e) CDR-L2，其包含 SEQ ID NO: 80 之胺基酸序列 GATSLEH；及

(f) CDR-L3，其包含 SEQ ID NO: 81 之胺基酸序列 QQFXSAPYT，其中，X 為 W。

【請求項2】

如請求項1之單離的雙特異性抗體，其中，

i) 所述第一抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 71 之胺基酸序列具有至少95%的序列同一性，及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列具有至少95%的序列同一性；並且

ii) 所述第二抗原結合位點包含

VH 域序列，其與 SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列具有至少95%的序列同一性，及 VL 域序列，其與 SEQ ID NO: 93 之

胺基酸序列具有至少95%的序列同一性。

【請求項3】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中所述第一抗原結合位點包含含有SEQ ID NO: 71之胺基酸序列之VH域及含有SEQ ID NO: 75 之胺基酸序列之VL域，且所述第二抗原結合位點包含含有SEQ ID NO: 91 之胺基酸序列之VH域及含有SEQ ID NO: 93 之胺基酸序列之VL域。

【請求項4】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含人類 IgG 同型的 Fc 域。

【請求項5】

如請求項4之單離的雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的 Fc 域。

【請求項6】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含人類 IgG 同型的恆定域。

【請求項7】

如請求項6之單離的雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體包含人類 IgG1 同型的恆定域。

【請求項8】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體

i) 在活體外阻斷 CCL2 與其受體 CCR2 的結合 (報導基因測定，IC_{50} = 0.5 nM)；及/或

ii) 在活體外抑制骨髓細胞的 CCL2 介導趨化性 (IC_{50} = 1.5 nM)；及/或

iii) 與食蟹獼猴 CCL2 及人類 CCL2 有交叉反應。

【請求項9】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體與其他 CCL 同源物無交叉反應。

【請求項10】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中該雙特異性抗體在 pH 7.4 下以比在 pH 5.8 下高 10 倍之親和力與人類 CCL2 結合。

【請求項11】

如請求項1或2之單離的雙特異性抗體，其中，該雙特異性抗體包含含有以下根據Kabat EU 編號之突變中之一者或多者的人類 IgG1 重鏈恆定域：

i) Q311R 及/或 P343R；及/或

ii) L234Y、L235W、G236N、P238D、T250V、V264I、H268D、Q295L、T307P、K326T 及/或 A330K；及/或

iii) M428L、N434A 及/或 Y436T；及/或

iv) Q438R 及/或 S440E。

【請求項12】

一種單離的核酸，其編碼如請求項 1 至 11 中任一項之抗體。

【請求項13】

一種宿主細胞，其包含如請求項 12 之核酸。

【請求項14】

一種產生抗體之方法，其包含培養如請求項 13 之宿主細胞，從而產生該抗體。

【請求項15】

如請求項 14 之方法，其進一步包含自該宿主細胞回收該抗體。

【請求項16】

一種醫藥調配物，其包含如請求項 1 至 11 中任一項之單離的雙特異性抗體及醫藥上可接受之載體。

【請求項17】

一種如請求項 1 至 11 中任一項之單離的雙特異性抗體在製造藥物中之用途。

【請求項18】

如請求項 17 之用途，其中，該藥物用於治療癌症。

【請求項19】

如請求項 17 之用途，其中，該藥物用於治療炎性疾病或自體免疫疾病。

【發明圖式】

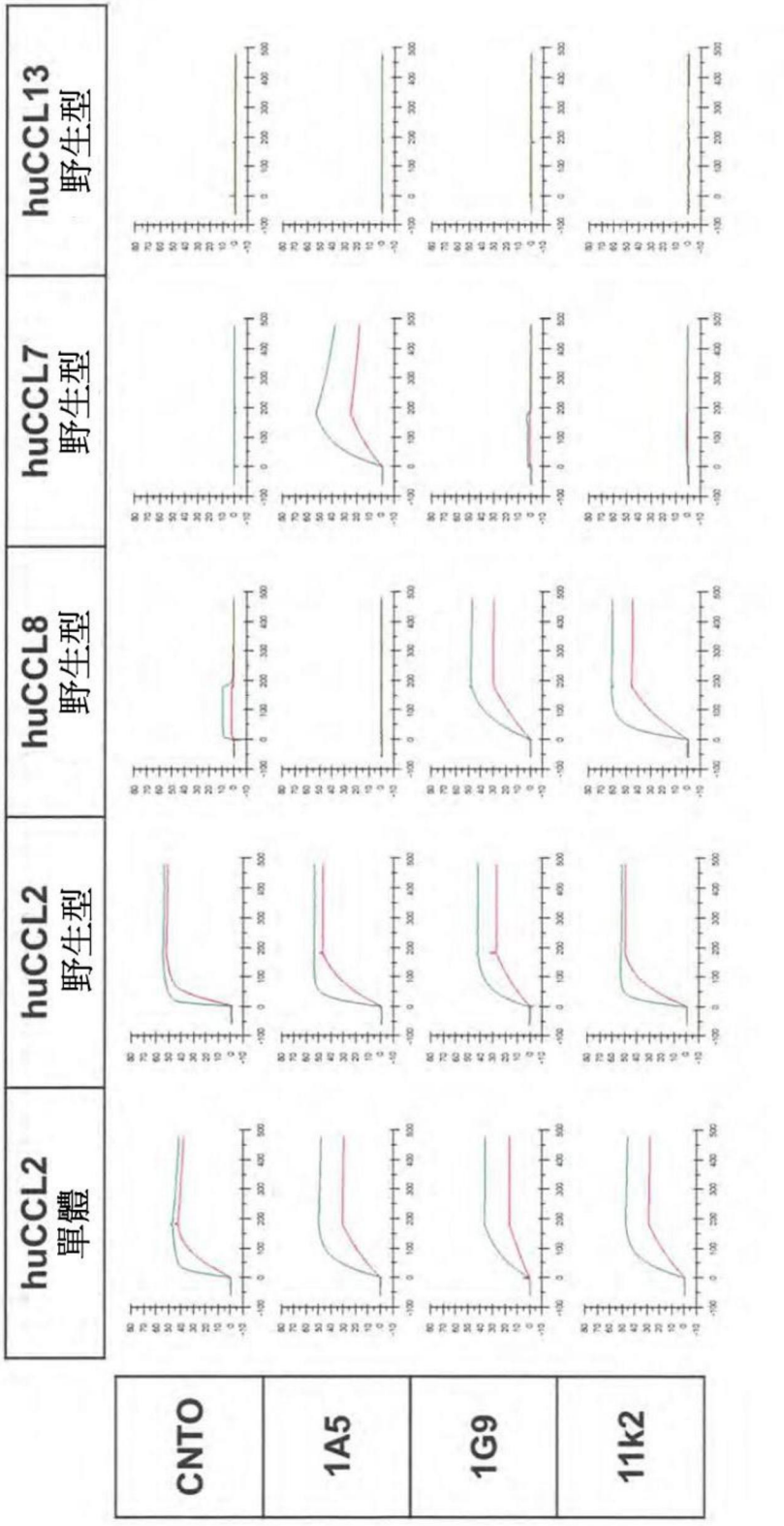

huCCL2
單體
huCCL2
野生型
huCCL8
野生型
huCCL7
野生型
huCCL13
野生型
CNTO
1A5
1G9
11k2

圖 1



圖 2a

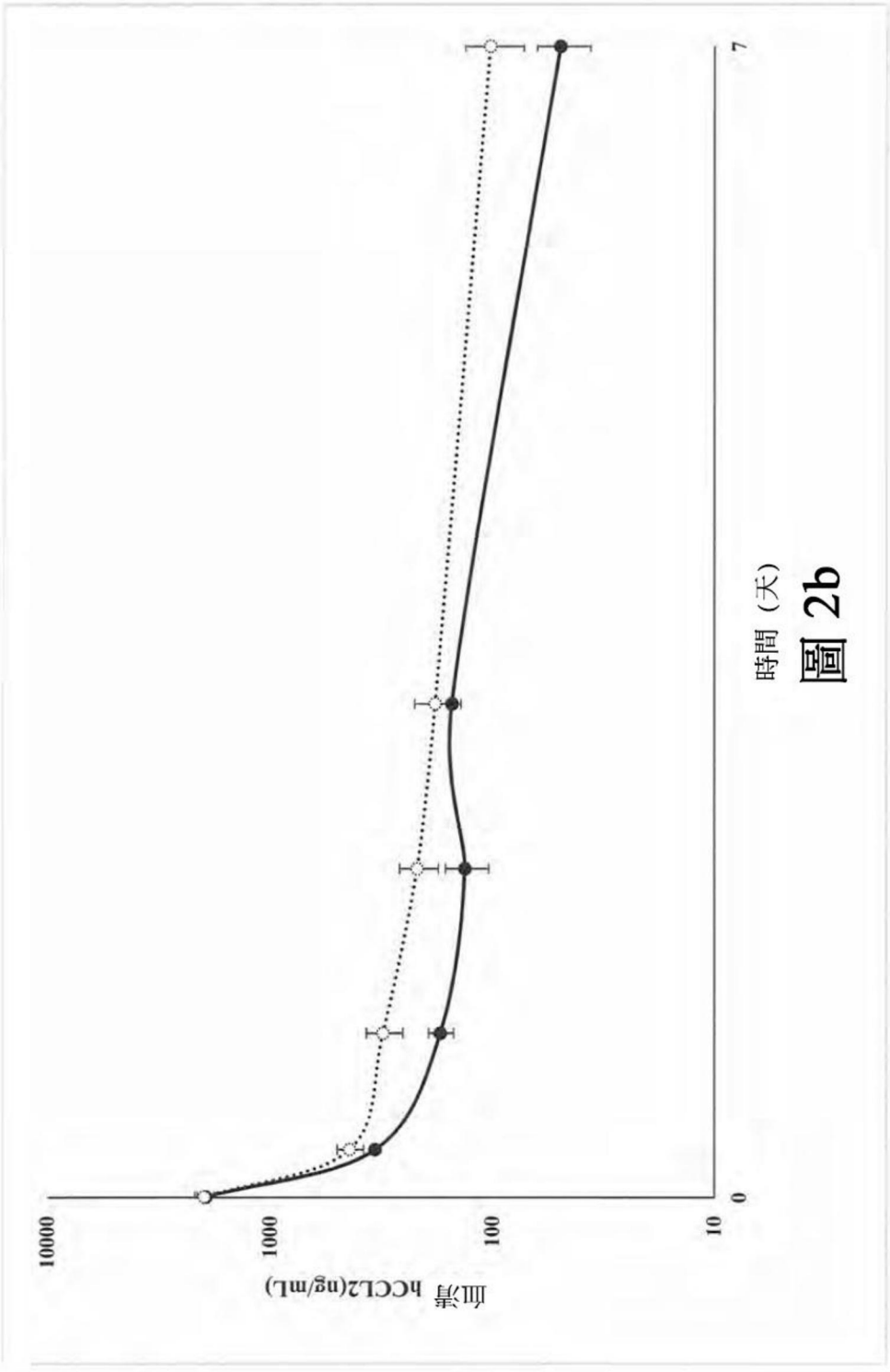


圖 2b

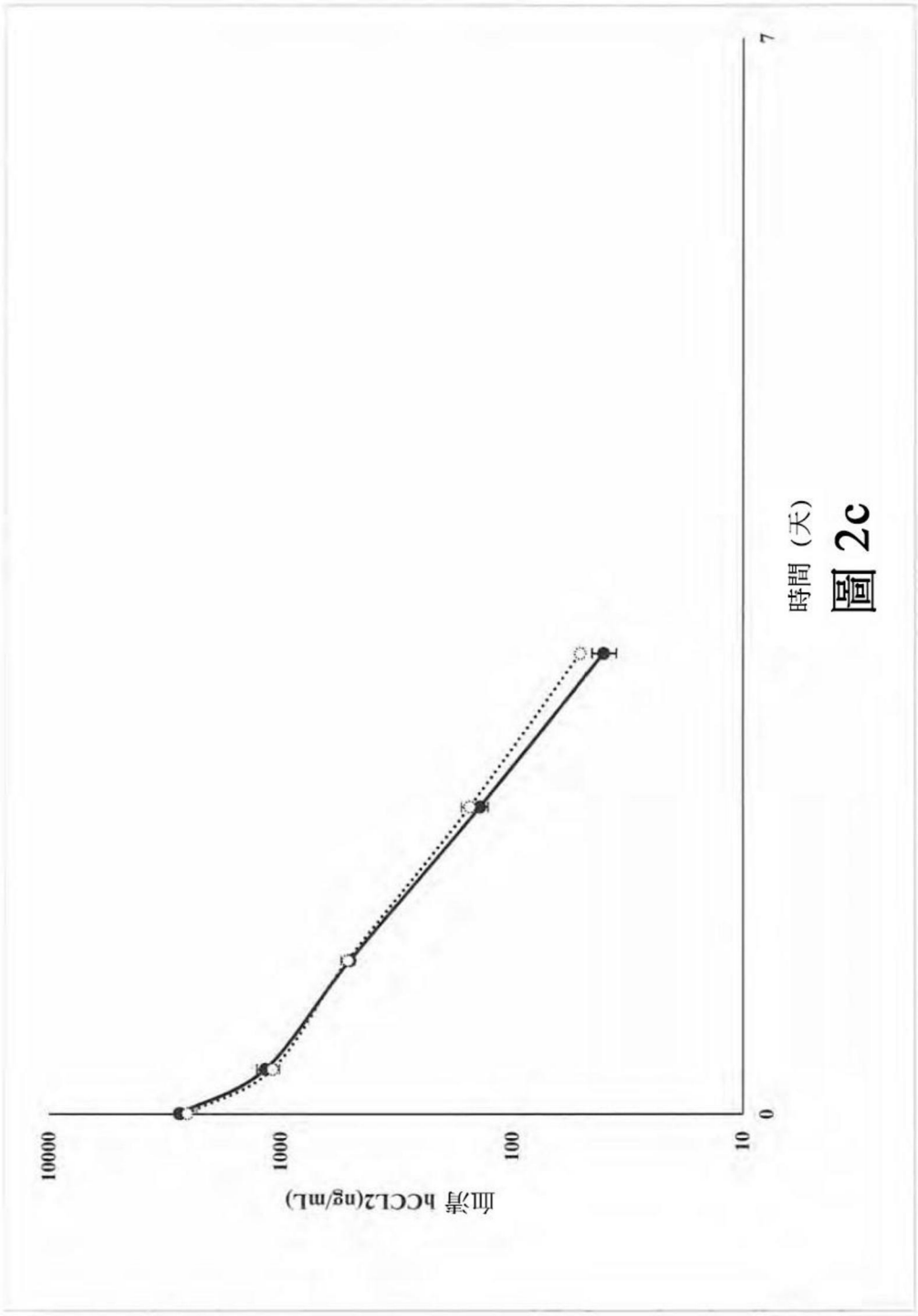


圖 2c

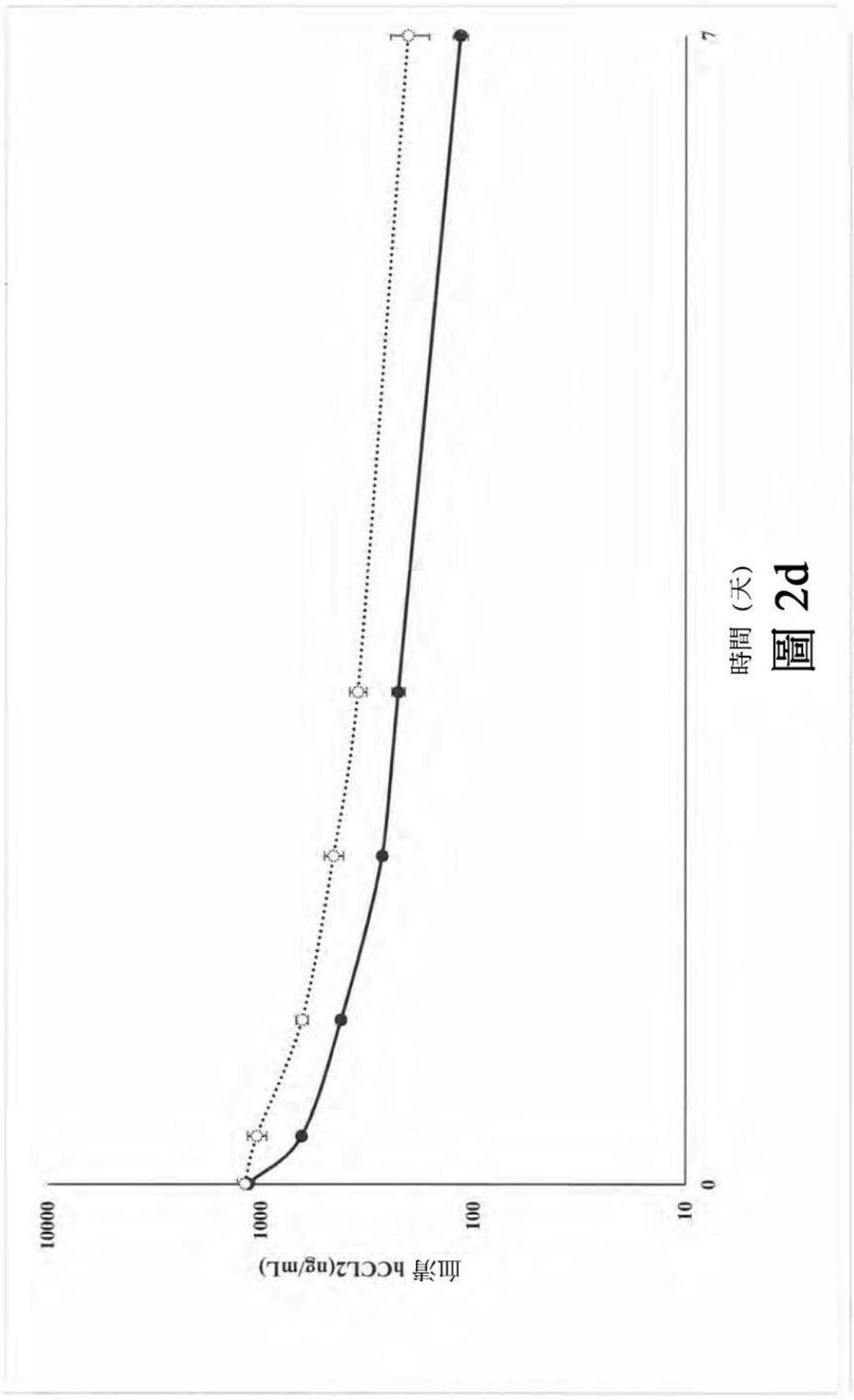


圖 2d

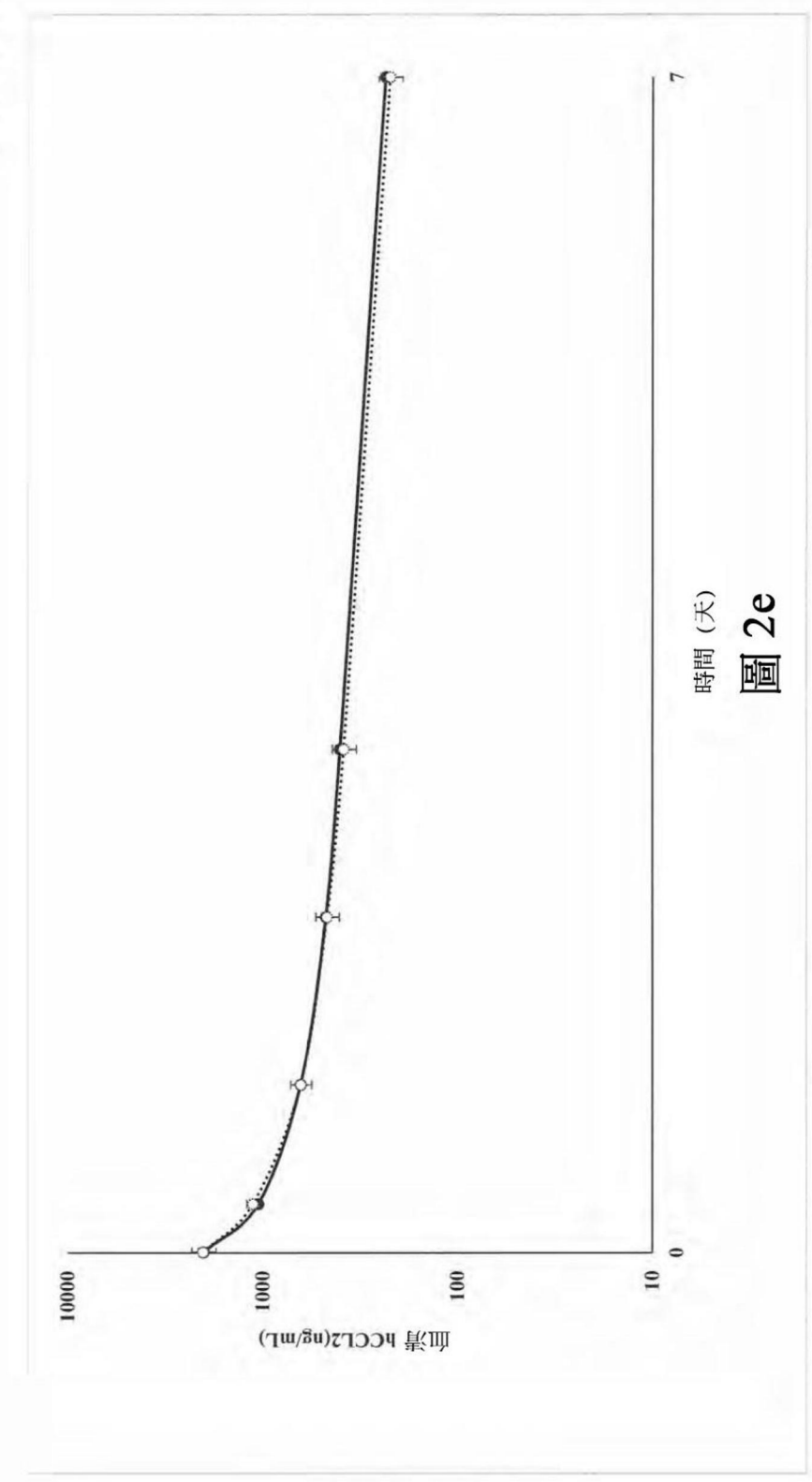


圖 2e

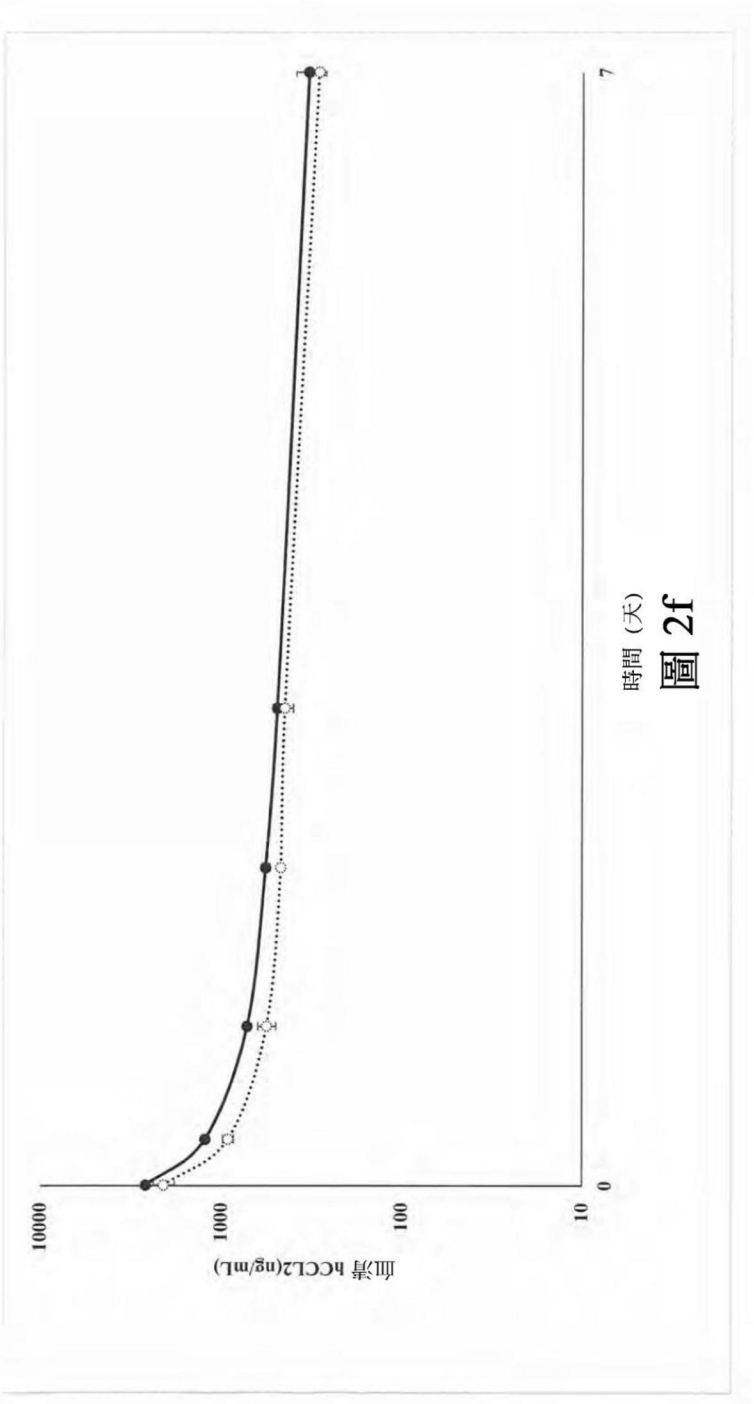


圖 2f

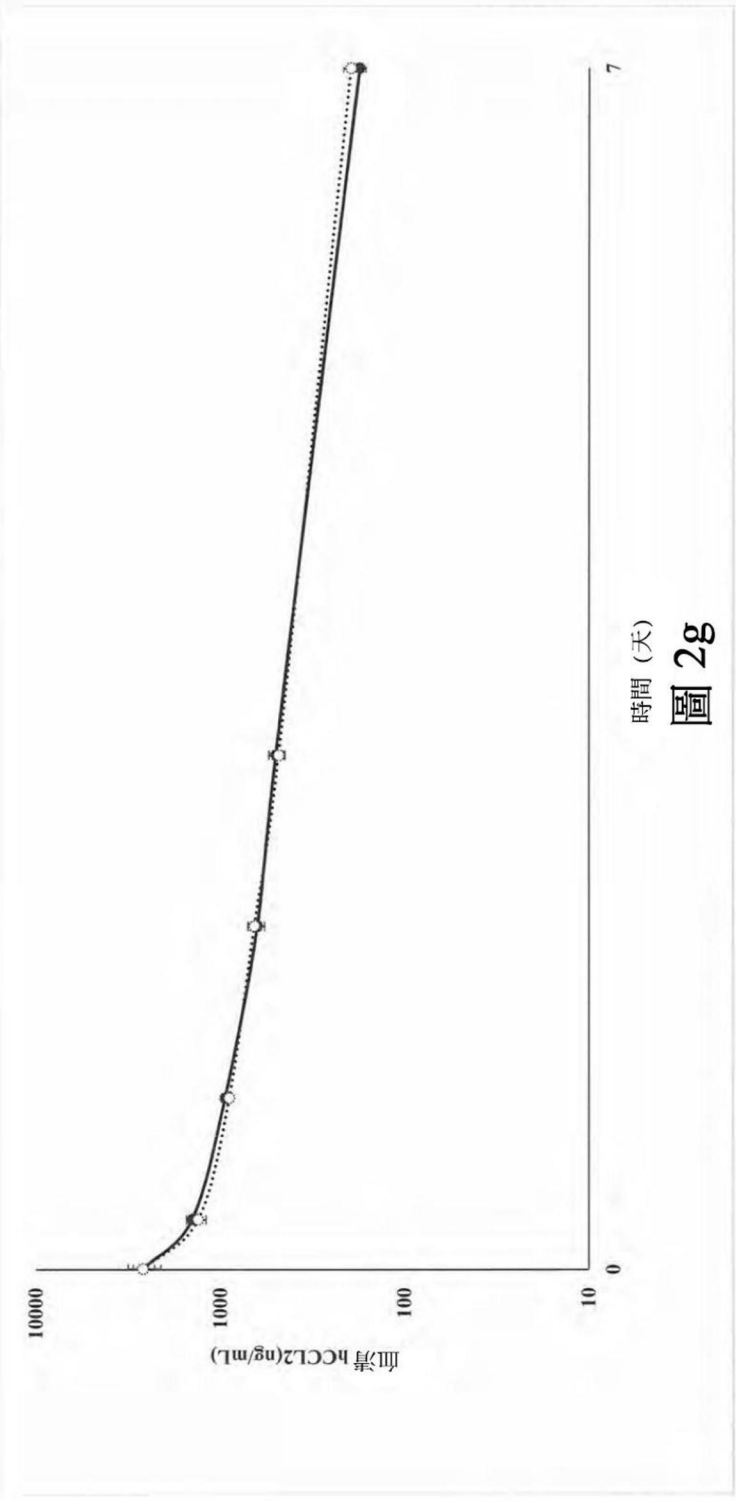


圖 2g

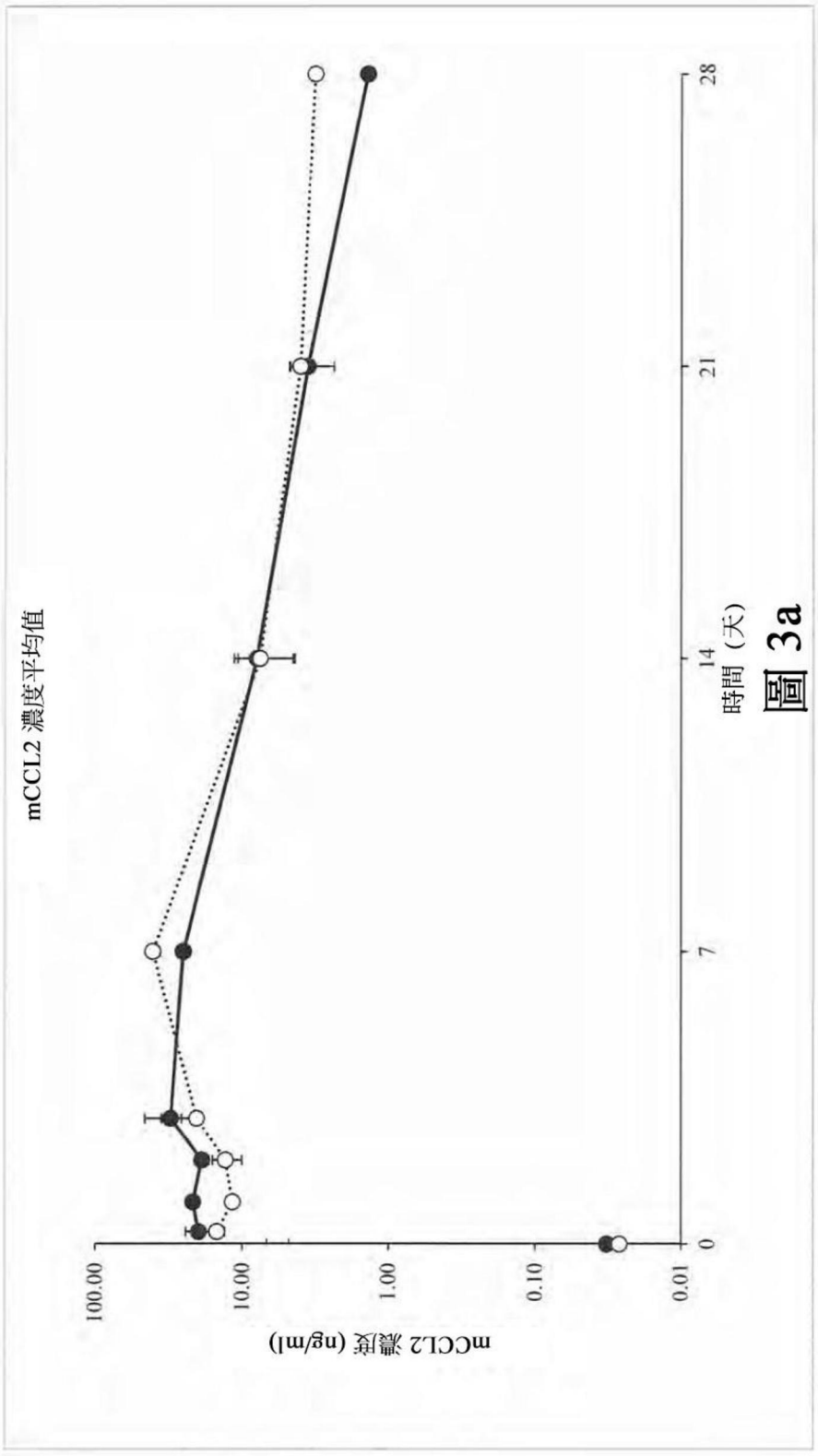

mCCL2 濃度平均值
mCCL2 濃度 (ng/ml)
100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
0
7
14
21
28
時間（天）

圖 3a

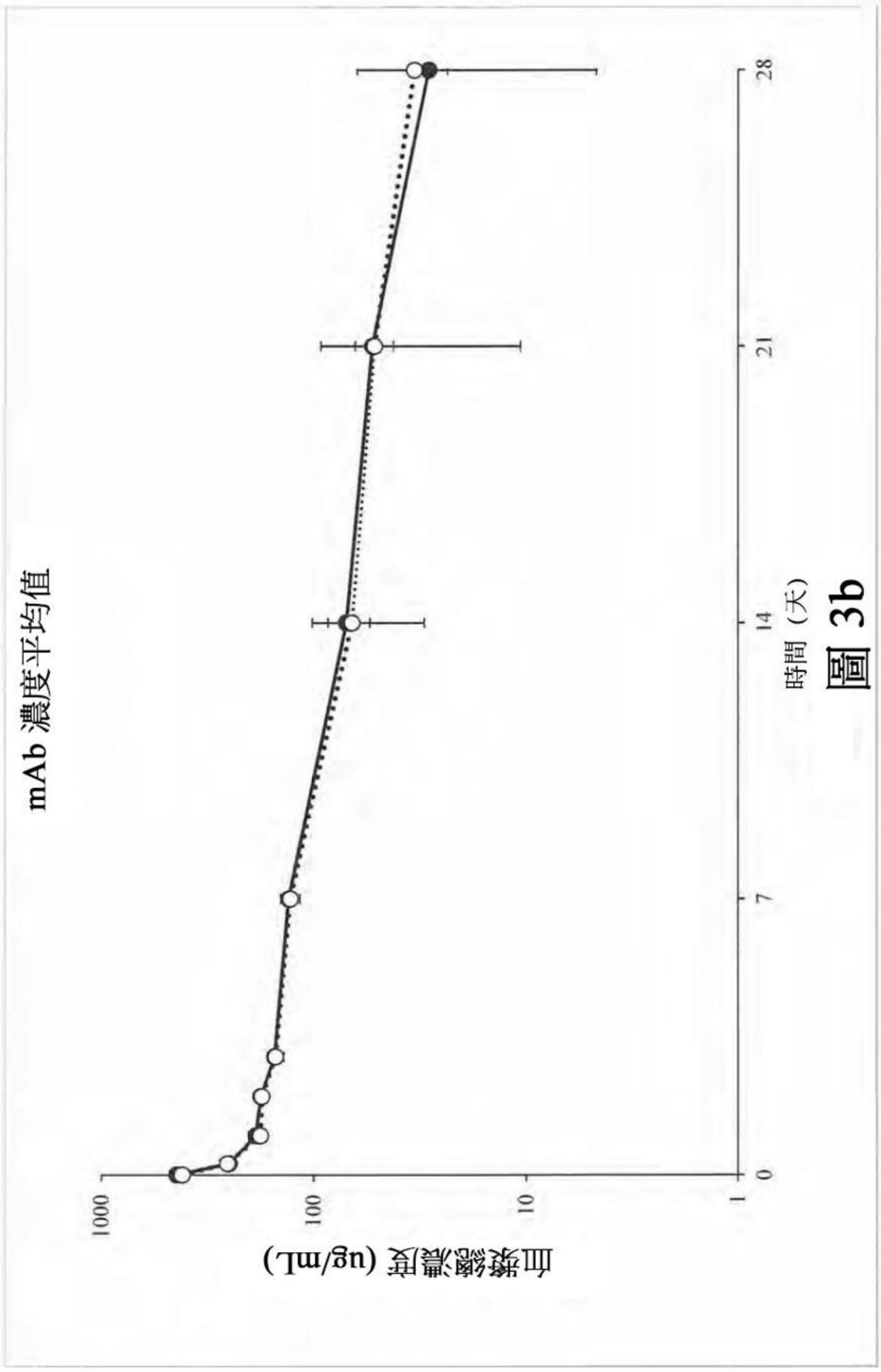


圖 3b

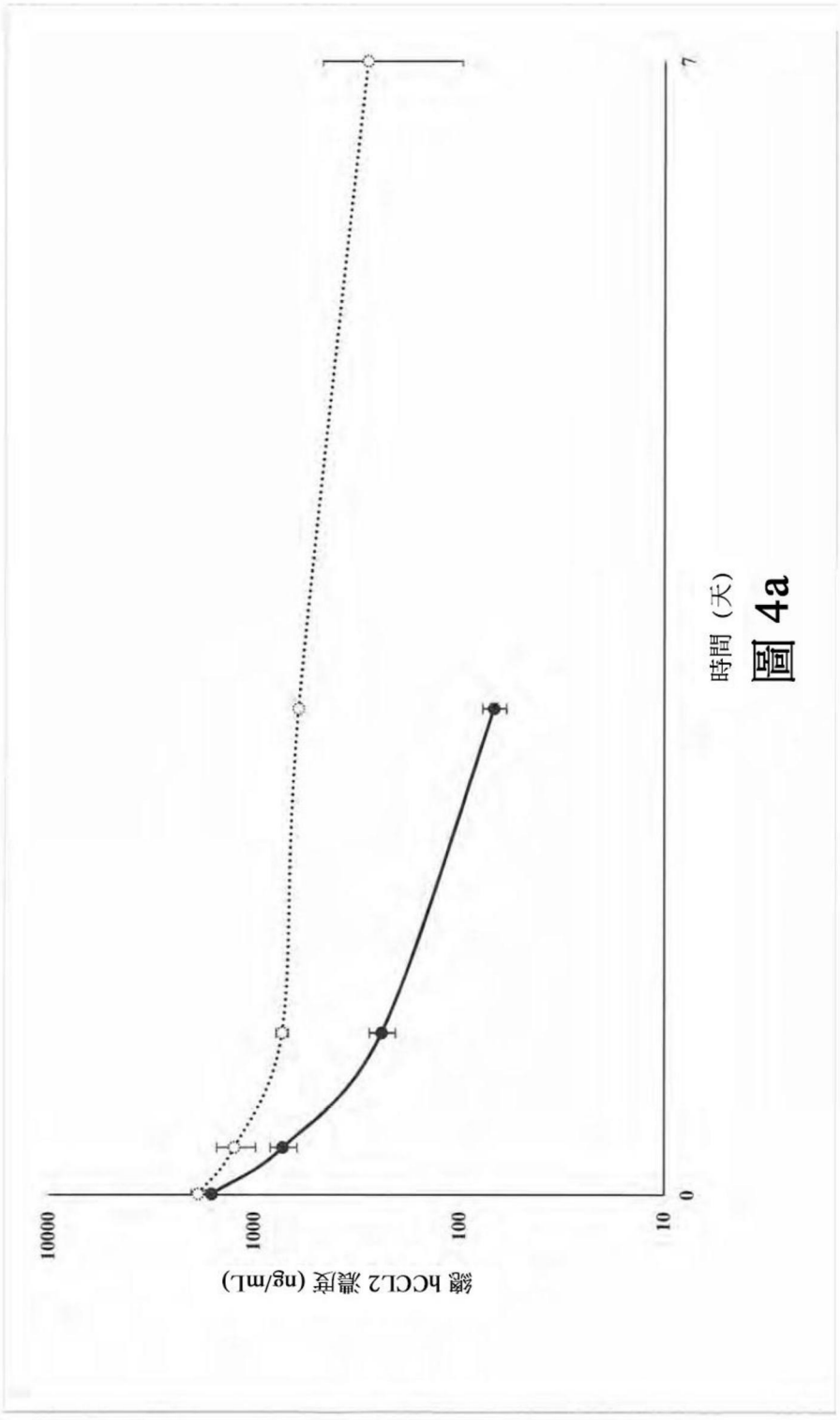


圖 4a

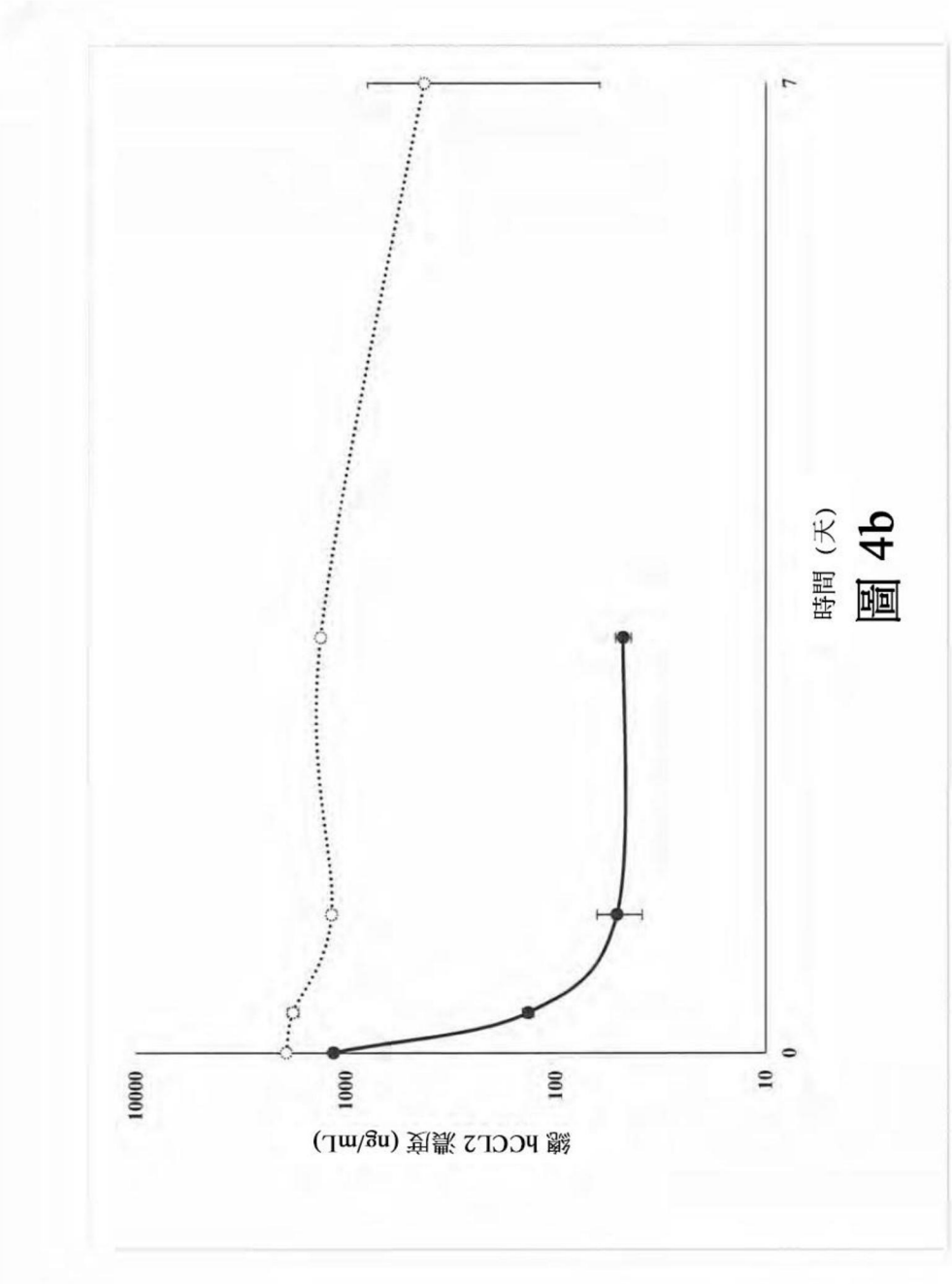


圖 4b

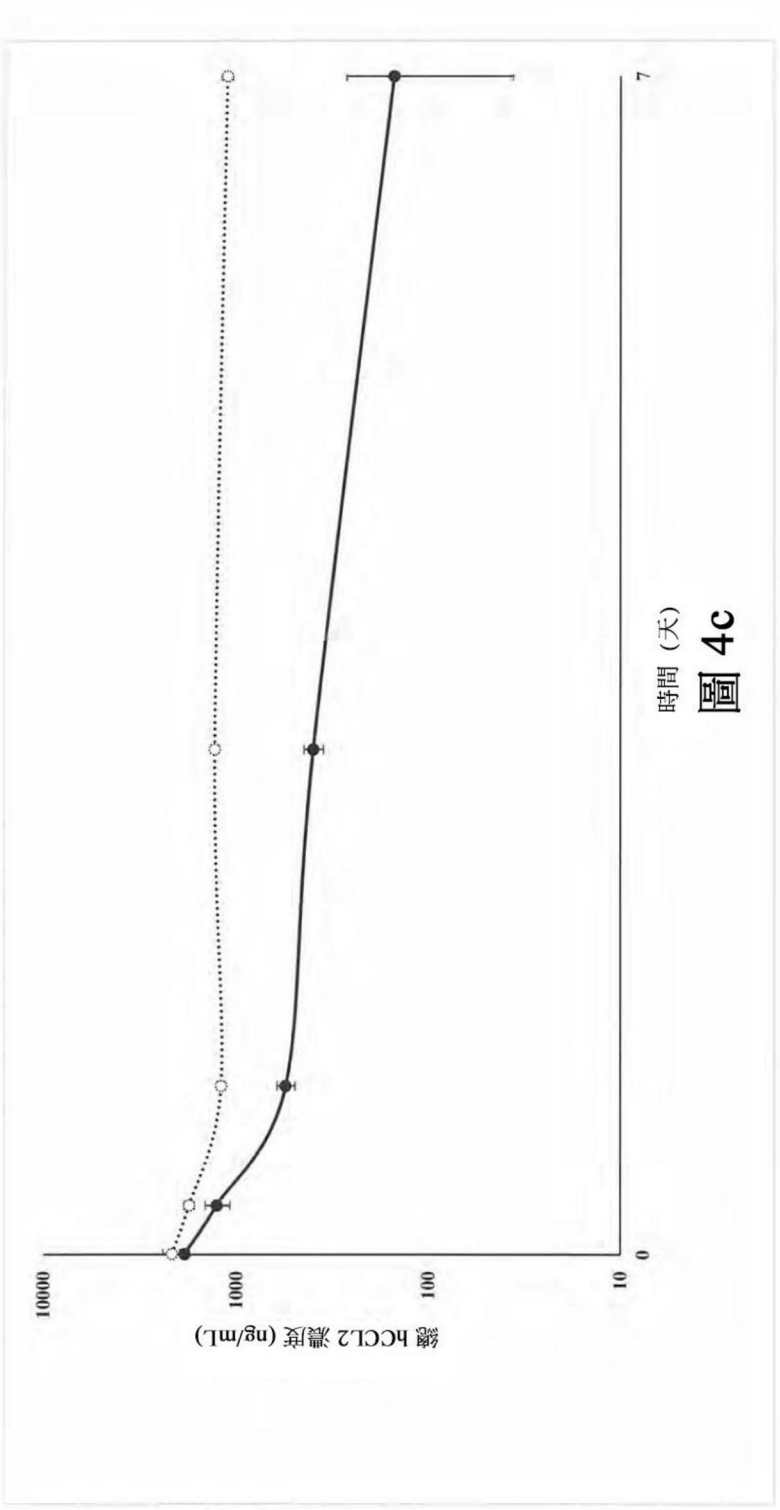


圖 4c

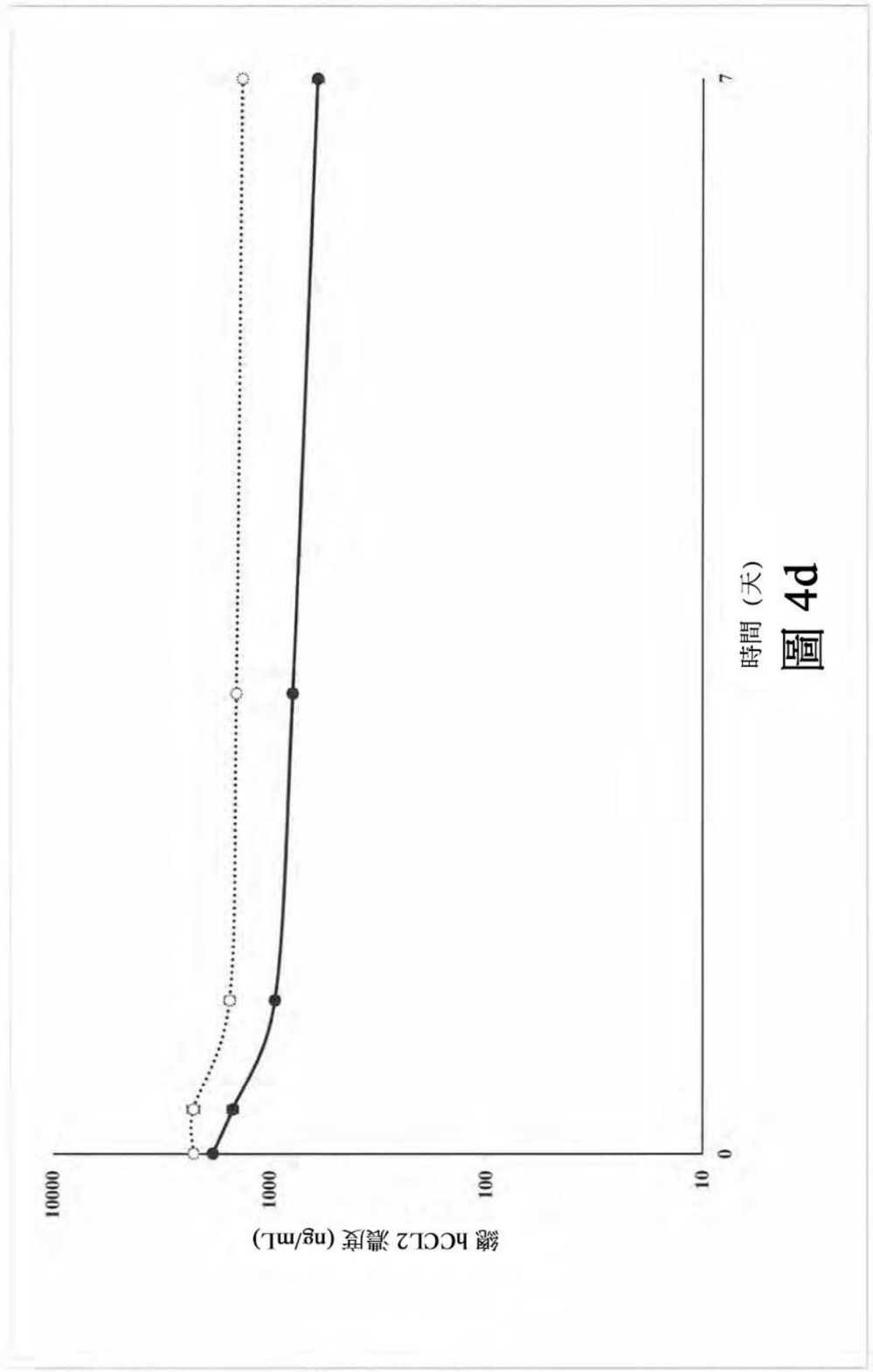


圖 4d

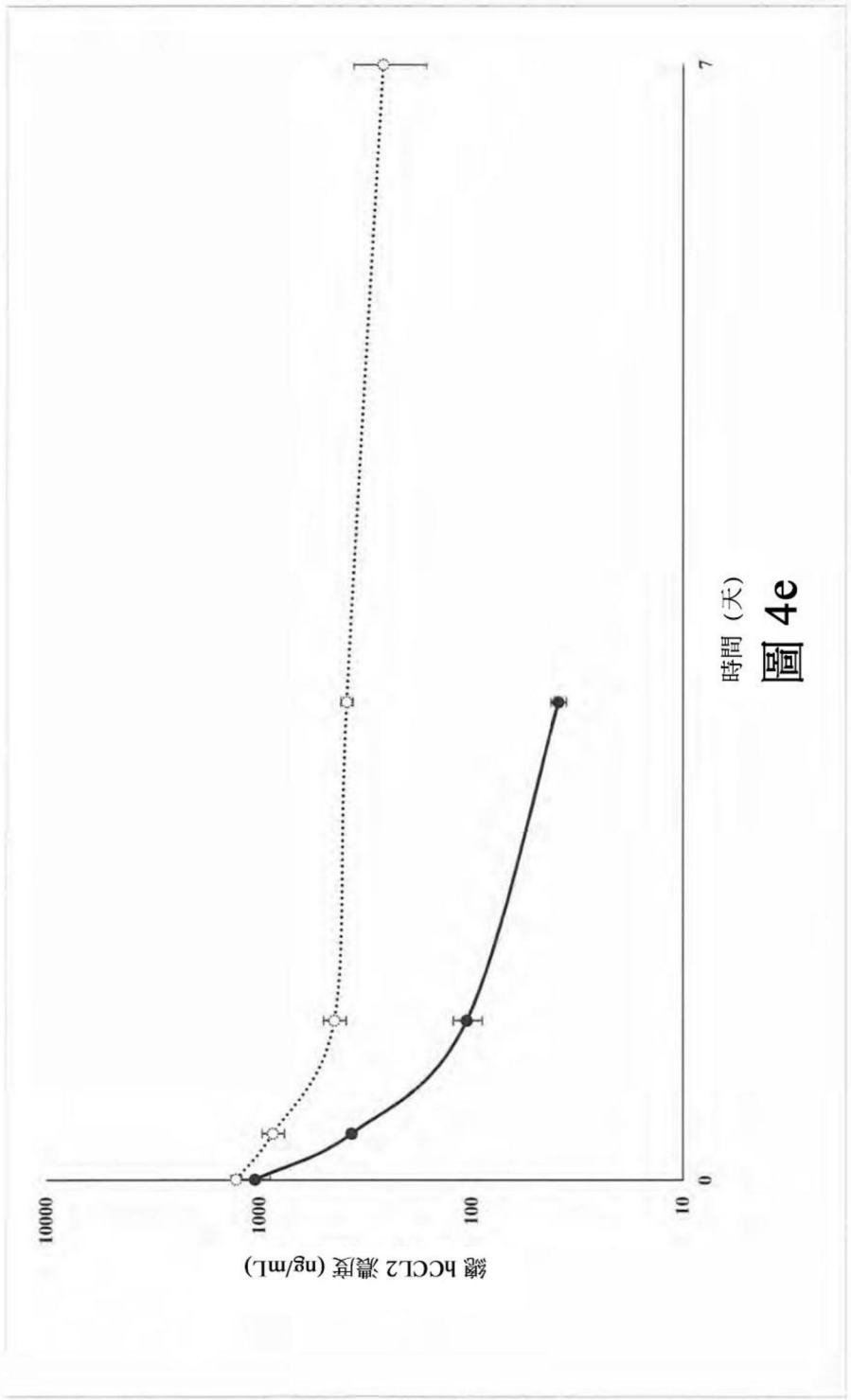


圖 4e

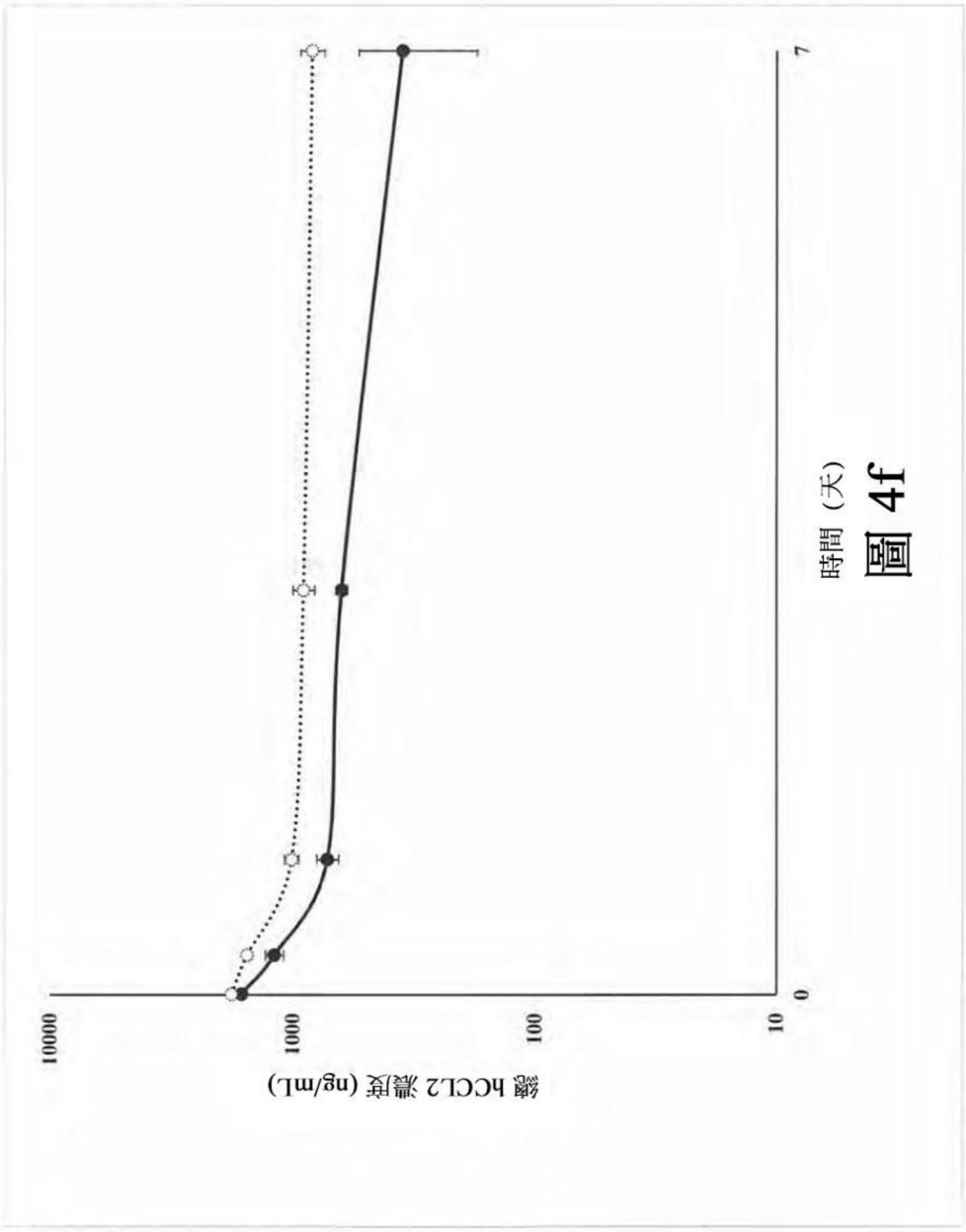


圖 4f

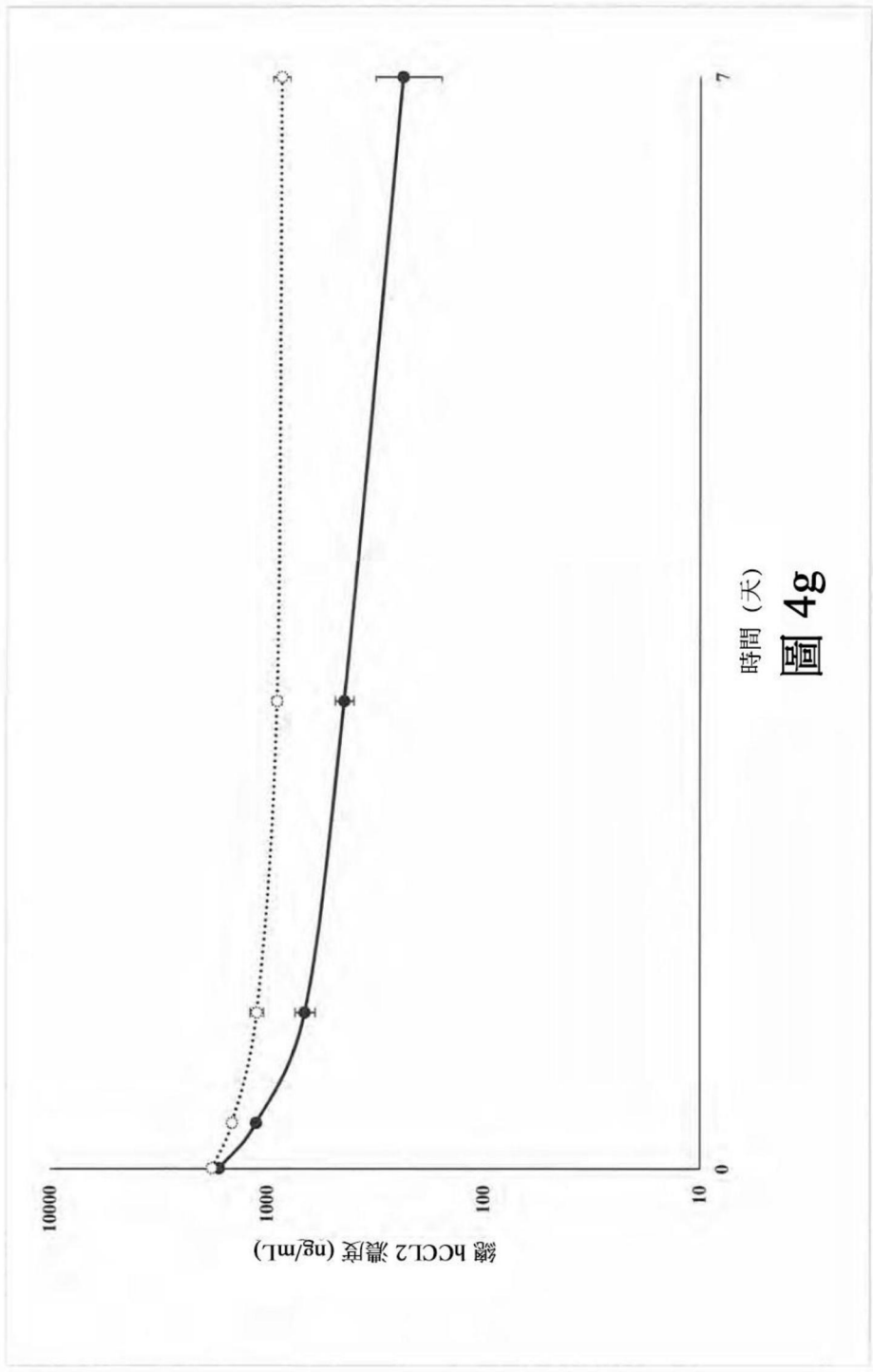


圖 4g

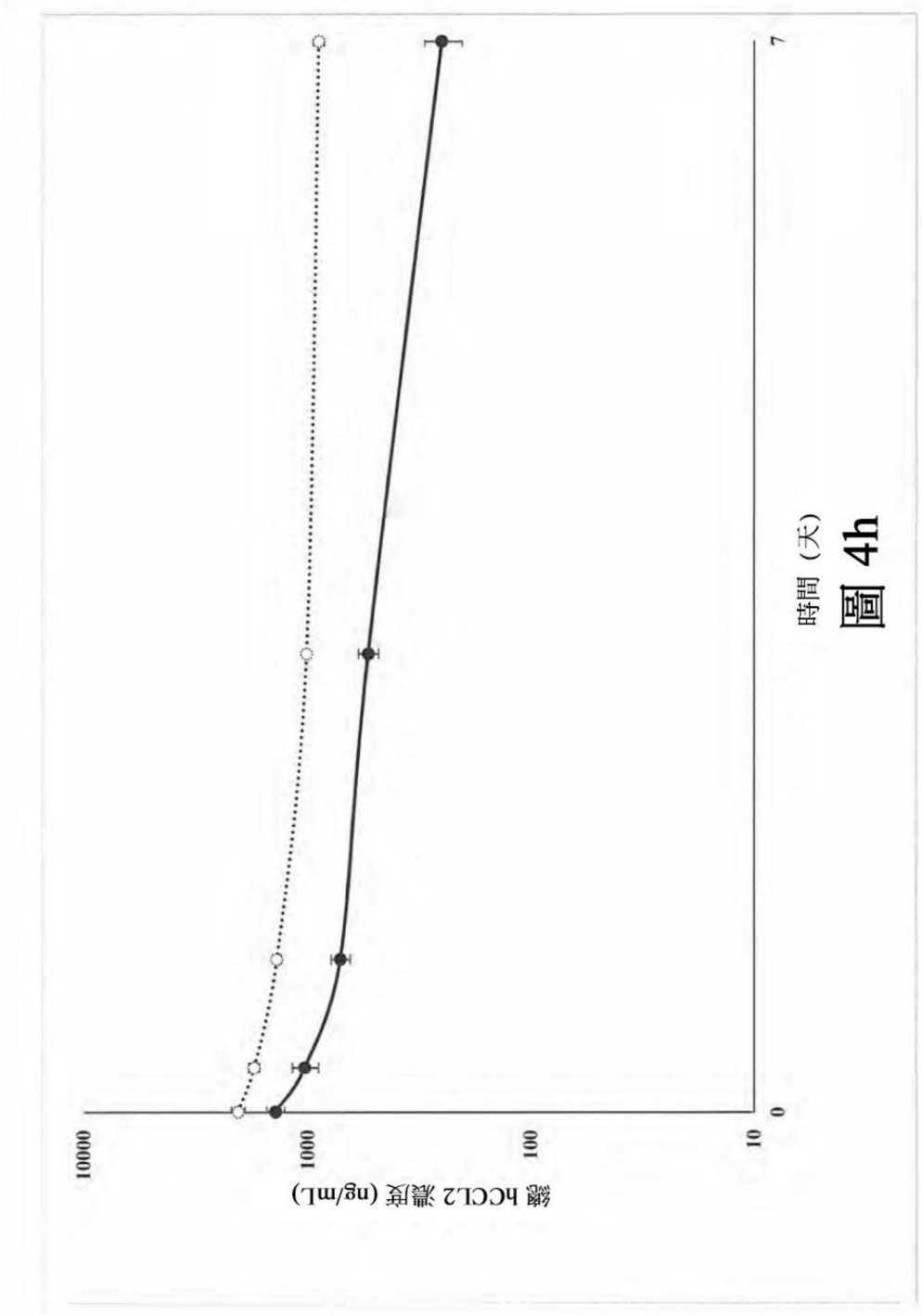


圖 4h

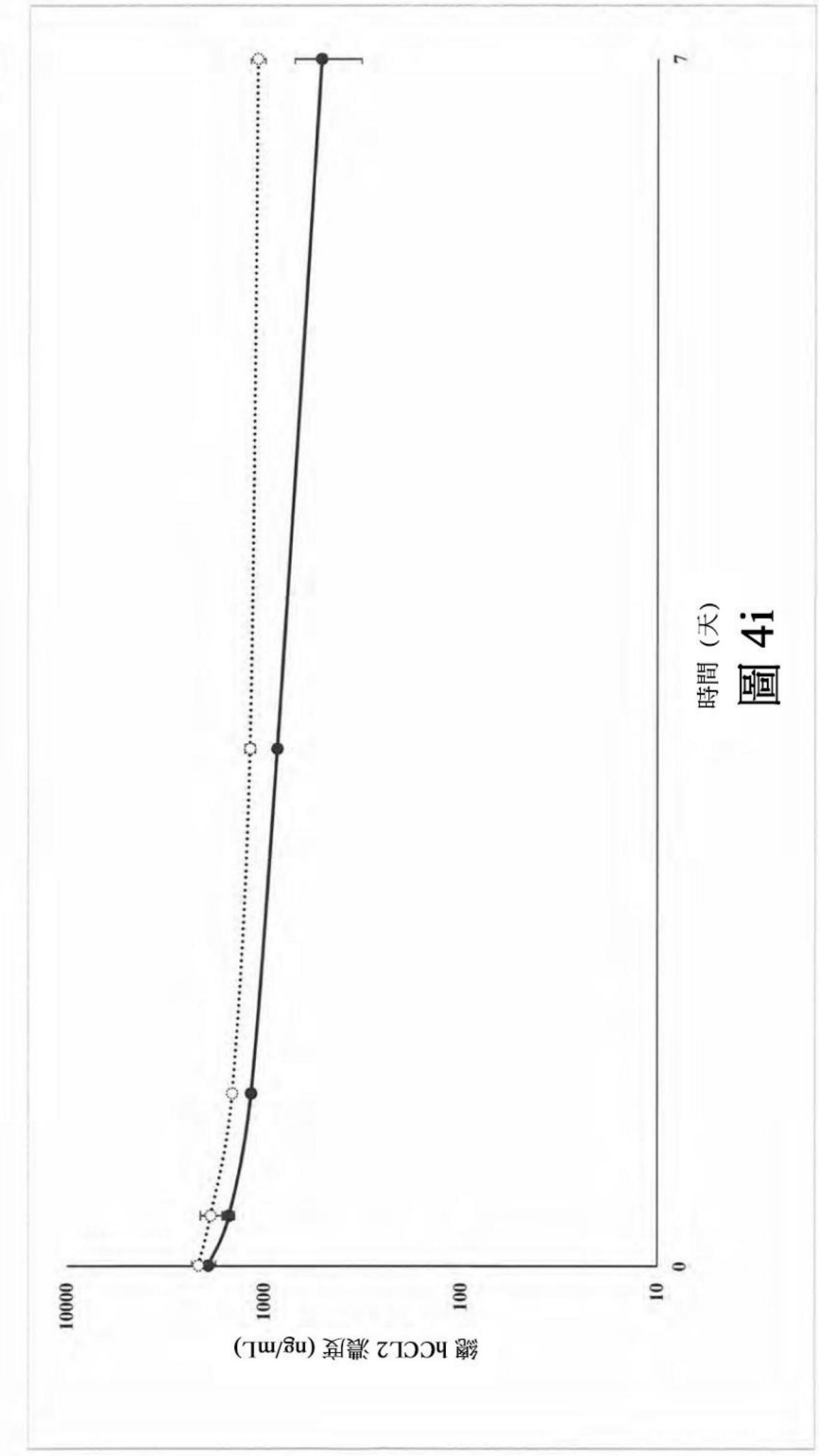


圖 4i

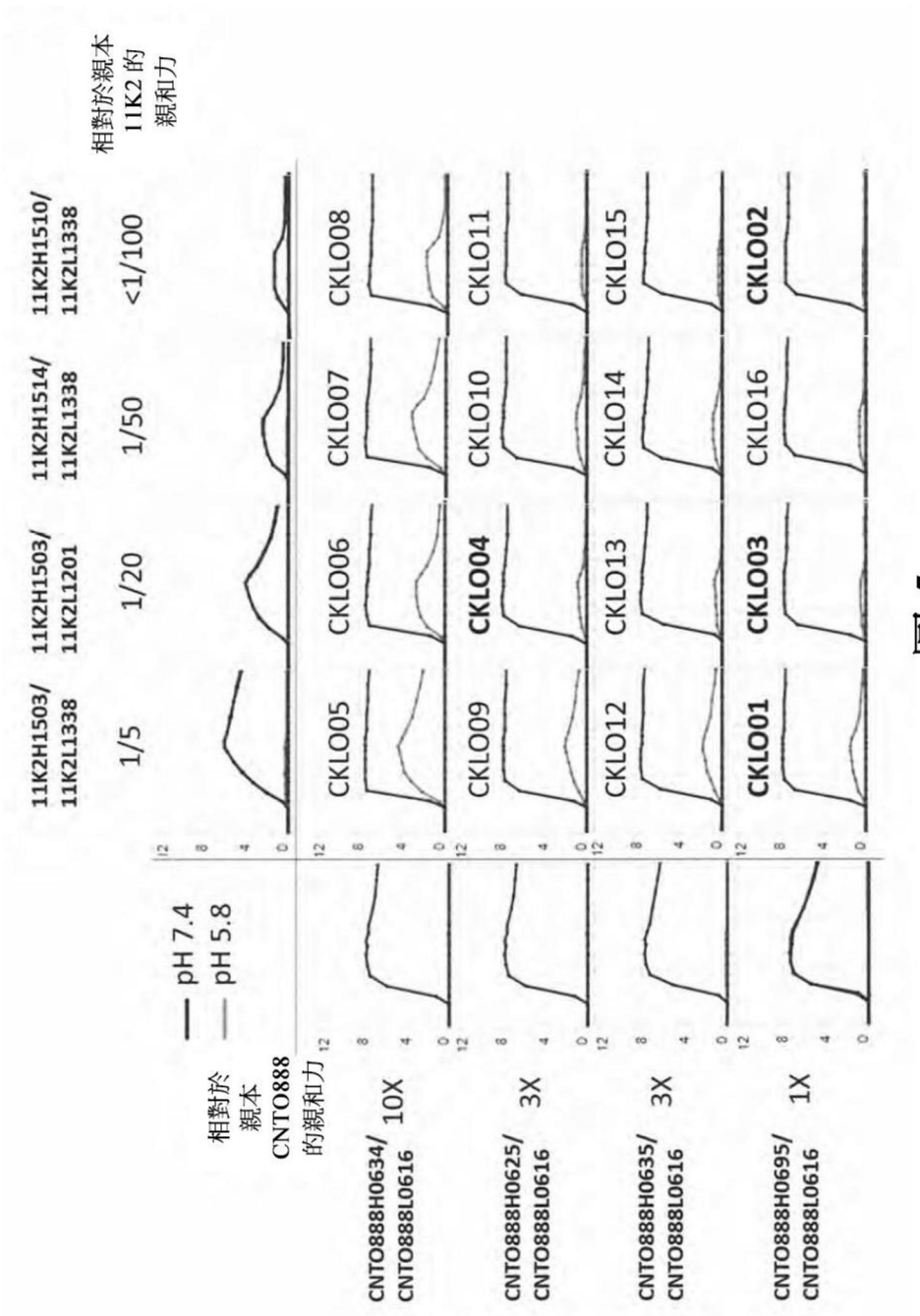

pH 7.4
pH 5.8
相對於親本CNTO888的親和力
11K2H1503/11K2L1338
11K2H1503/11K2L1201
11K2H1514/11K2L1338
11K2H1510/11K2L1338
1/5
1/20
1/50
<1/100
相對於親本11K2的親和力
CNTO888H0634/CNTO888L0616
10X
CNTO888H0625/CNTO888L0616
3X
CNTO888H0635/CNTO888L0616
3X
CNTO888H0695/CNTO888L0616
1X
CKLO05
CKLO06
CKLO07
CKLO08
CKLO09
CKLO04
CKLO10
CKLO11
CKLO12
CKLO13
CKLO14
CKLO15
CKLO01
CKLO03
CKLO16
CKLO02

圖 5a

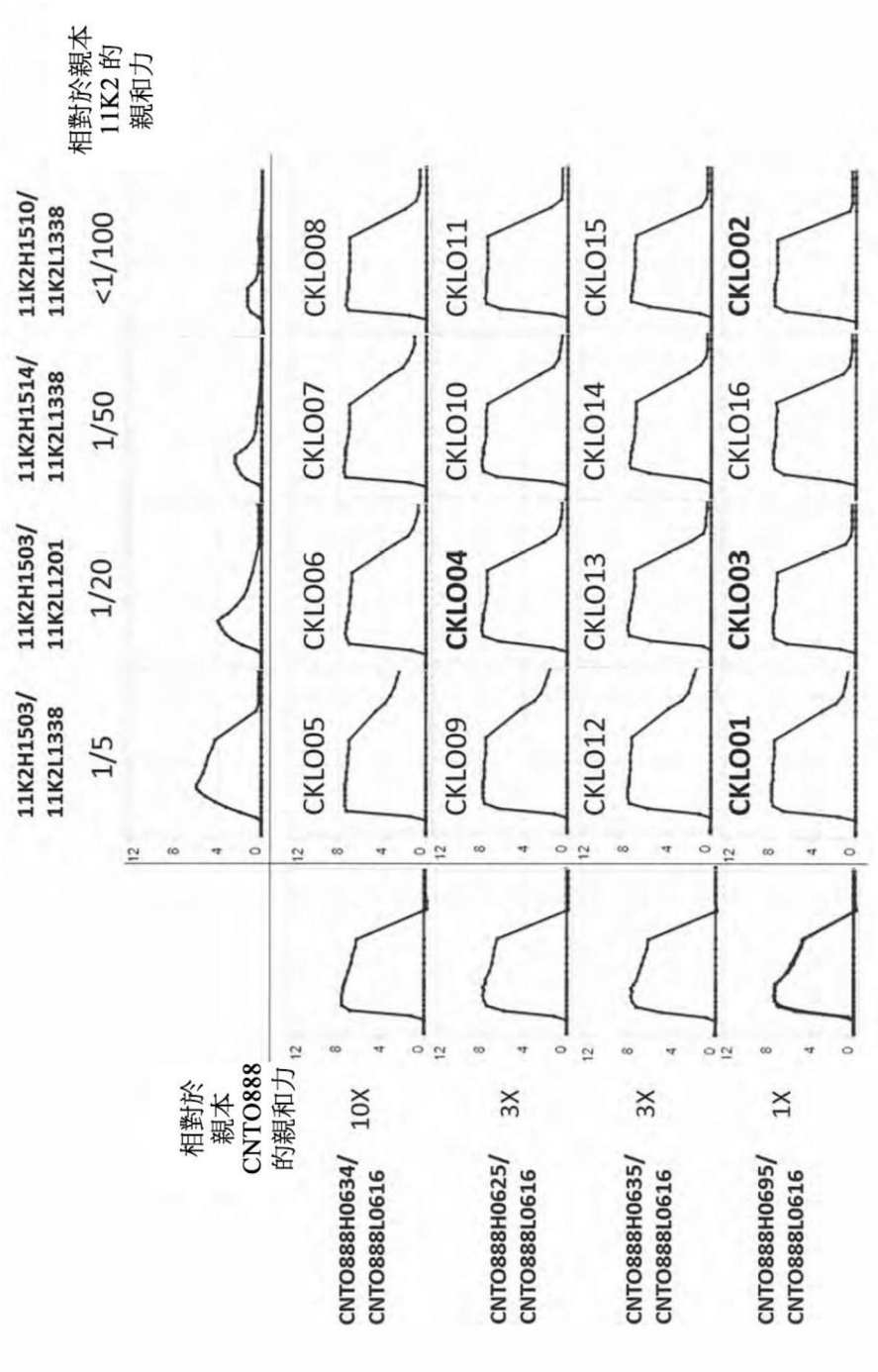

相對於親本CNTO888的親和力
CNTO888H0634/CNTO888L0616
10X
CNTO888H0625/CNTO888L0616
3X
CNTO888H0635/CNTO888L0616
3X
CNTO888H0695/CNTO888L0616
1X
11K2H1503/11K2L1338
1/5
11K2H1503/11K2L11201
1/20
11K2H1514/11K2L1338
1/50
11K2H1510/11K2L1338
<1/100
相對於親本11K2的親和力
CKLO05
CKLO06
CKLO07
CKLO08
CKLO09
CKLO04
CKLO10
CKLO11
CKLO12
CKLO13
CKLO14
CKLO15
CKLO01
CKLO03
CKLO16
CKLO02

圖 5b

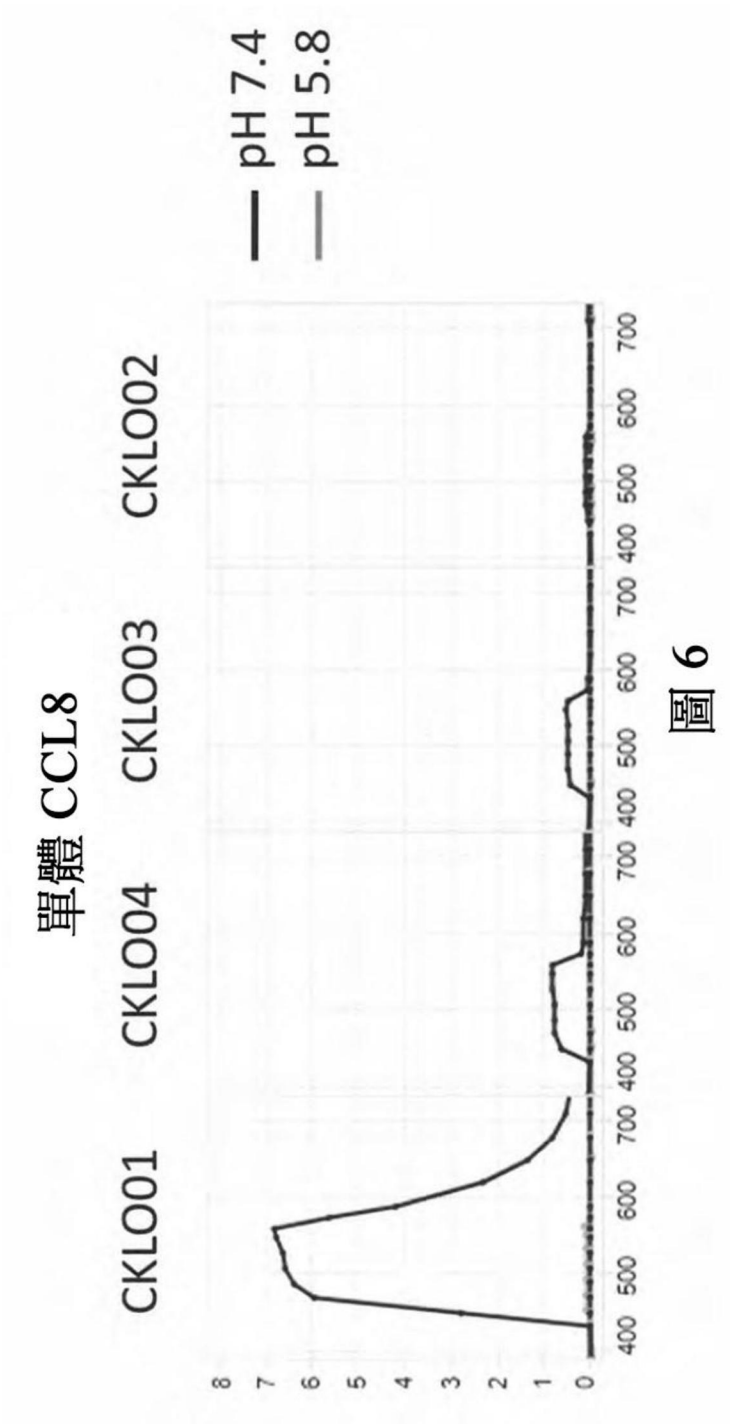

單體 CCL8
CKLO01
CKLO04
CKLO03
CKLO02
pH 7.4
pH 5.8
8
7
6
5
4
3
2
1
0
400
500
600
700

圖 6

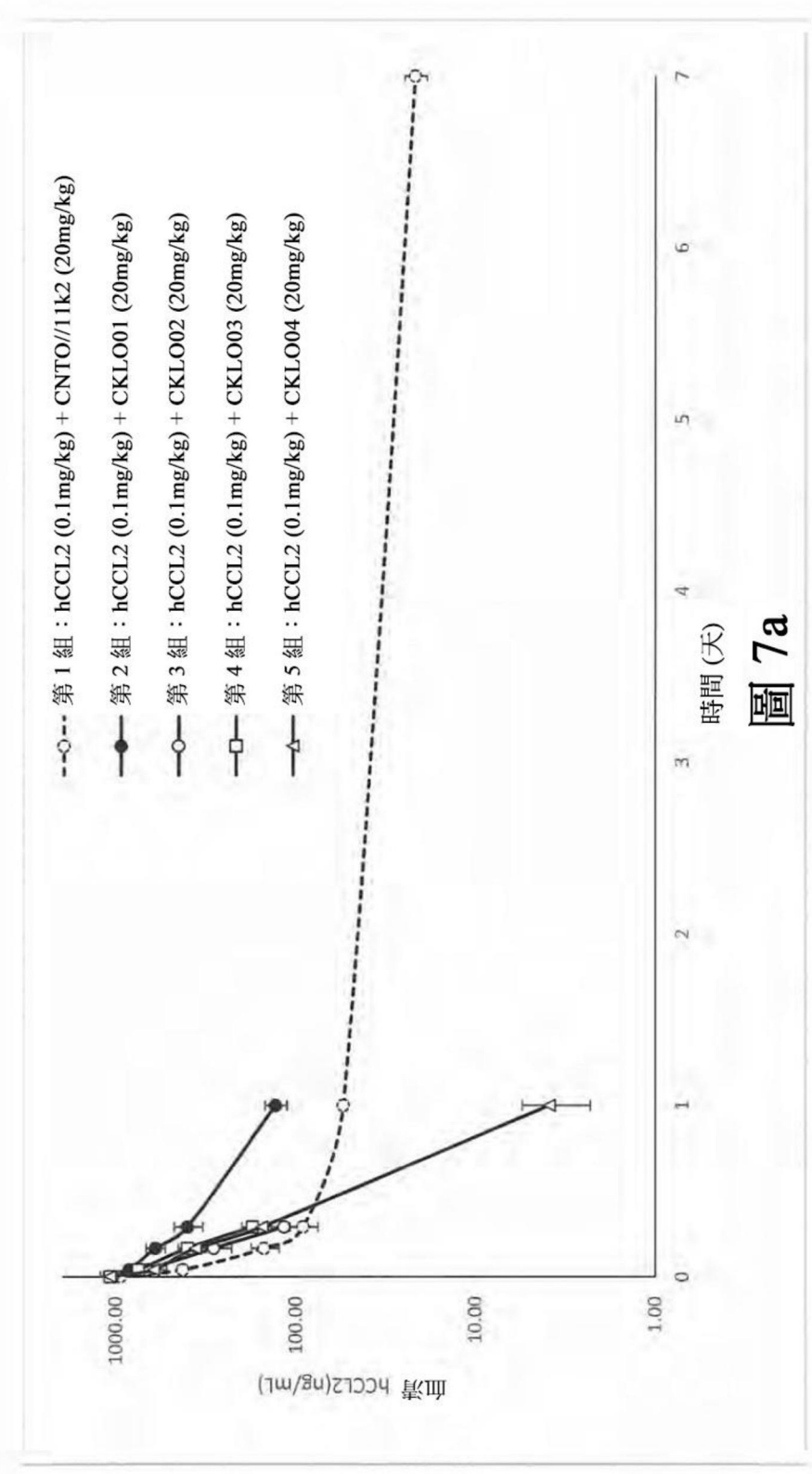

第 1 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CNTO//11k2 (20mg/kg)
第 2 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CKLO01 (20mg/kg)
第 3 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CKLO02 (20mg/kg)
第 4 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CKLO03 (20mg/kg)
第 5 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CKLO04 (20mg/kg)
血清 hCCL2(ng/mL)
1000.00
100.00
10.00
1.00
0
1
2
3
4
5
6
7
時間 (天)

圖 7a

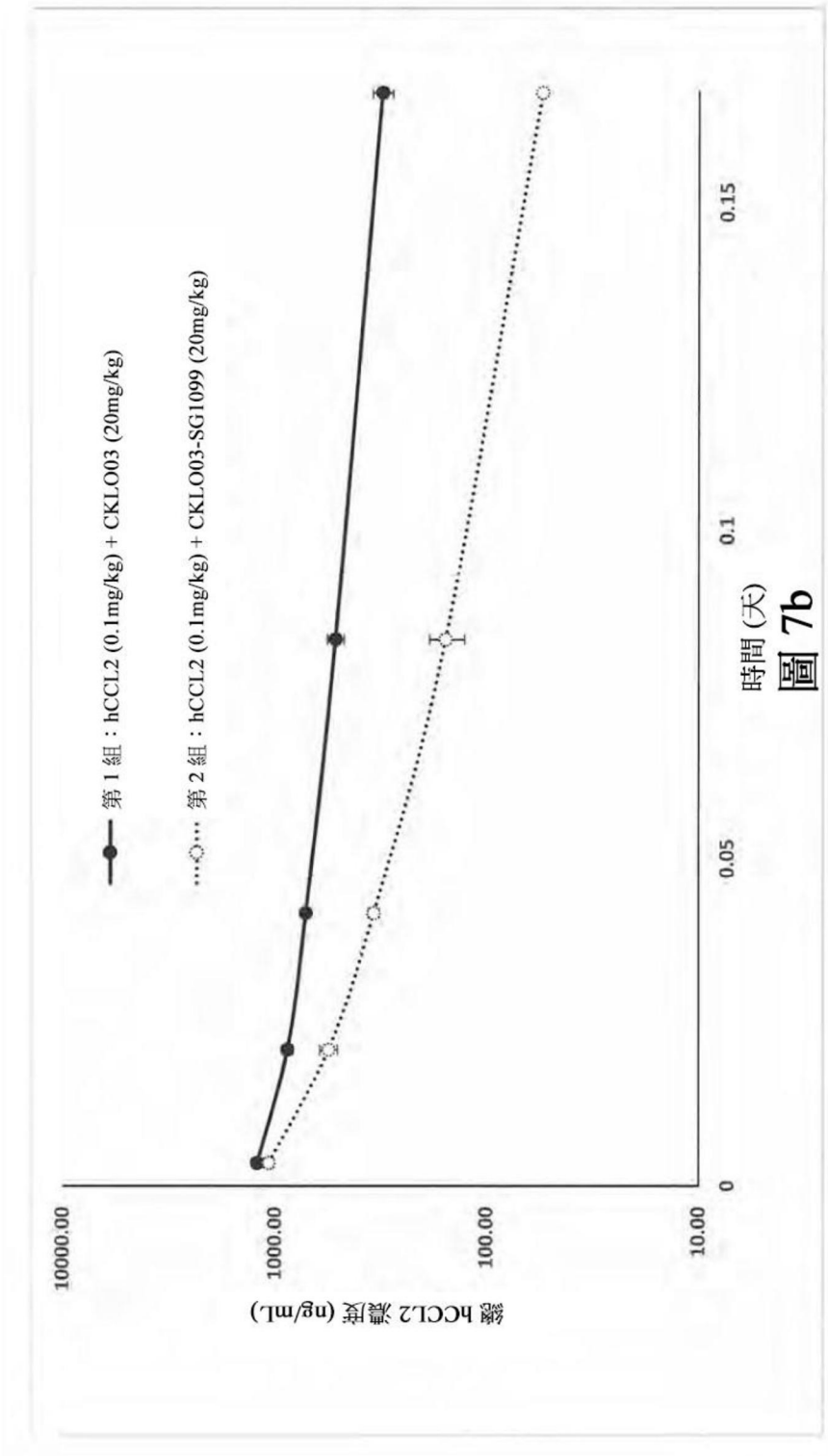

第 1 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CKLO03 (20mg/kg)
第 2 組：hCCL2 (0.1mg/kg) + CKLO03-SG1099 (20mg/kg)
總 hCCL2 濃度 (ng/mL)
10000.00
1000.00
100.00
10.00
0
0.05
0.1
0.15
時間 (天)

圖 7b

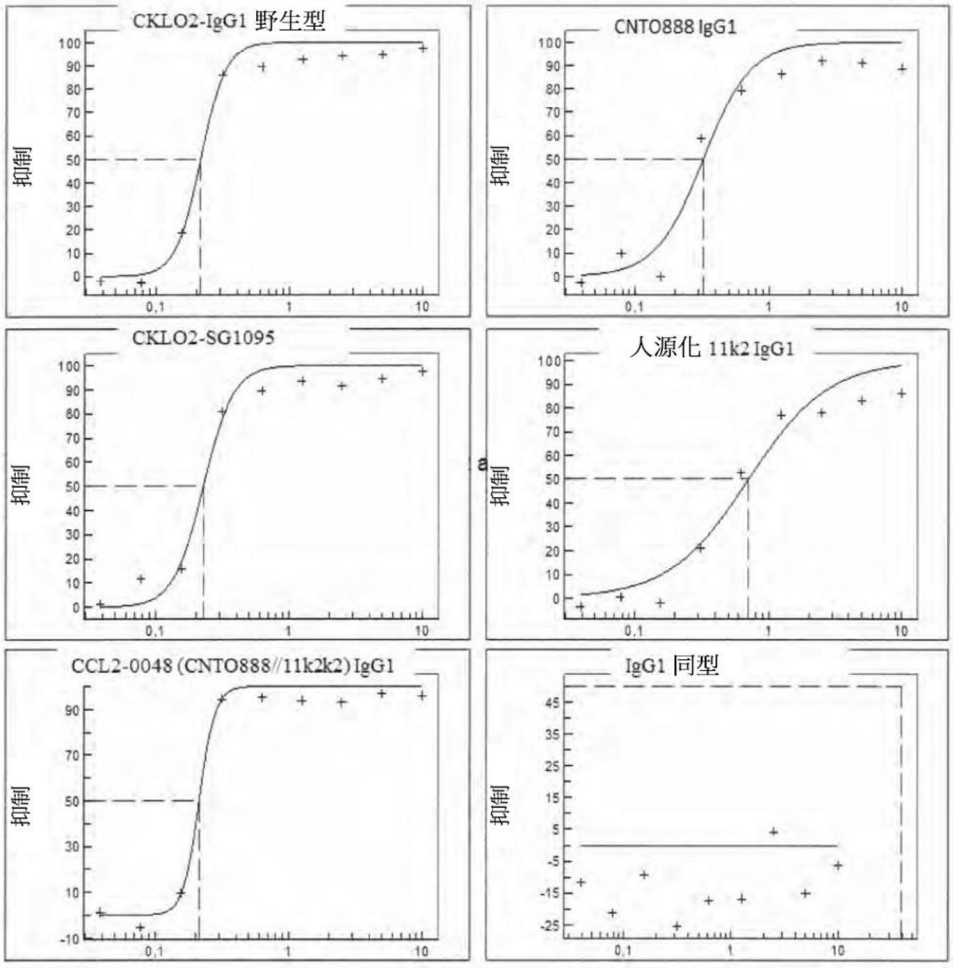

CKLO2-IgG1 野生型
CNTO888 IgG1
CKLO2-SG1095
人源化 11k2 IgG1
CCL2-0048 (CNTO888//11k2k2) IgG1
IgG1 同型
抑制

圖 8

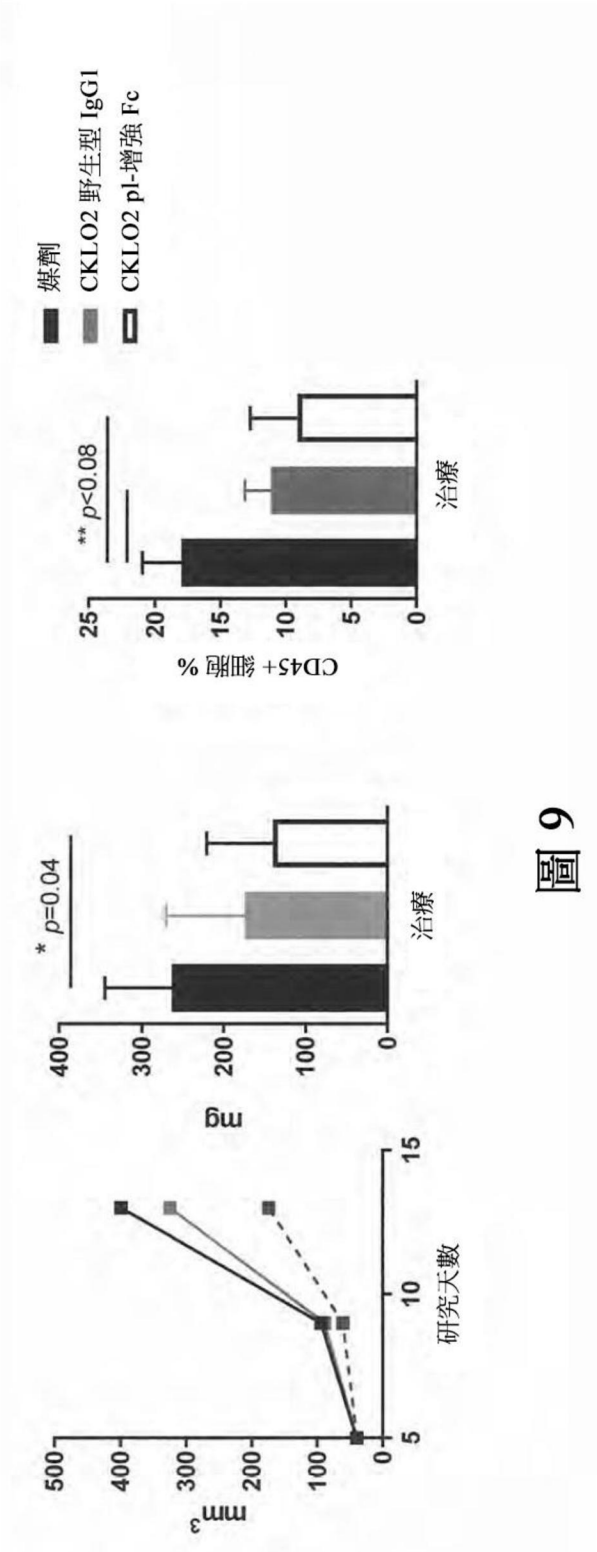

媒劑
CKLO2 野生型 IgG1
CKLO2 pI-增強 Fc
CD45+ 細胞 %
** p<0.08
治療
mg
* p=0.04
治療
mm³
研究天數

圖 9

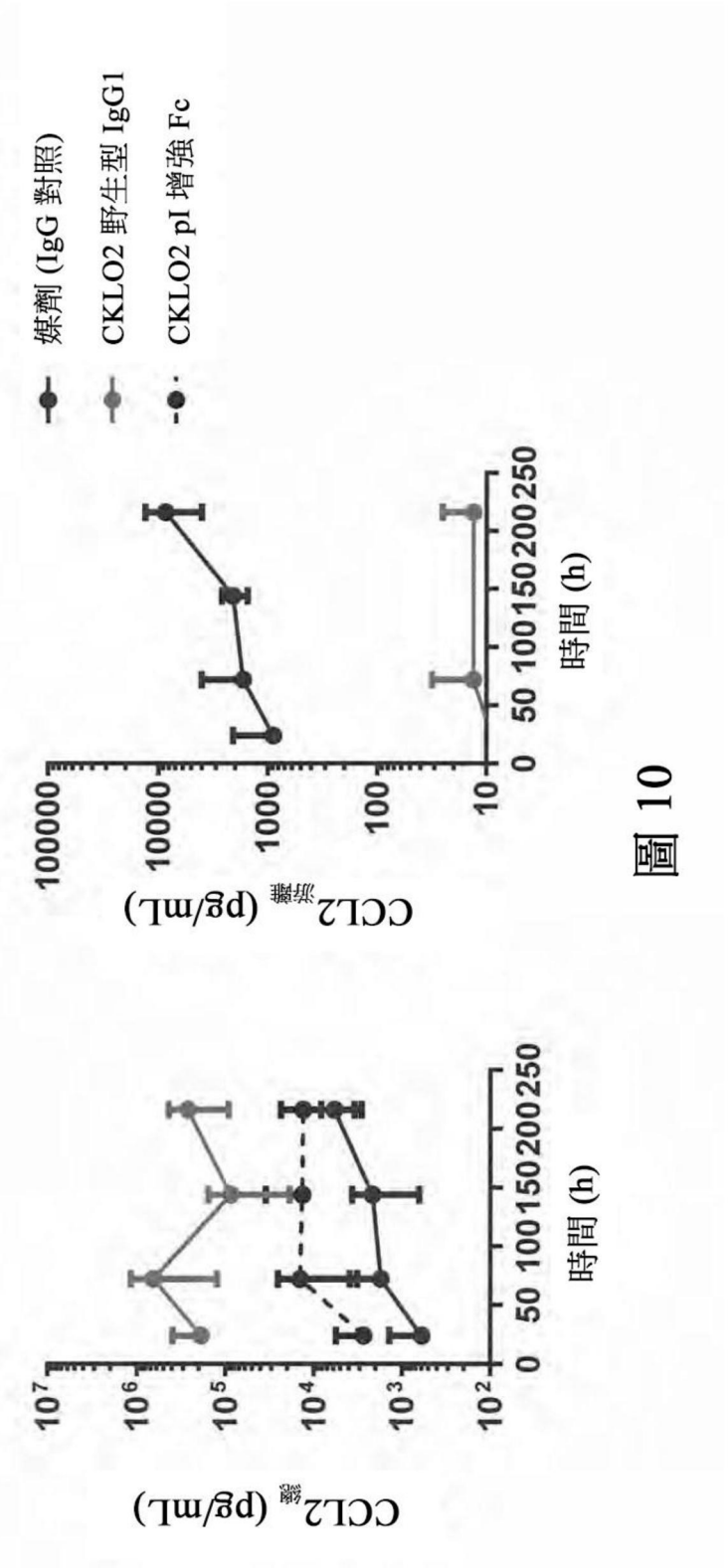

媒劑 (IgG 對照)
CKLO2 野生型 IgG1
CKLO2 pI 增強 Fc
CCL2游離 (pg/mL)
CCL2總 (pg/mL)
時間 (h)
時間 (h)
0
50
100
150
200
250
10
100
1000
10000
100000
10²
10³
10⁴
10⁵
10⁶
10⁷

圖 10

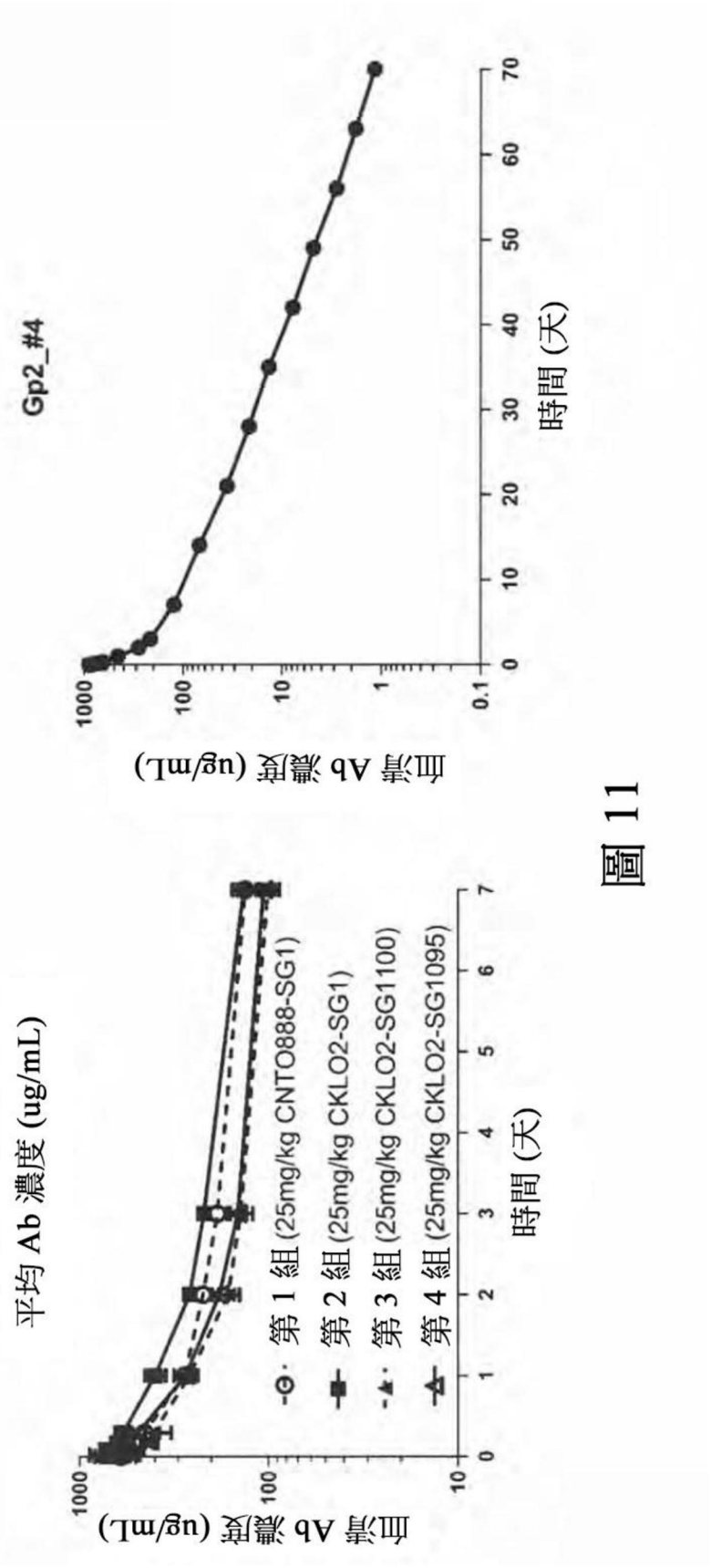

Gp2_#4
血清 Ab 濃度 (ug/mL)
時間 (天)
平均 Ab 濃度 (ug/mL)
第 1 組 (25mg/kg CNTO888-SG1)
第 2 組 (25mg/kg CKLO2-SG1)
第 3 組 (25mg/kg CKLO2-SG1100)
第 4 組 (25mg/kg CKLO2-SG1095)
血清 Ab 濃度 (ug/mL)
時間 (天)

圖 11

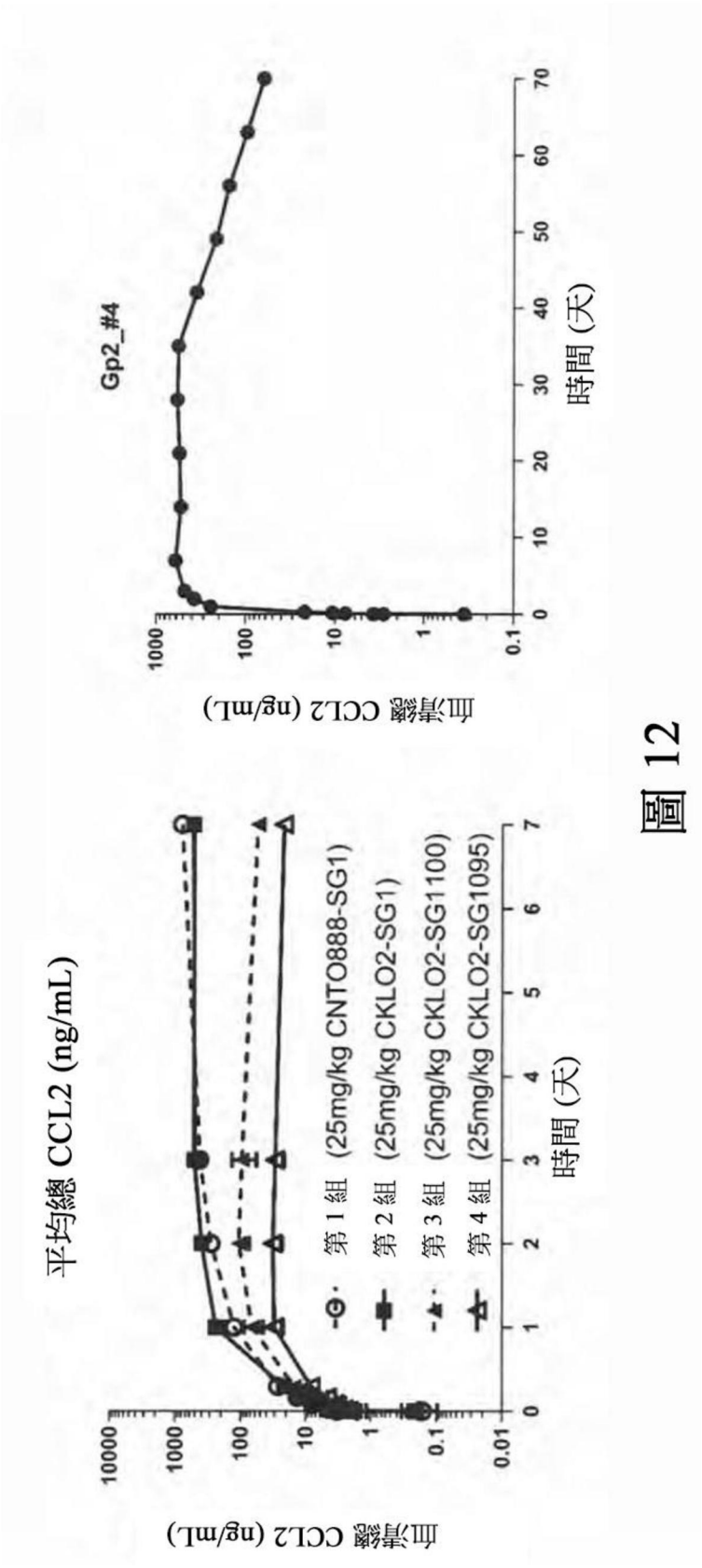

平均總 CCL2 (ng/mL)
血清總 CCL2 (ng/mL)
時間 (天)
第 1 組 (25mg/kg CNTO888-SG1)
第 2 組 (25mg/kg CKLO2-SG1)
第 3 組 (25mg/kg CKLO2-SG1100)
第 4 組 (25mg/kg CKLO2-SG1095)
Gp2_#4
血清總 CCL2 (ng/mL)
時間 (天)

圖 12

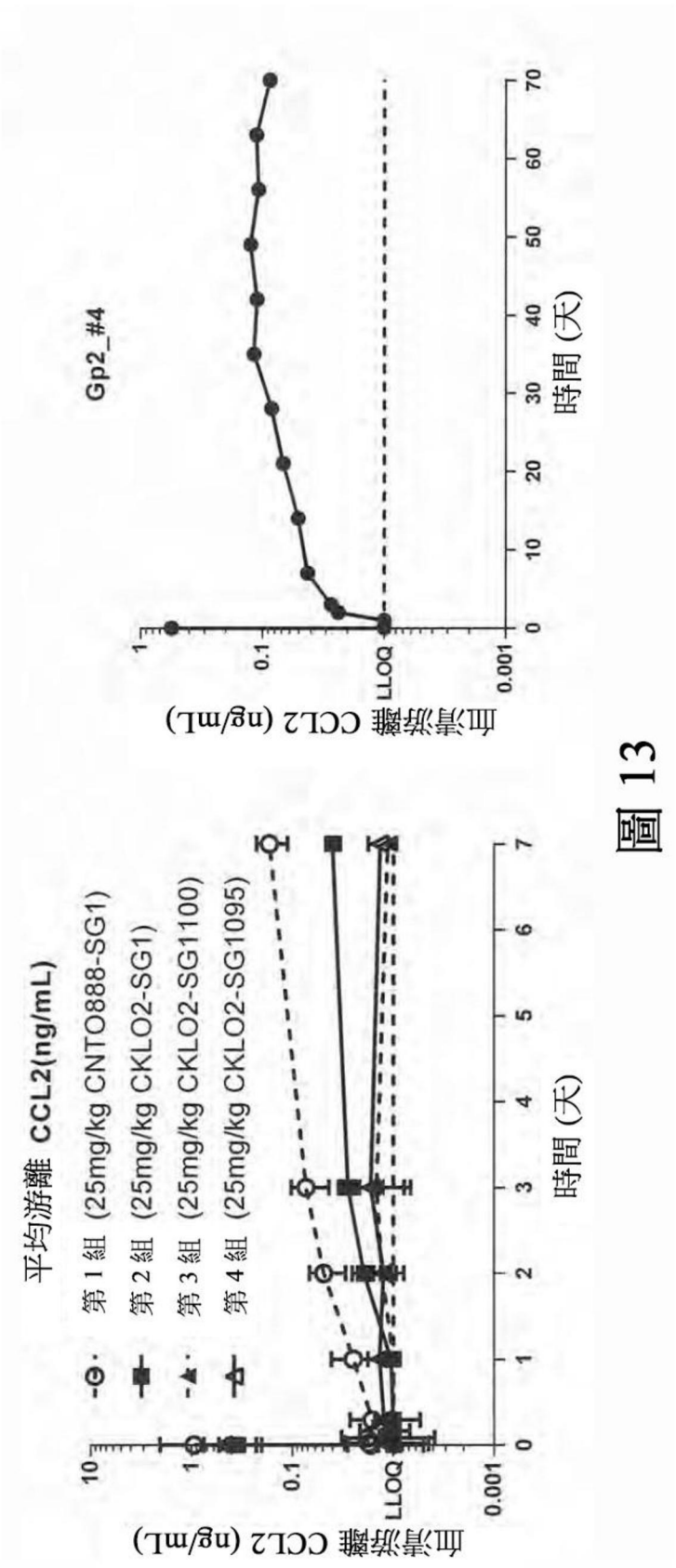

平均游離 CCL2(ng/mL)
第 1 組 (25mg/kg CNTO888-SG1)
第 2 組 (25mg/kg CKLO2-SG1)
第 3 組 (25mg/kg CKLO2-SG1100)
第 4 組 (25mg/kg CKLO2-SG1095)
血清游離 CCL2 (ng/mL)
LLOQ
時間 (天)
Gp2_#4
血清游離 CCL2 (ng/mL)
LLOQ
時間 (天)

圖 13

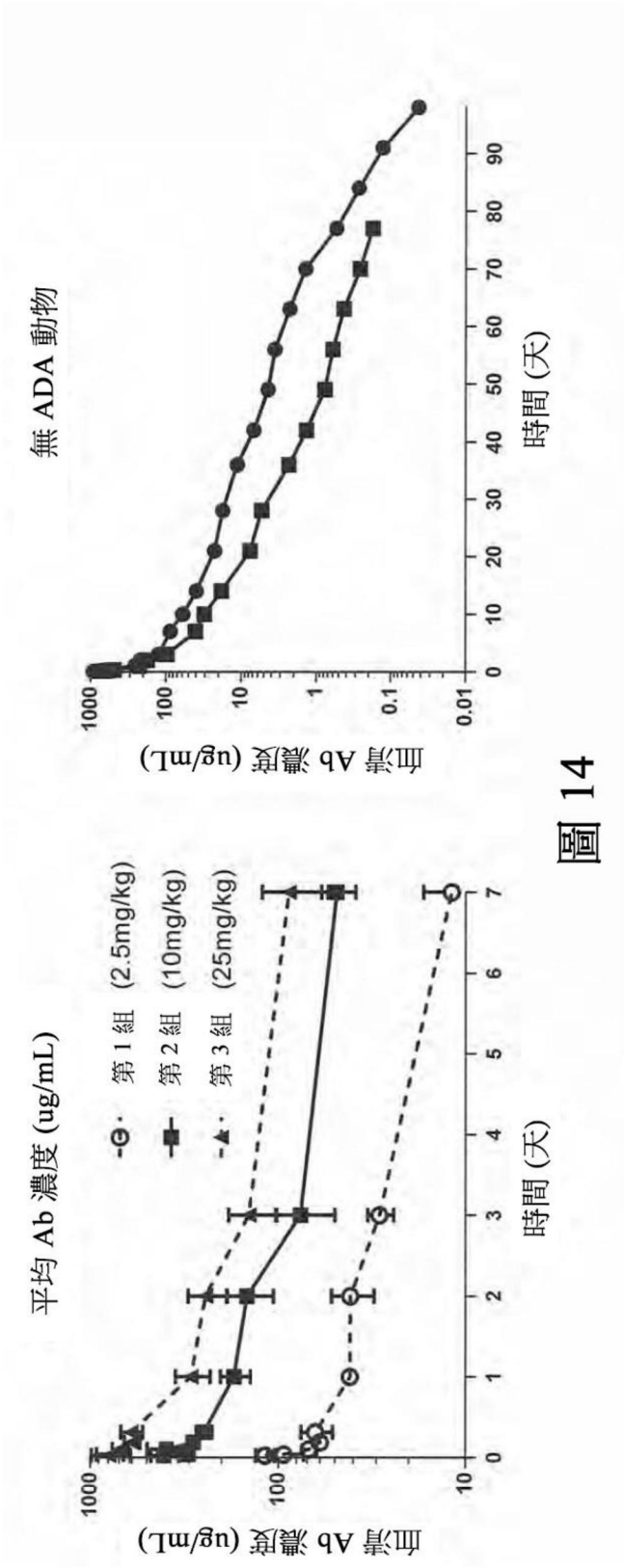

無 ADA 動物
血清 Ab 濃度 (ug/mL)
1000
100
10
1
0.1
0.01
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
時間 (天)
平均 Ab 濃度 (ug/mL)
第 1 組 (2.5mg/kg)
第 2 組 (10mg/kg)
第 3 組 (25mg/kg)
血清 Ab 濃度 (ug/mL)
1000
100
10
0
1
2
3
4
5
6
7
時間 (天)

圖 14

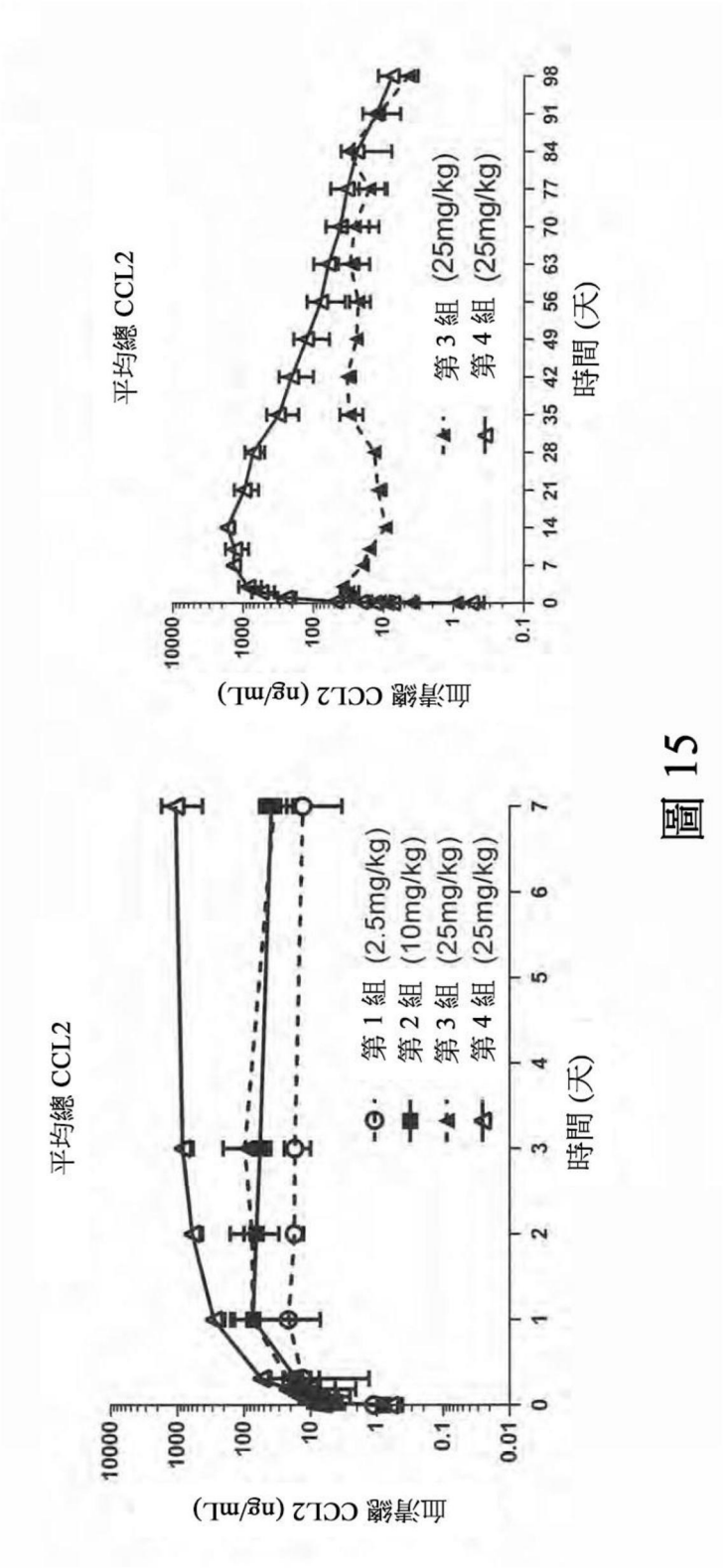

平均總 CCL2
血清總 CCL2 (ng/mL)
時間 (天)
第 1 組 (2.5mg/kg)
第 2 組 (10mg/kg)
第 3 組 (25mg/kg)
第 4 組 (25mg/kg)
平均總 CCL2
血清總 CCL2 (ng/mL)
時間 (天)
第 3 組 (25mg/kg)
第 4 組 (25mg/kg)

圖 15

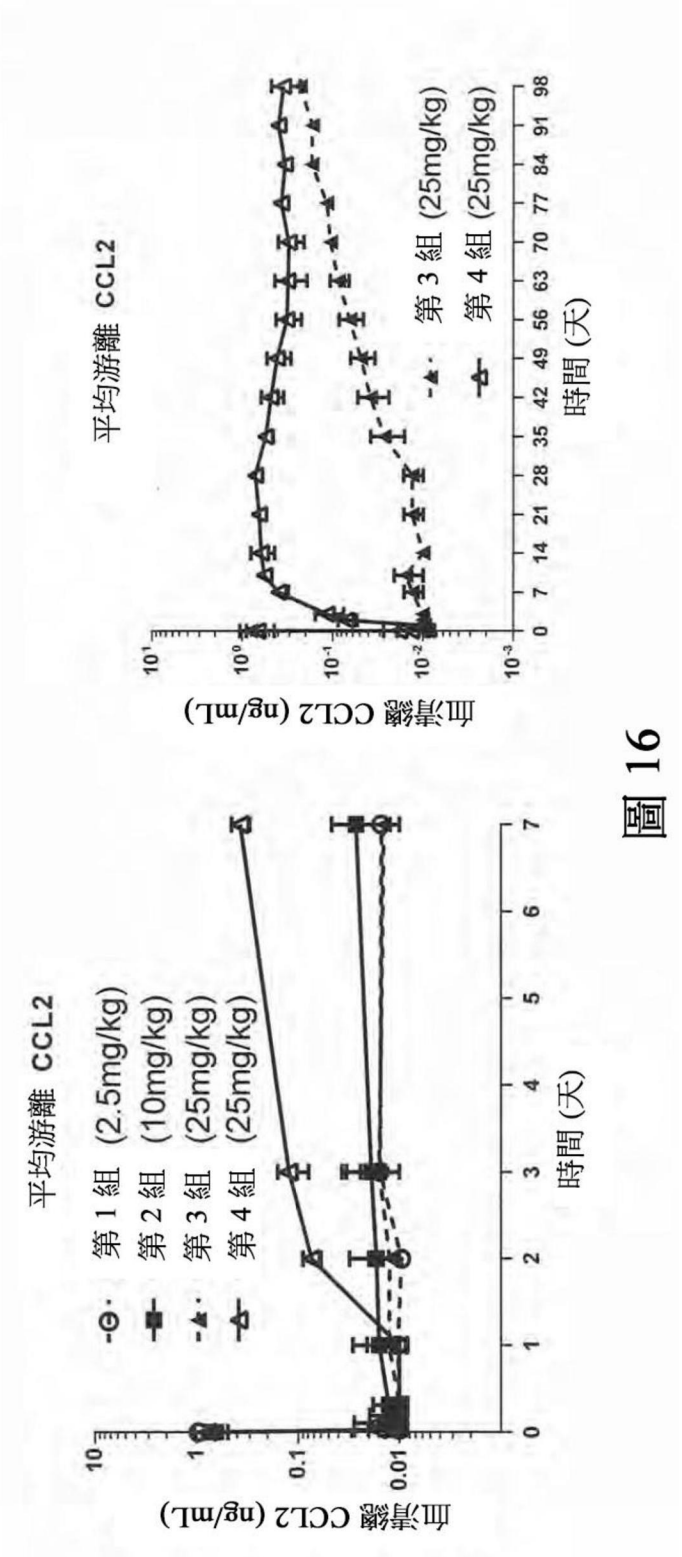

平均游離 CCL2
第 1 組 (2.5mg/kg)
第 2 組 (10mg/kg)
第 3 組 (25mg/kg)
第 4 組 (25mg/kg)
血清總 CCL2 (ng/mL)
時間 (天)
平均游離 CCL2
第 3 組 (25mg/kg)
第 4 組 (25mg/kg)
血清總 CCL2 (ng/mL)
時間 (天)

圖 16